

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่างแบคทีเรีย
สังเคราะห์แสง และ *Saccharomyces cerevisiae*
MICROBIAL FUEL CELL PRODUCTION
BY THE CULTIVATION OF PHOTOSYNTHETIC BACTERIA
AND *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*



T117336



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 117336
วัน,เดือน,ปี...20 0.0. 2554

b. 1233999d
i.

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**MICROBIAL FUEL CELL PRODUCTION
BY THE CULTIVATION OF PHOTOSYNTHETIC BACTERIA
AND SACCHAROMYCES CEREVISIAE**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และ *Saccharomyces cerevisiae*

Microbial fuel cell production by the cultivation of photosynthetic bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*

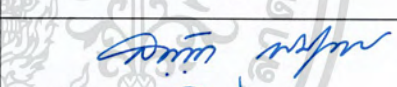


ชื่อนักศึกษา นางสาววรรณวิษา ชูแดง 50050760
นางสาวศุภรัตน์ ใจงาม 50050771
นางสาวสุกัญญา สายสุวรรณ 50050772

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. สมชาย ไกรรัศมิ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา
เทคโนโลยีชีวภาพประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พุกภัย	
ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี	
ผศ.ดร.สมชาย ไกรรัศมิ์	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
ชื่อนักศึกษา	นางสาววรรณวิษา	ชูแดง	รหัสนักศึกษา 50050760
	นางสาวสุภรรัตน์	ใจงาม	รหัสนักศึกษา 50050771
	นางสาวสุกัญญา	สายสุวรรณ	รหัสนักศึกษา 50050772
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ		
ปีการศึกษา	2553		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์		

บทคัดย่อ

นำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* มาศึกษาการเจริญและการผลิตไฟฟ้า โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่ใช้แป้งมันสำปะหลัง กลูโคส และแป้งท้าวายม่อม ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นแหล่งคาร์บอน ตามลำดับ พบว่าเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 สามารถเจริญในอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีที่สุด (3.760 OD₆₀₀ ที่ 384 ชั่วโมง) ขณะที่การเลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร MYS ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน และใช้เปปโตเนอความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 และ 1.5 เป็นแหล่งไนโตรเจนตามลำดับ พบว่าเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เจริญได้ดีในแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นเปปโตเนอร้อยละ 1.5 (5.585 OD₆₀₀ ที่ 95 ชั่วโมง) จากนั้นศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าทางชีวภาพจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่สัดส่วนเชื้อเริ่มต้น 1 ต่อ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) พบว่ามีปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยสูงที่สุดในอาหารเหลวสูตร MYS ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนให้การสร้างกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยสูงสุดถึง 10.66 ไมโครแอมแปร์ในชั่วโมงที่ 138 แต่เมื่อเปลี่ยนสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นเป็น 1 ต่อ 2 พบการสร้างกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยสูงที่สุดเพียง 6.58 ไมโครแอมแปร์ในชั่วโมงที่ 237

คำสำคัญ : แบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Saccharomyces cerevisiae* แป้งมันสำปะหลัง และกระแสไฟฟ้าทางชีวภาพ

Title	Microbial fuel cell production by the cultivation of photosynthetic bacteria and <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
Students	Wanwisa	Chudang	Student ID 50050760
	Suparat	Jaingam	Student ID 50050771
	Sukanya	Saisuwan	Student ID 50050772
Degree	Bachelor of Science		
Major Program	Biotechnology		
Academic Year	2010		
Advisor	Asst. Prof. Dr. Somchai Krairak		

ABSTRACT

The photosynthetic bacteria isolate OS33 and *Saccharomyces cerevisiae* were selected and studied for growth and electric generation. The 1.0 percentage of cassava starch, glucose and arrowroot starch were testified as the C-source for the photosynthetic bacteria isolates OS33 cultivation in A medium broth. It was found that the cassava starch gave the highest growth (3.760 OD₆₀₀ at 384 hr) of the photosynthetic bacteria OS33 than arrowroot starch and glucose, respectively. The cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* was performed by using MYS broth with 2.0% of cassava starch as C-source and 0.5, 1.0 and 1.5% of peptone as N-source, respectively. The results showed that 1.5% peptone presented the maximum growth (5.585 OD₆₀₀, at 95 hr). The co-culture of the photosynthetic bacteria OS33 and *Saccharomyces cerevisiae*, as the microbial fuel cell, was examined in MYS broth using cassava starch to produce the electric power. It was concluded that the inoculum ratio of OS33 and *Saccharomyces cerevisiae* at 1:1 (v/v) gave the maximum electric power at 10.66 μ A at 138 hr of cultivation. When the inoculum ratio was changed to 1:2, the electric power was produced only 6.58 μ A at 237 hr of cultivation.

Keywords : photosynthetic bacteria *Saccharomyces cerevisiae* cassava starch and Microbial fuel cell

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความอนุเคราะห์และเอาใจใส่จากอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ รวมทั้งคณะกรรมการโครงการพิเศษ ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พฤษย์ และ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ตลอดจนอาจารย์ท่านอื่นๆ ที่ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ ประสพการณ์ที่เป็นประโยชน์ และความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ตลอดจนกรุณาช่วยตรวจแก้ไขโครงการพิเศษนี้ให้สมบูรณ์ ซึ่งทางคณะผู้จัดทำมีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิก-คืนสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง คอยอำนวยความสะดวก เอื้อเพื่อให้ความรู้ และข้อแนะนำต่างๆ ในระหว่างการปฏิบัติงาน รวมไปถึงคุณแม่บ้านที่อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ ในการทำการทดลอง

ขอกราบขอบคุณอาจารย์รัชชัย ขาวประเสริฐ และอาจารย์สาโรจน์ ชูอำไพ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเจาะขวดแก้ว เพื่อใช้ในการทดลอง

ขอกราบขอบคุณบิดา มารดา ตลอดจนญาติพี่น้องทุกคน ที่คอยเป็นกำลังใจให้ความช่วยเหลือ และให้คำปรึกษาต่างๆ ในการทำโครงการพิเศษนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ ทุกคน ที่คอยให้กำลังใจ ให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆ และคอยให้ความช่วยเหลือ รวมทั้งให้ยืมอุปกรณ์ และสารเคมีต่างๆ ในการทดลอง

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจหรือผู้ที่ต้องการศึกษาความรู้เกี่ยวกับแบคทีเรียสังเคราะห์แสง หากมีข้อผิดพลาดประการใดคณะผู้จัดทำขออภัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

น.ส.วรรณวิษา ชูแดง

น.ส.ศุภรัตน์ ใจงาม

น.ส.ศุภัญญา สายสุวรรณ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	IX

บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	4
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	5
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 เซลล์ไฟฟ้า	6
2.1.1 เซลล์ไฟฟ้าทางเคมี	6
2.1.2 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ	11
2.1.2.1 กลไกการส่งอิเล็กตรอนบริเวณอานอดในเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ	13
2.1.2.2 ประเภทของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ	15
2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ	19
2.2.1 กลุ่มโฟโตโทรฟิเคยูคาริโอต	19
2.2.2 กลุ่มโฟโตโทรฟิคโพรคาริโอต	20
2.2.2.1 แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงแบบมีออกซิเจน	20
2.2.2.2 แบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงแบบไม่มีออกซิเจน	21
2.3 เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24
2.3.1 การสืบพันธุ์ของยีสต์	24
2.3.2 กระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์	25
2.3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ และลักษณะทางสรีระของยีสต์	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4 สับสเตรทที่ใช้สำหรับจุลินทรีย์ผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ	30
2.4.1 ชนิดของวัสดุเหลือทิ้ง	30
2.4.2 อะซิเตด	31
2.4.3 กลูโคส	31
2.5 ประสิทธิภาพของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ	31
2.5.1 ประสิทธิภาพเชิงอุณหภูมิต่ำ	31
2.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไฟฟ้า	33
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	34
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	36
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	36
3.2 สารเคมี	36
3.3 อุปกรณ์	37
3.4 วิธีการทดลอง	37
3.4.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์	37
3.4.1.1 เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33	37
3.4.1.2 เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	38
3.4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา	38
3.4.2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33	38
3.4.2.2 การศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	39
3.4.3 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน	39
3.4.3.1 การศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน โดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง	40

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.3.2 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน โดยวิธี การสกัดแบคทีเรียโอสลอปิลล์	40
3.4.4 การศึกษาปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญ ของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	40
3.4.4.1 การศึกษาการเจริญของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ในอาหารเหลวสูตร MYS	40
3.4.4.2 การศึกษาการเจริญของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน	41
3.4.5 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรีย สังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	41
3.4.5.1 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน	42
3.4.5.2 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้น ที่แตกต่างกัน	42
3.4.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar)	43
3.4.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar)	43
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	44
4.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์	44
4.1.1 เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33	44
4.1.2 เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	44
4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา	44
4.2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ OS33	44
4.2.2 การศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	45
4.3 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน	46

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.1 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน โดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง	46
4.3.2 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน โดยวิธีการสกัดแบคทีเรียโอสลอปโรฟิลล์	47
4.4 การศึกษาปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	48
4.4.1 การศึกษาการเจริญของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนไม่แตกต่างกัน	48
4.4.2 การศึกษาการเจริญของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน	49
4.5 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรีย สังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	50
4.5.1 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน	50
4.5.2 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้น ที่แตกต่างกัน	53
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	57
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	67
ภาคผนวก ข สารเคมีและวิธีวิเคราะห์	69

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปฏิกริยาที่ขั้วอิเล็กโทรดของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ และความสัมพันธ์กับศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์	33
4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และเชื้อ <i>Saccharom cerevisiae</i> ที่คัดแยกได้ ในงานอาหารแข็ง Minimal medium of Ormerod และ MYS ตามลำดับ	45
4.2 แสดงค่าความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิ จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน คือ อาหารเหลวสูตร MYS และอาหารเหลวสูตร A	52
4.3 แสดงค่าความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิ จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ในอาหารเหลวสูตร MYS โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 และ 2 ต่อ 1 ตามลำดับ	55

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 หลักการทำงานของการผลิตเซลล์ไฟฟ้าโดยแผ่นกั้นแลกเปลี่ยน โปรตอน	3
1.2 หลักการผลิตกระแสไฟฟ้าทางชีวภาพจากจุลินทรีย์	4
2.1 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ PEMFC	7
2.2 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ SOFC	8
2.3 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ AFC	9
2.4 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ MCFC	10
2.5 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ PAFC	10
2.6 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ DMFC	11
2.7 แผนภาพเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพพื้นฐาน ซึ่งประกอบด้วยบริเวณแอโนดและคาโทด	13
2.8 แสดงองค์ประกอบต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการส่งอิเล็กตรอนจากภายในเซลล์ไปยังแอโนด	14
2.9 แบบแผนการส่งอิเล็กตรอนผ่านสารเคมีต่างๆ ที่มีคุณสมบัติรับ-ส่งอิเล็กตรอนระหว่างกิจกรรมเคมีไฟฟ้าชีวภาพของจุลินทรีย์ และแอโนด	15
2.10 รูปแบบเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงแบบสารส่งอิเล็กตรอน	16
2.11 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงแบบตัวกระตุ้นทางไฟฟ้า	16
2.12 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสง ร่วมกับการย่อยสลายสารอินทรีย์	17
2.13 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงจากตะกอนดินระหว่างพืชและจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์	17
2.14 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้แสงที่แอโนด	18
2.15 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพที่ส่งอิเล็กตรอนจากแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงไปยังอิเล็กโทรดโดยตรง	18
2.16 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงที่แอโนด เพื่อสร้างออกซิเจน	19

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.17	20
2.18	26
2.19	27
2.20	27
2.21	32
3.1	42
4.1	46
4.2	47
4.3	48
4.4	49
4.5	51

รูปที่ 2.17 วิธีของการสังเคราะห์ด้วยแสงและการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย

รูปที่ 2.18 แสดงลักษณะของแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีเขียวแต่ละชนิด

รูปที่ 2.19 แบคทีเรียชนิด Halophilic purple sulfur bacteria, *Halochromatium* species

รูปที่ 2.20 วัฏจักรเครบส์

รูปที่ 2.21 แสดงปฏิกิริยาที่ข้าวอาโนดกับสาร AQDS

รูปที่ 3.1 แผนภาพขบวนการที่เจาะรูเพื่อใส่หลอดเพลทดินนัม (หมายเลข 1 และ 2) และที่เจาะรูเพื่อใส่หัวพันอากาศ (หมายเลขที่ 3) สำหรับเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

รูปที่ 4.1 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง (●) และกลูโคส (■) ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

รูปที่ 4.2 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง (●) กลูโคส (■) และแป้งท้าวยายม่อม (▲) ด้วยการสกัดแบคทีเรียออกด้วยโรฟิลล์ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร

รูปที่ 4.3 แสดงการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร MYS ที่มีเปปโตเนเป็นแหล่งไนโตรเจนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

รูปที่ 4.4 แสดงการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน คือ ที่ความเข้มข้นของเปปโตเนร้อยละ 0.5 (●) 1.0 (■) และ 1.5 (▲) ตามลำดับ ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยในอาหารเหลวสูตร A (●) และ MYS (○) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในอาหารเหลวสูตร A (▲) และ MYS (△) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเหลวสูตร A (■) และ MYS (□) จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.6 แสดงปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 (●) และ 1 ต่อ 2 (○) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 (▲) และ 1 ต่อ 2 (△) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 (■) และ 1 ต่อ 2 (□) จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์ แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ตามลำดับ	54



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัจจุบันมนุษย์นำทรัพยากรธรรมชาติมาใช้ในการดำรงชีวิตเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในด้านพลังงาน เช่น ก๊าซธรรมชาติ ถ่านหิน และน้ำมันดิบ ซึ่งเป็นพลังงานที่มีอยู่อย่างจำกัดและอาจหมดไปในอนาคต นอกจากนี้พลังงานเหล่านี้ยังส่งผลกระทบต่อในทางด้านปัญหามลพิษ และภาวะเรือนกระจก (กัมปนาท และธีราภรณ์, 2551)

ด้วยเหตุนี้หน่วยงานต่างๆ จึงได้มีการศึกษา และพัฒนาพลังงานทดแทนที่ไม่ก่อให้เกิดปัญหา มลพิษต่อสิ่งแวดล้อม เช่น พลังงานหมุนเวียน ได้แก่ พลังงานน้ำ พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม และพลังงานชีวมวล เป็นต้น

รัฐบาลจึงได้ให้ความสำคัญในเรื่องการอนุรักษ์พลังงาน และส่งเสริมการพัฒนาพลังงานหมุนเวียนขึ้นมาใช้ประโยชน์มากขึ้น นับตั้งแต่แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 5 (พ.ศ.2525-2529) เป็นต้นมา ได้มีการกำหนดเป้าหมายให้มีการใช้พลังงานหมุนเวียนเพิ่มขึ้นเพื่อทดแทนน้ำมัน โดยส่งเสริมให้มีการวิจัยพัฒนา และมีการผลิตพลังงานหมุนเวียนที่คุ้มค่าในเชิงพาณิชย์ขึ้นมาใช้ประโยชน์ เนื่องจากสถานการณ์ที่ราคาน้ำมันเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง หลายนโยบายจึงให้ความสนใจพลังงานทดแทน โดยเฉพาะในกลุ่มของเซลล์ไฟฟ้า (fuel cell)

เซลล์ไฟฟ้า คือ เซลล์ที่สามารถเปลี่ยนพลังงานจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเกี่ยวกับอิเล็กตรอนมาเป็นกระแสไฟฟ้า โดยทำการแปรสภาพก๊าซไฮโดรเจน และออกซิเจน ให้กลายเป็นน้ำ ซึ่งในกระบวนการนี้จะมีกระแสไฟฟ้าเกิดขึ้นคล้ายกับแบตเตอรี่ แต่แตกต่างกันที่เซลล์ไฟฟ้านั้น ออกแบบมาให้มีการเติมสารตั้งต้นเข้าสู่ระบบตลอดเวลา โดยการเติมก๊าซไฮโดรเจน และออกซิเจน ซึ่งช่วยจัดปัญหาความจุที่มีอย่างจำกัดของแบตเตอรี่ออกไป (กิตติมา และวันสนันท์, 2550; อนันต์, 2552) และในปัจจุบันได้ศึกษาการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ (microbial fuel cell, MFC) จัดเป็นการผลิตพลังงานรูปแบบใหม่ และสามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้จากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือกระบวนการเมแทบอลิซึมอาหารของแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีม่วงกลุ่มที่ไม่สะสมกำมะถัน (Purple non-sulfur photosynthetic bacteria) โดยสามารถใช้สิ่งเหลือทิ้งจาก

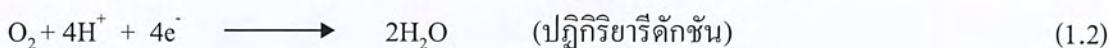
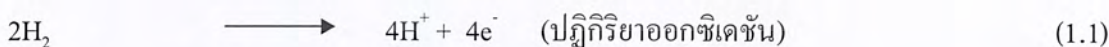
กระบวนการผลิตต่างๆที่มีแหล่งคาร์บอนที่นำไปใช้ในการผลิตไฮโดรเจนได้ และไม่ก่อให้เกิดมลภาวะเหมือนกับการใช้ฟอสซิล (น้ำมัน ถ่านหิน และก๊าซธรรมชาติ)

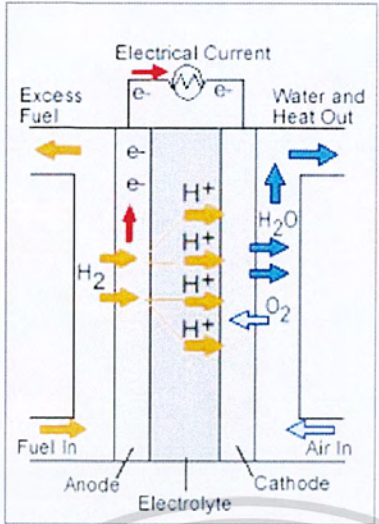
เมื่อนำน้ำเสียเหล่านี้มาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ ถึงแม้ว่าปริมาณกระแสไฟฟ้าที่ผลิตได้จะไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งพลังงานฟอสซิล ผลพลอยได้สำคัญที่ตามมา คือ สามารถบำบัดน้ำเสียไปพร้อมกับการผลิตกระแสไฟฟ้าเพื่อรักษาสิ่งแวดล้อม และเป็นการสร้างแหล่งผลิตกระแสไฟฟ้าขนาดเล็กสำหรับท้องถิ่นห่างไกล เพื่อยกระดับคุณภาพชีวิต ทำให้มาตรฐานการครองชีพให้ดีขึ้น ซึ่งเป็นการสร้างความเท่าเทียมกันในสังคม รวมถึงสามารถนำทรัพยากรเหลือทิ้งกลับมาใช้ใหม่ให้ได้เป็นพลังงานที่มีประสิทธิภาพสูง (ปิตมาภรณ์ และภาวดี, 2550)

หลักการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางด้านเคมี ได้แก่ เซลล์ไฟฟ้าแบบไฮโดรเจน (hydrogen oxygen proton membrane) จะเป็นโพลีเมอร์ที่ยอมให้โปรตอนวิ่งผ่านได้ เรียกชื่อกันชนิดนี้ว่า เยื่อกันแลกเปลี่ยนโปรตอน (proton exchange membrane fuel cell, PEMFC) ดังรูปที่ 1.1 โดยแยกบริเวณแอโนด (anode chamber) และคาโทด (cathode chamber) ออกจากกันซึ่งแต่ละด้านจะมีขั้วไฟฟ้าที่ต่างกัน

วัสดุส่วนใหญ่ผลิตจากแผ่นคาร์บอนที่เคลือบด้วยแพลตตินัม ไฮโดรเจนจะแพร่เข้าสู่ตัวเร่งปฏิกิริยาบริเวณแอโนดทำให้แตกตัวออกเป็นโปรตอน (H^+) และอิเล็กตรอน (e^-) ดังสมการที่ 1.1 จากนั้นโปรตอนจะเคลื่อนที่ผ่านเยื่อกันแลกเปลี่ยนโปรตอนไปบริเวณคาโทด ในขณะที่อิเล็กตรอนจะถูกบังคับให้วิ่งเข้าสู่ขั้วขั้วไฟฟ้าภายนอก และมีการให้พลังงานออกมา (เยื่อกันป้องกันไม่ให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่าน)

ส่วนบริเวณคาโทดมีการให้โมเลกุลออกซิเจน และสามารถดึงดูดโปรตอนซึ่งเคลื่อนที่ผ่านชั้นของเยื่อกันโปรตอนเข้ามา พร้อมทั้งรับอิเล็กตรอนจากวงจรภายนอกแล้วจากนั้นทำปฏิกิริยากันได้ผลิตภัณฑ์เป็นโมเลกุลของน้ำดังสมการที่ 1.2 (อนันต์, 2552; เกรียงไกร, 2551)

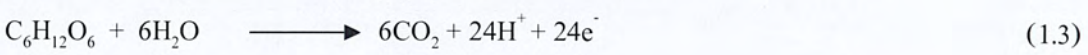




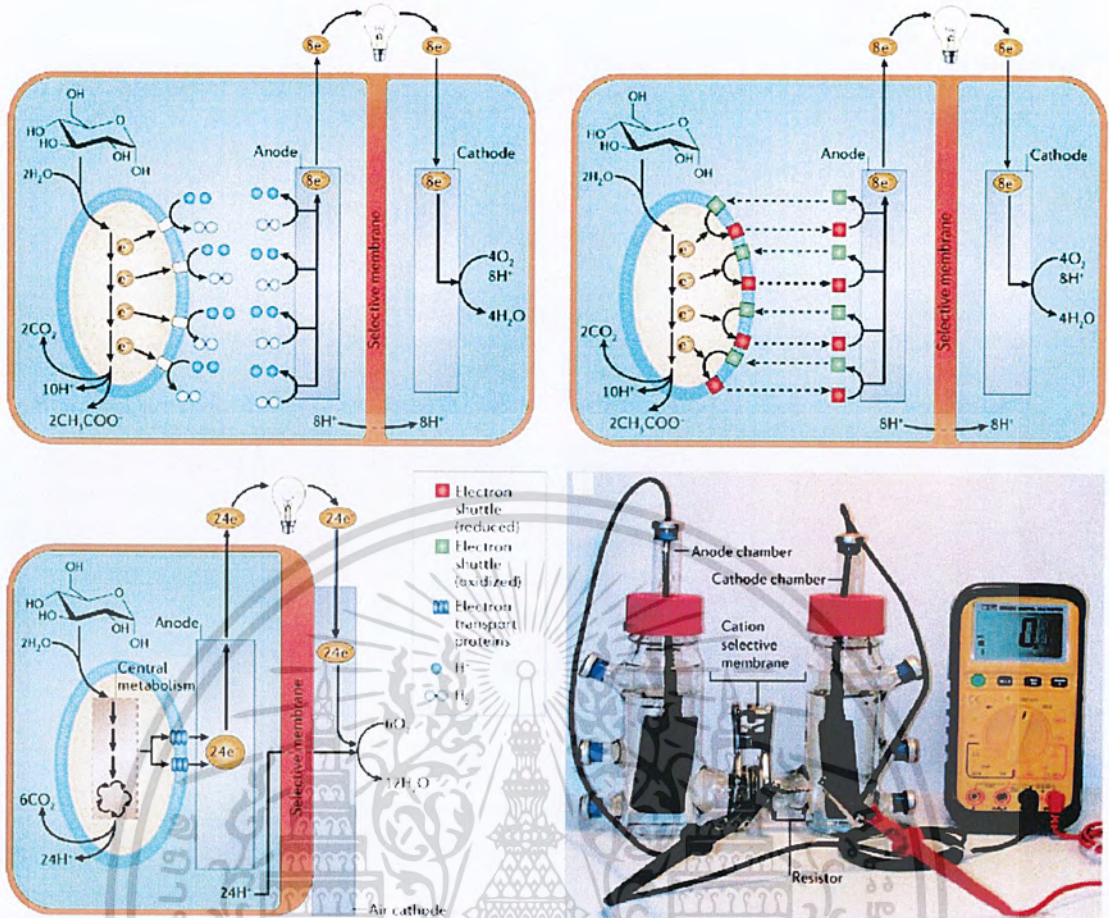
รูปที่ 1.1 หลักการทำงานของการผลิตเซลล์ไฟฟ้าโดยเยื่อกั้นแลกเปลี่ยนโปรตอน
ที่มา : http://www1.eere.energy.gov/hydrogenandfuelcells/fuelcells/fc_types.html
(8 กรกฎาคม 2553)

หลักการการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางด้านชีวภาพ ประกอบด้วยบริเวณอโนด และบริเวณคาโทด โดยแยกด้วยเยื่อกั้นแลกเปลี่ยนโปรตอน ซึ่งบริเวณอโนดจะเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์โดยสารอินทรีย์จะถูกออกซิไดซ์แตกตัวเป็นอิเล็กตรอน และโปรตอนขึ้นดังสมการที่ 1.3

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนภายใต้สภาวะที่มีแสงของเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีม่วง โดยแสงไปกระตุ้นแบคทีเรียโคลอโรฟีลล์ให้ปลดปล่อยอิเล็กตรอนเพื่อสร้างสารให้พลังงานสูง (ATP) และเกิดการรีดิวซ์ NAD^+ และ ferredoxin จากการใช้ ATP ภายใต้สภาวะที่ไร้ออกซิเจน จะได้ผลิตภัณฑ์ก๊าซไฮโดรเจน ภายใต้สภาวะที่ไม่มีแสงจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอินทรีย์ที่เป็นสับสเตรท (มงคล, 2547) ดังรูปที่ 1.2 ซึ่งโปรตอน และอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะถูกส่งไปบริเวณคาโทด โดยโปรตอนเคลื่อนที่ผ่านเยื่อกั้นโปรตอน ส่วนอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่จากบริเวณอโนดไปตามวงจรไฟฟ้า และไปยังส่วนของบริเวณคาโทดทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.2 หลักการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพจากจุลินทรีย์ (microbial fuel cells, MFCs)

ที่มา : http://www.nature.com/nrmicro/journal/v4/n7/fig_tab/nrmicro1442_F2.html

(8 กรกฎาคม 2553)

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าทางชีวภาพจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*
2. เพื่อศึกษาสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด
3. เพื่อศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อความสามารถในการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพจากจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นในการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*
2. เลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic) ในบริเวณอานาโรบิกพร้อมกับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สภาวะใช้ออกซิเจน (aerobe) ในบริเวณคาโทด เพื่อผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ
3. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ ได้แก่ แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตกระแสไฟฟ้า

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. มีความรู้ความเข้าใจในกระบวนการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพเบื้องต้น จากการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*
2. ทราบปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และ เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและความคงที่ในการผลิตกระแสไฟฟ้า

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เซลล์ไฟฟ้า (fuel cell)

เซลล์ไฟฟ้าเป็นพลังงานเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่เกี่ยวกับอิเล็กตรอนมาเป็นกระแสไฟฟ้า โดยทำการแปรสภาพก๊าซไฮโดรเจน และออกซิเจน ให้กลายเป็นน้ำ ซึ่งในกระบวนการนี้จะมีกระแสไฟฟ้าเกิดขึ้นด้วย (กิตติมา และวันสนันท์, 2550)

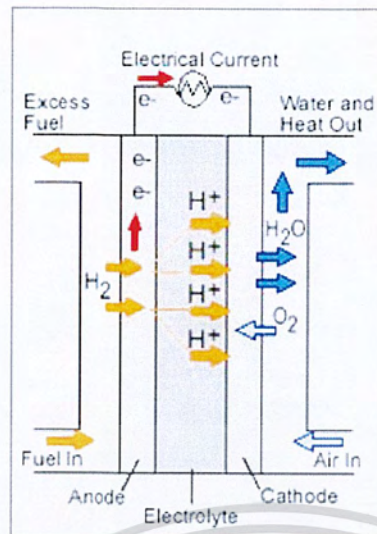
2.1.1 เซลล์ไฟฟ้าทางเคมี (chemical fuel cell)

หลักการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางเคมี โดยการแยกบริเวณแอโนดและบริเวณคาโทดออกจากกัน ซึ่งแต่ละด้านจะมีขั้วไฟฟ้าที่ต่างกัน และวัสดุที่ใช้ทำส่วนใหญ่จะเป็นแผ่นคาร์บอนที่เคลือบด้วยแพลตตินัม ในบริเวณแอโนดไฮโดรเจนจะแพร่เข้าสู่ตัวเร่งปฏิกิริยาแล้วแตกตัวออกเป็นโปรตอน และอิเล็กตรอน จากนั้น โปรตอนจะเคลื่อนที่ผ่านเยื่อกั้นไปยังบริเวณคาโทดในขณะที่อิเล็กตรอนจะถูกบังคับให้เคลื่อนที่เข้าสู่วงจรไฟฟ้าภายนอกและให้พลังงานออกมา ส่วนบริเวณคาโทดโมเลกุลของออกซิเจนจะถูกดันออกมา และทำหน้าที่ดึงดูดโปรตอนที่เคลื่อนที่ผ่านชั้นของเยื่อกั้นเข้ามา พร้อมทั้งทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนอิสระจากวงจรภายนอก หลังจากนั้นทำปฏิกิริยากันได้โมเลกุลของน้ำ ซึ่งประเภทของเซลล์ไฟฟ้าทางเคมี แบ่งออกเป็น 6 ประเภท ดังนี้

ก. Polymer Exchange Membrane Fuel Cell (PEMFC)

กระทรวงพลังงานได้มุ่งเน้นศึกษาเทคโนโลยีอุปกรณ์ PEMFC เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในระบบการขนส่งซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่สามารถให้อัตรากำลังไฟฟ้าความหนาแน่นสูง และยังมีช่วงของอุณหภูมิการทำงานต่ำ ซึ่งอยู่ระหว่าง 60-80 องศาเซลเซียส หรืออยู่ในช่วง 140-160 องศาฟาเรนไฮด์ และข้อดีของการทำงานในช่วงอุณหภูมิต่ำ คือ เซลล์ไฟฟ้าจะใช้เวลาน้อยในการอุ่นเครื่องเพื่อเริ่มให้อัตรากระแสไฟฟ้า นอกจากนี้ PEMFC ได้รับความสนใจจากท้องตลาดเป็นอย่างมาก ซึ่งพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในวัตถุประสงค์ที่ให้เป็นแหล่งพลังงานใช้สำหรับรถยนต์ส่วนบุคคลและใช้ในครัวเรือน มีโครงสร้างหลักการทำงานดังรูปที่ 2.1 และส่วนประกอบหลักๆของเทคโนโลยีอุปกรณ์ PEMFC มีดังต่อไปนี้ (เกรียงไกร, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ PEMFC

ที่มา : http://thefraserdomain.typepad.com/energy/fuel_cells/ (18 ตุลาคม 2553)

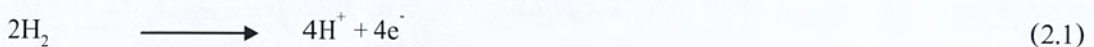
ขั้วลบ (Anode) ทำหน้าที่รับ และปล่อยอิเล็กตรอนอิสระที่ถูกปล่อยออกมาจากโมเลกุลของไฮโดรเจน เพื่อใช้ในการสร้างกระแสไฟฟ้าที่ระบบภายนอก

ขั้วบวก (Cathode) ทำหน้าที่ปล่อยออกซิเจนไปยังพื้นผิวของตัวเร่งปฏิกิริยา และดึงอิเล็กตรอนจากระบบภายนอกมายังที่ตัวเร่งปฏิกิริยา หลังจากนั้นจะทำการรวมตัวกับอะตอมของไฮโดรเจน และแปรสภาพไปเป็นไปเป็น โมเลกุลของน้ำ

ตัวนำไฟฟ้า (Electrolyte) คือ ขั้วไฟฟ้าที่ใช้กับเซลล์ไฟฟ้าจะทำมาจากแพลทตินัม เป็นสารตัวกลางในการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนที่ห่อหุ้มด้วยพอลิเมอร์ชนิดโพลีเอธีลีน

ตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ทำหน้าที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างไฮโดรเจนกับออกซิเจนให้ดีขึ้น โดยทั่วไปทำมาจากกระดาษคาร์บอนเคลือบด้วยผงทองคำขาวบางๆ เพื่อเป็นการเพิ่มพื้นที่ในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเจนกับออกซิเจน

หลักการการทำงานของเซลล์ไฟฟ้าประเภท PEMFC โดยการให้ไฮโดรเจนปล่อยอิเล็กตรอนและโปรตอนออกมา (ปฏิกิริยาออกซิเดชัน) ดังสมการที่ 2.1

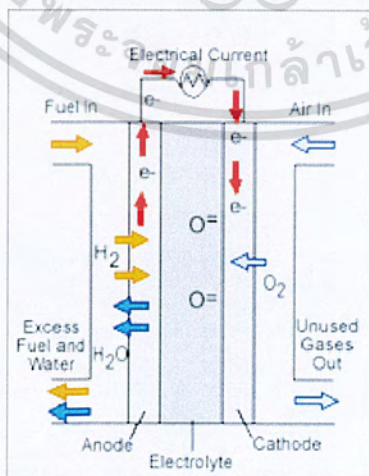


อิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ออกไปสู่วงจรไฟฟ้าภายนอกเกิดเป็นกระแสไฟฟ้าขึ้น จากนั้นกลับมายังขั้วบวก ส่วนโปรตอนจะเคลื่อนที่ผ่านเยื่อกั้นโปรตอนไปที่ขั้วบวกแล้วรวมกับ ออกซิเจน และได้โมเลกุลของน้ำ (ปฏิกิริยารีดักชัน) ดังสมการที่ 2.2



ข. Solid Oxide Fuel Cell (SOFC)

เซลล์ไฟฟ้าชนิดนี้เหมาะสำหรับใช้เป็นอุปกรณ์ต้นกำลังให้แก่อุปกรณ์กำเนิดไฟฟ้าขนาดใหญ่ที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ หรือใช้สำหรับผลิตกระแสไฟฟ้าใช้ในเมืองที่มีขนาดใหญ่ มีช่วงของอุณหภูมิการทำงานสูงอยู่ในช่วง 700-1000 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเกิดปัญหากับชิ้นส่วนอุปกรณ์เซลล์ไฟฟ้าหรือพบว่าเกิดการแตกหักขึ้นได้ เนื่องจากมีการทำงานแบบหมุนกลับ ไปกลับมาซ้ำๆ ในช่วงของอุณหภูมิการทำงานสูง ซึ่งเทคโนโลยีอุปกรณ์ SOFC จะมีความเสถียรสูงมากเมื่อใช้กับงานในลักษณะที่มีความต่อเนื่อง โดยพบว่าเทคโนโลยีอุปกรณ์ SOFC มีอายุการใช้งานที่ยาวนานกว่าเซลล์ไฟฟ้าชนิดอื่นๆ ที่มีการเปรียบเทียบกันภายใต้เงื่อนไขของการทำงานที่คล้ายกัน และช่วงของอุณหภูมิการทำงานที่สูงจะมีประโยชน์อย่างมาก เนื่องจากไอน้ำที่เกิดขึ้นจากกระบวนการนี้ยังสามารถนำไปเป็นต้นกำลังในการหมุนของใบพัด เพื่อช่วยในการผลิตกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นอีกทางหนึ่ง กระบวนการนี้มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า Co-generation of Heat and Power (CHP) มีโครงสร้างหลักการทำงานดังรูปที่ 2.2 (เกรียง ไกร, 2551)



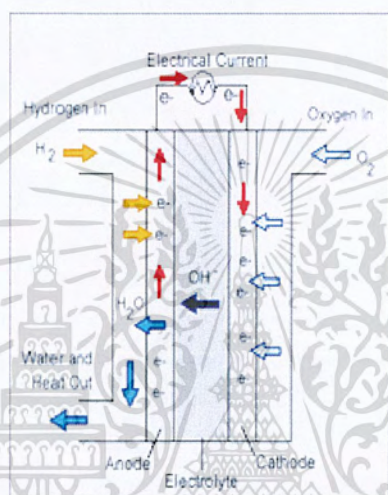
รูปที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ SOFC

ที่มา : <http://www.jpbestiblog.com/?p=262> (18 ตุลาคม 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. Alkaline Fuel Cell (AFC)

เป็นชนิดที่มีการออกแบบมานานโดยโครงการทางอวกาศของสหรัฐอเมริกา ซึ่งได้มีการใช้เทคโนโลยีอุปกรณ์เซลล์ไฟฟ้าชนิดนี้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1960 พบว่ามีข้อเสีย คือ มีความไวสูงต่อการเจือปนของสิ่งปนเปื้อนจึงจำเป็นต้องใช้ไฮโดรเจนและออกซิเจนที่บริสุทธิ์เท่านั้น ทำให้มีต้นทุนการผลิตสูง จึงไม่เหมาะที่จะลงทุนทำการผลิตในเชิงพาณิชย์ AFC มีโครงสร้างหลักการทำงานดังรูปที่ 2.3 (เกรียงไกร, 2551)



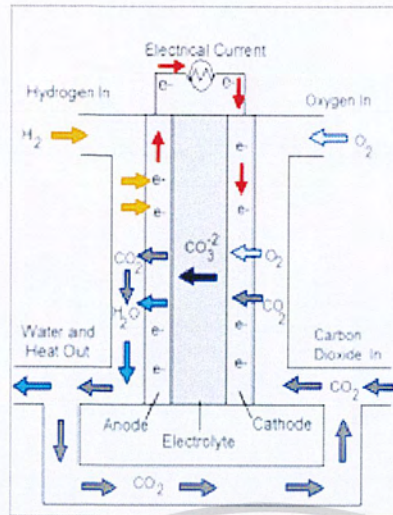
รูปที่ 2.3 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ AFC

ที่มา : http://www1.eere.energy.gov/hydrogenandfuelcells/fuelcells/fc_types.html

(18 ตุลาคม 2553)

ง. Molten-Carbonate Fuel Cell (MCFC)

เป็นเทคโนโลยีที่คล้ายกับ SOFC เหมาะสมสำหรับการใช้เป็นอุปกรณ์ต้นกำลังแก่ระบบกำเนิดไฟฟ้าขนาดใหญ่ในโรงงานอุตสาหกรรม มีช่วงอุณหภูมิการทำงานอยู่ในระหว่าง 600 องศาเซลเซียส ซึ่งช่วงของอุณหภูมิการทำงานนี้มีประโยชน์มาก เนื่องจากไอน้ำที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสามารถที่จะนำไปหมุนใบพัด ช่วยในการผลิตกระแสไฟฟ้าได้เพิ่มขึ้นอีกทางหนึ่ง พบว่าเทคโนโลยีอุปกรณ์ MCFC มีช่วงอุณหภูมิการทำงานที่ต่ำกว่า SOFC ทำให้ MCFC ไม่จำเป็นต้องใช้วัสดุที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ทำให้การออกแบบมีราคาค่าต้นทุนของวัสดุต่ำกว่า ซึ่งมีโครงสร้างหลักการทำงานดังรูปที่ 2.4 (เกรียงไกร, 2551)

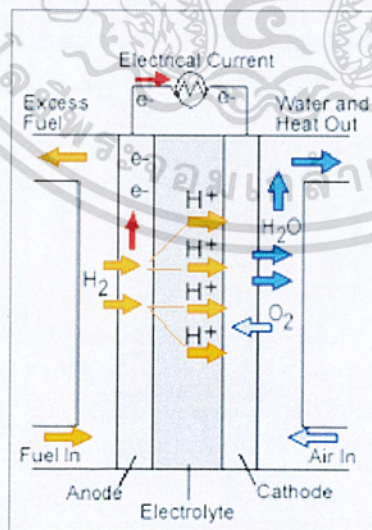


รูปที่ 2.4 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ MCFC

ที่มา : <http://www.jpbestiblog.com/?p=262> (18 ตุลาคม 2553)

จ. Phosphoric-Acid Fuel Cell (PAFC)

PAFC เหมาะสมสำหรับใช้ในระบบตัวต้นกำเนิดไฟฟ้าชนิดติดตั้งอยู่กับที่ขนาดเล็ก มีช่วงของอุณหภูมิการทำงานที่สูงกว่าแบบ PEMFC แต่ PAFC จะใช้เวลาในการอุ่นเครื่องนานกว่า ทำให้ไม่เหมาะสมสำหรับในรถยนต์ส่วนบุคคล มีโครงสร้างหลักการทำงานดังรูปที่ 2.5 (เกรียงไกร, 2551)



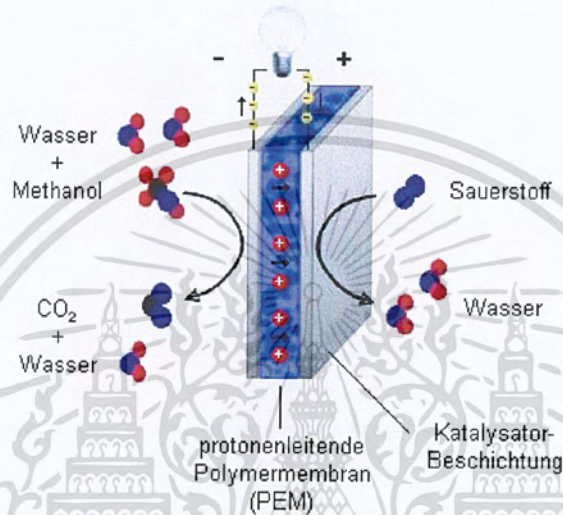
รูปที่ 2.5 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ PAFC

ที่มา : <http://www.jpbestiblog.com/?p=262> (18 ตุลาคม 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฉ. Direct-Methanol Fuel Cell (DMFC)

DMFC เมื่อเปรียบเทียบกับ PEMFC พบว่ามีประสิทธิภาพที่น้อยกว่าจึงทำให้เทคโนโลยีอุปกรณ์ DMFC ต้องมีการออกแบบโดยการใช้จำนวนของแพลตตินัมเป็นจำนวนมากในการกระตุ้นระบบจึงทำให้มีราคาต้นทุนในการออกแบบสูงมาก ซึ่งมีโครงสร้างหลักการทำงานดังรูปที่ 2.6 (เกรียงไกร, 2551)



รูปที่ 2.6 ลักษณะโครงสร้างการทำงานของ DMFC

ที่มา : <http://www.hycar.de/dmfc.htm> (18 ตุลาคม 2553)

2.1.2 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ (microbial fuel cell)

เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพจัดเป็นดังปฏิกรณ์ทางชีวภาพ สามารถเปลี่ยนพลังงานเคมี (อยู่ในรูปพันธะเคมีของสารประกอบอินทรีย์) ไปเป็นพลังงานไฟฟ้า โดยใช้จุลินทรีย์เป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาภายใต้สภาวะไร้อากาศ ซึ่งไฟฟ้าที่ได้เป็นผลมาจากการแตกตัวของสารอินทรีย์ สภาพวิกฤตทางพลังงานทำให้ความสนใจในการศึกษาเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพเพิ่มมากขึ้น หรือการผลิตไฮโดรเจนจากชีวมวลที่ปราศจากการปลดปล่อยคาร์บอนเข้าสู่ระบบนิเวศน์วิทยา เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพสามารถนำไปใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ นอกจากนี้ยังศึกษาถึงการนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านตัวตรวจวัดทางชีวภาพ (biosensor) ได้แก่ การติดตามระดับออกซิเจนที่นำไปใช้ในการย่อยสลายทางชีวภาพ (BOD) พลังงานไฟฟ้าที่ได้ และประสิทธิภาพความจุไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

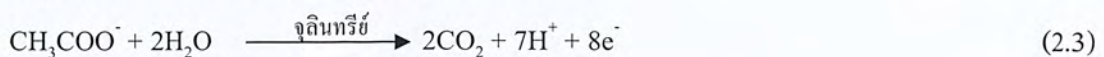
(coulombic efficiency) สัมพันธ์กับชนิดของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในบริเวณแอโนด (anodic chamber) โครงสร้าง และสภาวะการทำงานของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ

เทคโนโลยีเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพสามารถเปลี่ยนพลังงานที่เก็บสะสมอยู่ในพันธะเคมีของสารประกอบอินทรีย์ไปเป็นพลังงานไฟฟ้า ซึ่งเป็นผลมาจากจุลินทรีย์เป็นตัวกระตุ้น แนวทางนี้ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์อย่างมาก (Allen และ Bennetto, 1993; Gil และคณะ, 2003; Moon และคณะ, 2006; Choi และคณะ, 2003) จุลินทรีย์สามารถนำมาใช้ในเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพเพื่อผลิตกระแสไฟฟ้าในระหว่างที่มีการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ หรือของเสีย (Park และ Zeikus, 2000; Oh และ Logan, 2005) รูปที่ 2.7 แสดงแผนภาพพื้นฐานของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพเพื่อผลิตไฟฟ้า ซึ่งประกอบด้วยบริเวณแอโนด และบริเวณคาโทด แบ่งแยกออกจากกันด้วยเยื่อกั้นแลกเปลี่ยนโปรตอน (Wilkinson, 2000; Gil และคณะ, 2003)

จุลินทรีย์บริเวณแอโนดของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ ทำหน้าที่ออกซิไดซ์สารอินทรีย์พร้อมกับการปลดปล่อยอิเล็กตรอน และโปรตอน ซึ่งมีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ร่วมของกระบวนการออกซิเดชัน แต่อย่างไรก็ตามไม่พบการปลดปล่อยคาร์บอนโดยรวม เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ในชีวมวลในแหล่งธรรมชาติมีจุดกำเนิดมาจากกระบวนการสังเคราะห์แสง แสดงว่ากระบวนการนี้ต่างไปจากการเผาไหม้โดยตรง เนื่องจากอิเล็กตรอนเคลื่อนที่ไปยังขั้วแอโนดแล้วจึงส่งผ่านไปยังขั้วคาโทดโดยวงจรภายนอก ขณะที่โปรตอนเคลื่อนที่ผ่านเยื่อกั้น (salt bridge) ไปยังขั้วคาโทดเพื่อรับอิเล็กตรอน แล้วเปลี่ยนเป็นน้ำ การผลิตกระแสไฟฟ้าทางชีวภาพต้องควบคุมไม่ให้ได้รับออกซิเจนหรือตัวรับอิเล็กตรอนใดนอกเหนือไปจากขั้วแอโนดจึงจำเป็นต้องให้จุลินทรีย์เจริญอยู่ในสภาพไร้อากาศ

ปฏิกิริยาที่ขั้วอิเล็กโทรดทั้ง 2 แสดงดังสมการที่ 2.3 และ 2.4 โดยใช้อะซิเตดเป็นตัวอย่างสารอินทรีย์

ปฏิกิริยาขั้วแอโนด (เมื่อใช้อะซิเตดเป็นสับเตรท)



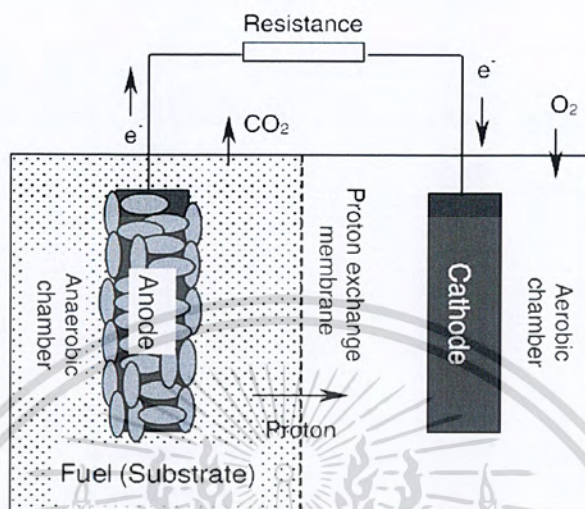
ปฏิกิริยาขั้วคาโทด



ปฏิกิริยาโดยรวมจะเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารอินทรีย์ไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ พร้อมทั้งผลิตอิเล็กตรอนออกมาด้วย โดยพื้นฐานคู่อิเล็กโทรดข้างต้นอธิบายได้ว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพสามารถผลิตไฟฟ้าจากการไหลของอิเล็กตรอนจากส่วนอโนดไปยังส่วนคาโทดโดยผ่านวงจรภายนอก



รูปที่ 2.7 แผนภาพเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพพื้นฐาน ซึ่งประกอบด้วยบริเวณอโนด และคาโทด
ที่มา : Zhuwei และคณะ (2007)

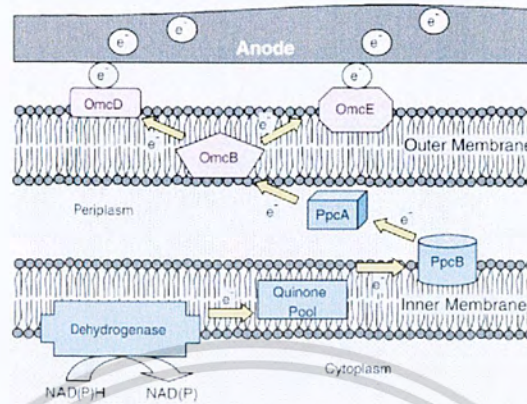
2.1.2.1 กลไกการส่งอิเล็กตรอนบริเวณอโนดในเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ

กลไกการส่งอิเล็กตรอนบริเวณอโนดในเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ จัดเป็นสิ่งสำคัญที่จำเป็นต้องทำการศึกษาให้เข้าใจทฤษฎีการทำงานของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ จากที่อธิบายข้างต้น พบว่าจุลินทรีย์ส่งอิเล็กตรอนไปยังขั้วอิเล็กโทรด โดยอาศัยระบบการส่งผ่านอิเล็กตรอนที่ประกอบด้วยสารต่างๆ ที่อยู่บนผนังเซลล์เมมเบรน และสารละลายที่อยู่ในบริเวณอโนด ขณะที่ *Geobacter* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถใช้โลหะเพื่อผลิตพลังงานสำหรับใช้ในกิจกรรมทางชีวภาพ ซึ่งอยู่ในรูป ATP ระหว่างการใช้สารอาหาร พร้อมทั้งปฏิกริยารีดักชันโลหะออกไซด์ภายใต้สภาวะไร้อากาศภายในดิน หรือตะกอนดินใต้น้ำ อิเล็กตรอนส่งไปยังตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย เช่น Fe₂O₃ เนื่องจากจุลินทรีย์รีดิวซ์โลหะ (metal reducing microorganisms) สัมผัสกับโลหะออกไซด์โดยตรง (Lovley และคณะ, 2004) ปฏิกริยาที่ขั้วอโนดของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพไร้สารส่งอิเล็กตรอน ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถรีดิวซ์โลหะ ซึ่งอยู่ในวงศ์ *Shewanella*, *Rhodoferrax*, และ *Geobacter* โดยขั้วอโนดทำหน้าที่คล้ายเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายเช่นเดียวกับโลหะออกไซด์ ดังรูปที่ 2.8 แสดงสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับการส่งอิเล็กตรอนจากตัวรับ-ส่งอิเล็กตรอนภายใน

เซลล์ ไปยังโลหะของแข็งที่ใช้เป็นขั้วอโนด โดยจุลินทรีย์ที่สามารถรีดิวซ์โลหะ (Lovley และคณะ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และเผยแพร่ในนามของศูนย์วิจัยและพัฒนาชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี หากมีข้อผิดพลาดประการใด ขออภัยและสงวนสิทธิ์ในเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

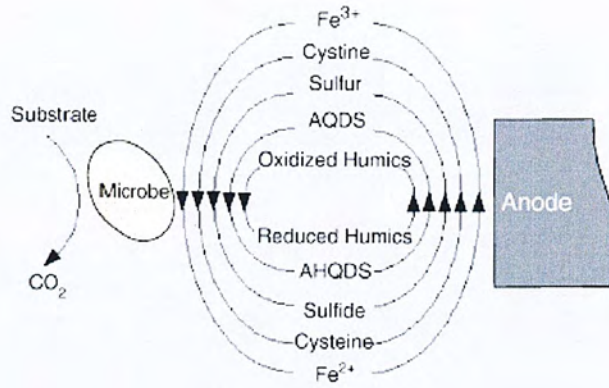
Holmes, 2004). *S. putrefaciens*, *G. sulfurreducens*, *G. metallireducens* และ *R. ferrireducens* ส่งอิเล็กตรอนไปยังแอโนดด้วยวิธีการนี้



รูปที่ 2.8 แสดงองค์ประกอบต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการส่งอิเล็กตรอนจากภายในเซลล์ไปยังขั้วแอโนดในเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์ที่สามารถรีดิวซ์โลหะ (กลุ่ม *Geobacter* species) ที่มา : Lovley และคณะ (2004)

แม้ว่าเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพไร้สารส่งอิเล็กตรอน จำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์ที่สามารถรีดิวซ์โลหะเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์—แต่ก็มีข้อยกเว้นสามารถใช้จุลินทรีย์อื่นได้ เช่น *Clostridium butyricum* (Oh และ Logan, 2005; Park และคณะ, 2001) สารส่งอิเล็กตรอน เช่น โมเลกุลสี (dye molecules) และ สารประกอบฮิวมิก (humic substances) อาจส่งผลกระทบต่อเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพไร้สารส่งอิเล็กตรอน ทั้งที่ตัวจุลินทรีย์ทำหน้าที่เป็นแอโนด (anodophiles) สามารถส่งอิเล็กตรอนไปยังขั้วแอโนดได้โดยตรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะแรกของการสร้างแผ่นฟิล์ม สารส่งอิเล็กตรอน เช่น Mn^{4+} หรือ neutral red (NR) สามารถรวมจับกับขั้วแอโนดเมื่อใช้เชื้อ *S. putrefaciens* ทำให้ประสิทธิภาพของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพมีค่าเพิ่มขึ้น (Park และ Zeikus, 2002) สารส่งอิเล็กตรอนมีบทบาทสำคัญมากสำหรับจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถส่งอิเล็กตรอนไปยังขั้วแอโนด กระบวนการพื้นฐานมีขั้นตอนแสดงดังรูปที่ 2.9 (Lovley และคณะ, 1993, 2004; Ieropoulos และคณะ, 2005) พบว่าสารส่งอิเล็กตรอนมีหน้าที่รับ-ส่งอิเล็กตรอน โดยจับอิเล็กตรอนจากจุลินทรีย์แล้วจากนั้นปล่อยไปยังผิวหน้าขั้วแอโนด *Actinobacillus succinogenes*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens* จำเป็นต้องได้รับสารส่งอิเล็กตรอนจากภายนอก ขณะที่จุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตได้เอง ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* สร้าง pyocyanin เพื่อรับ-ส่งอิเล็กตรอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



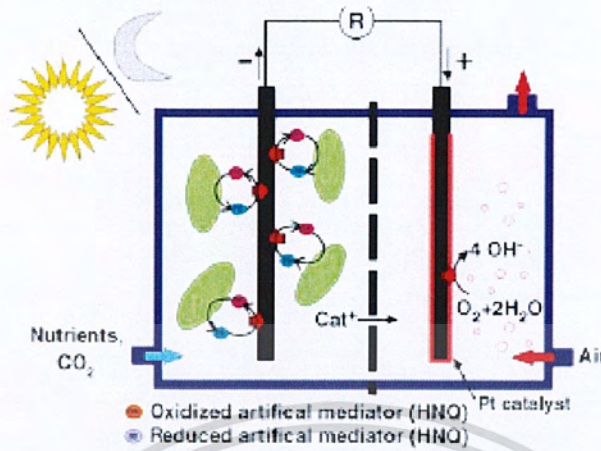
รูปที่ 2.9 แบบแผนการส่งอิเล็กตรอนผ่านสารเคมีต่างๆ ที่มีคุณสมบัติรับ-ส่งอิเล็กตรอน ระหว่างกิจกรรมเคมีไฟฟ้าชีวภาพของจุลินทรีย์ และขั้วแอโนด
ที่มา : Lovley และคณะ (1993)

2.1.2.2 ประเภทของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ

เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงพัฒนาขึ้นในช่วงปี 1960s โดยใช้ตัวกระตุ้นทางไฟฟ้าโลหะ (metal electrocatalyst) ได้แก่ จุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงที่ผลิตไฮโดรเจน และขั้วแอโนดชนิดตัวกระตุ้นทางไฟฟ้า และต่อมาในช่วงปี 1980s ได้ประยุกต์ใช้สารส่งอิเล็กตรอนที่ส่วนแอโนดใช้จุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสง และสารส่งอิเล็กตรอนที่ส่วนแอโนด (Berk และ Canfield, 1964; Tanaka และคณะ, 1985) เพื่อตระหนักถึงความต้องการพลังงานที่ยั่งยืน ทำให้แนวความคิดเกี่ยวกับพลังงานแสงอาทิตย์ได้รับความสนใจมากขึ้น ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา แนวทางใหม่ๆ นำมาใช้เพื่อเปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์โดยตัวกระตุ้นทางชีวภาพ ได้พัฒนาไปเป็นเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ ซึ่งอยู่บนพื้นฐานการแยกส่วน หรือรวมพลังงานที่สงวนไว้สำหรับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และการสร้างไฟฟ้าในระยะไม่ได้รับแสง (dark period) หรือการย่อยสลายสารอินทรีย์ (heterotrophic condition) โดยไม่ใช้สารส่งอิเล็กตรอน เกี่ยวกับเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพสังเคราะห์ด้วยแสงที่สามารถผลิตไฮโดรเจน และขั้วแอโนดชนิดตัวกระตุ้นทางไฟฟ้า จนพัฒนาไปเป็นกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ขั้วคาโทดเพื่อผลิตออกซิเจน เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงสามารถนำมาใช้สร้างไฟฟ้าทางชีวภาพ (bioelectricity generation) ไปพร้อมกับการลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากชั้นบรรยากาศโดยทำงานร่วมกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Schampelaire และ Verstraete, 2009; Cao และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

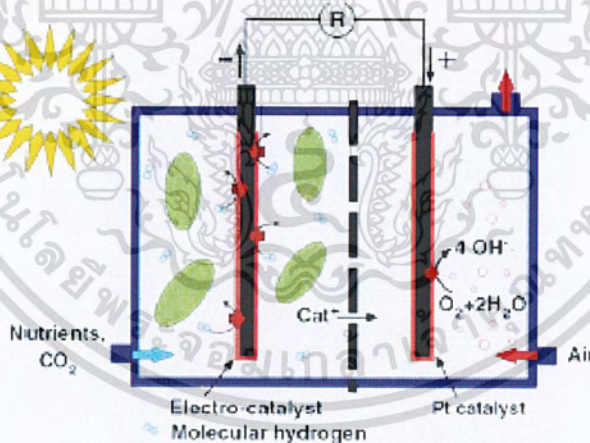
ก. จุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงที่ใช้อาโนด และใช้สารส่งอิเล็กตรอน



รูปที่ 2.10 รูปแบบเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงแบบสารส่งอิเล็กตรอน
ที่มา : Rosenbaum และคณะ (2010)

ข. จุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงที่สามารถผลิตไฮโดรเจน และใช้อาโนดชนิด

ตัวกระตุ้นทางไฟฟ้า



รูปที่ 2.11 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงแบบตัวกระตุ้นทางไฟฟ้า
ที่มา : Rosenbaum และคณะ (2010)

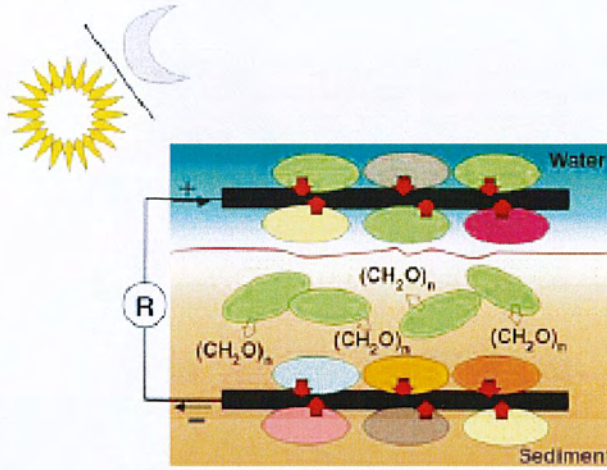
ค. จุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงทำงานร่วมกับจุลินทรีย์ย่อยสลาย

สารอินทรีย์ที่ใช้อาโนด ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 ระบบ ได้แก่

- 1) ความสัมพันธ์เสริมกันระหว่างจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสง และกลุ่ม

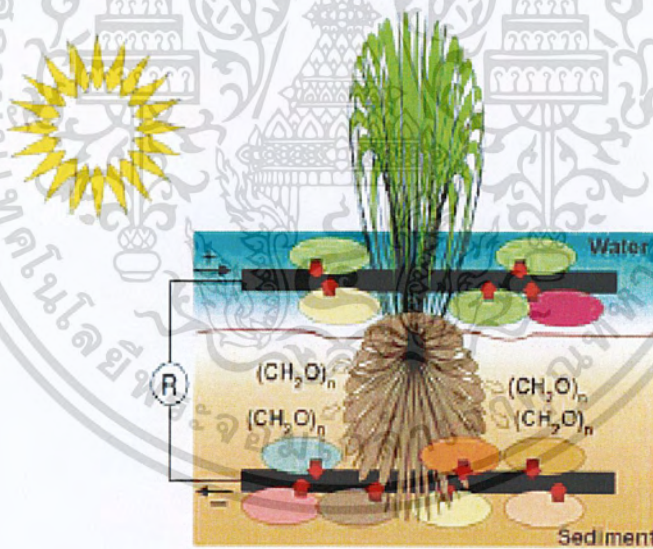
จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ในดินตะกอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.12 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงร่วมกับการย่อยสลายสารอินทรีย์
ที่มา : Rosenbaum และคณะ (2010)

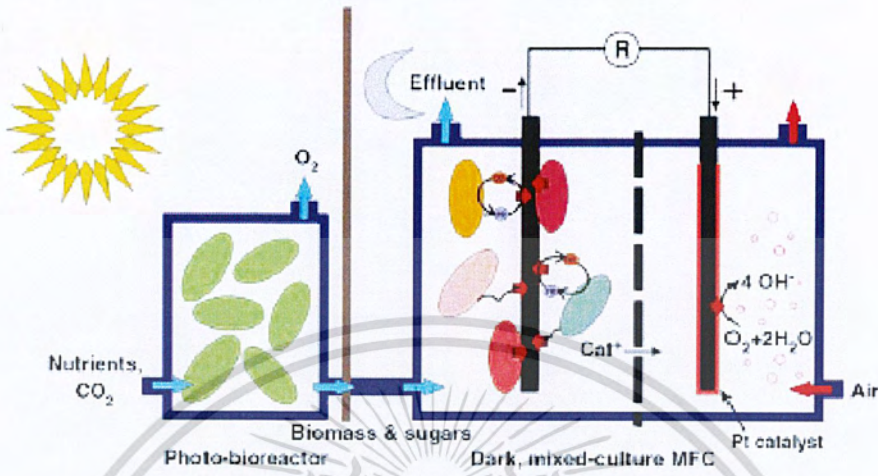
2) ความสัมพันธ์แบบเสริมกันระหว่างพืช และกลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ในตะกอนดิน



รูปที่ 2.13 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงจากตะกอนดินระหว่างพืชและ
จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์

ที่มา : Rosenbaum และคณะ (2010)

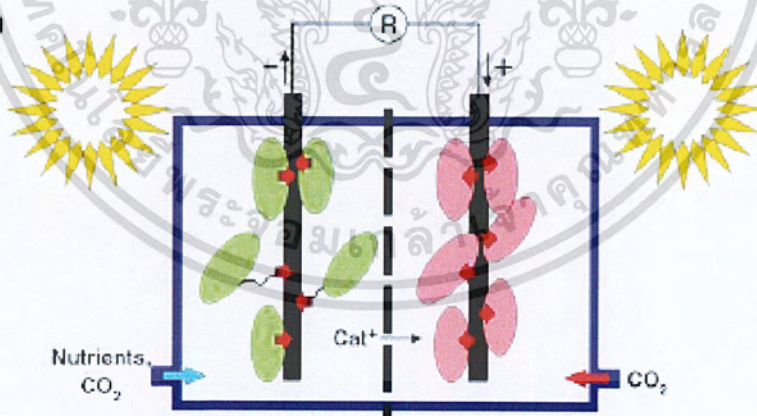
3) กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงแยกจากเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้แสงที่ชีวอาโนด



รูปที่ 2.14 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้แสงที่ชีวอาโนด ที่มา Rosenbaum และคณะ (2010)

ง. การส่งอิเล็กตรอนจากแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงไปยังอิเล็กโตรด

โดยตรง



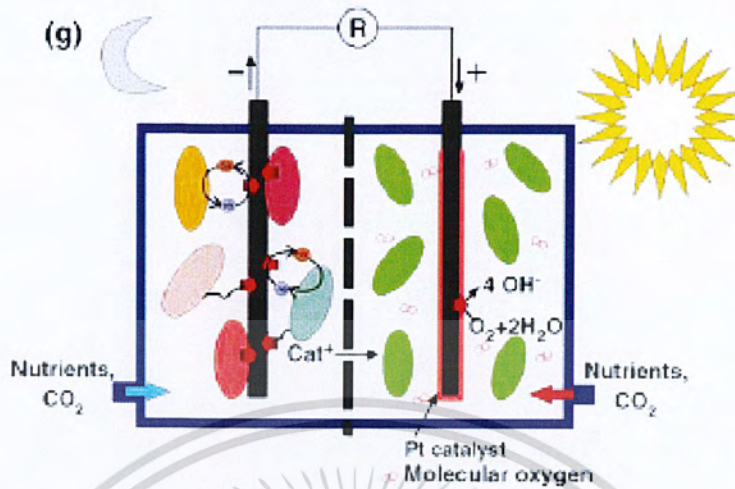
รูปที่ 2.15 เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพที่ส่งอิเล็กตรอนจากแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงไปยังอิเล็กโตรด

โดยตรง

ที่มา Rosenbaum และคณะ (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ. กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ขั้วคาโทดเพื่อสร้างออกซิเจน



ภาพที่ 2.16. เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์สังเคราะห์ด้วยแสงที่ขั้วคาโทดเพื่อสร้างออกซิเจน ที่มา Rosenbaum และคณะ (2010)

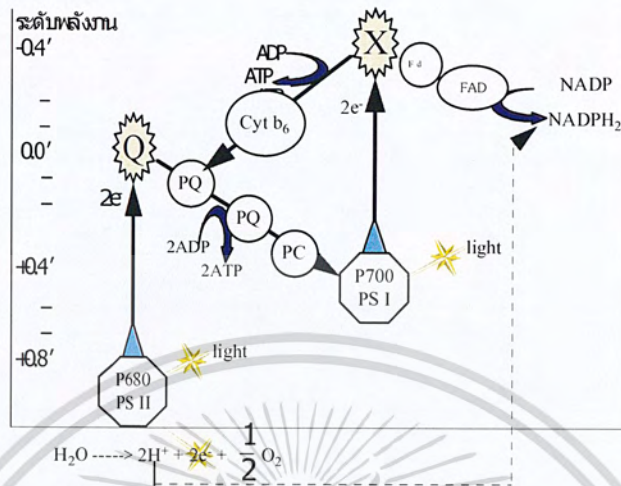
2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ

2.2.1 กลุ่มโฟโตโทรฟิเคยูคาริโอต (phototrophic eukaryote)

สาหร่ายบางชนิดมีความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยจะเกิดขึ้นเมื่อมีการปรับตัวภายใต้สภาวะที่ไร้ออกซิเจน ซึ่งจะมีการกระตุ้นหรือสังเคราะห์เอนไซม์ไฮโดรจีเนส (hydrogenase) โดยอิเล็กตรอนจะถูกส่งผ่านจากเฟอร์รีดอกซิน (ferredoxin) เพื่อไปใช้รีดิวซ์โปรตอนไปเป็นก๊าซไฮโดรเจน โดยปฏิกิริยาดังกล่าวถูกเร่งการทำงานด้วยเอนไซม์ไฮโดรจีเนส ซึ่งภายใต้สภาวะที่มีแสงจะมีการกระตุ้นให้มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจน แต่เมื่อความเข้มแสงเพิ่มสูงขึ้น กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะถูกยับยั้งด้วยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

สำหรับกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย หรือ กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของกลุ่มโฟโตโทรฟิเคยูคาริโอต โดยอิเล็กตรอนจะถูกส่งผ่านระบบแสง (photosystem) 2 ระบบ คือ ระบบแสงที่ 1 (photosystem I : PSI) ที่ดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร (P700) และระบบแสงที่ 2 (photosystem II : PSII) ที่ดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร (P680) อิเล็กตรอนที่ถูกใช้ในกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนนั้น ได้มาจากกระบวนการ

แตกตัวของโมเลกุลน้ำในระบบแสงที่ 2 และการย่อยสลายสารคาร์โบไฮเดรตที่สะสมภายในเซลล์ โดยอิเล็กตรอนที่ได้จะเข้าสู่ระบบแสงที่ 1



รูปที่ 2.17 วิธีของการสังเคราะห์ด้วยแสงและการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยสาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย

ที่มา : <http://manage.brr.ac.th/biology/Book4S/TextBook/UNIT12.doc> (20 ตุลาคม 2553)

2.2.2 กลุ่มโฟโตโทรฟิกโพรคาริโอต (phototrophic prokaryote)

2.2.2.1 แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงแบบใช้ออกซิเจน (oxygenic photosynthetic bacteria)

กลุ่มนี้ ได้แก่ ไซยาโนแบคทีเรีย หรือแบคทีเรียสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดที่มีความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ไซยาโนแบคทีเรียจัดเป็นโพรคาริโอตที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงแบบใช้ออกซิเจน ที่ประกอบด้วยระบบแสง 2 ระบบ และมีชนิดของคลอโรฟิลล์เหมือนสาหร่ายสีเขียวและพืช

กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของไซยาโนแบคทีเรียคล้ายกับสาหร่าย แต่ไซยาโนแบคทีเรียส่วนใหญ่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนผ่านทางกระบวนการตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) แต่เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจนอย่างจำกัดจะมีการตรึงโมเลกุลไนโตรเจนพร้อมกับการผลิตก๊าซไฮโดรเจน และมีการผลิตกลูตามีน โดยกลูตามีนที่ผลิตได้จะถูกนำไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับเซลล์ปกติ (vegetative cells)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.2 แบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงแบบไร้ออกซิเจน (anoxygenic photosynthetic bacteria)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีแบคทีเรียโอคโลโรฟิลล์ ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน และไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ บทบาทของแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสง มีความสำคัญในกระบวนการนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ (CO₂-assimilation) การตรึงไนโตรเจน และยังสามารถสังเคราะห์แสงในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนเพื่อการผลิตไฮโดรเจน และนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการบำบัดน้ำเสียจากบ้านเรือน หรือจากการทำปุ๋ยสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (กัมปนาท และธีราภรณ์, 2551)

ก. ลักษณะของแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงแบบไร้ออกซิเจน (กัมปนาท และธีราภรณ์, 2551)

- 1) เซลล์มีรูปร่างทรงกลม แท่ง รูปไข่ หรือเป็นเกลียว เส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์อยู่ระหว่าง 0.3 – 6.0 ไมครอน
- 2) การเพิ่มจำนวนส่วนใหญ่เป็นแบบแบ่งตัว (binary fission) แต่มีบางชนิดในวงศ์ Rhodospirillaceae แบ่งตัวโดยการแตกหน่อ
- 3) เป็นแบคทีเรียดิสแกรมลบ
- 4) เซลล์แขวนลอย (cell suspension) มีสีม่วง แดงเข้ม แดง ส้ม น้ำตาล หรือสีเขียว อาจมีการสะสมเม็ดซัลเฟอร์
- 5) มีรงควัตถุเป็นแบคทีเรียโอคโลโรฟิลล์ (bacteriochlorophyll) และแคโรทีนอยด์ (carotenoid)
- 6) การสังเคราะห์ด้วยแสงแตกต่างจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และพืชสีเขียว เพราะเกิดในสภาพไร้ออกซิเจน ไม่มีการสร้างออกซิเจนในการสังเคราะห์ด้วยแสง เนื่องจากไม่ได้ใช้น้ำเป็นตัวให้อิเล็กตรอน แต่ใช้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ หรือสารอินทรีย์แทนการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยวัฏจักรคัลวิน หรือวัฏจักรรีดักทีฟ เพนโทส ฟอสเฟต
- 7) มีความสามารถในการตรึงก๊าซไนโตรเจนได้ เนื่องจากมีไซโตโครม (cytochrome) ยูบิควิโนน (ubiquinone) และมีเฟอร์รีดอกซิน (ferredoxin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีเหล็ก แต่ไม่มีฮีม (non-heme internal membrane iron protein)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8) รงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสงอยู่ที่เยื่อภายในเซลล์ อาจมีลักษณะเป็นถุง (vesicle) ในสกุล Chlorobium

9) G+G Content อยู่ระหว่างร้อยละ โมล 45-73 (mol %)

ข. แหล่งที่อยู่ของแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงแบบไร้ออกซิเจน

แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงพบกระจายทั่วไปในธรรมชาติตามแหล่งน้ำจืดที่ไม่มีก๊าซออกซิเจน และก้นแหล่งน้ำที่มีสารอินทรีย์สะสมอยู่มาก เช่น บ่อน้ำนิ่ง บึง หนอง หรือพบในน้ำเค็ม ก้นทะเลสาบน้ำเค็ม น้ำทะเลสาบที่มีความเป็นด่าง น้ำที่มีความเป็นกรด น้ำพุร้อน น้ำทะเลบริเวณขั้วโลกเหนือ และบริเวณเทือกเขาตามธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบตามแหล่งน้ำเสียและบ่อบำบัดน้ำเสียอีกด้วย (กัมปนาท และธีราภรณ์, 2551)

ค. การจัดจำแนกแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงแบบไร้ออกซิเจน โดยทั่วไปจะแบ่งแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1) แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีเขียว (green photosynthetic bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้จัดอยู่ในวงศ์ Chlorobiaceae มีลักษณะเซลล์เป็นเส้นสาย ไม่มีระบบอินทราไซโตพลาสติกเมมเบรน (intracytoplasmic membrane system) มีโครงสร้างพิเศษได้แก่ คลอโรโซม (chlorobium) หรือคลอโรโซมเวสิเคิล (chlorosome vesicle) จะพบอยู่ภายในไซโตพลาสซึม หรือติดอยู่ที่ผิวของไซโตพลาสติกเมมเบรน คลอโรโซมมีขนาดใหญ่ประกอบด้วย แบคทีเรียโอคลอโรฟิลล์ ซี ดี และอี และมีโครงสร้างในการรับพลังงาน (light-harvesting) ศูนย์กลางของปฏิกิริยาของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะพบอยู่ไซโตพลาสติกเมมเบรนบริเวณที่อยู่ติดกับคลอโรโซม และจะไม่สะสมก้ำมะถันไว้ภายในเซลล์ (ธัญญรีย์ และคณะ, 2550)

2) แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีม่วง (Purple Photosynthetic bacteria)

แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

- แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีม่วงกลุ่มสะสมกำมะถัน (Purple Sulfur bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้จัดอยู่ในวงศ์ Chromatiaceae พบว่าสามารถเจริญได้ดีในสภาพโฟโตออโตโทรบ (photoautotroph) ซึ่งสามารถใช้สารประกอบซัลเฟอร์ ซัลไฟด์ และไทโอซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอน เพื่อรีดิวซ์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นสารอาหารภายในเซลล์ได้ (ธัญญรีย์ และคณะ, 2550) แสดงดังสมการที่ 2.5-2.7



- แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน (Purple Non Sulfur bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้จัดอยู่ในวงศ์ Rhodospirillaceae เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถใช้ซัลไฟด์เป็นตัวให้อิเล็กตรอนเพื่อรีดิวซ์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นสารอาหารภายในเซลล์ได้ และมีเมแทบอลิซึมดีกว่าแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีม่วงที่ใช้ซัลเฟอร์ เนื่องจากสามารถเจริญได้ทั้งแบบโฟโตเฮเทอโรโทรบ และโฟโตออโตโทรบ โดยใช้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นตัวให้อิเล็กตรอน ซึ่งส่วนใหญ่แบคทีเรียกลุ่มนี้จะทนต่อสภาพที่มีออกซิเจน จึงสามารถเจริญภายใต้สภาวะแบบเฮเทอโรโทรบที่มีอากาศ และไม่มีแสง ระบบในการสังเคราะห์ด้วยแสงประกอบด้วยแบคทีเรียโอดอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์หลายชนิด (ธัญญรีย์ และคณะ, 2550)

แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำธรรมชาติในบริเวณที่มีแสงสว่างส่องถึง มีสารอินทรีย์ และพบการรวมตัวเป็นกลุ่มในแหล่งน้ำที่ไม่มีออกซิเจน และมีแสงเล็กน้อย ในแหล่งน้ำจืดที่มีซัลไฟด์อยู่จะพบน้อยมาก แต่บางชนิดก็อาศัยอยู่ได้ในที่มีปริมาณซัลไฟด์อยู่สูง นอกจากนี้ยังพบได้ในพื้นดิน แม่น้ำ คลอง หรือแหล่งน้ำที่สกปรก เช่น บ่อน้ำบาดน้ำเสีย ซึ่งมีปริมาณสารอินทรีย์สูง จึงเป็นแหล่งที่แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงกลุ่มนี้เจริญได้ดี โดยทั่วไปมักพบการเจริญอย่างรวดเร็วของแบคทีเรียสังเคราะห์

ด้วยแสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมก้ำมะถัน ทำให้ปัจจุบันแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมก้ำมะถัน ได้รับความสนใจในทางด้านการศึกษาและวิจัยอย่างกว้างขวาง มีการนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพกันอย่างแพร่หลาย (รัฐณัฐรี และคณะ, 2550)

2.3 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

จัดอยู่ในวงศ์ Eumycota และสกุล *Saccharomyces* เซลล์มีขนาดประมาณ $3 - 4 \times 10 - 30$ ไมโครเมตร มีลักษณะรูปร่างกลม รูปไข่ รูปรี หรือเป็นเซลล์ยาว ลักษณะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ กลุ่มก้อน หรือต่อกันเป็นสายยาว มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ คือ การสร้างแอสโกสปอร์ และไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ หรือแบ่งตัว เป็นแฟคัลเตทีฟแอนแอโรบ (facultative anaerobe) สามารถสร้างเส้นสายเทียม (pseudohyphae) ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar โคลินิมิสีทิบแสง ใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมแอลกอฮอล์ สามารถทำโปรตีนเซลล์เดี่ยวหรือทำเป็นอาหาร โดยใช้ *Saccharomyces* เพาะเลี้ยงในของเสียจากอุตสาหกรรมต่างๆ เพื่อนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ ซึ่งให้คุณค่าทางอาหารสูง (พนิดา และคณะ, 2547)

2.3.1 การสืบพันธุ์ของยีสต์ (อรรรรณ และคณะ, 2552)

เนื่องจากยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ด้วยเซลล์เดี่ยว ดังนั้นจึงมีการสืบพันธุ์ที่ไม่ยุ่งยากและซับซ้อน เหมือนสิ่งมีชีวิตชั้นสูง การสืบพันธุ์มีทั้งแบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศ ดังนี้

2.3.1.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

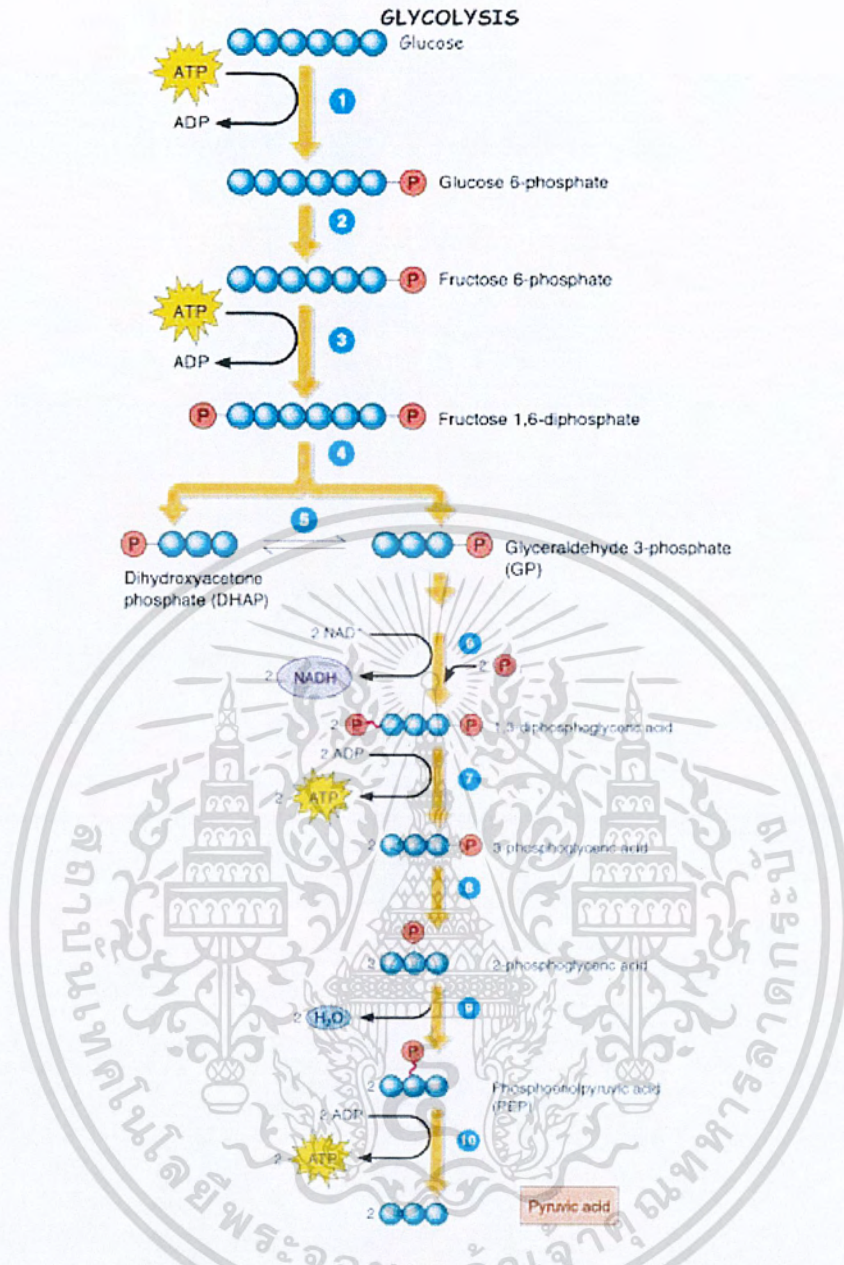
การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เมื่อเซลล์ยีสต์เจริญเต็มที่จะมีการแตกหน่อ ให้เซลล์ใหม่มีโครงสร้างและองค์ประกอบทุกอย่างเหมือนเซลล์แม่ทุกประการ เพียงแต่มีขนาดเล็กกว่า ตำแหน่งของเซลล์ที่มีการแตกหน่อจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ บางสายพันธุ์มีการแตกหน่อบริเวณปลายข้างใดข้างหนึ่ง หรือแตกหน่อที่ปลายทั้ง 2 ข้าง หรืออาจจะแตกหน่อได้รอบเซลล์ แต่บางสายพันธุ์เมื่อเซลล์เจริญเติบโตเต็มที่แล้วก็จะแบ่งตัวออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน (Fission) คล้ายแบคทีเรีย ได้เซลล์ใหม่ 2 เซลล์

2.3.1.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็นการสืบพันธุ์ที่อาศัยเซลล์สืบพันธุ์ 2 ชนิด ซึ่งจะไม่ยุ่งยากและซับซ้อนเหมือนในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ตลอดจนเซลล์สืบพันธุ์ของยีสต์ยังไม่สามารถแบ่งแยกออกได้อย่างเด่นชัดว่าเป็นเพศผู้หรือเพศเมีย ดังนั้น จึงแบ่งเรียกว่า a- และ a+ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของยีสต์จะเกิดในโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายถุงที่เรียกว่า “แอสกัส” (ascus) ส่วนใหญ่จะมีปริมาณตั้งแต่ 1 ถึง 4 สปอร์ แต่ก็มีบางสายพันธุ์มีปริมาณสปอร์ตั้งแต่ 8 ถึง 16 สปอร์ ซึ่งไม่มากนักได้แก่ยีสต์ในกลุ่ม Lipomyces

2.3.2 กระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์

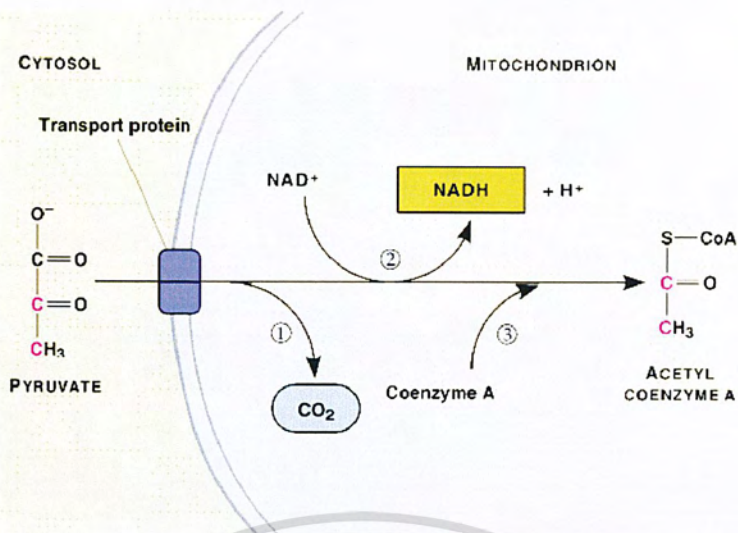
การสลายสารอาหารแบบใช้ออกซิเจนเป็นการสลายสารอินทรีย์ที่มีพลังงานสูง ให้เป็นสารอินทรีย์ที่มีพลังงานต่ำ โดยใช้ออกซิเจน เช่น การสลายกลูโคส ซึ่งพลังงานที่อยู่ในโมเลกุลของกลูโคสจะปลดปล่อยออกมาและนำไปสังเคราะห์สารพลังงานสูง (ATP) ซึ่งเซลล์สามารถนำไปใช้ได้ แต่เนื่องจากการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพียงครั้งเดียวจะให้พลังงานสูงมาก ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์ เซลล์จึงมีกระบวนการที่จะปลดปล่อยพลังงานออกมาเล็กน้อย จึงต้องเกิดปฏิกิริยาหลายขั้นตอน และเกิดในออร์แกเนลล์ที่เรียกว่า ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) การสลายกลูโคสในกระบวนการหายใจมีลักษณะเป็นปฏิกิริยาหลายๆปฏิกิริยาเชื่อมต่อกัน โดยปฏิกิริยาเหล่านี้แบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอน คือ กระบวนการไกลโคลิซิส การสังเคราะห์แอสิติลโคเอนไซม์ เอ และวัฏจักรคัลวิน



รูปที่ 2.18 กระบวนการไกลโคลิซิสอย่างละเอียด ทั้ง 10 ปฏิกิริยา

ที่มา : <http://www.btinternet.com/~n.j.f/olympicsr/images/P-210-glycolysis.jpg> (20 ตุลาคม 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.19 กระบวนการการสังเคราะห์แอสทิลโคเอนไซม์ เอ

ที่มา : <http://www.btinternet.com/~n.j.f/olympicsr/images/P-210-glycolysis.jpg> (20 ตุลาคม 2553)



รูปที่ 2.20 วัฏจักรคัลวิน

ที่มา : <http://stevebambas.com/images/AP%20220%20Krebs.jpg> (20 ตุลาคม 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ และลักษณะทางสรีระของยีสต์ มีดังต่อไปนี้ (อรวรรณ และคณะ, 2552)

2.3.3.1 อาหาร

อาหารที่ยีสต์ใช้ได้ดี คือ น้ำตาล โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคส และฟรักโทส ยีสต์บางชนิดสามารถใช้ไคแซ็กคาไรด์พวกมอลโทส ซูโครสหรือแลคโทสได้ ส่วนพอลิแซ็กคาไรด์ที่ยีสต์บางชนิดใช้ได้ คือ แป้ง ซึ่งยีสต์ที่สามารถใช้แป้งได้ เช่น *Saccharomyces diastaticus* และ *Endomycopsis fibuligera* และมียีสต์บางชนิดเท่านั้นที่สามารถให้น้ำตาลเพนโทสได้ดีกว่าน้ำตาลเฮกโซส เช่น *Cryptococcus* ยีสต์บางพวก เช่น ฟิล์มยีสต์สามารถใช้กรดอินทรีย์ได้

ยีสต์มีกระบวนการไกลโคไลซิส 2 กระบวนการ ได้แก่ การเจริญในสภาพที่ไร้ออกซิเจนใช้กระบวนการ Embden Meyerhof Parnas pathway (EMP) ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (ใน *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis*) ส่วนการเจริญในสภาพใช้ออกซิเจนใช้กระบวนการเฮกโซสโมโนฟอสเฟต 6 - 30 เปอร์เซ็นต์ และใน *C. utilis* 30-50 เปอร์เซ็นต์ การเจริญในสภาพที่ไร้ออกซิเจนพบว่าการใช้น้ำตาลจะเข้าสู่กระบวนการหมักได้เป็นเอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยการหมักที่ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเอทานอลนี้ไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะกับการเจริญในสภาพที่ไร้ออกซิเจนเท่านั้น แต่อาจเกิดขึ้นกับการเจริญในสภาพใช้ออกซิเจนได้ เมื่อเลี้ยงยีสต์ในน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูงมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ แต่ถ้าไม่มีน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าเป็นการกระตุ้นหรือเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ในวัฏจักรคัลวิน นอกจากนี้การมีน้ำตาลยังยับยั้งการสร้างไมโทคอนเดรียอีกด้วย ซึ่งการเจริญในสภาพใช้ออกซิเจน และความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ซึ่งมีกระบวนการหายใจเช่นเดียวกับในพืชและสัตว์

2.3.3.2 อุณหภูมิ

ยีสต์แต่ละชนิดเจริญได้ดีที่อุณหภูมิแตกต่างกัน โดยยีสต์ส่วนใหญ่เป็นพวกมีโซไฟล์ (mesophile) มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ระหว่าง 20 - 30 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่ยีสต์สามารถเจริญได้มีค่าประมาณ 35 - 47 องศาเซลเซียส และ 0 - 5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แต่ยีสต์บางชนิดที่เป็นพวกไซโครไฟล์ (psychrophile) สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เช่น *Candida frigid* และ *C. nivalis* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญคือ 15 องศาเซลเซียส และไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส จัดเป็นพวกออบลิเกต ไชโครไฟล์ (obligate psychrophile) สำหรับยีสต์ที่เป็นพวกเทอร์โมไฟล์ (thermophile) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส นอกจากอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญแล้ว ยังมีผลต่อการสร้างแอสโคสปอร์ (ascospore) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างแอสโคสปอร์ของยีสต์แต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น *Saccharomyces cerevisiae* อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25 - 30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่ 35 และ 12 องศาเซลเซียส

2.3.3.3 ออกซิเจน

ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นพวกเฟล็กเททีฟแอนแอโรบ (facultative anaerobe) แต่ยีสต์เจริญในสภาพไร้ออกซิเจนได้ดี ส่วนในสภาพไร้ออกซิเจนจะเจริญได้ช้า ซึ่งในสภาพไร้ออกซิเจนยีสต์ใช้น้ำตาลโดยการออกซิเดชันโดยสมบูรณ์ได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ส่วนในสภาพไร้ออกซิเจนยีสต์จะใช้น้ำตาล โดยการหมักส่วนใหญ่เป็นการหมักให้เอทานอล แต่ในการหมักโดยยีสต์เมื่ออยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนยีสต์จะใช้น้ำตาลให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำแทนการหมักให้เอทานอล

ซึ่งออกซิเจนช่วยกระตุ้นการหมัก (negative pasteur effect) ในสภาพไร้ออกซิเจน แต่เมื่อมีน้ำตาลความเข้มข้นสูง ยีสต์สามารถหมักน้ำตาลให้เอทานอลแทนการหายใจให้คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ หรือการหายใจถูกยับยั้งด้วยการหมัก

2.3.3.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ยีสต์เจริญได้ในความเป็นกรด-ด่างช่วงกว้าง ความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่ยีสต์สามารถเจริญได้คือ 1.5 ส่วนความเป็นกรด-ด่างสูงสุดมีค่าอยู่ระหว่าง 8.0 - 8.5 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของยีสต์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ส่วนใหญ่จะอยู่ระหว่าง 4.0 - 4.5 ยีสต์ส่วนใหญ่เจริญได้ไม่ดีในสภาพที่ความเป็นกรด-ด่างมีค่าสูง นอกจากความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อการเจริญแล้วยังมีผลต่อการสร้างแอสโคสปอร์ของยีสต์ด้วย โดยในยีสต์แต่ละชนิดจะมีค่าแตกต่างกัน เช่น *Saccharomyces cerevisiae* ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงสุด และต่ำสุดอยู่ระหว่าง 9.1 - 9.2 และ 2.4 - 2.6 ตามลำดับ

2.4 สับสเตรทที่ใช้สำหรับจุลินทรีย์ผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ

สำหรับเซลล์ไฟฟ้าจากจุลินทรีย์นั้น สับสเตรทจัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญทางชีววิทยา โดยมีผลต่อการกำเนิดกระแสไฟฟ้า ซึ่งสับสเตรทประเภทต่างๆเซลล์ไฟฟ้าจากจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้สำหรับการผลิตกระแสไฟฟ้า โดยสับสเตรทจะผลิตมาจากสารประกอบบริสุทธิ์จนถึงส่วนผสมที่มีความซับซ้อนของสารประกอบอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสีย (Pant และคณะ, 2010)

2.4.1 ชนิดของวัสดุเหลือทิ้ง (waste material)

หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกวัสดุเหลือทิ้งมาใช้ในการผลิตไบโอไฮโดรเจน คือ การหาวัสดุเหลือทิ้งได้ง่าย ราคาของวัตถุดิบต่ำ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่าย ได้แก่ น้ำตาลอย่างง่าย เช่น กลูโคส ซูโครส และแลคโตส จุลินทรีย์จะสามารถย่อยสลายได้ง่ายและเป็นสับสเตรทที่ดีในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน อย่างไรก็ตามแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่บริสุทธิ์เป็นวัตถุดิบที่มีราคาแพง จึงนำวัสดุเหลือทิ้งมาใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ดังนี้

2.4.1.1 แป้งและเซลลูโลสจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรและทางอุตสาหกรรม

อาหาร

ของเหลือทิ้งทางการเกษตรและทางอุตสาหกรรมอาหาร ประกอบด้วยแป้งและเซลลูโลส ซึ่งมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตสูง แป้งเป็นของแข็งที่ง่ายต่อกระบวนการสร้างคาร์โบไฮเดรตและการผลิตก๊าซไฮโดรเจน แป้งสามารถย่อยสลายได้กับกลูโคสและมอลโทสโดยกรดและเอนไซม์ และการเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดอินทรีย์ และใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน นอกจากนี้เซลลูโลสจากของเหลือทิ้งทางการเกษตรต้องผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่าง (pretreatment) เสียก่อนแล้วจึงนำมาย่อยสลายเป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งการเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนไปเป็นกรดอินทรีย์ และสามารถใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนต่อไป (Kapdan และ Kargi, 2006)

2.4.1.2 น้ำเสียในอุตสาหกรรมที่มีแหล่งคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ และไม่มีพิษ จากสิ่งที่ปล่อยออกมาจากโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ ของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมรายวัน (daily industry), กากมะกอก (olive mill), ขนหมปัง (baker's yeast) และเบียร์ (brewery) เป็นต้น สามารถใช้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอไฮโดรเจนได้ โดยของเหลือทิ้งที่ได้อาจจะต้องผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างก่อนเพื่อกำจัดส่วนประกอบที่ไม่ต้องการ และเพื่อสมดุลทางโภชนาการ ดังนั้นคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากสิ่งปด้อยออกจากโรงงานอุตสาหกรรม สามารถนำมาผ่านกระบวนการต่างๆ เพื่อเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตจากของเหลือทิ้งไปเป็นกรดอินทรีย์ และใช้กระบวนการทางชีวภาพเพื่อเปลี่ยนไปเป็นก๊าซไฮโดรเจนต่อไป (Kapdan และ Kargi, 2006)

2.4.2 อะซิเตต (acetate)

ส่วนใหญ่จะใช้ศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ ดังนั้นอะซิเตตจึงเป็นสับสเตรทที่ถูกเลือกใช้มากสำหรับการผลิตกระแสไฟฟ้า เช่น ในกระบวนการหมักของ *C. butyricum* จะมีการสร้างกรดอะซิติกและกรดบิวทีริก ซึ่งเป็นผลมาจากสารตั้งต้นที่ใช้สำหรับกระบวนการเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียที่ใช้แสง (Liu และคณะ, 2009) อะซิเตตเป็นสารตั้งต้นที่หาง่ายและมีอยู่อย่างแพร่หลาย โดยใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อชักนำให้แบคทีเรียมีการผลิตกระแสไฟฟ้า โดยปกติจะใช้อะซิเตตเป็นสับสเตรทเพราะมีความเฉื่อย ดังนั้นอะซิเตตจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการนำไปใช้ของจุลินทรีย์ นอกจากนี้อะซิเตตยังเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของวิถีเมทาบอลิซึมสำหรับขั้นตอนที่มีแหล่งคาร์บอนสูง (Pant และคณะ, 2010)

2.4.3 กลูโคส (glucose)

กลูโคสเป็นสับสเตรทอีกอย่างหนึ่งที่เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพนำไปใช้ โดย Kim และคณะ (2000) ได้รายงานการทำงานของเซลล์ไฟฟ้าจากจุลินทรีย์ที่ใช้เชื้อ *Proteus vulgaris* โดยจะขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อของจุลินทรีย์และแหล่งกลูโคส (Pant และคณะ, 2010)

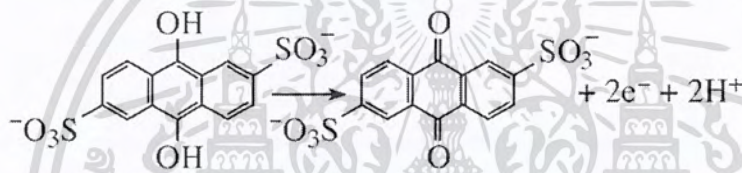
2.5 ประสิทธิภาพของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ

2.5.1 ประสิทธิภาพเชิงอุดมคติ (Ideal performance)

ประสิทธิภาพเชิงอุดมคติของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพขึ้นกับปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างสารอินทรีย์ที่มีศักย์ไฟฟ้าต่ำ เช่น กลูโคส และตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายซึ่งมีศักย์ไฟฟ้าสูง เช่น ออกซิเจน (Rabaey และ Verstrate, 2005) แต่อย่างไรก็ตามไม่สามารถคาดเดาศักย์ไฟฟ้าเซลล์

เนื่องจากอิเล็กตรอนส่งจากสารอินทรีย์ไปยังขั้วแอโนด ผ่านกระบวนการหายใจที่ซับซ้อนที่ต่างกัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามใด ๆ ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปตามชนิดของจุลินทรีย์ หรือแม้แต่จุลินทรีย์ชนิดเดียวกันที่เจริญในสภาวะต่างกัน โดยที่กระบวนการหายใจยังไม่มีการศึกษาอย่างแน่ชัด ซึ่งความสำคัญอยู่ที่ปฏิกิริยาขั้วอานอดเพื่อหาค่าศักย์ไฟฟ้าระหว่างศักย์รีดอกซ์ที่ลดลงของสารส่งอิเล็กตรอน (ถ้าใช้ในระบบ) หรือไซโตโครมตัวสุดท้ายในระบบ (สำหรับจุลินทรีย์ชอบอิเล็กตรอนหรือชอบความเป็นอานอด (electrophile/anodophile)) และขั้วอานอด สำหรับจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถปล่อยอิเล็กตรอนไปยังขั้วอานอดโดยตรงจำเป็นต้องใช้สารส่งอิเล็กตรอนไปยังขั้วอานอด (Stirling และคณะ, 1983) กรณียุติปฏิกิริยาสุดท้ายที่ขั้วอานอด ทำให้ขั้วอานอดได้รับอิเล็กตรอนจากสารส่งอิเล็กตรอน (สภาพรีดิวซ์) ดังรูปที่ 2.21 แสดงปฏิกิริยาที่ขั้วอานอดกับสาร AQDS (ทางขวาของสมการ) ซึ่งพบส่วนใหญ่ในสารประกอบฮิวมิก (humics) (Lovley และคณะ, 2004 และ Nevin และ Lovley, 2000) ที่เป็นสารส่งอิเล็กตรอน ศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วอานอดมีค่าเท่ากับสัดส่วน AHQDS และ AQDS



รูปที่ 2.21 แสดงปฏิกิริยาที่ขั้วอานอดกับสาร AQDS

เซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพที่ไร้สารส่งอิเล็กตรอนจะใช้จุลินทรีย์กลุ่มชอบเป็นอานอด (anodophiles) ได้แก่ *G. sulfurreducens* และ *R. ferrireducens* ที่สร้างฟิล์มบนพื้นผิวอานอด และใช้อานอดเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในสภาวะหายใจแบบไร้ออกซิเจน ขณะที่กระบวนการหายใจยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ศักย์ไฟฟ้าบริเวณอานอดสามารถประมาณค่าได้จากสัดส่วนระหว่างไซโตโครมตัวสุดท้ายในสถานะรีดิวซ์ และออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาอิเล็กโทรดของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพชนิดต่างๆ และความสัมพันธ์ของศักย์รีดอกซ์สารอินทรีย์ แสดงในตารางที่ 2.1 (Hernandez และ Newman, 2001; Rabacy และ Verstraete, 2005; Madigan, 2000) ศักย์ไฟฟ้าเชิงอุดมคติของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพสามารถคำนวณได้จากสมการ Nernst equation ซึ่งสมการเหล่านี้แสดงผลออกมาในช่วงหลายร้อยถึงหลายพันมิลลิโวลต์

ตารางที่ 2.1 ปฏิกริยาที่ขั้วอิเล็กโทรดของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ และความสัมพันธ์กับศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์

Oxidation/reduction pairs	E° (mV)
H^+/H_2	-420
$NAD^+/NADH$	-320
S^0/HS^-	-270
SO_4^{2-}/H_2S	-220
Pyruvate ²⁻ /Lactate ²⁻	-185
2,6-AQDS/2,6-AHQDS	-184
FAD/FADH ₂	-180
Menaquinone ox/red	-75
Pyocyanin ox/red	-34
Humic substances ox/red (Straub et al., 2001)	-200 to +300
Methylene blue ox/red	+11
Fumarate ²⁻ /Succinate ²⁻	+31
Thionine ox/red	+64
Cytochrome b(Fe ³⁺)/Cytochrome b(Fe ²⁺)	+75
Fe(III) EDTA/Fe(II) EDTA	+96
Ubiquinone ox/red	+113
Cytochrome c(Fe ³⁺)/Cytochrome c(Fe ²⁺)	+254
O_2/H_2O_2	+275
Fe(III) citrate/Fe(II) citrate	+372
Fe(III) NTA/Fe(II) NTA	+385
NO_3^-/NO_2^-	+421
$Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$	+430
NO_2^-/NH_4^+	+440
O_2/H_2O	+820

2.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกระแสไฟฟ้า (Effects of operating conditions)

ประสิทธิภาพเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพที่ศึกษาในห้องปฏิบัติการนั้น ยังอยู่ห่างไกลจากประสิทธิภาพเชิงอุดมคติ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากหลายปัจจัย อิทธิพลที่มีผลต่อการผลิตพลังงานไฟฟ้าจากเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ ได้แก่ ชนิดจุลินทรีย์ ชนิดสารอินทรีย์ ความเข้มข้นไอออนิก (ionic strength) ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ ชนิดแผ่นเมมเบรนเลือกผ่านโปรตอน และ โครงสร้างเซลล์ไฟฟ้า เป็นต้น (Liu และคณะ, 2005b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lefebvre และคณะ (2008) พบว่าเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพเป็นเทคโนโลยีของจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะไร้ออกซิเจน แต่ถูกจำกัดด้วยค่าใช้จ่ายที่สูงของตัวเร่งปฏิกิริยาในบริเวณคาโทด (ทองคำขาว) การศึกษาเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพที่แยกออกเป็น 2 บริเวณ ซึ่งเป็นฟิล์มชีวภาพที่ได้จากจุลินทรีย์กลุ่มออกซิเดสเทอโรโทรฟิกสามารถใช้แทนตัวเร่งปฏิกิริยาที่บริเวณคาโทด จุลินทรีย์สามารถจัดในโตรเจนออกไซด์โดยใช้อิเล็กตรอนที่ได้จากการออกซิไดซ์อะซิเตตในน้ำเสีย ซึ่งอะซิเตตถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในบริเวณอโนดของเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ ในระหว่างระยะเวลา 1.5 เดือนจะมีการผลิตกระแสไฟฟ้าออกมามากถึง 9.4 มิลลิวัตต์ต่อตารางเมตรของพื้นผิวอโนดหรือ 0.19 วัตต์ต่อลูกบาศก์เมตรของปริมาณบริเวณอโนด

Chen และคณะ (2009) พบว่าหน้าที่ของบริเวณคาโทดในการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้แทนขั้วคาโทดประเภทโลหะ เพื่อเป็นตัวเร่งหรือสารตัวกลางในการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ การให้อากาศบริเวณคาโทดในการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพจะทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจน จึงมีการศึกษาบทบาท และลักษณะจุลินทรีย์ที่บริเวณคาโทด พบว่าหลังจาก 50 วัน เซลล์ไฟฟ้าจากจุลินทรีย์ก็จะแปรสภาพมาเป็นพลังงานที่มีความเสถียร และมีพลังงานที่หนาแน่นถึง 2.55 วัตต์ต่อลูกบาศก์เมตร เมื่อมีอัตราการให้อากาศ 0.20 มิลลิตรต่อนาที ค่าปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ต้องการ เพื่อใช้ในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในน้ำเสียให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (COD) จะมีนัยสำคัญที่ลดลงจาก 372 มิลลิกรัมต่อลิตรไปเป็น 22 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อมีอัตราการให้อากาศอยู่ที่ 0.20 มิลลิตรต่อนาที จึงสามารถจัดจำแนกกลุ่มของจุลินทรีย์จากบริเวณคาโทดชีวภาพได้ทั้งหมด 4 กลุ่มจากเชื้อ 28 ชนิด ได้แก่ *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* และแบคทีเรียที่ไม่สามารถจัดจำแนกหมวดหมู่ได้ โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในสกุล *Deltaproteobacteria* มากกว่าร้อยละ 25 ของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และมีบทบาทสำคัญโดยเป็นขั้วคาโทดในกระบวนการการถ่ายเทอิเล็กตรอน โดยความสูงของกราฟจะมีความสัมพันธ์กับอัตราการให้อากาศในบริเวณคาโทด ดังนั้นจึงได้รับการยืนยันว่าตัวกลางในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจะถูกขับออกมาจากแบคทีเรียบริเวณคาโทด

Mathuriya และ Sharma (2010) พบว่าพลังงานหมุนเวียนเป็นสิ่งที่จำเป็นในปัจจุบัน ซึ่งเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพเป็นวิธีใหม่ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย และการผลิตกระแสไฟฟ้าไปพร้อมๆกัน การศึกษาในปัจจุบันได้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการผลิตกระแสไฟฟ้าทางชีวภาพจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ โดยใช้สารตัวกลางที่เป็นเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพในค่าความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่ากลูโคสและซูโครสเป็นสับสเตรทที่ได้จากน้ำเสีย ซึ่งมีความสำคัญในการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพ และสามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้ปริมาณเพิ่มมากขึ้น และยังช่วยกำจัด COD โดยค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตกระแสไฟฟ้า ก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ที่ใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้า พบว่าสามารถใช้เป็นสับสเตรทในการผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันสายพันธุ์ OS33 จากกลุ่มโครงการพิเศษปีการศึกษา 2552 เรื่อง “ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลวที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน”

เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.นิสา ไกรรักษ์ ภาควิชาจุลชีวะวิทยา มหาวิทยาลัยบูรพา

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)
- 3.2.2 โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KHPO_4$)
- 3.2.3 แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)
- 3.2.4 แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)
- 3.2.5 ไอออนซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)
- 3.2.6 กรดเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซีติก (ethylenediaminetetraacetic acid EDTA. 2Na)
- 3.2.7 กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (ρ -aminobenzoic acid)
- 3.2.8 ไทอะมีนไฮโดรคลอไรด์ (thiamine HCl)
- 3.2.9 ไบโอติน (biotin)
- 3.2.10 กรดนิโคตินิก (nicotinic acid)
- 3.2.11 โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)
- 3.2.12 แป้งมันสำปะหลัง ตราปลามังกร
- 3.2.12 แป้งท้าวยายหม่อม ตราปลามังกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์

- 3.3.1 เครื่องเขย่า (incubator shaker) (Comthrem scientific Ltd รุ่น polar 1000)
- 3.3.2 ตู้บ่มเชื้อ (incubator) (Comthrem scientific Ltd รุ่น polar 1000)
- 3.3.3 ออโตปิเปต (autopipette) ขนาด 0.5-1 มิลลิลิตร (Pipetman รุ่น GIL SON)
- 3.3.4 ออโตปิเปต (autopipette) ขนาด 0.5-5 มิลลิลิตร (Transferpipette)
- 3.3.5 เครื่องนึ่งความดันไอ (autoclave) (Hirayama รุ่น HV-50)
- 3.3.6 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Cyberscan 2000)
- 3.3.7 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Mettler-Toledo (Thailand) Ltd. รุ่น AG204)
- 3.3.8 ตู้เขี่ยเชื้อ (Lamina air flow) (ISSCO รุ่น BVT 123)
- 3.3.9 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Shimadzu รุ่น UV 1201v)
- 3.3.10 กล้องจุลทรรศน์ (Nikon ECLIPSE 80i)
- 3.3.11 ปุ่มดูดอากาศ (vacuum- system) (B.U.CHI Switzerland รุ่น B-169)
- 3.3.12 เครื่องหมุนวนสาร (Labnet International รุ่น H5500- 230V- EU)
- 3.3.13 เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็ก (mini centrifuge) (National labnet รุ่น C- 1200)
- 3.3.14 เครื่องผสมสาร (vortex) (Scientific industries รุ่น Vortex- 2 Genie)
- 3.3.15 ปุ่มลมเพิ่มออกซิเจนแบบลูกสูบ (Electromagnetic Air Pump) (Yamano รุ่น AP-30)
- 3.3.16 ตัวกรองอากาศ (Satorius รุ่น Midisart® 2000)
- 3.3.17 เครื่องวัดกระแสไฟฟ้า (volt meter) (HP รุ่น Hewlett Packard multimeter 973A)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์

3.4.1.1 เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33

นำเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกัมมะถันสายพันธุ์ OS33 จากกลุ่มโครงการพิเศษ ปีการศึกษา 2552 เรื่อง “ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลวที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน” ลากลงบนจานอาหารแข็ง Minimal medium of Ormerod (ภาคผนวก ก) ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และโมโน โซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจนในโถดูดอากาศที่บรรจุก๊าซไนโตรเจน บ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ที่เอกซารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิห้อง เวลา 7 วัน ตรวจสอบลักษณะโคโลนีที่มีสีแดงภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจสอบเชื้อบริสุทธิ์ จึงนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A (ภาคผนวก ก)

3.4.1.2 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

นำเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.นิสา ไกรรักษ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยบูรพา ลากลงบนอาหารแข็ง MYS (ภาคผนวก ก) ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน และเปปโตเนนเป็นแหล่งไนโตรเจน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะของโคโลนีที่มีลักษณะเดี่ยวภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจสอบเชื้อบริสุทธิ์ จึงนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MYS (ภาคผนวก ก)

3.4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

3.4.2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

สายพันธุ์ OS33

นำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะโคโลนี และรูปร่างของแบคทีเรียโดยวิธีข้อมแกรม

ก. การศึกษาลักษณะโคโลนี

นำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้จากบนจานอาหารแข็ง Minimal medium of Ormerod ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจน มาสังเกตลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น

ข. การศึกษาลักษณะรูปร่างแบคทีเรียโดยวิธีข้อมแกรม

การข้อมแกรมเป็นการย้อมสีผนังเซลล์แบคทีเรีย เพื่อแยกความแตกต่างชนิดของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยเริ่มจากหยดน้ำลงบนสไลด์ 1 หยด จากนั้นใช้ลูปแตะเชื้อ เพื่อนำมาสเมียร์ (Smear) ลงบนแผ่นสไลด์ เกือบให้เป็นฟิล์มบางๆ ทิ้งไว้จนรอยสเมียร์แห้ง ตรึงสไลด์โดยผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง หยดสีคริสตัลไวโอเลต (Crystal violet) ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้เวลา 1 นาที แล้วทำการล้างด้วยน้ำยาแกรมไอโอดีน (Gram iodine) ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้เวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 นาที ล้างด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ไม่เกิน 30 วินาที ล้างด้วยน้ำ แล้วหยดสีซาฟรานิน (Safranin) ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้เวลา 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศ จากนั้นสังเกตลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.4.2.2 การศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

นำเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่คัดแยกได้ ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา เช่น การศึกษาลักษณะโคโลนี และรูปร่างของเชื้อยีสต์ด้วยเทคนิค wet mount

ก. การศึกษาลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์

นำเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่คัดแยกได้บนจานอาหารแข็ง MYS มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน และเปปโตเนนเป็นแหล่งไนโตรเจน สังเกตลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น

ข. การศึกษาลักษณะรูปร่างของเชื้อยีสต์ด้วยเทคนิค wet mount

หยดน้ำลงบนสไลด์ 1 หยด จากนั้นใช้ลูป (Loop) และเชื่อนำมาสเมียร์ (smear) บนแผ่นสไลด์ เกลี่ยให้เป็นฟิล์มบางๆ แล้วปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ จากนั้นสังเกตลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.4.3 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน

นำโคโลนีแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 บนอาหารแข็ง Minimal medium of ormerod ที่คัดแยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว ลงอาหารเหลวสูตร A ปริมาตร 10 มิลลิลิตรในหลอดทดลองฝาเกลียว และปิดทับด้วยน้ำมันพาราฟิน บ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 7 วัน เมื่อสังเกตอาหารมีสีแดงเพิ่มขึ้นจึงนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ในขวดทรงแบนขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยมีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง แป้งท้าวยายม่อม และกลูโคส แล้วปิดทับด้วยน้ำมันพาราฟิน จากนั้นนำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บตัวอย่างเชื้อทุก 48 ชั่วโมงจนครบชั่วโมงที่ 480 เพื่อนำไปสกัดแบคทีเรียโอสลอฟิลล์และวัดค่าดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3.1 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน โดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง

ปิเปตตัวอย่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 จากอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำมะหลัง และกลูโคส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดเอฟเฟนดรอป แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที นำส่วนใสทิ้งและล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

3.4.3.2 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน โดยวิธีการสกัดแบคทีเรียโอบคลอโรฟิลล์

ปิเปตตัวอย่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 จากแหล่งคาร์บอนต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำมะหลัง แป้งท้าวขยำม่อม และกลูโคส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที นำส่วนใสทิ้งและล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำมาทำให้แห้ง แล้วนำไปสกัดแบคทีเรียโอบคลอโรฟิลล์ โดยการเติมสารละลายผสมระหว่างอะซิโตนต่อเมทานอลอัตราส่วน 7 ต่อ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนวนสารในที่มืด เวลา 150 นาที แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที และนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร

3.4.4 การศึกษาปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

3.4.4.1 การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร MYS

นำโคโลนีเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* บนอาหารแข็งสูตร MYS ที่คัดแยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว ลากลงบนอาหารแข็งสูตร MYS ในหลอดทดลอง (slant) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในอาหารเหลวสูตร MYS โดยเลี้ยงเชื้อในขวดพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

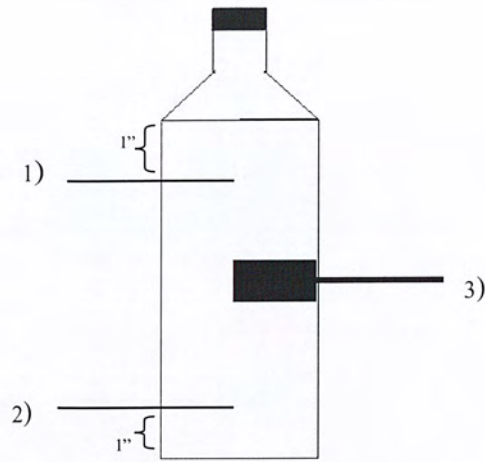
และเก็บตัวอย่างเชื้อทุก 24 ชั่วโมงจนครบชั่วโมงที่ 168 เพื่อนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

3.4.4.2 การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

นำโคโลนีเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* บนอาหารแข็งสูตร MYS ที่คัดแยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว ลากลงบนอาหารแข็งสูตร MYS ในหลอดทดลอง (slant) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในอาหารเหลวสูตร MYS โดยเลี้ยงเชื้อในขวดพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ดังนี้ ความเข้มข้นเปปโตนร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 ตามลำดับ บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างเชื้อในอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันทุก 24 ชั่วโมงจนครบชั่วโมงที่ 168 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

3.4.5 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

นำขวดแก้วที่มีลักษณะเหลี่ยมขนาด 700 มิลลิลิตร (ดังรูปที่ 3.1) มาเจาะรูให้มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร (หมายเลข 1 และ 2) โดยห่างจากขอบบน และขอบล่าง 1 นิ้ว เพื่อใส่หลอดแพลทตินัมเข้าไปถึงกลางขวด แล้วเชื่อมติดด้วยกาวซิลิโคน และเจาะรูที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร บริเวณกลางขวด (หมายเลข 3) เพื่อใส่หัวพ่นอากาศที่ต่อกับสายซิลิโคน แล้วเชื่อมติดด้วยกาวซิลิโคน ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วันเพื่อให้กาวแห้งสนิท



รูปที่ 3.1 แผนภาพขวดแก้วที่เจาะรูเพื่อใส่ลวดแพลตตินัม (หมายเลข 1 และ 2) และที่เจาะรูเพื่อใส่หัวพ่นอากาศ (หมายเลขที่ 3) สำหรับเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

3.4.5.1 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน

นำเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 เลี้ยงในอาหารเหลวที่แตกต่างกัน คือ อาหารเหลวสูตร A และอาหารเหลวสูตร MYS บ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง วัดกระแสไฟฟ้าด้วยโวลต์มิเตอร์ และบันทึกค่ากระแสไฟฟ้า เพื่อศึกษาปริมาณการผลิตกระแสไฟฟ้าของสูตรอาหารที่แตกต่างกัน

3.4.5.2 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่แตกต่างกัน

ใช้สูตรอาหารเหลวที่มีปริมาณการผลิตกระแสไฟฟ้าสูงที่สุด จากการศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน มาเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 และ 1 ต่อ 2 ตามลำดับ บ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง วัดกระแสไฟฟ้าด้วยโวลต์มิเตอร์ และบันทึกค่ากระแสไฟฟ้า เพื่อศึกษาปริมาณการผลิตกระแสไฟฟ้าของปริมาณเชื้อเริ่มต้นในสัดส่วนที่แตกต่างกัน

3.4.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar)

ปิเปตตัวอย่างเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และ เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที นำส่วนใส มาทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่างๆ แล้วปิเปตตัวอย่างแต่ละความเจือจางมาปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เพื่อวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi–Nelson (ภาคผนวก ข) วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร บันทึกการเปลี่ยนแปลงที่เวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน น้ำตาลรีดิวซ์

3.4.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar)

ปิเปตตัวอย่างเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และ เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที นำส่วนใส มาทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่างๆ แล้วปิเปตตัวอย่างแต่ละความเจือจางมาปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เพื่อวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟินอล-ซัลฟูริก (ภาคผนวก ข) วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร บันทึกการเปลี่ยนแปลงที่เวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน น้ำตาลทั้งหมด

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์

4.1.1 เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33

นำเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกัมมันตภาพรังสีสายพันธุ์ OS33 จากกลุ่มโครงการพิเศษ ปีการศึกษา 2552 เรื่อง “ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลวที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน” ลากลงบนจานอาหารแข็ง Minimal medium of Ormerod ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจน เพราะเลี้ยงในโถดูดอากาศซึ่งภายในบรรจุก๊าซไนโตรเจน บ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้องเวลา 7 วัน พบโคโลนีเดี่ยวสีแดงที่บริสุทธิ์บนอาหารแข็ง Minimal medium of Ormerod แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A

4.1.2 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

นำเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.นิสา ไกรรักษ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยบูรพา ลากลงบนอาหารแข็ง MYS ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน และเปปโตเนนเป็นแหล่งไนโตรเจน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง พบโคโลนีที่มีลักษณะเดี่ยวที่บริสุทธิ์ ซึ่งมีลักษณะ กลม นูน และมีไตอยู่ตรงกลางโคโลนีบนอาหารแข็ง MYS แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MYS

4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

4.2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33

นำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้บนจานอาหารแข็ง Minimal medium of Ormerod ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจน สังเกตลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น และรูปร่างของเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ด้วยการย้อมแกรม และส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังตารางที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

นำเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่คัดแยกได้บนจานอาหารแข็ง MYS ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน และโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจน สังเกตลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นและรูปร่างของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเทคนิค wet mount และส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสาขายีสต์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่คัดแยกได้ บนจานอาหารแข็ง Minimal medium of Ormerod และ MYS ตามลำดับ

ชนิดของ จุลินทรีย์	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างของเซลล์ (1000 เท่า)	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
แบคทีเรีย สังเคราะห์แสง สาขายีสต์ OS33			โคโลนี : มีสีแดงอมชมพู ลักษณะกลม โค้งนูน ขอบเรียบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็น ท่อนสั้น
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>			โคโลนี : มีสีขาวขุ่น ลักษณะ กลม โค้งนูน ขอบเรียบ มันวาว มีไตอยู่ตรง กลางโคโลนี รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นวงรี และมีการแตกหน่อ (budding)

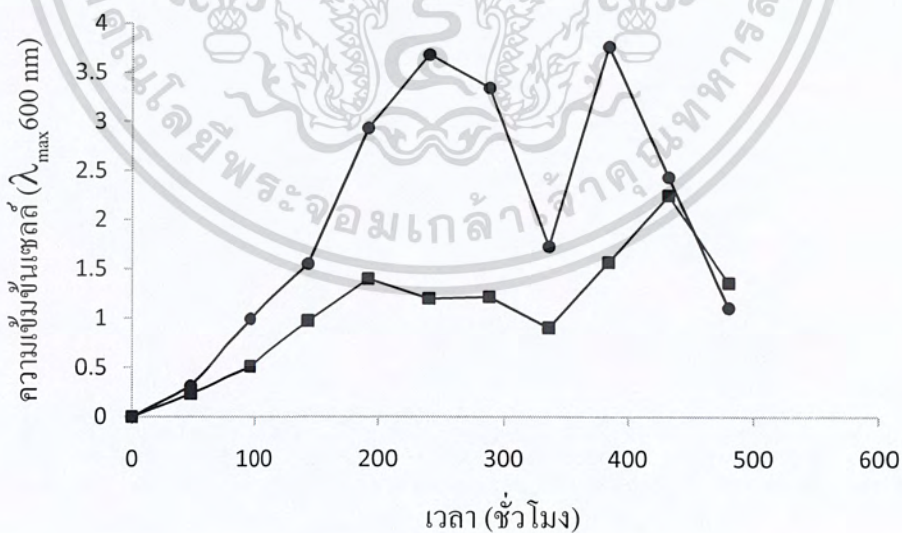
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน

การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนประเภทพอลิแซคคาไรด์ได้ ด้วยการวัดปริมาณแบคทีเรียโคลิกโลโรฟิลล์ (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 770 นาโนเมตร) ในเซลล์ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการเจริญเติบโตโดยใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร)

4.3.1 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน โดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง

นำโคโลนีแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 บนอาหารแข็ง Minimal medium of ormerod ที่คัดแยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ในขวดทรงแบน โดยใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง และกลูโคส บ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บตัวอย่างเชื้อทุก 48 ชั่วโมงจนครบชั่วโมงที่ 480 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงในรูป 4.1



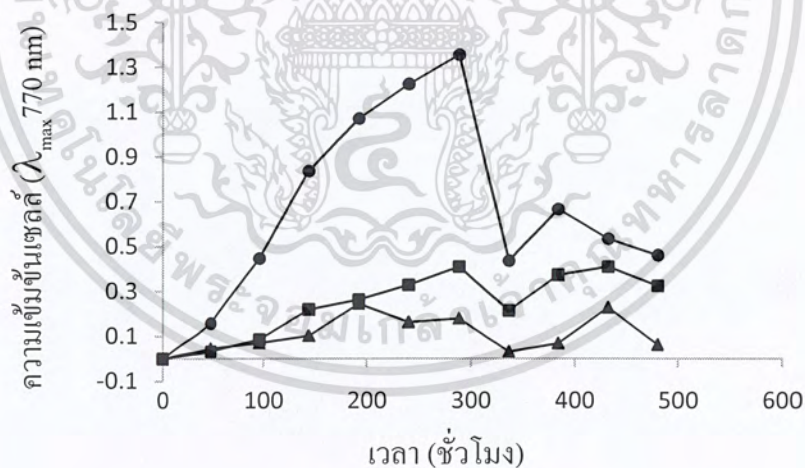
รูปที่ 4.1 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง (●) และกลูโคส (■) ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.1 จากการวัดการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่าเมื่อใช้แป้งมันสำปะหลัง และ กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 3.760 และ 2.246 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 สามารถย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญได้เป็นอย่างดี

4.3.2 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกันโดยวิธีการสกัดแบคทีเรียโพลีโพรฟิลล์

นำโคโลนีแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 บนอาหารแข็ง Minimal medium of ormerod ที่คัดแยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ในขวดทรงแบน ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง แป้งท้าวยายม่อม และกลูโคส บ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บตัวอย่างเชื้อทุก 48 ชั่วโมงจนครบชั่วโมงที่ 480 เพื่อสกัดแบคทีเรียโพลีโพรฟิลล์ และนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงในรูป 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง (●) กลูโคส (■) และแป้งท้าวยายม่อม (▲) ด้วยการสกัดแบคทีเรียโพลีโพรฟิลล์ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร

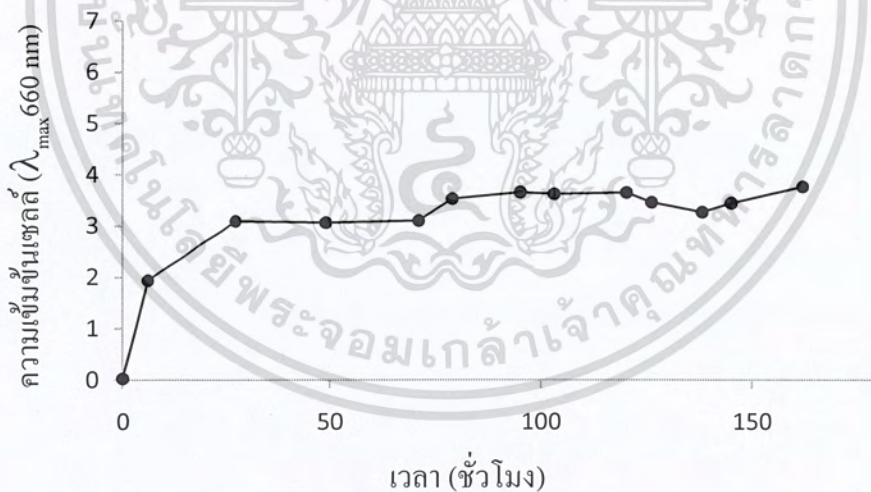
จากรูปที่ 4.2 วัดการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ด้วยการสกัดแบคทีเรียโพลีโพรฟิลล์ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร พบว่าเมื่อใช้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งมันสำปะหลัง กลูโคส และแป้งท้าวขยวม่อม เป็นแหล่งคาร์บอน มีปริมาณแบคทีเรียโกลโรฟิลล์สูงสุดเท่ากับ 1.355, 0.4095 และ 0.228 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 สามารถย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญได้เป็นอย่างดี

4.4 การศึกษาปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

4.4.1 การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร MYS

นำโคโลนีเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* บนอาหารแข็งสูตร MYS ที่คัดแยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว มาเลี้ยงในขวดพลาสติกที่มีอาหารเหลวสูตร MYS โดยใช้เปปโตเนเป็นแหล่งไนโตรเจน ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างเชื้อทุก 12 ชั่วโมงจนครบชั่วโมงที่ 168 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรแสดงในรูป 4.3



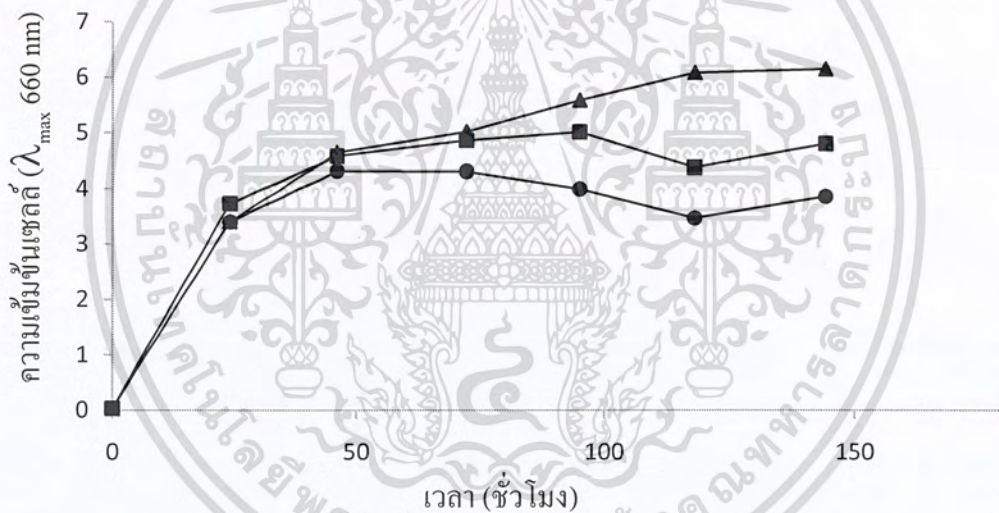
รูปที่ 4.3 แสดงการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร MYS ที่มีเปปโตเนเป็นแหล่งไนโตรเจนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

จากรูปที่ 4.3 จากการวัดการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีเปปโตเนเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาโนเมตร พบว่าชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 27 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* มีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (log phase) และหลังจากชั่วโมงที่ 27 เชื้อมีการเจริญอย่างคงที่ (stationary phase)

4.4.2 การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

นำโคโลนีเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* บนอาหารแข็งสูตร MYS ที่คัดแยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว มาเลี้ยงในขวดพลาสติกที่มีอาหารเหลวสูตร MYS โดยใช้ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน คือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 ตามลำดับ บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างเชื้อทุก 24 ชั่วโมงจนครบชั่วโมงที่ 168 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรแสดงในรูป 4.4



รูปที่ 4.4 แสดงการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน คือ ที่ความเข้มข้นของเปปโตนร้อยละ 0.5 (●) 1.0 (■) และ 1.5 (▲) ตามลำดับ ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

เพื่อศึกษาการเพิ่มการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* จากการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร MYS จึงทำการศึกษาในอาหารเหลวสูตร MYS ที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน คือ ที่ร้อยละความเข้มข้นของเปปโตน 0.5, 1.0 และ 1.5 ตามลำดับ ในรูปที่ 4.4 พบว่าในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 95 ที่ระดับ

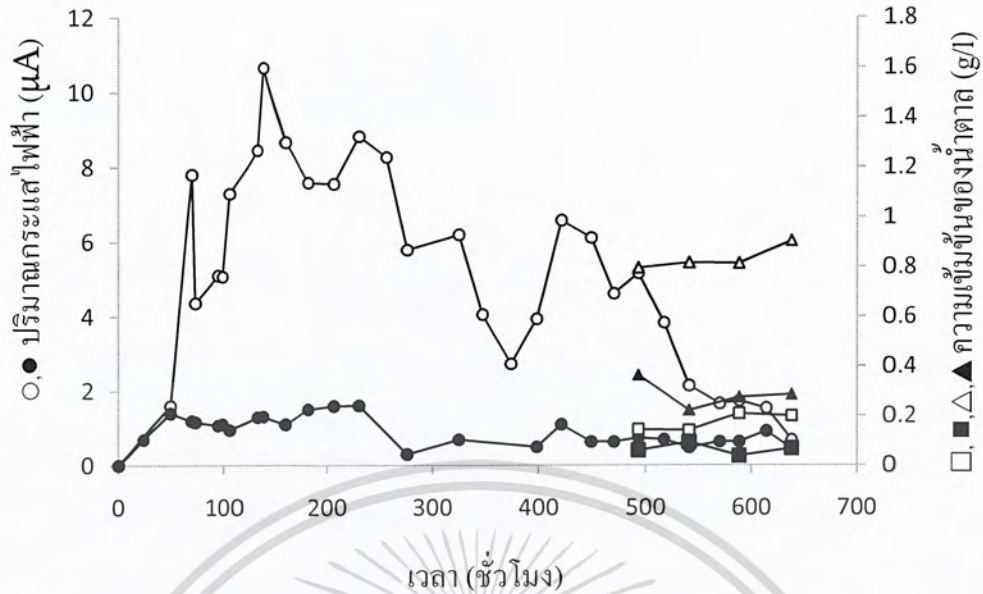
ร้อยละความเข้มข้นของเปปโติน 1.0 และ 1.5 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* มีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่ที่ร้อยละความเข้มข้นของเปปโติน 0.5 มีการเจริญเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 72 และหลังจากชั่วโมงที่ 72 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* มีการเจริญลดลง จากนั้นในชั่วโมงที่ 95 การเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ระดับร้อยละความเข้มข้นของเปปโติน 1.0 มีแนวโน้มค่อยๆลดลง ในขณะที่ร้อยละความเข้มข้นของเปปโติน 1.5 ยังมีการเจริญเพิ่มขึ้นต่อไปอีก

จากการทดลองของ Larsson และคณะ (1993) ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* แบบต่อเนื่อง (chemostat) โดยมีอัตราการเจือจางกันและอัตราส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอนต่อแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่าง พบว่าการเจริญที่ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนสูง ค่าผลได้ของการเจริญยังคงมีแนวโน้มคงที่ในช่วงอัตราการเจือจางที่ 0.06 ถึง 0.17 ต่อชั่วโมง (h^{-1}) และหลังจากอัตราการเจือจางที่ 0.17 ต่อชั่วโมง ค่าผลได้ของการเจริญจึงลดลงที่อัตราการเจือจางเพิ่มขึ้น ส่วนการเจริญที่ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนต่ำพบว่าค่าผลได้ของการเจริญลดลงอย่างต่อเนื่องที่อัตราการเจือจางเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า แหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

4.5 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

4.5.1 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร A และ MYS

ศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร A และ MYS ตามลำดับ โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 และนำไปบ่มภายใต้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกค่ากระแสไฟฟ้า ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เวลาต่างๆ ของการเลี้ยงเชื้อ (ดังแสดงในรูปที่ 4.5)



รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยในอาหารเหลือสูตร A (●) และ MYS (○) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในอาหารเหลือสูตร A (▲) และ MYS (△) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเหลือสูตร A (■) และ MYS (□) จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1

เมื่อศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลือสูตร A และ MYS ตามลำดับ พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 70 ปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยในอาหารเหลือสูตร MYS มีค่าเพิ่มขึ้น และสูงสุดถึง 10.66 ไมโครแอมแปร์ ในชั่วโมงที่ 138 และในขณะที่เดียวกันอาหารเหลือสูตร A มีปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยคงที่ เนื่องจากปริมาณแป้งมันสำปะหลังอาหารเหลือสูตร MYS และอาหารเหลือสูตร A มีอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดยอาหารเหลือสูตร MYS มีปริมาณแป้งมันสำปะหลังสูงกว่าอาหารเหลือสูตร A ซึ่งจุลินทรีย์สามารถย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล และเกิดผลผลิตพลอยได้เป็นกรดไขมันระเหยง่ายเพื่อนำไปใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์ต่อไป

ในชั่วโมงที่ 493-638 ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดที่วัดได้ในอาหารเหลือสูตร MYS และอาหารเหลือสูตร A อยู่ในช่วง 0.7-0.9 และ 0.2-0.4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้ในอาหารเหลือสูตร MYS และอาหารเหลือสูตร A อยู่ในช่วง 0.1-0.2 และ 0.03-0.09 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.0-8.0 ดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และจากรูปที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้ในชั่วโมงที่ 493-638 มีความเข้มข้นคงที่ ซึ่งจุลินทรีย์สามารถย่อยแป้งในอาหารเหลวสูตร MYS ได้เป็นน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงกว่าอาหารเหลวสูตร A ดังนั้นในอาหารเหลวสูตร MYS จึงมีการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และมีการผลิตกระแสไฟฟ้าที่สูงกว่าอาหารเหลวสูตร A

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิ จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน คือ อาหารเหลวสูตร MYS และอาหารเหลวสูตร A

เวลา (ชั่วโมง)	อาหารเหลวสูตร MYS		อาหารเหลวสูตร A	
	อุณหภูมิ	ค่า pH	อุณหภูมิ	ค่า pH
493	33.5	8.39	33.4	7.52
541	29.3	8.83	29.4	8.21
588	30.3	8.93	30.3	8.62
638	32.2	8.81	32.1	8.75

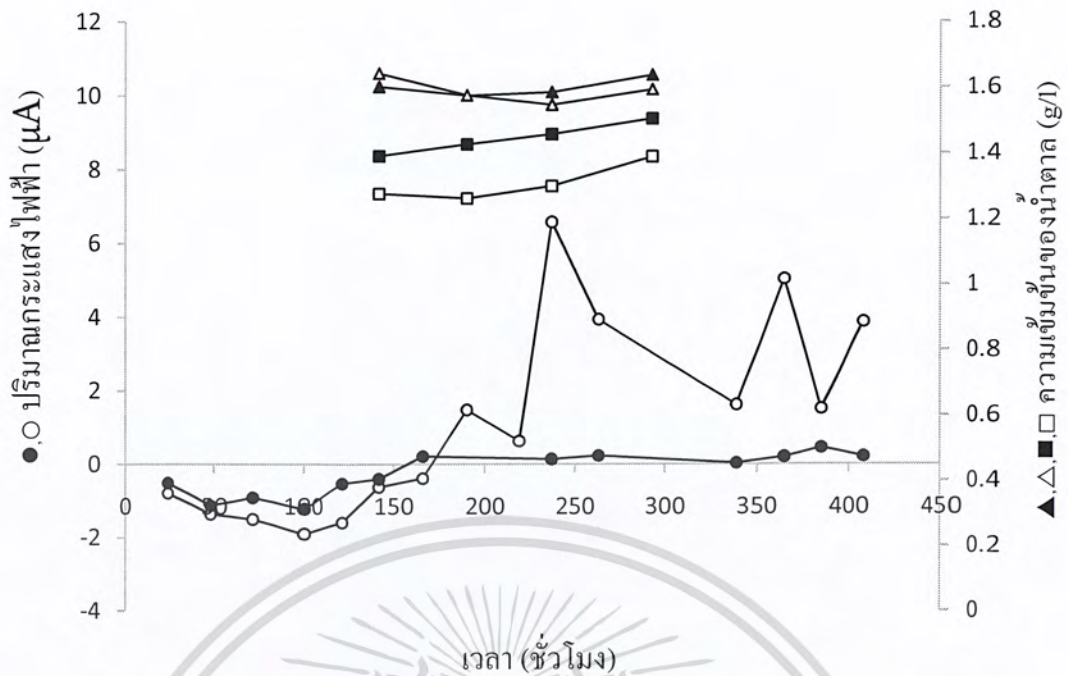
จากงานวิจัยของ Liu และ Shen (2004) ได้ทำการทดลองเรื่องผลของสภาวะการเพาะเลี้ยงและอาหารในกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากแป้งของแบคทีเรียที่สภาวะไร้ออกซิเจน ซึ่งศึกษากระบวนการบำบัดน้ำเสียที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 8.0 ความเข้มข้นของ Fe^{2+} 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฮโดรเจนคาร์บอนตความเข้มข้น 5.64 กรัมต่อลิตร และทำการแปรผันความเข้มข้นของแป้งในช่วง 2-32 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงการเจริญที่เพิ่มขึ้นในช่วงระยะปรับตัว โดยระยะปรับตัวเพิ่มจาก 35 ชั่วโมง เป็น 96 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแป้งจาก 2 กรัมต่อลิตรเป็น 20 กรัมต่อลิตร และระยะปรับตัวลดลงเป็น 92 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแป้งเป็น 32 กรัมต่อลิตร ในกระบวนการผลิตไฮโดรเจนจะต้องมีระยะปรับตัวมากกว่า 3 วัน ซึ่งการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะได้ค่าสูงสุดถึง 237 มิลลิลิตรต่อกรัมของตะกอนแขวนลอยระเหยง่าย (volatile suspended solids, VSS) ต่อวัน ที่ความเข้มข้นของแป้ง 24 กรัมต่อลิตร แต่ที่ความเข้มข้น 32 กรัมต่อลิตรจะผลิตก๊าซไฮโดรเจนลดลงถึง 165 มิลลิลิตรต่อกรัมของตะกอนแขวนลอยระเหยง่ายต่อวัน จากการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของแป้ง 24 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้

ในอัตราสูงที่สุด ซึ่งค่าผลได้ของไฮโดรเจนจะลดลงอย่างคงที่จาก 194 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็น 86 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตรต่อกรัม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแป้งจาก 2 กรัมต่อลิตร เป็น 32 กรัมต่อลิตร ซึ่งค่าผลได้ของไฮโดรเจนจะลดลงมาจากการเพิ่มขึ้นของค่าผลรวมของกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acids, VFAs) โดยจะไปยับยั้งการผลิตไฮโดรเจนในขั้นตอนต่อไป ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของแป้งแต่ละกรัมที่ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุดถึง 553 มิลลิลิตร โดยมีผลพลอยได้เป็นอะซิเตด ดังนั้นประสิทธิภาพของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะต่ำกว่าการผลิตที่ได้จากน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส เนื่องจากปฏิกิริยาการย่อยแป้งที่ไม่สมบูรณ์ ซึ่งความเข้มข้นของแป้งจะมีอิทธิพลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าผลรวมของกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) จะแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแป้งจาก 2 กรัมต่อลิตรเป็น 32 กรัมต่อลิตร ค่าผลได้ของอะซิเตด โพรพิโอเนต และบิวทิเรตเพิ่มขึ้น ยกเว้นบิวทิเรตที่มีความเข้มข้นของแป้ง 32 กรัมต่อลิตร ดังนั้นปริมาณของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมมีผลต่อการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

4.5.2 การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่แตกต่างกันในอาหารเหลวสูตร MYS

ศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร MYS โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 และ 1 ต่อ 2 ตามลำดับ บ่มภายใต้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกค่ากระแสไฟฟ้า ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เวลาต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 (●) และ 1 ต่อ 2 (○) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 (▲) และ 1 ต่อ 2 (△) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 (■) และ 1 ต่อ 2 (□) จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ตามลำดับ

จากการศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร A และ MYS พบว่า ในอาหารเหลวสูตร MYS มีการผลิตกระแสไฟฟ้าสูงกว่า ในการศึกษานี้จึงนำอาหารเหลวสูตร MYS มาศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้า โดยเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 และ 1 ต่อ 2 ตามลำดับ พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 166 ในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 2 เริ่มมีการผลิตกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 มีการผลิตกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ และในตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 2 ที่ ชั่วโมง 142 และ 190 มีค่าความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างต่ำ คือ 5.72 และ 7.32 ตามลำดับ จึงแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 นอกจากสามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาลมาใช้ในการเจริญ ยังสามารถใช้ผลผลิตพลอยได้เป็นแหล่งคาร์บอน เช่น กรดไขมันระเหยง่าย ที่มาจากเชื้อ

Saccharomyces cerevisiae ใช้แปงเป็นสับสเตรทในการเจริญ และทำให้มีการผลิตกระแสไฟฟ้าได้ดียิ่งขึ้น

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิ จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเหลวสูตร MYS โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 และ 2 ต่อ 1 ตามลำดับ

เวลา (ชั่วโมง)	สัดส่วนเชื้อเริ่มต้น 1:1		สัดส่วนเชื้อเริ่มต้น 1:2	
	อุณหภูมิ	ค่า pH	อุณหภูมิ	ค่า pH
142	33.6	8.09	33.4	5.72
190	29.1	8.42	29.2	7.32
237	30.5	8.48	30.2	8.02
293	32.4	8.52	32.1	8.03

ในรูปที่ 4.6 ในชั่วโมงที่ 142-293 ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในอาหารเหลวสูตร MYS ที่วัดได้ในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 และ 1 ต่อ 2 อยู่ในช่วงที่เท่ากันคือ 1.5-1.7 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเหลวสูตร MYS ที่วัดได้ในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1 และ 1 ต่อ 2 อยู่ในช่วง 1.4-1.5 และ 1.2-1.4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จึงแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้ในชั่วโมงที่ 142-293 มีความเข้มข้นคงที่ ซึ่งจุลินทรีย์สามารถย่อยแปงในอาหารเหลวสูตร MYS ได้เป็นน้ำตาล และในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 2 มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ต่ำกว่า จึงแสดงให้เห็นว่าในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 2 สามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์ได้ดีกว่า ดังนั้นมีการเจริญและมีการผลิตกระแสไฟฟ้าที่สูงกว่าสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 1

และเมื่อเปรียบเทียบชั่วโมงที่มีการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้สูตรอาหารที่ต่างกัน และสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่แตกต่างกัน จะเริ่มมีการผลิตกระแสไฟฟ้าในชั่วโมงที่ต่างกัน คือ ในชั่วโมงที่ 70 และ 166 ตามลำดับ เนื่องมาจากอายุของเชื้อเริ่มต้นของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ใช้เพื่อผลิตกระแสไฟฟ้าแตกต่างกัน

จากงานวิจัยของ Ding และคณะ (2009) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เชื้อผสมของ *Clostridium butyricum* และเซลล์ตรังรูปของ *Rhodospseudomonas facalis* RLD-53 พบว่าอะซิเตดเป็นเมแทบอลิท์ที่สำคัญในกระบวนการหมักไฮโดรเจนภายใต้สภาวะที่เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญตใดนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้สภาวะฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น ซึ่งจะเป็นการเพิ่มผลผลิตของ กระบวนการผลิตไฮโดรเจน จากผลที่ได้จึงมีการเสนอให้เปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งเป็นตัวที่มี ผลทำให้ส่วนประกอบของกรดไขมันเปลี่ยนไป และอาจจะเหมาะสมกับกระบวนการหมัก เพราะ ในการเปลี่ยนค่าความเป็นกรด-ด่างนี้จะเป็นการทำให้เมทาบอลไลท์ของแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลง และอัตราการไหลของคาร์บอนที่ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงจะมีผลทำให้ผลิตอะซิเตตออกมามากกว่า และในงานวิจัยของ Ozgur E. และคณะ (2001) ได้ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนโดยเชื้อสายพันธุ์ปกติ (wild type) *Rhodobacter capsulatus* ที่ความเข้มข้นอะซิเตตเริ่มต้นแรกต่างกัน พบว่าการผลิต ไฮโดรเจนและการใช้อะซิเตตที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกันมีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและการ ผลิตไฮโดรเจนได้ทุกความเข้มข้นของอะซิเตตแม้ว่าการผลิตไฮโดรเจนเริ่มต้นจะผลิตได้อย่าง รวดเร็วที่ความเข้มข้นอะซิเตตต่ำ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันสายพันธุ์ OS33 จากกลุ่มโครงการพิเศษ ปีการศึกษา 2552 เรื่อง “ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลวที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน” ลากบนจานอาหารแข็ง Minimal medium of Ormerod ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.8-7.2 โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจน สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่บริสุทธิ์ได้ และเมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยศึกษาลักษณะโคโลนี พบว่าโคโลนีส่วนใหญ่มีสีแดงอมชมพู มีลักษณะกลม โค้งนูน ขอบเรียบ พื้นผิวโคโลนีมันวาว และลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อติดสีแดงแกรมลบทั้งหมด เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน

เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.นิสา ไกรรักษ์ ภาควิชาจุลชีวะวิทยา มหาวิทยาลัยบูรพา ลากบนจานอาหารแข็ง MYS โดยใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน และเปปโตเนเป็นแหล่งไนโตรเจน สามารถแยกเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่บริสุทธิ์ได้ และเมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยศึกษาลักษณะโคโลนี พบว่าโคโลนีส่วนใหญ่ มีสีขาว ขุ่น กลม โค้งนูน ขอบเรียบ มันวาว มีโคอยู่ตรงกลางโคโลนี และลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีลักษณะเป็นวงรี และมีการแตกหน่อ

เมื่อศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่มีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกันโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง และวิธีการสกัดแบคทีเรียโพรทอโรฟิลล์ จากอาหารเหลวสูตร A ในขวดทรงแบนที่มีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง และกลูโคส พบว่าแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 สามารถย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ดีที่สุด โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 3.760 ในชั่วโมงที่ 384 และมีค่าปริมาณแบคทีเรียโพรทอโรฟิลล์สูงสุดเท่ากับ 2.246 ในชั่วโมงที่ 432

เมื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยอาหารสูตร MYS ที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร พบว่าการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ร้อยละความเข้มข้นของเปปโตเน 1.5 มีการเจริญสูงสุดและเพิ่มขึ้นเท่ากับ 5.585 ในชั่วโมงที่ 95

เมื่อศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่างเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน คือ อาหารเหลวสูตร A และอาหารเหลวสูตร MYS พบว่าอาหารเหลวสูตร MYS มีปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 10.66 ไมโครแอมแปร์ในชั่วโมงที่ 138 จากนั้นจึงทำการศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าในอาหารเหลวสูตร MYS โดยใช้สัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่แตกต่างกัน พบว่าในสัดส่วนเชื้อเริ่มต้นที่ระดับ 1 ต่อ 2 มีปริมาณกระแสไฟฟ้าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 6.58 ไมโครแอมแปร์ในชั่วโมงที่ 237



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กัมปนาท มะหิพันธ์ และ ชีราภรณ์ มะลิวัลย์. 2551. การศึกษาการผลิตแก๊สไฮโดรเจน. ปรินญาณิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- กิตติมา สมชื่น และ วันสนันท์ มะริโตปะนะ. 2550. การพัฒนาชุดรวมเชื้อแลกเปลี่ยนโปรตอน ขั้วไฟฟ้าสำหรับเซลล์เชื้อเพลิงชนิดพอลิเมอร์อิเล็กโทรไลต์. ปรินญาณิพนธ์ วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เกรียงไกร แซมสีม่วง. 2551. Fuel Cell พลังงานทดแทนตัวใหม่ ไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม. MECHANICAL TECHNOLOGY, 40-45.
- จารียา แซ่มสิงห์ และ นันทิจารี หอมนาน. 2552. ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในอาหารเหลวที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน. ปรินญาณิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จารูวรรณ หวะสุวรรณ. 2532. การกำจัดและการใช้ประโยชน์จากน้ำทิ้งโรงงานมันสำปะหลังโดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงร่วมกับ heterotrophic bacteria. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ชญญรีย์ สมองดี, อรฉิน พยัคฆะญาติ และ สุรเชษฐ์ วิรุฬทรัพย์. 2550. การคัดแยกแบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงจากน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมและแหล่งน้ำธรรมชาติ. ปรินญาณิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- บงกช เสวตไพศาลกุล, พรทิพย์ สายสร้อย และ สุกิตรา คำม่วง. 2549. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียสังเคราะห์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาคเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ปีตมาภรณ์ ธิมากุล และ ภาวดี อังค์วัฒนะ. 2550. ไฮโดรเจนและเซลล์ไฟฟ้าพลังงานทางเลือกใหม่ สำหรับวันพรุ่งนี้. **Engineering Today**, 51: 78-80.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- พนิดา จินถนอม, สนิยา ลาภานันท์ และ สิริวรรณ พละจิตต์. 2547. การผลิตไรโบนิวคลีโอไทด์ จากเชื้อ *Saccharomyces . cerevisiae* TISTR5019. ปรียญานิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- พุทธชาติ แผนสมบุญ. 2541. การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ *Rhodospseudomonas sphaeroides* 3701. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ.
- มงคล งามเจริญวงษ์. 2547. การใช้แป้งดิบเป็นแหล่งให้อิเล็กตรอนสำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- เรื่องวิทย์ ดันติแพทยากร. 2547. การสังเคราะห์ ATP ในเซลล์. วารสารโภชนาบำบัด, 15(1); 17-21.
- วารุณี บัวลา. 2551. การผลิตไบโอไฮโดรเจนจากแบคทีเรียที่แยกได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางชีวภาพ. ปรียญานิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อนันต์ จรุงโรจน์. 2552. เซลล์ไฟฟ้าไฮโดรเจนพลังงานทดแทนแห่งอนาคตอันใกล้. *Mechanical technology magazine*, 8(93); 53-58.
- อรวรรณ อรรถโสภา, นุชสรุ สวงนศิลป์ และ คะนิงนิจ กลิ่นหอม. 2552. การผลิตสารโมนาโคลิน จากเชื้อรา *Monascus purpureus* ในระดับสเกลขนาดใหญ่. ปรียญานิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- Akkerman, I., Janssen M., Rocha J. and RH. Wijffels. 2002. Photobiological hydrogen production photochemical efficiency and bioreactor design. *International Journal of Hydrogen Energy*. 27; 1195-1208.
- Allen, RM. and HP. Bennetto. 1993. Microbial fuel-cells: electricity production from carbohydrates. *Appl Biochem Biotechnol*, 40; 27-40.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- Argun, H. and F. Kargi. 2010. Effects of light source, intensity and lighting regime on biohydrogen production from ground wheat starch by combined dark and photofermentations. *Int J Hydrogen energy*, 35; 1604-16.
- Berk, RS. and JH. Canfield. 1964. Bioelectrochemical energy conversion. **Appl. Microbiol.**, 12; 10-12.
- Cao, XX., Huang X., Liang P., Boon N., Fan MZ., Zhang L. and XY. Zhang. 2009. A completely anoxic microbial fuel cell using a photobiocathode for cathodic carbon dioxide reduction. **Energy Environ. Sci.**, 2; 498-501.
- Chen, Guo, W., Cha Jae H., Choi Soo J., Lee Tae H. and W. Kim Chang. 2009. Characterization of an open biocathode microbial fuel cell for electricity generation and effluent polish. *Korean J. Chem.*, 27(3); 828-835.
- Choi, Y., Jung E., Kim S., and S. Jung. 2003. Membrane fluidity sensing microbial fuel cell. **Bioelectrochemistry**, 59; 121-127.
- Ding, J., Liu BF., Ren NQ., Xing DF., Guo WQ., Xu JF. and GJ. Xie. 2009. Hydrogen production from glucose by co-culture of *Clostridium Butyricum* and immobilized *Rhodospseudomonas faecalis* RLD-53. *Int. J. Hydrogen energy*, 34; 3647-3652.
- Fu, CC., Su CH., Hung TC., Hsieh CH., Suryani D. and WT. Wu. 2009. Effects of biomass weight and light intensity on the performance of photosynthetic microbial fuel cells with *Spirulina platensis*. **Bioresour Technol.**, 100; 4183-4186.
- Furukawa, Y., Moriuchi T. and K. Morishima. 2006. Design principle and prototyping of a direct photosynthetic metabolic biofuel cell (DPMFC). *J Micromech Microeng.*, 16; S220-S225.
- Gil, GC., Chang IS., Kim BH., Kim M., Jang JY. and HS. Park. 2003. Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. **Biosens. Bioelectron.**, 18; 327-334.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- Harnisch, F., Schroder U., Quaaas M.and F. Scholz. 2009. Electrocatalytic and corrosion behaviour of tungsten carbide in near-neutral pH electrolytes. **Appl. Catal. B. Environ.**, 87; 63-69.
- Hernandez, ME. and DK. Newman. 2001. Extracellular electron transfer. **Cell Mol. Life Sci.**, 58; 1562–1571.
- He, Z., Shao H. and LT. Angenent. 2007. Increased power production from a sediment microbial fuel cell with a rotating cathode. **Biosens. Bioelectron**, 22; 3252-3255.
- He, Z., Kan J., Mansfeld F., Angenent LT. and KH. Nealsen. 2009. Self sustained phototrophic microbial fuel cells based on the synergistic cooperation between photosynthetic 264 Energy biotechnology microorganisms and heterotrophic bacteria. **Environ. Sci. Technol.**, 43; 1648-1654.
- Ieropoulos, IA., Greenman J., Melhuish C.and J. Hart. 2005. Comparative study of three types of microbial fuel cell. **Enzyme Microb. Tech.**, 37; 238–245.
- Kaku, N., Yonezawa N., Kodama Y.and K. Watanabe. 2008. Plant/microbe cooperation for electricity generation in a rice paddy field. **Appl Microbiol Biotechnol.**, 79; 43-49.
- Kapdan, IK. and F. Kargi. 2006. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme Microb Technol.**, 38; 569-582.
- Kappler, A., Pasquero C., Konhauser KO.and DK. Newman. 2005. Deposition of banded iron formations by anoxygenic phototrophic Fe(II) oxidizing bacteria. **Geology**, 33; 865-868.
- Kim, N., Choi Y., Jung S.and S. Kim. 2000. Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing *Proteus vulgaris*. **Biotechnol. Bioeng.**, 70; 109–114.
- Koku, H., Eroglu I., Gunduz U., Yucel M. and L. Turker. 2002. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter spheroids*. **Int. J. Hydrogen Energy**, 27; 1315-1329.

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- Larsson, C., Stockar UV., Marison L. and L. Gustafsson. 1993. Growth and Metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* in Chemostat Cultures under Carbon Nitrogen or Carbon and Nitrogen-Limiting Conditions. *Jouranal of Bacteriology*, 4809-4816.
- Lefebvre, O., Al-Mamun A. and HY. Ng. 2008. A microbial fuel cell equipped with a biocathode for organic removal and denitrification. **Water Science & Technology WST.**, 58(4); 881-885.
- Liu,BF., Ren NQ., Jing T., Ding J., Liu WZ., Xu JF., Cao GL., Guo WQ. and Guo. 2009. Bio hydrogen production by mixed culture of photo and dark fermentation bacteria. *Int. J. Hydrogen Energy*, 35(2010); 2858–2862
- Liu, G. and J. Shen. 2004. Effects of Culture and Medium Conditions on Hydrogen Production from Starch Using Anaerobic Bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 98; 251- 256.
- Liu, H., Grot S.and BE. Logan. 2005b. Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate. **Environ. Sci. Technol.**, 4317–4320.
- Lovley, DR. 1993. Dissimilatory metal reduction. **Annu. Rev. Microbial**, 47; 263–290.
- Lovley, DR., Holmes DE.and KP. Nevin. 2004. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. **Adv. Microb. Physiol.**, 49; 219–286.
- Madigan, MT., Martinko JM.and J. Parker. 2000. Brock biology of microorganisms. Upper Saddle River: Prentice Hall 320 p.
- Malik, S., Drott E., Grisdela P., Lee J., Lee C., Lowy DA., Gray S. and Tender LM. 2009. A self-assembling self-repairing microbial photoelectrochemical solar cell. **Energy Environ. Sci.**, 2; 292-298.
- Mathuriya, AS. and VN. Sharma. 2010. Treatment of Brewery Wastewater and Production of Electricity through Microbial Fuel Cell Technology. *Int. J. Biotechnology and Biochemistry*, 6; 71-80.

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- Moon, H., Chang IS.and BH. Kim. 2006. Continuous electricity production from artificial wastewater using a mediator less microbial fuel cell. **Bioresource Technol.**, 97; 621–627.
- Nevin, KP.and Lovley DR. 2000. Lack of production of electron-shuttling compounds or solubilization of Fe(III) during reduction of insoluble Fe(III) oxide by *Geobacter metallireducens*. **Appl. Environ. Microbiol.**, 66; 2248–2251.
- Oh, SE.and BE. Logan. 2005. Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. **Water Res.**, 39; 4673–4682.
- Ozgura, E., Uyard B., Ozturkb Y., Yucelc M., Gunduzc U.and I. Eroglu. 2010. Biohydrogen production by *Rhodobacter capsulatus* on acetate at fluctuating. **Temperatures Resources Conservation and Recycling**, 54 (2010) 310–314
- Pant, D., Van BG., Diels L. and K. Vanbroekhoven. 2010. A review of the substrate used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. **Bioresource Technology**, 101; 1533-1543.
- Park, DH.and Zeikus JG. 2000. Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. **Appl. Environ. Microb.**, 66; 1292–1297.
- Park, DH.and JG. Zeikus. 2002. Impact of electrode composition on electricity generation in a single-compartment fuel cell suing *Shewanella putrefaciens*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 59; 58–61.
- Park, HS., Kim BH., Kim HS., Kim HJ., Kim GT.and M. Kim. 2001. A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phyloge netically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. **Anaerobe**, 7; 297–306.
- Pfenning, N. and HG. Truper. 1989. Anoxygenic phototrophic bacteria. *In. J.T.* 1635-1682.
- Rabaey, K., Clauwaert P., Aeltermann P.and W. Verstraete. 2005. Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. **Environ. Sci. Technol.**, 39; 8077–8082.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- Rabaey, K. and W. Verstraete. 2005. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. **TRENDS in Biotechnology**, 23; 291-297.
- Ren, NQ., Liu BF., Ding J., Guo WQ., Cao GL. and GJ. Xie. 2008. The effect of butyrate concentration on photo-hydrogen production from acetate by *Rhodospseudomonas faecalis* RLD-53. *Int. J. Hydrogen Energy*, 33;5981-5.
- Rosenbaum, M., Agler MT., Fornero JJ., Venkataraman A. and LT. Angenent. 2010. Integrating BES in the wastewater and sludge treatment line. In *Bioelectrochemical Systems: From Extracellular Electron Transfer to Biotechnological Application*. Edited by Rabaey K, Angenent LT, Schroder U, Keller J. **International Water Association**, 2010; 393-408.
- Rosenbaum, M., He Z. and LT. Angenent. 2010. Light energy to bioelectricity: photosynthetic microbial fuel cells. **Current Opinion in Biotechnology**, 21; 259-264.
- Schamphelaire De.L. and Verstraete W. 2009. Revival of the biological sunlight to biogas energy conversion system. **Biotechnol. Bioeng.**, 103; 296-304.
- Stirling, JL., Bennetto HP., Delaney GM., Mason JR., Roller SD. and K. Tanaka. 1983. Microbial fuel cells. **Biochem. Soc. Trans.**, 11; 451-453.
- Tanaka, K., Tamamushi R. and T. Ogawa. 1985. Bioelectrochemical fuel cells operated by the cyanobacterium, *Anabaena variabilis*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 35B; 191-197.
- Wilkinson, S. 2000. "Gastrobots"-benefits and challenges of microbial fuel cells in food powered robot applications. **Auton Robot**, 9; 99-111.
- Zhuwei, D., Haoran L. and G. Tingyue. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. **Biotechnology Advances**, 25; 464-482.
- Zhu, H., Suzuki T., Tsygankov AA., Asada Y. and J. Miyake. 1999. Hydrogen production from tofu wastewater by *Rhodobacter spaeroides* immobilized agar gel. *Int. J. Hydrogen Energy*, 24; 305-10.

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- Zou, Y., Pisciotta J., Billmyre RB. and IV. Baskakov. 2009. Photosynthetic microbial fuel cells with positive light response. **Biotechnol Bioeng.**, 104; 939-946.
- [Online]. Available: <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/oec/motmc.htm>
- [Online]. Available: <http://www.pmbio.icbm.de/mikrobiologischer-garten/eng/ensaf12.htm>
- [Online]. Available: http://visualsunlimited.photoshelter.com/image/I0000VgIgJ_4XjAO
- [Online]. Available: <http://www.scientistlive.com/European-Food-Scientist/Ingredients/Eliminate>
- [Online]. Available: <http://www.mskreport.com/articles.cfm>
- [Online]. Available: <http://faculty.southwest.tn.edu/rburkett/GB%20%20cell%20resp.htm>
- [Online]. Available: http://thefraserdomain.typepad.com/energy/fuel_cells/
- [Online]. Available: <http://www.jpbestiblog.com/?p=262>
- [Online]. Available: http://www1.eere.energy.gov/hydrogenandfuelcells/fuelcells/fc_types.html
- [Online]. Available: <http://www.jpbestiblog.com/?p=262>
- [Online]. Available: <http://www.jpbestiblog.com/?p=262>
- [Online]. Available: <http://www.hycar.de/dmfc.htm>
- [Online]. Available: http://www.succeed.ufl.edu/content/abe2062/lect/lect_04/lect_04.htm
- [Online]. Available: <http://www.mpi-magdeburg.mpg.de/research/projects/1088/1114/1118>
- [Online]. Available: <http://giantsshoulders.wordpress.com/2007/10/21/the-mitochondrion-pt-2-the-electron-transport-chain/>
- [Online]. Available: <http://mibr.asm.org/cgi/content/full/66/1/1/F1>
- [Online]. Available: <http://mibr.asm.org/cgi/content/full/66/1/1/F1>
- [Online]. Available: http://www1.eere.energy.gov/hydrogenandfuelcells/fuelcells/fc_types.html
- [Online]. Available: http://www.nature.com/nrmicro/journal/v4/n7/fig_tab/nrmicro1442_F2.html
- [Online]. Available: <http://www.btinternet.com/~n.j.f/olympicsr/images/P-210-glycolysis.jpg>
- [Online]. Available: <http://stevebambas.com/images/AP%20220%20Krebs.jpg>
- [Online]. Available: <http://manage.brr.ac.th/biology/Book4S/TextBook/UNIT12.doc>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Minimal medium of Ormerod (Ormerod และคณะ, 1961)

โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจน เติมวิตามิน 4 ชนิด คือ ไธอามีน ไบโอติน กรดนิโคตินิก และ กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก ซึ่งมีองค์ประกอบดังนี้

K_2HPO_4	0.9	กรัมต่อลิตร
KH_2PO_4	0.6	กรัมต่อลิตร
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2	กรัมต่อลิตร
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	75.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	11.8	มิลลิกรัมต่อลิตร
EDTA.2Na	20.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
<i>p</i> -aminobenzoic acid	1.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
Thiamine HCl	1.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
Biotin	15.0	ไมโครกรัมต่อลิตร
Nicotinic acid	1.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
Trace element	1.0	มิลลิลิตรต่อลิตร

Trace element ประกอบด้วย

H_3BO_3	280.0	มิลลิกรัม
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	210.0	มิลลิกรัม
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	75.0	มิลลิกรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	24.0	มิลลิกรัม
$Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$	4.0	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ 6.8 ถึง 7.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ซึ่งมีองค์ประกอบดังต่อไปนี้

แหล่งคาร์บอน	10	กรัมต่อลิตร
โมโนเดียมกลูตาเมต	10	กรัมต่อลิตร
Na ₂ HPO ₄	10	กรัมต่อลิตร
Yeast extract	1	กรัมต่อลิตร

แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน จะเปลี่ยนแปลงตามวัตถุประสงค์ของการทดลอง ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.8 ถึง 7.2

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MYS ซึ่งมีองค์ประกอบดังนี้

Maltose extract	3	กรัมต่อลิตร
Peptone	5	กรัมต่อลิตร
แป้ง	20	กรัมต่อลิตร
Yeast extract	3	กรัมต่อลิตร
Agar	12	กรัมต่อลิตร

แหล่งคาร์บอนเป็นแป้งมันสำปะหลัง และแหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตน ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.8 ถึง 7.2

ภาคผนวก ข

สารเคมีและวิธีวิเคราะห์

1. สารเคมี

1.1 การเตรียมสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5.0

- 1.1.1 ละลายฟีนอล 50.0 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร
- 1.1.2 เติมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน
- 1.1.3 เก็บสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5.0 ที่ได้ไว้ในขวดสีชา

1.2 การเตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลัง (Starch) มาตรฐาน

- 1.2.1 ชั่งแป้งมันสำปะหลัง 1.0 มิลลิกรัม นำไปต้มจนแป้งละลายในน้ำหมด
- 1.2.2 นำน้ำแป้งสุกใส่ในขวดปรับปริมาตร
- 1.2.3 เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บเป็น stock solution จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.3 การเตรียมสารละลาย Copper reagent

- 1.3.1 ละลาย $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 71.0 กรัม และ โปรแทสเซียม โซเดียมทาร์เทรต 40.0 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร
- 1.3.2 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 นอร์มอล จำนวน 100 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลาย $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้นร้อยละ 10.0 จำนวน 80 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทำให้อ่อน
- 1.3.3 เติมโซเดียมซัลเฟต 180.0 กรัม ละลายให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1.0 ลิตร เก็บในขวดสีชา ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ถ้ามีตะกอนกรองออกก่อนนำไปใช้

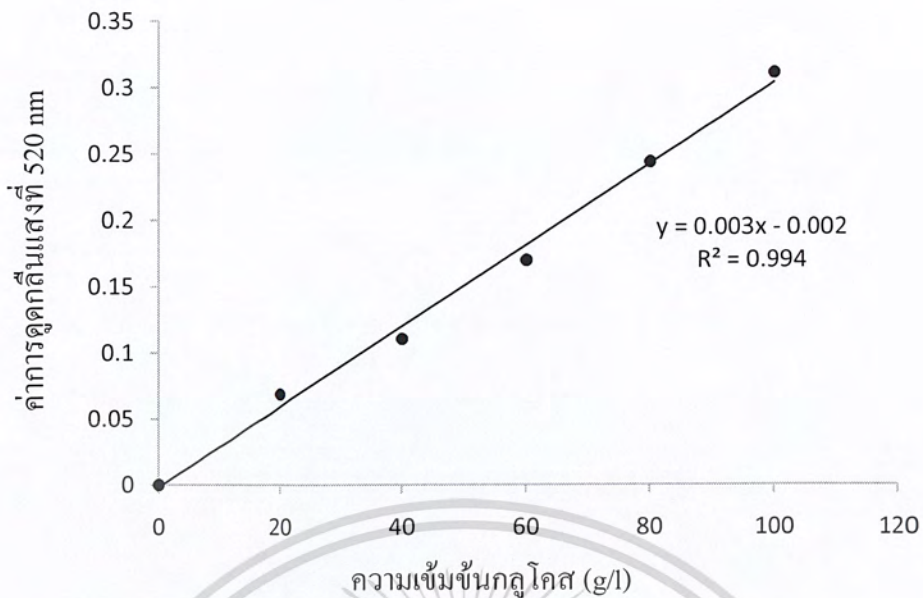
1.4 การเตรียมสารละลาย Nelson reagent

- 1.4.1 ละลาย $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 50.0 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร
- 1.4.2 เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
- 1.4.3 เติม $\text{AsHNa}_2\text{O}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 6 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่นลงไป คนให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนกรองออกก่อนนำไปใช้

2. วิธีวิเคราะห์

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยวิธี Somogyi – Nelson (ตามวิธีของ Nelson , 1994)

- 2.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส โดยอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 ชั่วโมง ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80, 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่น บรรจุในหลอดทดสอบหลอดละ 1.0 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ
- 2.1.2 เติม Copper reagent 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยทำให้น้ำเย็นจัด
- 2.1.3 เติม Nelson reagent 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที
- 2.1.4 เติมน้ำกลั่น 5.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสง
- 2.1.5 การวิเคราะห์ตัวอย่าง ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่มีน้ำตาลกลูโคสจำนวน 1.0 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดสอบแล้วนำไปวิเคราะห์ตามวิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสข้างต้น



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี Somogyi – Nelson

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) โดยวิธีฟินอล - ซัลฟูริก (ตามวิธีของ dubois , 1956)

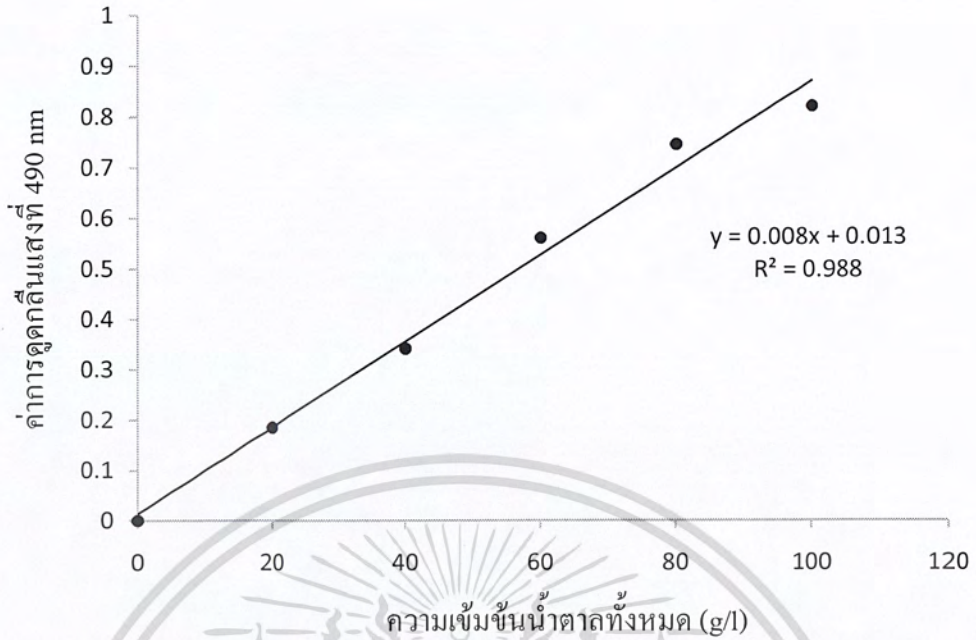
2.1.1 หากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สารละลายแป้งมันสำปะหลังสุกที่มีความเข้มข้น 0 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.1.2 นำสารละลายตัวอย่างละ 1.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดสอบ เติมสารละลายฟินอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 ลงไป 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.1.3 เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 98.0 ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว ภายในตู้ดูดควัน โดยปล่อยกรดลงไปทีผิวหน้าของเหลวโดยตรง จะทำให้การผสมที่ดีมากกว่าการค่อย ๆ ปล่อยลงข้างหลอด

2.1.4 ตั้งหลอดทดสอบของผสมทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นนำมาเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 10 – 20 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

2.1.5 นำไปแช่เย็น เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟินอล - ซัลฟูริก

2.3 วิธีวิเคราะห์ปริมาณแบคทีริโอคลอโรฟิลล์ (Bacteriochlorophyll) และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร

2.3.1 นำจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 มาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 1x, 5x และ 10x ตามลำดับ

2.3.2 นำตัวอย่างจุลินทรีย์บรรจุในหลอดเอฟเฟนดรอปปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำมาสกัดแบคทีริโอคลอโรฟิลล์ในที่มีด โดยใช้สารละลายผสมระหว่างอะซิโตนต่อเมทานอลอัตราส่วน 7 ต่อ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 150 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร บันทึกผลการทดลอง