สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ความสามารถในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

THE STARCH DIGESTIBILITY OF PHOTOSYNTHESIS BACTERIA

T133416

นางสาวฉัชกุล รูปโอ

นางสาวนนทลี แสงบุญ

นางสาวสกุลรัตน์ บุญรวบ

จ พ
ต431ค
2556

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 133416
วัน,เดือน,ปี 8 ต.ค. 2557

.b12643695
.i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE STARCH DIGESTIBILITY OF PHOTOSYNTHESIS BACTERIA

MISS NITCHAKUL ROOP-O

MISS NONTALEE SANGBOON

MISS SAKULRAT BOONRUAB

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ความสามารถในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง The starch digestibility of photosynthesis bacteria		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวณิชกุล	รูปโอ	53051362
	นางสาวนนทลี	แสงบุญ	53051378
	นางสาวสกุลรัตน์	บุญรวบ	53051460
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2556

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี	
กรรมการ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์	
กรรมการ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ความสามารถในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง		
	The starch digestibility of photosynthesis bacteria		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวณิชกุล	รูปโอ	53051362
	นางสาวนนทลี	แสงบุญ	53051378
	นางสาวสกุลรัตน์	บุญรวบ	53051460
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม		
ปีการศึกษา	2556		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์		

บทคัดย่อ

การศึกษาเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง ที่คัดแยกจากแหล่งน้ำธรรมชาติจำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ รหัส 1 2 3 4 5 6 7 และ 8 ซึ่งสามารถใช้แหล่งคาร์บอน ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง ข้าวสุก และข้าวดิบ ผลการทดลองพบว่าไอโซเลทรหัส 1 2 และ 5 สามารถเจริญและย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังบนอาหารแข็งได้ดีที่สุด จากนั้นนำเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท และจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงรหัส OS33 มาศึกษาการเจริญและย่อยสลายในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอน (แป้งมันสำปะหลัง ข้าวสุก และข้าวดิบ, ตามลำดับ) ร้อยละ 1.0 พบว่าการเจริญของเชื้อรหัส 1 และ OS33 ดีที่สุดในสภาวะไร้อากาศ และให้แสง 1500 ลักซ์ ขณะที่เชื้อรหัส 2 ให้การเจริญดีที่สุดในสภาวะไม่มีแสงและให้อากาศ เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในสภาวะไร้อากาศ พบว่าจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงรหัส 1 ให้กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้งดีที่สุด ที่ อุณหภูมิ 40 , 60 และ 80 องศาเซลเซียส

คำสำคัญ : การย่อยแป้ง, จุลินทรีย์สังเคราะห์แสง, กิจกรรมเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The starch digestibility of photosynthesis bacteria		
Students	Miss Nitchakul	Roop-o	Student ID 53051362
	Miss Nontalee	Sangboon	Student ID 53051378
	Miss Sakulrat	Boonruab	Student ID 53051460
Degree	Bachelor of Science		
Major	Industrial Microbiology		
Academic Year	2013		
Advisor	Asst. Prof. Dr. Somchai Krairak		

ABSTRACT

The selection and isolation of photosynthetic bacteria was studied for the starch digestibility from natural water resource. Eight-isolate were found such as Isolate No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 that contained digestibility of cassava starch, steamed rice and raw rice. The results showed that, the Isolate No. 1, 2 and 5 presented the maximal growth and digestibility on agar medium. Furthermore, the 3 Isolates and OS33 were examined in the liquid A medium containing 1.0% of cassava starch, steamed rice and raw rice as C-source, respectively. It was found that, isolate No.1 and OS33 gave maximal growth when it was cultivated in anaerobe with light condition. On the other hand, Isolate No.2 presented maximal growth by using aerobic without light condition. Moreover, the sample, retrieved from anaerobe culture condition, was observed for the enzyme activity. The results showed that Isolated No.1 gave the highest enzyme activity of 40, 60 and 80°C

Keyword : Starch digestibility, photosynthetic bacteria, enzyme activity.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานพิเศษในหัวข้อเรื่อง ความสามารถในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ซึ่งโครงงานพิเศษฉบับนี้จะไม่สามารถสำเร็จบรรลุจุดประสงค์ไปได้ด้วยดี หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ และ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่ให้คำแนะนำ ชี้แนวทางการแก้ปัญหา และความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ตลอดจนกรุณาช่วยตรวจแก้ไขงานวิจัยนี้ให้สมบูรณ์ซึ่งทางคณะผู้จัดทำมีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิก – คืนสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง ตลอดจนให้คำปรึกษา แนะนำในเรื่องต่างๆ รวมไปถึงคุณป้าแม่บ้านที่อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ ในการทำการทดลอง

ขอกราบขอบคุณบิดา มารดา ตลอดจนญาติพี่น้องทุกๆคน ที่คอยเป็นกำลังใจให้ความช่วยเหลือ และให้คำปรึกษาต่างๆในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ ทุกคน ที่คอยให้กำลังใจ ให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆตลอดมา และคอยให้ความช่วยเหลือในการทดลอง อีกทั้งให้ยืมอุปกรณ์ และสารเคมีต่างๆในการทดลอง

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงงานนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจหรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใดคณะผู้จัดทำ ขออภัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

นางสาว ณิชกุล รูปโอ
นางสาว นนทลี แสงบุญ
นางสาว สกุลรัตน์ บุญรวบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	X
สารบัญรูป	XII
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 ขั้นตอนการดำเนินการ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic Bacteria)	6
2.1.1 ลักษณะของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง	6
2.1.2 โครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์สังเคราะห์แสง	7
2.1.3 แหล่งที่อยู่	8
2.1.4 การจัดจำแนกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงไม่ใช้อากาศ (Classification of anoxygenic photosynthetic bacteria)	8
2.1.4.1 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียว (Green photosynthetic bacteria)	10
2.1.4.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วง (Purple photosynthetic bacteria)	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.1.4.2.1 สรีรวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน 11

2.1.5. องค์ประกอบที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง 13

2.1.6 การถ่ายเทอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง 13

2.1.7 การสร้างพลังงาน (ATP) 13

2.1.8 เมทาบอลิซึมของซัลไฟด์ (Sulfide metabolism) 15

2.1.9 การตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 fixation) 16

2.2 การคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน โดยการเพิ่มปริมาณเชื้ออย่างจำเพาะ 17

2.2.1 ความเข้มข้นของซัลไฟด์ (Sulfide concentration) 17

2.2.2 อุณหภูมิ (Temperature) 17

2.2.3 ความเข้มแสง (Light intensity) 18

2.2.4 ออกซิเจน (Oxygen) 18

2.2.5 พีเอช (pH) 18

2.2.6 ความเข้มข้นของเกลือ (Salinity 19

2.2.7 แหล่งคาร์บอน (Carbon source) 19

2.2.8 แหล่งไนโตรเจน (N_2 -source) 20

2.2.9 วิตามิน (Vitamin) 20

2.3 แหล่งคาร์บอนพอลิแซคคาไรด์ (Polysaccharide) 20

2.3.1 แป้ง(Starch) 20

2.3.1.1 องค์ประกอบ โครงสร้าง และน้ำหนักโมเลกุลของสตาร์ช 20

2.3.1.1.1. อะไมโลส (Amylose) 21

2.3.1.1.2. อะไมโลเพคติน (Amylopectin) 21

2.3.2 ข้าว 25

2.3.2.1 การจำแนกชนิดข้าวตามคุณสมบัติของเมล็ดข้าวเมื่อหุงสุก 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

2.3.2.2 โครงสร้างและส่วนประกอบของเมล็ดข้าว 25

2.3.2.3 คุณภาพการหุงต้ม 27

2.3.3 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง 28

2.4 ความสำคัญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน 30

2.4.1 เป็นแหล่งอาหารเสริมของสัตว์ 30

2.4.2 ใช้ในทางการแพทย์โดยเฉพาะยูบิควิโนน (Ubiquinone;Q10) 31

2.4.3 ใช้ผลิตฮอร์โมนพืช 31

2.4.4 ใช้ผลิตยาปฏิชีวนะ 31

2.4.5 ใช้ผลิตเอนไซม์ 31

2.4.6 ใช้ในการกำจัดของเสีย 31

2.4.7 ใช้ย่อยสลายพลาสติก (Polyester) 32

2.4.8 ใช้สารกำจัดวัชพืชและยาฆ่าแมลงชีวภาพ 32

2.4.9 ใช้เป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ 32

2.4.10 ใช้ทำปุ๋ยชีวภาพ 33

2.4.11 ใช้ผลิตสารอื่น ๆ 33

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 33

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ 35

3.2 สารเคมี 35

3.3. อุปกรณ์ 35

3.4 วิธีการทดลอง 36

3.4.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ 36

3.4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 36

3.4.2.2 การศึกษาลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียโดยการย้อมแกรม 36

3.4.2.3 การศึกษาการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria 37

3.4.3 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria บนอาหารแข็ง 37

3.4.4 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของ purple non-sulfur photosynthetic bacteric ในอาหารเหลวสูตร A ในสภาวะไร้อากาศและในสภาวะที่มีอากาศ 37

3.4.4.1 ตรวจวัดการเจริญของเซลล์ 38

3.4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) 38

3.4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (reducing sugar) 38

3.4.4.4 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส 38

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อให้บริสุทธิ์ 39

4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ และสายพันธุ์ OS33 39

4.2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 39

4.2.2 การศึกษาการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria 42

4.3 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic บนอาหารแข็ง 43

4.4 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ ในอาหารเหลวสูตร A ในสภาวะไร้อากาศ และในสภาวะที่มีอากาศ

4.4.1 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ ในอาหารเหลวสูตร A ที่แหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ข้าวสุก ข้าวดิบ ในสภาวะไร้อากาศ 45

4.4.1.1 อาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง 45

4.4.1.2 อาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก 53

4.4.1.3 อาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ 60

4.4.2 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ ในอาหารเหลวสูตร A ที่แหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ข้าวสุก ข้าวดิบ ในสภาวะที่มีอากาศ 60 68

4.4.2.1 อาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง 68

4.4.2.2 อาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก 75

4.4.2.3 อาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ 83

4.5 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส 91

4.5.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง 92

4.5.1.1 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 92

4.5.1.2 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 93

4.5.1.3 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 93

4.5.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก 94

4.5.2.1 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 94

4.5.2.2 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 95

4.5.2.3 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 96

4.5.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ 96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5.3.1 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	96
4.5.3.2 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	97
4.5.3.3 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส	98
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	
เอกสารอ้างอิง	101
ภาคผนวก ก.	107
ภาคผนวก ข.	109
ภาคผนวก ค.	111

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 การจัดจำแนกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง 9

ตารางที่ 2.2 ปริมาณอะไมโลสและอะไมโลเพคตินในแป้งชนิดต่าง ๆ 23

ตารางที่ 2.3 สมบัติบางประการของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน 24

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ non – sulfur photosynthesis bacteria ที่คัดแยกได้ 40

ตารางที่ 4.2 ความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้เชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 บนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแป้งแหล่งคาร์บอน 43

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่ง คาร์บอน 92

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน 93

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน 93

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 94

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 95

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 96
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน
ตารางที่ 4.10 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 97
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน
ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 98
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 บทบาทของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในธรรมชาติ 6

รูปที่ 2.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในวงศ์ Chlorobiaceae 10

รูปที่ 2.3 A คือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในวงศ์ Chromatiaceae 12
B คือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในวงศ์ Rhodospirillaceae

รูปที่ 2.4 การถ่ายเทอิเล็กตรอนในการสังเคราะห์แสงโดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง 14
กลุ่มไม่สะสมกำ มะถัน

รูปที่ 2.5 การถ่ายเทอิเล็กตรอนผ่านเมมเบรน และการสังเคราะห์ ATP ของ 15
แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถัน

รูปที่ 2.6 โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน 22

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของเมล็ดข้าว 26

รูปที่ 4.1 แสดงการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria 42
ที่คัดแยกได้ ในหลอดอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร A
ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง

รูปที่ 4.2 แสดงการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria 43
ที่คัดแยกได้ ในหลอดอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง

รูปที่ 4.3 แสดงความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur 44
photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur
photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ บนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแป้ง
เป็นแหล่งคาร์บอน

รูปที่ 4.4. แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 1 45
ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง
ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.5 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน 46

รูปที่ 4.6 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 47

รูปที่ 4.7 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน 47

รูปที่ 4.8 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 49

รูปที่ 4.9 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน 49

รูปที่ 4.10 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 51

รูปที่ 4.11 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน 51

รูปที่ 4.12 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซลทที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 53

รูปที่ 4.13 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.14 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซลทที่ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 54

รูปที่ 4.15 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 55

รูปที่ 4.16 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซลทที่ 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 56

รูปที่ 4.17 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 57

รูปที่ 4.18 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 58

รูปที่ 4.19 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาลสายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 58

รูปที่ 4.20 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 60

รูปที่ 4.21 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน 61

รูปที่ 4.22 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ

รูปที่ 4.23 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน 62

รูปที่ 4.24 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 64

รูปที่ 4.25 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน 64

รูปที่ 4.26 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ 66

รูปที่ 4.27 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน 66

รูปที่ 4.28 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ 68

รูปที่ 4.29 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน 68

รูปที่ 4.30 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ 70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

		หน้า
รูปที่ 4.31	แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน	70
รูปที่ 4.32	แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ	72
รูปที่ 4.33	แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน	72
รูปที่ 4.34	แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ	74
รูปที่ 4.35	แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน	74
รูปที่ 4.36	แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ	75
รูปที่ 4.35	แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน	76
รูปที่ 4.36	แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ	77
รูปที่ 4.37	แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน	77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.38 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ 79

รูปที่ 4.39 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 79

รูปที่ 4.40 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ 81

รูปที่ 4.41 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน 81

รูปที่ 4.42 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ 83

รูปที่ 4.43 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน 83

รูปที่ 4.44 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ 85

รูปที่ 4.45 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน 85

รูปที่ 4.46 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ

รูปที่ 4.47 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน 87

รูปที่ 4.48 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ 89

รูปที่ 4.49 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน 89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน ประเทศไทยเรียกได้ว่าเป็นประเทศเกษตรกรรมอันดับต้นๆของโลก ทำให้มีโรงงานแป้ง โรงงานน้ำตาล โรงงานแปรรูปมันสำปะหลัง เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งโรงงานเหล่านี้มีน้ำทิ้งที่เกิดจากกระบวนการการผลิตในปริมาณที่มากและเป็นสาเหตุใหญ่สาเหตุหนึ่งของมลพิษทางน้ำ โดยทั่วไป แป้งมันสำปะหลัง 1 ตัน ก่อให้เกิดน้ำเสียประมาณ 10 – 20 ลูกบาศก์เมตร และมีภาระความสกปรกของสารอินทรีย์สูง นอกจากนี้ กระบวนการผลิตยังก่อให้เกิดสิ่งปฏิกูลหรือวัสดุที่ไม่ใช้แล้วในรูปของแข็ง ได้แก่ เปลือก ราก และกากมันสำปะหลัง ซึ่งในแต่ละกระบวนการส่งผลให้เกิดมลพิษทั้งทางน้ำ อากาศ และเศษวัสดุเหลือทิ้งมากมายจึงต้องมีแนวทางในการจัดการที่แตกต่างกันออกไป ในที่นี้รวมถึงวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว มันสำปะหลัง และอื่นๆ ที่มีมากเกินความต้องการของตลาดซึ่งไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ ดังนั้นการนำสิ่งเหล่านี้มาประยุกต์ใช้ทำให้เกิดประโยชน์ นอกจากจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์แล้ว ยังเป็นการลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม ลดภาระในการกำจัดของเสีย และปลายทางยังได้พลังงานสะอาดที่สามารถนำมาพัฒนาให้เป็นพลังงานหลักของประเทศเพื่อลดปัญหาการขาดแคลนแหล่งพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิลในอนาคตได้ด้วย

สำหรับประเทศไทย การนำวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการศึกษาและพัฒนาเพื่อผลิตพลังงานชีวภาพ จะเป็นการลดต้นทุนการผลิตที่แตกต่างจากต่างประเทศและยังเป็นการเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตรของไทยในทางหนึ่ง โดยในที่นี้จะขอกล่าวถึงผลผลิตทางการเกษตรประเภทแป้ง ซึ่งในการผลิตพลังงานทางชีวภาพด้วยวิธีนี้จะอาศัยความสามารถของจุลินทรีย์เป็นหลัก โดยจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (photosynthetic bacteria; PSB) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบกระจายทั่วไปในธรรมชาติ ตามแหล่งน้ำจืด น้ำเค็ม ทะเลสาบน้ำเค็ม น้ำทะเลสาบที่มีความเป็นด่าง น้ำที่มีความเป็นกรด น้ำพุร้อน น้ำทะเลบริเวณขั้วโลกเหนือ นอกจากนี้ ยังพบตามแหล่งน้ำเสียบ่อบำบัดน้ำเสีย (Levett, 1990; Imhoff, 1992; Brock, 1994)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน (Purple non-sulfur bacteria) เป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสงวงศ์ Rhodospirillaceae โดยทั่วไปต้องการออกซิเจนเล็กน้อย เป็นพวกโฟโตออแกโนโทรป (photoorganotroph) คือใช้สารอินทรีย์เป็นทั้งแหล่งคาร์บอน และตัวให้อิเล็คตรอนในการรีดิวส์คาร์บอนไดออกไซด์ บางชนิดอาจเติบโตได้ในสภาพออโตโทรป (autotroph) โดยใช้ไฮโดรเจนซัลไฟต์เป็นตัวให้อิเล็คตรอน การสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นในสภาพที่มีแสงและไม่มีออกซิเจน บางชนิดสามารถเติบโตได้ในสภาพมีออกซิเจน หรือมีออกซิเจนน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการหายใจและใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งอาหาร ในสภาพมีออกซิเจนโคโลนีมีสัม-น้ำตาล ถึงม่วง-แดง ในสภาพไม่มีออกซิเจนบางพวกมีสีเหมือนสภาพมีออกซิเจน แต่บางพวกมีสีเขียว–เหลือง มีแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์ หลายชนิดในการสังเคราะห์แสง ทำให้ปัจจุบันแบคทีเรียสังเคราะห์แสงโดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันได้รับความสนใจในด้านการศึกษาและวิจัยอย่างกว้างขวาง มีการนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพกันอย่างแพร่หลาย (Sasikala และคณะ, 1993; Sasikala และ Ramana,1995) ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ Rhodospirillum, Rhodocyclus และ Rhodopseudomonas

ในโครงงานพิเศษนี้จะศึกษาถึงความสามารถในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ-ทหารลาดกระบัง โดยทำการวิเคราะห์หาชนิด การทำงาน และความสามารถของเอนไซม์ที่แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตได้สูงสุด ในแป้งมันสำปะหลังสุกที่ผ่านการเจลาติไนซ์ (gelatinize) ที่อุณหภูมิ 68-92 องศาเซลเซียส โครงงานพิเศษนี้สามารถนำไปพัฒนาใช้กับระบบบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทแป้ง และพัฒนาการผลิตไฮโดรเจนในขั้นต่อไปในอนาคตได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ในสภาวะไร้อากาศ โดยมีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน

1.2.1 เพื่อศึกษาความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ในสภาวะไร้อากาศ โดยมีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน

1.2.2 เพื่อศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ในสภาวะไร้อากาศ

1.3 ขอบเขตของโครงงานวิจัย

ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ในสภาวะไร้อากาศ โดยมีพอลิแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เพื่อทราบถึงข้อมูลพื้นฐานของการย่อยสลายพอลิแซคคาไรด์ ประเภทแป้ง โดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.2 สามารถนำสิ่งเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรม และครัวเรือน รวมถึงวัตถุดิบ ทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่า

1.4.3 ใช้เป็นแนวทางในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนแบบยั่งยืน(Sustainable development) เพื่อทำให้มีการใช้ทรัพยากรธรรมชาติอย่างคุ้มค่า และไม่ทำลายสภาพแวดล้อมต่อไปในอนาคต

1.5 ขั้นตอนในการดำเนินการ

1.5.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อให้บริสุทธิ์

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่หาได้ตามแหล่งน้ำบริเวณรอบๆ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง มาเลี้ยงในอาหารเหลว Minimal medium of Ormerod ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ อุณหภูมิ 35 – 40 °C หลังจากนั้นนำมาลาก (Streak) ลงบนอาหารแข็งสูตร A ควำ่จานเพาะเชื้อไว้ในโถดูดอากาศ (Desiccators) ทำการดูดอากาศออก แล้วเติมก๊าซไนโตรเจนเข้าไป ทำซ้ำ 3 รอบ จึงนำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ อุณหภูมิ 35 – 40°C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ตรวจดูลักษณะโคโลนีที่เป็นสีแดง ชมพู หรือ ส้ม แล้วนำไปเลี้ยงต่อจนได้เชื้อที่บริสุทธิ์

1.5.2 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ มาศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา ทางชีวเคมีบางประการของการจัดจำแนกเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ตาม Bergy's Manual of systematic Bacteriology

1.5.3 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria บนอาหารแข็ง

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria บริสุทธิ์ที่ทำการคัดแยกได้ มาศึกษาความสามารถในการย่อยแป้ง โดยการนำมาเพาะเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่ใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ตรวจดูความสามารถในการย่อยแป้งโดยการหยดสารละลายไอโอดีนลงในจานเพาะเชื้อ ถ้าเชื้อมีการย่อยแป้งเกิดขึ้นจะเห็นรอบๆโคโลนีของเชื้อ เป็นสีเหลืองของสารละลายไอโอดีน ส่วนบริเวณที่ไม่มีการย่อยแป้ง จะเห็นเป็นสีน้ำเงินของการทำปฏิกิริยาระหว่างแป้งกับสารละลายไอโอดีนเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5.4 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ในอาหารเหลวสูตร A

นำเชื้อ purple non-sulfur becteria ที่มีความสามารถในการย่อยแป้ง ที่แยกได้จากอาหารแข็งมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส แหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต ซึ่งอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 1 ต่อ 1 จากนั้นนำตัวอย่างเชื้อปริมาตรร้อยละ 1.0 มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีพอลิแซ็กคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ แป้งมัน-สำปะหลัง ข้าวดิบ ข้าวสุก โดยใช้โมโนโซเดียมกลูตาเมตความเข้มข้นร้อยละ 1.0 เป็นแหล่งไนโตรเจน นำมาศึกษาในสภาวะไร้อากาศโดยเทพาราฟินเหลวปลอดเชื้อปิดทับด้านบน แล้วนำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 35 – 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง และในสภาวะที่มีอากาศ โดยนำไปบ่มใน Shaker ที่มีความเร็วรอบ 200 rpm อุณหภูมิ 37 องศา-เซลเซียสเป็นเวลา 144 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเชื้อที่ชั่วโมงต่างๆ มาวิเคราะห์ ดังนี้

1.5.4.1 ตรวจวัดการเจริญของเซลล์

ตรวจวัดการเจริญของเชื้อในอาหารเหลวที่มีแป้ง ข้าวดิบ และข้าวสุก เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถติดตามการเจริญของเซลล์ได้โดยการสกัดแบคเทอริโอคลอฟิลล์ โดยใช้อะซิโตน ต่อเมทานอล อัตราส่วน 7 ต่อ 2 แล้วนำไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 775 นาโนเมตร (OD_{775} nm)

1.5.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar)

นำตัวอย่างเชื้อที่ชั่วโมงต่างๆ มาปั่นเหวี่ยง แล้วนำส่วนใสที่ได้ทำการเจือจางระดับความเจือจางต่างๆ จากนั้นนำตัวอย่างแต่ละความเจือจางปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบ เพื่อตรวจวัดหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล – ซัลฟูริก (Phenol-sulfuric) โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร (OD_{490} nm) นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมด

1.5.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (Reducing sugar)

นำตัวอย่างเชื้อที่ชั่วโมงต่างๆ มาปั่นเวี่ยง แล้วนำส่วนใสที่ได้ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่างๆ จากนั้นนำตัวอย่างแต่ละความเจือจางปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบ เพื่อตรวจวัดหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ด้วยวิธี Somogyi – nelson โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (OD_{520} nm) นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5.4.4 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส

นำตัวอย่างเชื้อมาทำการปั่นเหวี่ยงแล้วนำส่วนใสมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยนำส่วนใสที่ได้และสารละลายน้ำแป้ง 1% ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 1 ml มาทำการทดสอบกับสารละลายไอโอดีน 1 ml เพื่อหากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยการนำไปทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 40 , 60 และ 80 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 2 ชั่วโมง โดยเวลาที่ทำการทดสอบคือ 0 , 5 , 10 , 15 , 30 , 60 และ 120 นาทีตามลำดับ หลังจากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 542 นาโนเมตร แล้วคิดหาเปอร์เซ็นต์ของการกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในระยะเวลา และอุณหภูมิที่กำหนด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

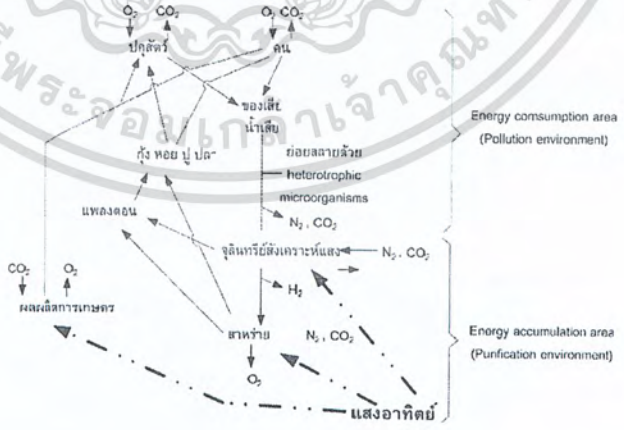
บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic Bacteria)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic Bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่มีแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน เป็นพวกแอนแอโรป และไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ กระบวนการสังเคราะห์แสงของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะไม่ให้ผลผลิตเป็นออกซิเจน แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจัดอยู่ในอันดับ Rhodospirillales มีลักษณะดังนี้ ดำรงชีวิตแบบโฟโตลิโตโทรปหรือโฟโตออร์แกโนโทรป มีโครงสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ ซึ่งต่างจากของไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่าย มีรงควัตถุคาโรทีนอยด์ ที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งช่วยจับพลังงานและส่งให้แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เจริญในที่ไม่มีก๊าซออกซิเจน และไม่สร้างก๊าซออกซิเจน เพราะมีแต่ระบบสังเคราะห์ด้วยแสง I (Photosystem I)

บทบาทของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงมีความสำคัญในกระบวนการนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปใช้ (CO_2 - assimilation) และการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation) นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในห่วงโซ่อาหารซึ่งสัตว์ขนาดเล็ก ปลา กุ้ง หอย และปู สามารถนำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงมาใช้เป็นอาหารได้ นอกจากนี้ในน้ำเสียจากบ้านเรือนและน้ำเสียจากการทำปศุสัตว์สามารถบำบัดด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kobayashi, 2000) ดังแสดงตามรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 บทบาทของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในธรรมชาติ

ที่มา : Kobayachi (2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ลักษณะของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (ดวงพร, 2530)

1.เซลล์มีรูปร่างทรงกลม แท่ง รูปไข่ หรือเป็นเกลียว เส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์อยู่ระหว่าง 0.3 – 6 ไมครอน

2.การเพิ่มจำนวนส่วนใหญ่เป็นแบบแบ่งตัว (Binary fission) แต่มีบางชนิดในวงศ์ Rhodospirillaceae แบ่งตัวโดยการแตกหน่อ

3.เป็นแบคทีเรียสีแกรมลบ

4.เซลล์แขวนลอย (Cell suspension) มีสีม่วง แดงเข้ม แดง ส้มน้ำตาล หรือสีเขียวอาจมีการสะสมเม็ดซัลเฟอร์

5.มีรงควัตถุ คือ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ (Bacteriochlorophyll) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoid)

6.การสังเคราะห์แสงแตกต่างจากสาหร่ายสีเขียวแกรมน้ำเงินและพืชสีเขียว เพราะเกิดในสภาพไร้ออกซิเจน ไม่มีการสร้างออกซิเจนในการสังเคราะห์แสง เนื่องจากไม่ได้ใช้น้ำเป็นตัวให้อิเล็กตรอน แต่ใช้แก๊สไฮโดรเจน สารประกอบซัลเฟอร์ในสภาพรีดิวส์ หรือสารอินทรีย์แทนการใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ โดยกระบวนการ Reductive pentose phosphatecycle หรือวัฏจักรเคลวิน (Calvin cycle)

7.มีความสามารถในการตรึงก๊าซไนโตรเจนได้ เนื่องจากมีไซโตโครม (Cytochrome) ยูบิควิโนน (ubiquinone) และมีเฟอร์รีดอกซิน (ferredoxin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีเหล็กแต่ไม่มีฮีม (Nonheme iron protein)

8.รงควัตถุในการสังเคราะห์แสง (Photopigment) อยู่ที่เยื่อภายในเซลล์ (Internal membrane) อาจมีลักษณะเป็นถุง(Vesicle)ในสกุล Chlorobium

9. G+G Content อยู่ระหว่าง 45-73 โมลเปอร์เซ็นต์ (mol %)

2.1.2 โครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์สังเคราะห์แสง

ภายในเซลล์ประกอบด้วยแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์รับพลังงานแสงได้ดีที่สุดในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 725 - 745 นาโนเมตร (สเปกตรัมช่วงยาวสุดที่ตาสามารถมองเห็นได้) ถึงช่วงความยาวคลื่น 1035 นาโนเมตร ซึ่งช่วงแสงนี้มีความยาวคลื่นยาวกว่าที่แบคทีเรียหรือสาหร่ายที่สังเคราะห์ให้ก๊าซออกซิเจน และเจริญบนผิวน้ำโดยจะไม่ดูดแสงนี้ จึงทำให้แสงผ่านลงไปถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ไม่ใช้ออกซิเจนได้สีของจุลินทรีย์ไม่ใช้ออกซิเจนเป็นผลมาจากแคโรทีนอยด์มากกว่าเกิดจากแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ ดังนั้นจึงแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามสีรงควัตถุ คือ แบคทีเรียสีม่วง และแบคทีเรียสีเขียว ถ้าเคลื่อนที่จะใช้แฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ (Polar flagella) ยกเว้นตระกูล Chromatiaceae มีการเคลื่อนที่แบบคืบคลาน แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มสีม่วงและแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มสีเขียว อาจตรึงก๊าซไนโตรเจนได้ถ้าอยู่ในสภาพที่ไม่มีอากาศและได้รับแสง (นงลักษณ์และปรีชา, 2547)

2.1.3 แหล่งที่อยู่

พบอาศัยทั่วไปตามแหล่งน้ำในบริเวณที่ไม่มีออกซิเจน และ ในตะกอนก้นน้ำที่มีแสงส่องถึง ปัจจัยสำคัญที่ทำ ให้มีกระจายตามแหล่งต่างๆในธรรมชาติ คือ ปริมาณความเข้มข้นของซัลไฟด์ ความเข้มข้นของออกซิเจน ค่าพีเอช สภาพที่มีแสงและสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ฉะนั้นจึงพบกระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ ตามแหล่งน้ำจืด น้ำเค็ม ทะเลสาบน้ำเค็ม น้ำที่เค็มจัด น้ำทะเลสาบที่มีความเป็นเบส น้ำที่มีความเป็นกรด น้ำพุร้อน น้ำทะเลบริเวณขั้วโลกเหนือ บริเวณปากน้ำ นอกจากนี้ยังพบตามแหล่งน้ำเสียในทะเล บ่อบำบัดน้ำเสีย บริเวณชายฝั่งของอ่าว ชั้นน้ำในทะเลสาบ และแหล่งน้ำอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบในบริเวณตะกอนริมฝั่ง ดินที่มีความชื้น และในนาข้าว (levett, 1990; Imhoff, 1992; Brock, 1994)

2.1.4 การจัดจำแนกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงไม่ใช้อากาศ (Classification of anoxygenic photosynthetic bacteria)

โดยทั่วไปจะแบ่งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงออกเป็น 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วง (purple photosynthetic bacteria) และ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียว (green photosynthetic bacteria) (Pfenning และ Truper,1989; Kobayashi, 2000) ดังแสดงตามตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 การจัดจำแนกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

ชั้น (Order)	วงศ์ (family)	สกุล (Genus)	สายพันธุ์ (species)
Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	*Rhodospirillum*	*rubrum,tenue,fulvum,inolischianum*
			photonietricum
		Rhodopseudomonas	*palustris,viridls,acidophilia,*
			gelatinosa,capsulata,sphaeroldes
		Rhodomicrobium	*vannielii*
	Chromatiaceae	*Chromatium*	*okenii,weissel,warmingil, buderi,*
			minus,Violascens,vinosum,grac
			illsimum,minutissium
		Thiocystis	*violace , gelatrnosa*
		Thiosarcina	*rosea*
		Thiospirillum	*sanguineu , jenens, rosenbergil*
		Thiocapsa	*roseopersicin , pfennigil*
		Lamprocystis	*roseopersicina*
		Thiodictyon	*elegans, bacillosum*
		Thiopedia	*rosea*
		Amoebobacter	*roseus , pendens*
	Ectothiorhodospiraceae	*Ectothiorhofospira*	*mobilis, shaposhnikovil , halophila*
Chlorobiales	Chlorobiaceae	*Chlorbium*	*limicola,vlbrioforme,*
			phaeobacteroides , phaeovibrioides
		Prosthecochloris	*aestuaril*
		Choropseudomonas	*ethylica*
		Pelodictyon	*ciathratifornie , luteolum*
		Clathrochloris	*sulphurica*

ที่มา : ดัดแปลงจาก Kobayashi (2000); Levett (1990); Imhoff (1992); Pfenning และ Truper (1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4.1 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียว (Green photosynthetic bacteria)

แบคทีเรียใน family Chlrobiaceae เช่น จีนัส *Chlorobium* เป็นแบคทีเรียสังเคราะห์-แสง green sulfur ทั้งหมดจัดเป็นพวก obligate anaerobe และ obligate phototroph คือสามารถเจริญในที่ไม่มีออกซิเจนและใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเท่านั้น เซลล์ของแบคทีเรียที่เจริญในที่ไม่มีออกซิเจนจะไม่มี chromatophore เนื่องจากออกซิเจนที่มีอยู่ยับยั้งการสังเคราะห์แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ของเซลล์ โดยทั่วไปแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม green sulfur นี้ใช้สารประกอบอนินทรีย์เป็นตัวรีดิวส์หรือให้อิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง แต่บางสารพันธุ์สามารถใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นตัวรีดิวส์หรือเป็นแหล่งให้อิเล็กตรอนได้ และบางสายพันธุ์สามารถใช้โมเลกุลของไฮโดรเจนได้ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์และ sulfide นอกจากนี้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่มนี้ยังประกอบด้วยแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็น muticellular filamentous ด้วย

รูปที่ 2.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในวงศ์ Chlorobiaceae

ที่มา (Imhoff, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วง (Purple photosynthetic bacteria)

แบคทีเรียสีม่วง จะมีแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เอ และบี และแคโรทีนอยด์ ช่วยจับพลังงานแสง ซึ่งรงควัตถุเหล่านี้จะอยู่ในไซโตพลาสมิกเมมเบรน (cytoplasmic membrane) มีการจัดเรียงตัวกันแบบ vesicle, tubules หรือ lamellae และแบ่งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ (Imhoff, 1992)

1. วงศ์ Chromatiaceae หรือ แบคทีเรียสีเขียวที่ใช้ออกซิเจน พบแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เอ มากกว่ากลุ่มอื่นๆ ตามแหล่งน้ำธรรมชาติ และน้ำเค็มจะพบทั้งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มสะสมกำ มะถัน และแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถัน (Imhoff, 1988) แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้เจริญได้ดีในสภาพแบบ โฟโตออโตโทรป (photoautotroph) ใช้สารประกอบซัลเฟอร์ ซัลไฟด์ และไทโอซัลเฟต (thiosulphate) เป็นตัวรับอิเล็กตรอน มีการออกซิเดชันสารประกอบซัลไฟด์ไปเป็นสารประกอบซัลเฟต ซึ่งซัลไฟด์ถูกเก็บสะสมไว้ในเซลล์ โดยทั่วไปจะพบแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มดังกล่าวดำรงชีวิตแบบโฟโตเฮเทอโรโทรป (photoheterotroph) และแบบเคโมเฮเทอโรโทรป (chemoheterotroph) บางชนิดต้องการวิตามินบีสิบสอง เป็นวงศ์เดียวที่มีการสร้าง vesicle (Imhoff, 1992)

2. วงศ์ Ectothiorhodospiraceae พบทั้งในน้ำเค็มและน้ำที่มีความเป็นเบส ภายในไซโต พลาสมิกเมมเบรน จะมีรงควัตถุรวมกันเป็นลาเมลลา (lamellae) ซึ่งพบลักษณะนี้เฉพาะในวงศ์นี้เท่านั้น(Pfenning และ Truper, 1992)

3. วงศ์ Rhodospirillaceae หรือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน Brock และ Madigan (1991) กล่าวว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้จะไม่สามารถใช้ซัลไฟด์เป็นตัวให้อิเล็กตรอนเพื่อรีดิวส์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นสารอาหารภายในเซลล์ได้ และมีเมทาบอลิสมดีกว่าแบคทีเรียสีเขียวที่ใช้ซัลเฟอร์ เนื่องจากสามารถเจริญได้ทั้งแบบโฟโตเฮเทอโรโทรปและโฟโตออโตโทรป โดยใช้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นตัวให้อิเล็กตรอน ซึ่งส่วนใหญ่แบคทีเรียกลุ่มนี้จะทนต่อสภาพที่มีออกซิเจน จึงสามารถเจริญได้ภายใต้สภาวะแบบเฮเทอโรโทรปที่มีอากาศ-ไม่มีแสง มีแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์ หลายชนิดในการสังเคราะห์แสง

2.1.4.2.1 สรีรวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถันสามารถเจริญได้โดยมีเมทาบอลิซึมทั้งแบบโฟโตออโตโทรป และโฟโตเฮเทอโรโทรป (Staley และคณะ, 1989) Madigan (1988) จำแนกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้โดยอาศัยความแตกต่างทางด้านเมทาบอลิซึม จำแนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้เป็น 3 กลุ่ม โดยอาศัยความแตกต่างทางด้านสรีรวิทยาและชีวเคมี คือ โฟโตโทรป (phototroph) ลิโทรโทรป (lithotroph) และออโตโทรป (autotroph) (Truper, 1989)

1. โฟโตโทรป ได้พลังงานจากการสังเคราะห์แสงไม่ใช้น้ำเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแต่จะใช้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นทั้งตัวให้อิเล็กตรอนและเป็นแหล่งคาร์บอน เจริญได้ดีในสภาพมีออกซิเจนและไม่มีแสง บางชนิดเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนและมีแสง (Brock และ Madigan, 1991; Brock และคณะ, 1994)

2.ลิโทรโทรป ได้พลังงานจากการออกซิไดซ์สารประกอบอินทรีย์ เช่นก๊าซไฮโดรเจน (Truper, 1989) บางชนิดสามารถรีดิวส์สารประกอบซัลเฟอร์มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้(Madigan, 1988)

3. ออโตโทรป ได้พลังงานจากการสังเคราะห์แสง ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน (Brock และคณะ, 1994) และใช้ก๊าซไฮโดรเจน หรือ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เป็นตัวให้อิเล็กตรอน เจริญได้ดีในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ใช้แยกแบคทีเรียกลุ่มนี้ออกจากกลุ่มอื่น ๆ (Pfenning และ Truper, 1989)

(A) (B)

รูปที่ 2.3 A คือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในวงศ์ Chromatiaceae
B คือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในวงศ์ Rhodospirillaceae
ที่มา (Imhoff, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5. องค์ประกอบที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะประกอบด้วยศูนย์กลางของปฏิกิริยาที่ใช้ในการจับแสง โดยใช้แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เป็นส่วนแรกในการรับอิเล็กตรอน และตัวพาอิเล็กตรอนอาจเป็น ควิโนน (quinone) และไซโตโครม (cytochromes) ซึ่งมีหน้าที่ในการถ่ายเทอิเล็กตรอนใน กระบวนการสังเคราะห์แสงและหายใจ (Imhoff, 1992)

2.1.6 การถ่ายเทอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง

พลังงานแสงจะถูกจับโดยแอนทีนาคอมเพลก (antena complex) แล้วเคลื่อนที่ไป ยังศูนย์กลางของปฏิกิริยาเรียก เอ็กซิตรอน (exitron) มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนอย่างช้าๆ ในศูนย์กลาง ของปฏิกิริยา เมื่อพลังงานแสง (excitron) กระทบกับโมเลกุลของแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เอ คู่พิเศษก่อนที่จะถูกกระตุ้นแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เอ คู่พิเศษ ที่เรียกว่า P870 จะมีค่า E'_0 ประมาณ +0.5 โวลต์ อิเล็กตรอนที่ถูกกระตุ้นจะไปรีดิวส์โมเลกุลของ bacteriophaeophytin ในศูนย์กลาง ปฏิกิริยาและถ่ายเทอิเล็กตรอนต่อไปยังตัวรับส่งอิเล็กตรอน ซึ่งเรียงตัวอยู่ในเมมเบรนของเซลล์เป็น อนุกรม โดยเรียงตัวจากอิเล็กตรอนที่มีค่า reduction potential เป็นลบมากไปยังตัวรับอิเล็กตรอนที่มี ค่า reduction potential เป็นบวกมาก โดยจะถ่ายเทต่อไปยังยูบิควิโนนคอมเพลก (ubiquinone complex) และไซโตโครม ซี ตามลำ ดับ โดยมีไซโตโครม บีซี (Cyt.bc) และไซโตโครม ซี 2 (Cyt.C2) เป็นตัวถ่ายเทอิเล็กตรอน ไซโตโครม ซี 2 ซึ่งอยู่ที่ชั้น เพอริพลาสมิก(periplasmic) เพื่อรับ อิเล็กตรอนระหว่างเมมเบรนบาวด์คอมเพลก (membrane bound complex) กับศูนย์กลางของ ปฏิกิริยา (Truper, 1989; Brock, 1994; Madigan และคณะ, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 2.4 และ 2.5

2.1.7 การสร้างพลังงาน (ATP)

การสร้างพลังงานจะเกิดขึ้นเมื่อมีแสงจากวัฏจักรที่เรียกว่า photophosphorylation ขณะ มีการการถ่ายเทอิเล็กตรอนในการสังเคราะห์แสงจะเกิด ATP ซึ่ง ATPที่เกิดขึ้นนี้เกิดจากแรง ขับเคลื่อนของโปรตอน (proton motive force) โดยเกิด proton gradient ระหว่างภายนอกเซลล์กับ ภายในเซลล์ เมื่อโปรตอนไหลออกมานอกเซลล์เมมเบรน ในระหว่างการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไป ตามตัวรับส่งอิเล็กตรอน กระตุ้นเอนไซม์ ATPase ให้เร่งแรงขับเคลื่อนโปรตอนให้โปรตอนกลับ เข้าสู่เซลล์เกิดเป็นATPขึ้น เนื่องจากการเกิด ATP ในระหว่างการถ่ายเทอิเล็กตรอนนั้น อิเล็กตรอน จะถูกส่งกลับมายังที่เดิม คือ ศูนย์กลางปฏิกิริยาอีกครั้ง ทำให้ศูนย์กลางปฏิกิริยา สามารถจับ พลังงานแสงและเริ่มสังเคราะห์แสงอีกครั้ง จึงเรียกการสร้าง ATP นี้ว่า cyclic photophosphorylation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้าง NADH ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน จะไม่สามารถรีดิวส์โดยตรงจาก $NADP^+$ ได้โดยตรง เนื่องจากในแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าว สามารถใช้ H_2S , $S_2O_3^{2-}$และ Fe^{2+} เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่ ไซโตโครม ซี และถูกส่งกลับไปยังแหล่ง ควิโนน แต่ค่า $E'o$ ควิโนนมีค่าเป็นลบน้อยกว่า $NAD(P)^+$ จึงไม่สามารถรีดิวส์ $NAD(P)^+$ ได้โดยตรง อิเล็กตรอนจากควิโนน ต้องใช้แรงย้อนกลับส่งไปให้ $NAD(P)^+$ เพื่อจะรีดิวส์ $NAD(P)^+$ ให้เป็น NADPH เรียกกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่มีค่า $E'o$ เป็นลบน้อยกว่าตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งต้องใช้พลังงานที่ได้จากแรงขับเคลื่อนโปรตอน ด้วยวิธีนี้จึงทำให้ได้ NADPH ไว้ใช้รีดิวส์ CO_2 ต่อไปในปฏิกิริยาไม่ใช้แสง (dark reaction) (Brock, 1994; Madigan และคณะ, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 2.4 และ 2.5

รูปที่ 2.4 การถ่ายเทอิเล็กตรอนในการสังเคราะห์แสงโดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถัน

กำหนดให้ : RC, reaction center

Bchl, bacterichlorophyll

Bph, Bacteriopheophytin

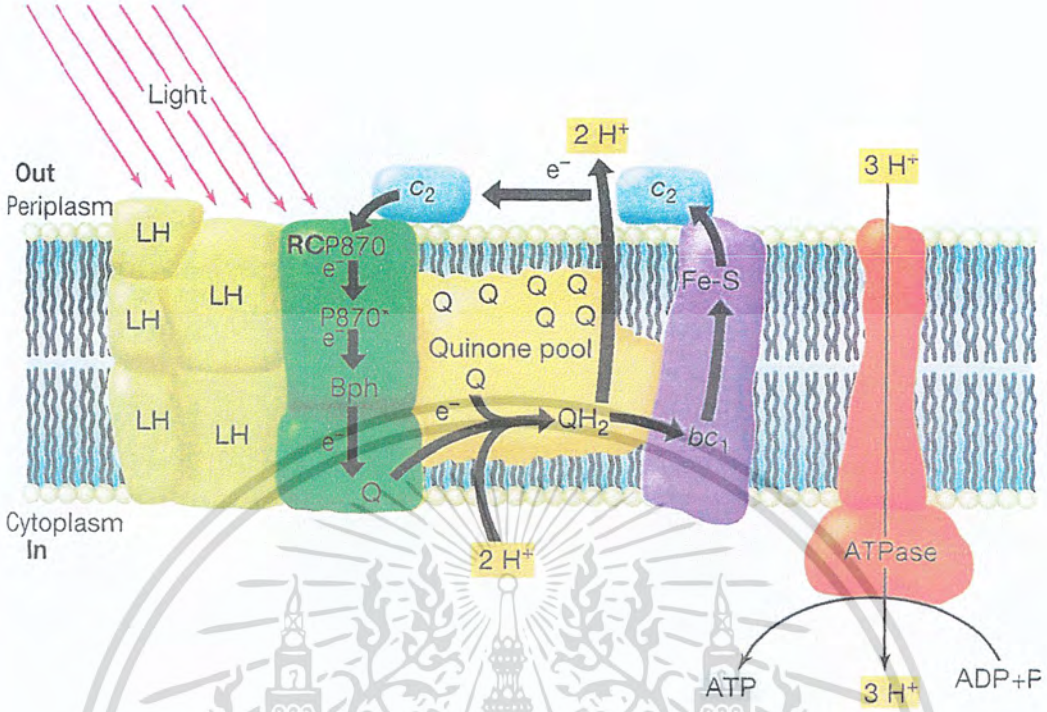
QA, QB, intermediate quinones

Q pool, Quinone pool

Cyt , cytochrome

ที่มา: Madigan และคณะ (2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 การถ่ายเทอิเล็กตรอนผ่านเมมเบรน และการสังเคราะห์ ATP ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถัน

กำหนดให้: ATP ase, ATP synthase — LH, light-harvesting bacteriochlorophyll complex

RC, reaction center — Bchl, Bacteriochlorophyll

Bph, bacteriopheophytin — Q , quinone

FeS, iron-sulfer protein — bc1; cytochrome bc1 complex

G2 , cytochrome C2

ที่มา: Madigan และคณะ (2000)

2.1.8 เมแทบอลิซึมของซัลไฟด์ (Sulfide metabolism)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่มแบคทีเรียสีม่วง และแบคทีเรียสีเขียว สามารถรีดิวส์สารประกอบซัลเฟอร์โดยการออกซิเดชันซัลไฟด์ และไทโอซัลไฟด์ได้ภายใต้สภาพที่ไม่มีออกซิเจนได้แก่ วงศ์ Chromatiaceae ซึ่งวงศ์นี้จะมีเม็ดซัลเฟอร์อยู่ในเซลล์ (Levett, 1990) สำหรับแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันจะไม่สามารถใช้ซัลไฟด์เป็นตัวให้อิเล็กตรอน แต่ก็มีบางกลุ่มที่สามารถใช้ซัลไฟด์ได้ (Pfenning, 1978; Madigan, 1988) จากสมบัติดังกล่าวสามารถจำแนกกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน ออกจากกลุ่มโฟโตโทรฟิคแอนแอโรป (phototrophic anaerobes)ได้โดยเฉพาะวงศ์ Rhodospirillaceae ไม่สามารถใช้ซัลเฟอร์เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Levett, 1990) ดังนั้น ถ้าในอาหารมีซัลไฟด์สูงจะมีมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงเหล่านี้(Watanabe, 1981; Imhoff,1988) แบคทีเรียสังเคราะห์แสงบางชนิดสามารถที่จะออกซิไดซ์ซัลไฟด์จากสารซัลเฟอร์ที่อยู่ภายนอกเซลล์ และยังใช้เป็นตัวให้อิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ เช่น *Rhodobacter capsulatus*, *Rhodospirillum rubrum* และ *Rhodovulum sulfidophilus* (ก่อนนี้คือ *Rhodobacter sulfidophilus*) โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้ สามารถทนซัลไฟด์ได้น้อยคือ ประมาณ 0.4-0.2 mM ถ้ามีซัลไฟด์อยู่สูงคือ 2.0-4.0 Mm จะมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงบางชนิด (Pfennig และ Truper, 1989; Madigan,1988) Burgess และคณะ (1994) รายงานว่าพบแบคทีเรียสังเคราะห์แสงชนิดใหม่คือ *Rhodobacter marinus* ที่ไวต่อซัลไฟด์ ซึ่งถ้ามีซัลไฟด์มากกว่า 0.7mM จะไม่เจริญ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงทนต่อซัลไฟด์ เช่น *Rhodobacter sulfidophilus* ที่ต้องการออกซิเจน และ *Rhodobacter adriaticus* ที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันที่สามารถรีดิวส์สารประกอบซัลเฟอร์ได้

2.1.9 การตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 fixation)

การตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากสารอินทรีย์ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่มไม่สะสมกำ มะถันสามารถใช้เมทานอล (methanol) เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญแบบโฟโตโทรปแอนแอโรปแบคทีเรียสังเคราะห์แสงบางชนิดจะมีกระบวนการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ดังสมการ

$$2\,CH_3OH + CO_2 \longrightarrow 3\,(CH_2O) + H_2O$$

คาร์โบไฮเดรตในเซลล์

โดยเมทานอลจะไปรีดิวส์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการออกซิเดชัน เพื่อสร้างคาร์โบไฮเดรตให้กับเซลล์ และใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวรับอิเล็กตรอน กระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จะพบในวงศ์ Chlorobiaceae โดยผ่านวัฏจักรที่เรียกว่า tricarboxylic acid cycle (TCA) (Truper, 1989; Schlegel, 1993; Brock, 1994)

สำหรับพวกที่เจริญแบบออโตโทรป จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน ปฏิกิริยานี้จะเกิดสมบูรณ์ได้ต้องไม่มีแสงเลยโดยใช้ ATP และNADPH ที่สร้างจากกระบวนการสังเคราะห์แสงหรือจากออกซิเดชันของสารประกอบอนินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.2 การคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันโดยการเพิ่มปริมาณเชื้ออย่างจำเพาะ

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถันมีการแพร่กระจายในธรรมชาติน้อยกว่ากลุ่มแบคทีเรียอื่นๆ บางชนิดแทบจะไม่พบในธรรมชาติเลย เช่น *Rhodocyclus purpureus*, *Rhodopila globiformis* และ *Rhodopseudomonas sulfoviridis* (Imhoff, 1988) เนื่องจากแต่ละชนิดจะเจริญได้ในสภาพแวดล้อมเฉพาะตัว ฉะนั้นจึงเริ่มมีเทคนิคการคัดเลือกโดยการเพิ่มปริมาณเชื้ออย่างจำเพาะเป็นครั้งแรกในปี 1888 โดย Winogradsky และมีการพัฒนาเรื่อยมา สิ่งสำคัญที่จะต้องคำนึงถึงคือ อาหารที่ใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้ จะต้องตรงตามความต้องการของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงแต่ละชนิด ซึ่งจะต้องพิจารณาจากปริมาณความเข้มข้นของซัลไฟด์ พีเอช อุณหภูมิ ความเข้มแสง ความเค็มของเกลือโซเดียมคลอไรด์ และองค์ประกอบต่างๆ ในอาหาร (Imhoff, 1992; Sasikala และคณะ,1993)

2.2.1 ความเข้มข้นของซัลไฟด์ (Sulfide concentration)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้จะมีความไวต่อซัลไฟด์ ฉะนั้นอาหารที่ใช้เลี้ยงจะต้องมีความเข้มข้นของซัลไฟด์ในปริมาณต่ำ คือ ประมาณ 0.005-0.01 เปอร์เซ็นต์ ของ $Na_2S{\cdot}9H_2O$ (Brock และคณะ, 1994) บางชนิดสามารถรีดิวส์สารประกอบซัลไฟด์ได้ เช่น *Rhodopseudomonas sulfuviridis*, *Rhodobacter adriatiucs*, *Rhodobacter veldkampii* และ*Rhodopila globiformis* (Keppen และ Gorlenko, 1975; Neutzlingและคณะ, 1984; Hansenและ Imhoff 1985; Pfenning, 1974) บางชนิดจะต้องเติม Na_2S เข้มข้น 0.4-2.0 mM เพื่อเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง (Imhoff, 1992) Burgess และคณะ (1994) รายงานว่าพบแบคทีเรียสังเคราะห์แสงชนิดใหม่ คือ *Rhodobacter marinus* ที่ไวต่อซัลไฟด์ นั่นคือถ้ามีซัลไฟด์มากกว่า 0.7 mM จะไม่เจริญ

2.2.2 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มนี้ อยู่ในช่วง 25-35 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิจะมีความสำคัญในการคัดเลือกชนิดของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่เจริญได้เร็ว (Herbert,1976) บางชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส หรือ มากกว่านี้ เช่น *Rhodospseudomonas cryptolactis* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และเจริญได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส (Stadtwald-Demchick, 1990b) นอกจากนี้ยังพบว่า *Rhodopseudomonas sphaeroides* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 หรือ 40 องศาเซลเซียส (Watanabe และคณะ, 1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
133416

2.2.3 ความเข้มแสง (Light intensity)

ความเข้มแสงที่แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันต้องมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่เหมาะสม ฉะนั้นหลอดไฟที่ใช้ให้แสงก็จะเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มเชื้อด้วย ดังนั้นหลอดไฟทังสเตนจะใช้ได้ดีเพราะไม่ต้องเพิ่มความร้อนไปด้วยขณะให้แสง แบคทีเรียสังเคราะห์แสงบางชนิดจะมีรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงชนิดเดียวกัน เช่น *Rhodopseudomonas sulfoviridis* และ *Rhodopseudomonas viridis* จะมีแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ บีเหมือนกันจึงต้องใช้ช่วงแสง 1,000 นาโนเมตร หรือมากกว่านี้ในการคัดเลือก (Sasikala และคณะ, 1993)

2.2.4 ออกซิเจน (Oxygen)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถัน เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ถ้ามีออกซิเจนในการเลี้ยงจะมีผลยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสงไม่ให้มีการสร้างรงควัตถุ ดังนั้นในการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มดังกล่าวจึงไม่ให้ออกซิเจน บางชนิดไวต่อออกซิเจนมากเช่น *Rhodospirillum* sp, *Rhodopseudomonas viridis*, *Rhodopila globiformis* และ *Rhodocyclus purpureus* ฉะนั้นจึงต้องเติม $NaCO_3$ ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อปรับสภาพไม่ให้มีออกซิเจน (Imhoff, 1992) ออกซิเจนมีผลในการยับยั้งการสร้าง protoporphyrin ใน *Rhodobacter capsulatus* (Biel, 1992) Prasertsan และคณะ (1993) รายงานว่าสกุล Rhodospirillaceae ที่แยกได้จากน้ำเสียของกระบวนการการผลิตอาหารทะเล สามารถสร้างแคโรทีนอยด์ และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ ในที่มีออกซิเจนและมีแสง มากกว่าในสภาวะไม่มีออกซิเจน และมีแสง

2.2.5 พีเอช (pH)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถันเจริญได้ดีที่พีเอชต่ำๆ เช่น *Rhodopila globiformis* (พีเอชที่เหมาะสมคือ 4.8-5.0) *Rhodopseudomonas acidophila* (พีเอชที่เหมาะสมคือ 5.8) และ *Rhodomicrobium vannielii* (เจริญดีที่พีเอชต่ำ ๆ จนถึง 5.2) (Imhoff, 1992)

นอกจากนี้ยังสามารถพบแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้ในดินที่มีความเป็นกรดโดยทั่วไป พีเอชอาหารที่ใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้อยู่ในช่วง 6.5-7.0 แต่ถ้าเป็นอาหารที่ enrichment จะมีพีเอชอยู่ที่ 5.0 และ 5.5 ซึ่งใช้คัดเลือก *Rhodomicrobium vannielii* และ *Rhodopseudomonas globiformis* ตามลำดับ (Sasikala และคณะ, 1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 ความเข้มข้นของเกลือ (Salinity)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเล จะสามารถทนต่อความเค็มได้มากกว่า 2-4 เปอร์เซ็นต์ของเกลือโซเดียมคลอไรด์ Olliver (1994) ได้แบ่งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงโดยอาศัยความทนต่อความเข้มข้นของเกลือออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

2.2.6.1 กลุ่มที่ทนความเข้มข้นของเกลือน้อย (Slight halophile) พวกนี้จะต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์เพื่อใช้ในการเจริญ 2-5 เปอร์เซ็นต์ เช่น *Rhodobacter sulfidophilus*, *Rhodopseudomonas marina* และ *Rhodobacter adriaticus* แต่จะไม่พบในน้ำทะเล

2.2.6.2. กลุ่มที่ทนความเข้มข้นของเกลือปานกลาง (Moderate halophile) ต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์ เพื่อใช้ในการเจริญ 6-11 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Rhodospirillum mediosalinum*, *Rhodospirillum salexigens* และ *Rhodospirillum salinalum*

2.2.6.3. กลุ่มที่ทนความเข้มข้นของเกลือสูง (Extreme halophile) จะต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์เพื่อใช้ในการเจริญ 20-25 เปอร์เซ็นต์ดังนั้นจึงไม่พบกลุ่มนี้ในแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน

สำหรับแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถัน ที่เจริญในน้ำทะเลจะต้องเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงด้วย สำหรับกลุ่มที่อาศัยอยู่ในน้ำจืด เช่น *Rhodobacter sphearoides* จะถูกยับยั้งเมื่อมีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.3 M (Vreeland และ Hochstein, 1992) และ *Rhodspirillum rutila* จะถูกยับยั้งเมื่อมีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3 เปอร์เซ็นต์ (Pfennig และ Truper, 1989)

2.2.7 แหล่งคาร์บอน (Carbon source)

แหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงคือ อะซีเตท (acetate) และมาเลต (malate) (Madigan, 1988) สำหรับแบคทีเรียสังเคราะห์กลุ่มไม่สะสมกำมะถันแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในอาหารเลี้ยง ได้แก่ อะซีเตต (acetate), ไพรูเวต (pyrpuvate), มาเลต (malate), ซักซิเนต(succinate) และ ฟูมาเรต (fumarate) (Imhoff, 1992) ในกลุ่มที่สามารถเกิดการหมักได้ จะใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ แอซีเตต, เอทานอล (ethanol), เบนโซเอต (benzoate),ไอโซโปรพานอล (isopropanol), บิวทีเรต (butyrate) หรือ กรดไดคาร์บอกซิลิก (dicarboxylic acid) ซักซิเนต เป็นต้น บางชนิดสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีกรดไขมัน เมทานอล(methanol) หรือ เอทานอล บางชนิดก็ไม่ต้องการ (Brock และคณะ, 1994) แหล่งคาร์บอนที่ใช้สำหรับการคัดเลือก *Rhodocyclus gelatinosus* คือ ซิเตรต (citrate) (Imhoff, 1992) นอกจากนี้ ยังพบว่า *Rhodopseudomonas cryptolactis* ต้องการ ไพรูเวต และ แลคเตท (lactate) เป็นแหล่งคาร์บอน (Stadtwald-Demechick และคณะ, 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.8 แหล่งไนโตรเจน (N_2 -source)

แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง เช่น $NH4^+$, ไนเตรต (nitrate) และ ยูเรีย แต่ไม่ต้องเติมลงในอาหารเพราะใช้ก๊าซไนโตรเจนแทน

2.2.9 วิตามิน (Vitamin)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะต้องการวิตามินต่างๆมากมาย เป็นปัจจัยในการเจริญ (growth factor) ได้แก่ ไบโอติน (biotin), ไนอะซิน (niacin), ไธอะมีนไดคลอไรด์ (thiaminedichloride), กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (ρ-aminobenzoic acid), ไพริดอกโซเลียมไฮโดรคลอไรด์ (pyridoxolium hydrochloride), แคลเซียมแพนโธทีเนต (Ca-panthotenate), วิตามินบีสิบสอง (B12) เป็นต้น ซึ่งจะใช้เพียงชนิดเดียวหรือใช้รวมกันก็ได้ (Imhoff, 1992) เช่น *Rhodobacter* sp. ต้องการไบโอติน , กรดนิโคตินิก และไธอะมีน ในการเจริญ (Choorit และคณะ, 1993)

2.3 แหล่งคาร์บอนพอลิแซคคาไรด์ (Polysaccharide)

พอลิแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) ตั้งแต่ 12 โมเลกุลขึ้นไปมาจับกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) โครงสร้างของโมเลกุลอาจเป็นสายตรง (linear) หรือเป็นแบบแตกแขนง (branch) โดยจะสามารถแบ่งพอลิแซคคาไรด์ ออกได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ โฮโมพอลิแซคคาไรด์ (Homopolysaccharide) ซึ่งเป็นโมโนแซคคาไรด์ชนิดเดียวกันมาต่อกัน เช่น แป้ง ไกลโคเจน (glycogen) เซลลูโลส (cellulose) และเฮทเทอโรพอลิแซคคาไรด์ (Heteropolysaccharide) ซึ่งเป็นโมโนแซคคาไรด์หลายๆ ชนิดมาต่อกัน มักจะพบน้ำตาลอะมิโนรวมอยู่ด้วย

2.3.1 แป้ง(Starch)

แป้งเป็นสารอินทรีย์ที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช และพืชจะเก็บสะสมสตาร์ชเหล่านี้ไว้ในส่วนต่าง ๆ ได้แก่ เมล็ด หัว ราก ผล ลำต้น และใบ เป็นต้น โดยเป็นอาหารสะสมของพืช สตาร์ชส่วนใหญ่ที่เป็นแหล่งสะสมคาร์โบไฮเดรตถาวรจะสร้างในออร์แกนเนลล์ที่เรียกว่า อะไมโลพลาสต์ (amyloplast) (Smith, 1982) โมเลกุลสตาร์ชจะรวมกันอยู่เป็นเม็ดสตาร์ชซึ่งมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช

2.3.1.1 องค์ประกอบ โครงสร้าง และน้ำหนักโมเลกุลของสตาร์ช

สตาร์ชเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่ง ที่ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของแอลฟา-ดี-กลูโคส (α-D-glucose) ที่มีองค์ประกอบ 2 ส่วน คือ อะไมโลส (amylose) ที่มีอยู่ร้อยละ 15-30 ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสเกาะเกี่ยวกันเป็นสายโซ่ยาว และอะไมโลเพคติน (amylopectin) ที่มีอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 70-85 ประกอบด้วย พอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสมาเกาะเกี่ยวในรูปที่มีกิ่งก้านที่แตกแขนงออกไปคล้ายกิ่งไม้ โดยโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิค (glucosidic linkage) และพอลิเมอร์ของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินจะเกาะเกี่ยวกันอย่างหนาแน่นด้วยพันธะไฮโดรเจน (H-bond) (สายสนม, 2537; Kulp, 1975)

4.4.1.2.1 อะไมโลส (Amylose)

อะไมโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยหน่วยกลูโคส (anhydroglucose unit, AGU) ประมาณ 200-2000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1,4-glucosidic linkage (รูปที่ 2.6) แป้งจากธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี และข้าวฟ่างมีอะไมโลสสูงร้อยละ 28 และแป้งจากรากและหัว มีปริมาณอะไมโลสร้อยละ 20 โดยน้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสอยู่ในช่วง 105 ถึง 106 ดาลตัน อะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันไป

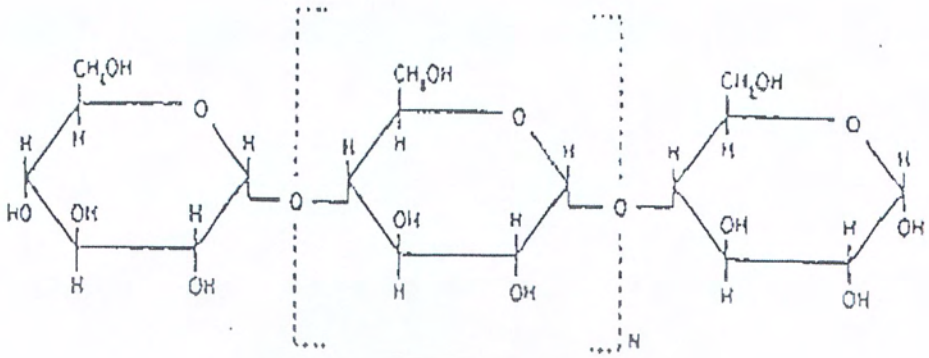
อะไมโลสสามารถรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับสารละลายไอโอดีน และสารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ เช่น บิวทานอล, กรดไขมัน, สารลดแรงตึงผิว, ไฮโดรคาร์บอนและฟีนอล สารประกอบเหล่านี้จะไม่ละลายในน้ำ โดยอะไมโลสจะพันเป็นเกลียวล้อมรอบสารประกอบอินทรีย์ นอกจากนี้อะไมโลสที่รวมตัวกับไอโอดีนจะให้สีน้ำเงินซึ่งใช้เป็นลักษณะที่บ่งบอกถึงแป้ง ที่มีองค์ประกอบของอะไมโลส (กล้าณรงค์ และ เกื้อกูล, 2546)

4.4.1.2.2 อะไมโลเพคติน (Amylopectin)

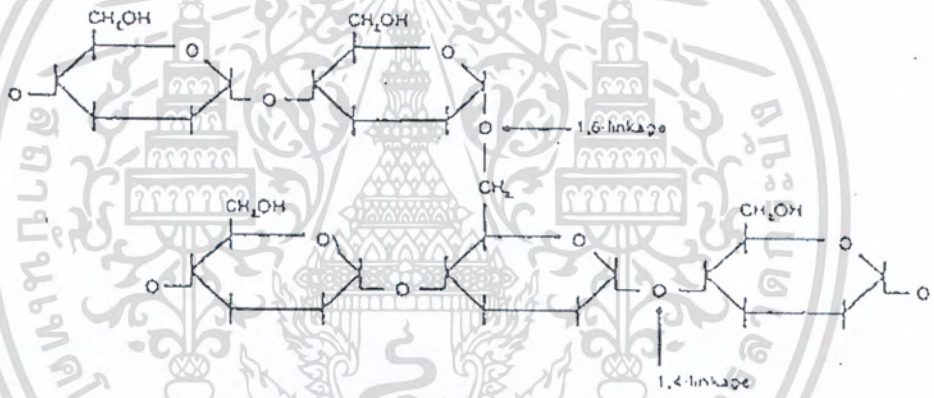
อะไมโลเพคตินเป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ประกอบด้วยส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วนพันธะ α-1,4-glucosidic linkage และส่วนที่เป็นกิ่งสาขาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1,6-glucosidic linkage (รูปที่ 2.6) มีอยู่ประมาณร้อยละ 5 ของปริมาณหน่วยกลูโคสในอะไมโลเพคตินทั้งหมด โดยทั่วไปจะมีสายกลูโคสมาต่อเป็นโซ่แขนงที่ทุก ๆ 26 หน่วยกลูโคส (Young, 1984) อะไมโลเพคตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1,000 เท่าของอะไมโลส คือ 107 - 108 ดาลตัน (Hood, 1982) อะไมโลเพคตินจะเกิดปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนให้สีม่วงแดงหรือน้ำตาล (อรพิน, 2533) ปริมาณของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินในแป้งชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2.2

ส่วนที่เป็นกิ่งก้านของอะไมโลเพคติน แบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทคือ แบบ A (A-chain) เป็นสายที่ไม่มีกิ่งก้านเกาะกับโมเลกุลโดยมีจุดเชื่อมเดียวผ่านทางหมู่รีดิวส์ แบบ B (B-chain) เป็นสายที่มีกิ่งก้านเชื่อมต่อกับสายอื่น 2 จุดหรือมากกว่า และแบบ C (C-chain) มีหมู่รีดิวส์ 1 หมู่ต่อโมเลกุล กิ่งก้านของอะไมโลสเพคตินไม่ได้กระจายตัวอย่างอิสระแต่อยู่เป็นกลุ่ม(Lineback, 1996) และเกิดเป็นสายคู่พันกันเป็นเกลียว (Oates, 1996) คุณสมบัติของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินแสดงดังตารางที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) อะไมโลส



(ข) อะไมโลเพคติน

รูปที่ 2.6 โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน

ที่มา: Swinkels (1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ปริมาณอะไมโลสและอะไมโลเพคตินในแป้งชนิดต่าง ๆ

ชนิดของแป้ง	เปอร์เซ็นต์อะมิโลส (w/w)	เปอร์เซ็นต์อะมิโลเพคติน (w/w)
แป้งข้าวโพด	28	72
แป้งมันฝรั่ง	21	79
แป้งข้าวสาลี	28	72
แป้งมันสำปะหลัง	17	83
Waxy maize	0	100
แป้งข้าวฟ่าง	28	72
แป้งข้าว	17	83
แป้งสาคู	27	73
แป้งท้าวยายม่อม	20	80
Amylomaize	50 - 80	20 - 50

ที่มา: Beynum and Roels (1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 สมบัติบางประการของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน

คุณสมบัติ	อะไมโลส	อะไมโลเพคติน
ลักษณะโครงสร้างโมเลกุล	สายยาวเป็นโซ่ตรง	สายแขนงคล้ายกิ่งไม้
พันธะที่จับ	α-1,4-glucosidic linkage	α-1,4-glucosidic linkage และα-1,6-glucosidic linkage
ความยาวโดยเฉลี่ยของโมเลกุลกลูโคสที่เป็นเส้นตรง	1,000	20
Degree of polymerization (จำนวนน้ำตาลกลูโคสในโมเลกุล)	100-10,000	10,000-100,000
ความสามารถในการละลายน้ำ	ละลายได้น้อยกว่า	ละลายได้มากกว่า
ความคงตัวในการละลาย	เกิด retrogradation	คงตัว
การทำปฏิกิริยากับไอโอดีน	ให้สีน้ำเงิน	ให้สีม่วงแดงหรือสีน้ำตาล
การดูดกลืนแสงของ iodine complex	650 นาโนเมตร	540 นาโนเมตร
Iodine affinity	ร้อยละ 19-20	< ร้อยละ 1
สมบัติการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน	ทำปฏิกิริยากับสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด เช่น บิวทานอล กรดไขมัน	ไม่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบอินทรีย์
การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลมอลโตสโดยเอนไซม์ β-amylase	ร้อยละ 70	ร้อยละ 55
เมื่อนำไปต้มในน้ำ	มีความหนืดน้อยและขุ่น	ข้นหนืดมากและใส
เมื่อต้มแล้วตั้งทิ้งไว้	จับตัวเป็นวุ้น	ไม่จับตัวเป็นวุ้น

ที่มา: ดัดแปลงจาก นิธิยา (2539); Kerr (1950) and John, *et al.* (1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ข้าว

ความหมายของคำว่า ข้าว คือ ชื่อไม้ล้มลุกหลายชนิดหลายสกุล ในวงศ์ Gramineae โดยเฉพาะชนิดอาไรซา ซาติวา (*Oryza sativa L.*) ซึ่งใช้เมล็ดเป็นอาหารหลัก มีหลายพันธุ์ เช่น ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า

2.3.2.1 การจำแนกชนิดข้าวตามคุณสมบัติของเมล็ดข้าวเมื่อหุงสุก

1.ข้าวเจ้า (non-waxy rice)

มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า อาไรซา ซาติวา *(Oryza sativa L.)* มีอะไมโลสเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มากถึงร้อยละ 15-31 ปริมาณอะไมโลสในข้าวเจ้าทำให้ข้าวซึ่งหุงสุกแล้วมีคุณภาพต่างกัน คือ ข้าวพันธุ์ที่มีอะไมโลสสูงเมื่อหุงสุกแล้วจะมีเนื้อสัมผัสแข็ง เช่น ข้าวพันธุ์ กข1 มีปริมาณอะไมโลสประมาณร้อยละ 30 ส่วนข้าวหอมมะลิมีปริมาณอะไมโลสประมาณร้อยละ22 เมื่อหุงสุกข้าวหอมมะลิจะอ่อนนุ่ม น่ารับประทานกว่าข้าวพันธุ์ กข1 เพราะมีอะไมโลสต่ำกว่า

2.ข้าวเหนียว (waxy rice)

มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า อาไรซา กลูติโนซา (Oryza glutinosa) มีส่วนประกอบของอะไมโลสต่ำมากประมาณร้อยละ 5-7 เท่านั้น แต่มีอะไมโลเพคตินสูงถึงร้อยละ 93-95 ลักษณะของข้าว คือ เมื่อดิบเมล็ดจะขาว เมล็ดเปราะ หักง่าย เมื่อผ่านการหุงสุก เมล็ดข้าวจะใสเป็นมันวาว หุงสุกง่าย เหนียวเกาะกัน นิยมบริโภคในแถบภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย

2.3.2.2 โครงสร้างและส่วนประกอบของเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวประกอบด้วยโครงสร้าง 2 ส่วน

1. เปลือกหุ้มเมล็ดหรือแกลบ (hull)

ก็มาจากใบประดับที่เปลี่ยนรูปมา แกลบมี 2 แผ่นประกบกัน ได้แก่ เปลือกใหญ่(lemma) และเปลือกเล็ก(palea) โดยแกลบจะถูกกำจัดออกระหว่างการสีข้าว ซึ่งส่วนนี้ประกอบด้วย

- ขั้วเมล็ด (rachilla)
- กลีบเลี้ยง (sterile lemma)
- หางเมล็ด (awn)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ส่วนเนื้อผล (caryopsis)

เป็นส่วนที่เก็บสารอาหาร ด้านในสุดประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่ มีส่วนประกอบดังนี้

- เยื่อหุ้มผล (pericarp) ส่วนใหญ่มีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบอยู่ภายในแกลบ เมื่อแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกจะได้เมล็ดข้าวที่เรียกว่า ข้าวกล้อง

- เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) เป็นส่วนที่อยู่ต่อจากเยื่อหุ้มผล มีโปรตีน ไขมัน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ

- เยื่อชั้นใน (aleurone layer) ส่วนนี้มีไขมันและโปรตีนอยู่สูง จำนวนชั้นจะแตกต่างกันไปทั้งนี้ขึ้นกับพันธุ์ข้าวและสิ่งแวดล้อม

- เอนโดสเปิร์ม (endosperm) คือส่วนที่เป็นข้าวสารมีแป้งอยู่มาก โดยแป้งจะอยู่รวมกันเป็นไมเซลล์และมีโปรตีนแทรกอยู่บางส่วน

- คัพภะ (embryo) เป็นแหล่งที่มีโปรตีน ไขมัน และวิตามินสูง แต่ไม่มีแป้ง เป็นส่วนที่เจริญไปเป็นต้นอ่อนต่อไป ส่วนนี้จะถูกขัดสีออกไปเป็นรำ

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

ที่มา สำนักงานเกษตรกรแห่งชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.3 คุณภาพการหุงต้ม

ความแตกต่างขององค์ประกอบในเมล็ดข้าวแต่ละพันธุ์จะมีผลต่อคุณภาพทางการหุงต้ม เช่น ความอ่อนนุ่ม ความเหนียว ร่วน หรือความแข็งของข้าวสุก ทั้งนี้ปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพการหุงต้ม มีดังนี้

- ปริมาณอะไมโลสและอะไมโลเพคติน เนื่องจากเมล็ดข้าวมีแป้งเป็นองค์ประกอบมากที่สุด ฉะนั้นปัจจัยข้อนี้จึงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญ อะไมโลสและอะไมโลเพคตินเป็นองค์ประกอบของแป้งที่มีคุณสมบัติและผลกระทบต่อคุณภาพการหุงต้มของข้าวแตกต่างกัน

- ความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency) เป็นปัจจัยที่บ่งชี้ว่า ข้าวสุกจะมีเนื้อสัมผัสแข็งหรือนิ่ม โดยทั่วไปข้าวที่มีอะไมโลสสูงจะมีความคงตัวของแป้งสุกสูงมาก อย่างไรก็ตามข้าวบางสายพันธุ์มีปริมาณอะไมโลสใกล้เคียงกัน แต่คุณภาพการหุงต้มอาจแตกต่างกันได้

- อุณหภูมิที่แป้งสุก (gelatinization temperature) การเกิดเจลาติไนเซชันของเม็ดแป้งมี 3 ระยะ คือ

ระยะแรก เม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำเย็นได้จำกัดและเกิดการพองตัวแบบผันกลับได้ เมื่อมีการให้ความร้อนจะเริ่มเข้าสู่ระยะที่สอง

ระยะที่สอง เม็ดแป้งจะพองตัวอย่างรวดเร็ว โครงสร้างร่างแหภายในเม็ดแป้งอ่อนแอลง เพราะพันธะไฮโดรเจนถูกทำลาย เม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำเข้ามามากและเกิดการพองตัวแบบผันกลับไม่ได้ เรียกว่า การเกิดเจลาติไนเซชัน ซึ่งความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไปอีกจะเข้าสู่ระยะที่สาม

ระยะที่สาม เม็ดแป้งจะแตกออกเป็นส่วนๆ มีรูปร่างไม่แน่นอน อุณหภูมิที่แป้งสุกจะเกี่ยวข้องกับเวลาที่ใช้ในการหุงต้ม(cooking time) โดยอุณหภูมิที่แป้งสุกจะสูงหรือต่ำขึ้นกับปริมาณอะไมโลสและขนาดของแป้ง คือถ้าปริมาณอะไมโลสสูงและขนาดของเม็ดแป้งใหญ่ อุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้แป้งสุกก็จะสูงไปด้วย

- กลิ่นข้าวสุก ข้าวที่สุกใหม่ๆ จะได้กลิ่นของสารระเหยพวกฟอร์มัลดิไฮด์ แอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ กรดอะมิโนที่มีพันธะซัลฟลูริกและสารประกอบคาร์บอนิล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง

เอนไซม์ที่นิยมใช้ในกระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล คือ เอนไซม์อะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางในทางการค้า เพราะเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในระดับอุตสาหกรรมหลายประเภทและเป็นที่ต้องการของตลาด อะไมเลสส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ที่ถูกขับออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) สามารถพบได้ทั้งในพืช เมล็ดพืชที่กำลังงอก สัตว์ ส่วนในมนุษย์พบได้จากต่อมน้ำลาย และตับอ่อน รวมทั้งพบได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดและหลายสายพันธุ์ เช่น แบคทีเรีย *Achromobacter, Bacillus,Clostridium, Micrococcus* และเชื้อรา เช่น *Aspergillus, Rhizopus, Fusarium* เป็นต้น (กิ่งจันทร์, 2541)

1. แอลฟาอะไมเลส (Alpha-amylase; α-amylase) มีชื่อตามระบบสากลว่า α(1,4)-glucan glucanohydrolase (E.C.3.2.1.1) เป็นเอนไซม์ชนิดย่อยภายในโดยการตัดพันธะ α-1,4-glucosidic linkage ภายในโมเลกุลของแป้งแบบสุ่ม แต่ไม่สามารถตัดพันธะα-1,6-glucosidic linkage ได้ ผลิตภัณฑ์เป็นเดกซ์ทริน (Dextrin) ที่เป็นลูกโซ่ของกลูโคสขนาดแตกต่างกัน เอนไซม์กลุ่มนี้สกัดจากจุลินทรีย์ ได้แก่ *Bacillus amyloliquefaciens* หรือมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า *Bacillus subtilis* (*Baciilus subtilis var amyloliquefaciens*), *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus sterothermophilus* (Teaque and Brumm, 1992) เอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์เหล่านี้จะทนความร้อนได้ดี ตั้งแต่อุณหภูมิประมาณ 70-105 องศาเซลเซียส ที่ความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 6 เหมาะสำหรับการย่อยในขั้นตอนการทำให้เหลว นอกจากนี้ ยังมีแอลฟาอะไมเลสที่สกัดจากเชื้อรา *Aspergillus* หรือ *Rhizopus* ซึ่งสามารถทำงานที่อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 3.8 (ปกติใช้ความเป็นกรด-ด่างที่ 4-5) ซึ่งเอนไซม์ที่เหมาะสม สำหรับการผลิตน้ำเชื่อมในขั้นตอนของการทำให้หวาน (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2546) ตัวอย่างของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่จำหน่ายในเชิงการค้า เช่น Termamyl 120L และ Termamyl SC ที่ผลิตจากบริษัท Novozymes ประเทศเดนมาร์ค

1.1 การย่อยอะไมโลส เอนไซม์สามารถย่อย α-1,4-glucoside linkage ในอะไมโลสทั้งจากด้านในและด้านนอกของโมเลกุลได้อย่างรวดเร็ว การสลายพันธะจะเกิดขึ้นแบบสุ่มมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์เป็นเดกซ์ทริน มีขนาดเล็กลงกว่าเดิมและขนาดแตกต่างกัน จึงเกิดสีกับสารละลายไอโอดีนเป็นสีม่วงแดง โดยที่เอนไซม์ยังคงโมเลกุลของเดกซ์ทรินต่อไปได้อย่างช้าๆ จนกลายเป็นโอลิโกแซค-คาไรด์ที่มีขนาดเล็กมากจนไม่เกิดสีกับสารละลายไอโอดีน และในที่สุดจะได้ผลิตภัณฑ์ เช่น มอลโตสและมอลโตไตรโอส (ศิริลักษณ์, 2544)

1.2 การย่อยอะไมโลเพคติน เอนไซม์สามารถย่อยโมเลกุลที่ตำแหน่ง α-1,4-glucosidic linkage ได้ แต่ไม่สามารถย่อย α-1,6-glucosidic linkage ของอะไมโลเพคติน สำหรับการย่อย α-1,4-glucosidic linkage ของอะไมโลเพคตินจะเกิดขึ้นแบบสุ่ม แล้วได้เดกซ์ทรินที่มีแขนง ทำให้มีขนาดโมเลกุลปานกลาง ทำปฏิกิริยากับไอโอดีนเป็นสีม่วงหรือสีม่วงแดง เอนไซม์จะยังคงมีความสามารถในการย่อยเดกซ์ทรินต่อไปอย่างช้าๆ จนในที่สุดกลายเป็นลิมิตเดกซ์ทริน (limit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

dextrin) (เดกซ์ทรินที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และไม่สามารถย่อยสลายโดยเอนไซม์เดิมได้อีกต่อไป) (ศิริลักษณ์, 2544)

1.3 การย่อยแป้งและแป้งเปียก โมเลกุลของแป้งซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลอะไมโลสและอะไมโลเพคตินจับยึดกันเป็นผลึกอยู่ในส่วนที่เรียกว่า crystalline regions และมีบางส่วนอยู่ในบริเวณที่เป็น noncrystalline regions เกิดเป็นโมเลกุลที่ซับซ้อนขนาดใหญ่มาก การสลายพันธะ glucosidic ภายในโมเลกุลแป้งเพียงจำนวนเล็กน้อยก็สามารถลดขนาดโมเลกุลลงได้หลายเท่า ดังนั้นความหนืดของแป้งเปียกจึงลดลงอย่างรวดเร็ว (ศิริลักษณ์, 2544)

2 เบตาอะไมเลส (Beta-amylase; β-amylase) มีชื่อตามระบบสากลว่า α(1,4)-glucan maltohydrolase (E.C3.2.1.2) เบตาอะไมเลส เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายนอกโมเลกุลของแป้ง (exoenzyme)โดยค่อยๆ ตัดจากด้านนอกเข้ามาด้านใน เริ่มจากปลายของอะไมโลสหรืออะไมโลเพคติน (ปลายด้าน non-reducing end) เอนไซม์จะตัดพันธะ α-1,4 ของโมเลกุลกลูโคสเป็นคู่ๆ ผลที่ได้จากการย่อยคือน้ำตาลมอลโตส (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2546)

2.1 การย่อยอะไมโลส เอนไซม์สามารถย่อยโมเลกุลที่ตำแหน่ง α-1,4-glucosidic linkage ในลักษณะการตัดสายพอลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสายด้านไม่มีหมู่รีดิวส์ (nonreducing end) เข้าสู่ภายในสายทีละ 2 หน่วยของกลูโคส ทำให้มอลโตสหลุดออกมาจากสายของอะไมโลส พร้อมๆ กับการเปลี่ยน configuration ของอะตอมคาร์บอนที่มีหมู่อัลดีไฮด์จาก α-1,4-glucosidic configuration เป็น β-glucosidic configuration ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายแป้งจึงกลายเป็นเบตามอลโตส (ศิริลักษณ์, 2544)

2.2 การย่อยอะไมโลเพคติน เอนไซม์จะย่อยสลายอะไมโลเพคตินลักษณะเดียวกับการย่อยอะไมโลส คือย่อยสลาย α-1,4-glucosidic linkage ในลักษณะการตัดสายพอลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสายด้านไม่มีหมู่รีดิวส์เข้าสู่ภายในสายไปทีละ 1 หน่วยของมอลโตส หรือทีละ 2 หน่วยของกลูโคส การสลายพันธะดำเนินจนกระทั่งถึงบริเวณแขนงของโมเลกุล α-1,6-glucosidic linkage ดังนั้นผลิภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายแป้ง เป็นลิมิตเดกซ์ทรินที่มีขนาดใหญ่ และมอลโตสที่มี configuration ต่างไปจากเดิม คือ β-configuration หรือเบตามอลโตส (ปราณี, 2543)

2.3 การย่อยแป้งและแป้งเปียก การสลายขนาดโมเลกุลและลดความหนืดของแป้งและแป้งเปียก โดยเอนไซม์นี้เกิดขึ้นได้น้อย เนื่องจากเบตาอะไมเลส ย่อยพันธะ α-1,4-glucosidic linkage อย่างจำเพาะตรงปลายสายของพอลิเมอร์เท่านั้น (ศิริลักษณ์, 2544)

3 กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) หรือ อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase) มีชื่อตามระบบสากลว่า α(1,4)-glucan glucohydrolase (E.C. 3.2.1.3) ซึ่งสกัดจากเชื้อรา *Aspergillus* หรือ *Rhizopus* สามารถทำงานที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิที่เหมาะสม 55 องศาเซลเซียส) ความเป็นกรด-ด่าง โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 4-6 (ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม คือ 5.5) จำเป็นต้องใช้ความร้อนเพื่อหยุดกิจกรรมก่อนที่จะดำเนินกระบวนการผลิตต่อไป (กล้าณรงค์ และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกื้อกูล, 2546) ตัวอย่างของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่จำหน่ายในเชิงการค้า เช่น SAN super 240L และ SAN super 360L ที่ผลิตจากบริษัท Novozymes ประเทศเดนมาร์ค สำหรับการทำงานของกลูโคอะไมเลส จะย่อยสลายพันธะที่จับกันของน้ำตาลกลูโคสทั้งพันธะ α-1,4 และพันธะกิ่ง α-1,6 จากปลายสายด้านไม่มีหมู่รีดิวส์ เช่นเดียวกับเบตาอะไมเลส แต่จะตัดจากปลายเข้าไปครั้งละ 1 หน่วยกลูโคส โดยการย่อยสลายพันธะกิ่ง α-1,6 จะเกิดขึ้นช้าๆ ดังนั้นเมื่อเอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยแป้ง พบว่า สามารถเปลี่ยนแป้งเป็นกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ จนในที่สุดผลิตภัณฑ์ที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นกลูโคสที่มี configuration ต่างไปจากเดิม คือ β-configuration หรือ β-D-glucose กับลิมิตเดกซ์ทรินที่มีขนาดเล็ก (ปราณี, 2543)

2.4 ความสำคัญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน

ปัจจุบันแบคทีเรียสังเคราะห์แสงโดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถันได้รับความสนใจในด้านการศึกษาและวิจัยอย่างกว้างขวาง มีการนำ ไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพกันอย่างแพร่หลาย (Sasikala และคณะ, 1993; Sasikalaและ Ramana, 1995)

2.4.1 เป็นแหล่งอาหารเสริมของสัตว์

เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงถึง 60-65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น(Shipman และคณะ , 1997; Noparatnaraporn และ Nagai, 1986) มีวิตามินต่าง ๆ เช่น ไธอะมีน (thiamine), ไรโบฟลาวิน (riboflavin), ไบโอติน (biotin), โคบาลามีน(cobalamine; B12), ไนอะซิน (niacin), กรดโฟลิก (folic acid) และ กรดแพนโทธินิค(pantothenic acid) เป็นต้น และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) และมีกรดนิวคลีอิคในปริมาณต่ำ โดยจะนำมาผลิตในรูปโปรตีนเซลล์เดียว (single-cell protein ; SCP) เพื่อนำ มาเลี้ยงสัตว์ เช่น นำมาใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะช่วยเร่งอัตราการเจริญเติบโตและระบบสืบพันธุ์ได้ และมีอัตราการรอดชีวิตของลูกปลาสูง เป็นต้น และในการนำไปเลี้ยงสัตว์ปีก เช่น ไก่ จะช่วยให้ไก่เริ่มต้นผลิตไข่เร็วขึ้น ระยะเวลาในการให้ไข่นานขึ้น คุณภาพไข่ดีขึ้น สีของไข่แดงขึ้น น้ำหนักไข่ และ น้ำหนักตัวมากขึ้นและยังช่วยป้องกันโรค Marek's ในแม่ไก่ได้ด้วย ซึ่งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถันที่นิยมนำมาผลิตโปรตีนเซลล์เดียวใช้ในการเลี้ยงสัตว์ เช่น *Rhodocyclus gelatinosus,Rubrivivax gelatinosus*, *Rhodopseudomonas acidophila* เป็นต้น และ *Rhodobacter sphaeroides* ที่ผลิตจากน้ำเสียที่ได้จากโรงงานสับประรดจะได้เปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุด คือ 67 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ใช้ในทางการแพทย์โดยเฉพาะยูบิควิโนน (Ubiquinone ; Q10)

จะใช้ในการป้องกันไขมันจากกระบวนการผลิตอาหาร ผลิตเครื่องสำอางค์และผลิตยาไม่ให้เกิดการออกซิเดชัน แบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่นิยมนำ มาใช้ในการผลิตยูบิควิโนน เช่น *Rhodocyclus gelatinosus, Rhodobacter capsulatus*, *Rhodospirillum rubrum* ฯลฯ และ ยังมีสารทำลายแบคทีเรีย (bacteriocins) ที่ใช้ในการผลิตยา

2.4.3 ใช้ผลิตฮอร์โมนพืช

เช่น ไซโตไคนิน (cytokinin) ผลิตจาก *Rhodospirillum rubrum*, ไคเนติน (kinetin) และ ซีเอติน (zeatin) ผลิตโดย *Rhodobacter sphaeroides* นอกจากนี้ยังมี ออกซิน (auxin),กรดอินโดล-3- อะซิติก (indole-3-acetic acid ; IAA) และกรดอินโดล-3-บิวทีริก (indole-3-butyric acid ; IBA) ผลิตจาก *Rhodobacter sphaeroides*

2.4.4 ใช้ผลิตยาปฏิชีวนะ

พบน้อยชนิดมากที่สามารถผลิตได้ เช่น *Rhodobacter capsulatus* และ *Rhodospirllum rubrum* จะผลิตสารยับยั้งไวรัสที่ทำ ให้เกิดโรคโปลิโอ, sindbis virus, โรคในปลา และไวรัส ที่ทำลายแบคทีเรีย ซึ่งคุณสมบัตินี้ได้นำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรได้ถึง 97 เปอร์เซ็นต์

2.4.5 ใช้ผลิตเอนไซม์

เช่น เอนไซม์อะไมเลส (amylase) ที่ผลิตโดย *Rhodocyclus gelatinosus* เพื่อนำ ไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร, ยา และเคมี ผลิตเอนไซม์โปรติเอส (protease) เพื่อใช้ย่อยเคซีน ซึ่งเป็นโปรตีนในนม นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์คะตะเลส-เปอร์ออกซิเดส (catalase-peroxidase) ผลิตโดย *Rhodobactr capsulatus*, เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ผลิตโดย *Rhodobacter sphearoides*,เอนไซม์แอล-แอสพาราจีเนส (L-asparaginase) ผลิตโดย *Rhodobacter capsulatus* และ *Rhodobacter sphaeroides* และ *Rhodospirillum rubrum* เอนไซม์แอล-ทาร์เตรทดีไนโดรจีเนส (L-tartrate dehydrogenase) ที่ใช้ในการตรวจสอบ L-tartrate และ D-malate ผลิตโดย *Rhodobacter sphaeroides* สายพันธุ์ SM160

2.4.6 ใช้ในการกำจัดของเสีย

เนื่องจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำมะถัน สามารถย่อยสลายสารประกอบภายในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน จึงสามารถที่จะนำน้ำเสียกลับมาใช้ได้อีก ฉะนั้นแหล่งน้ำเสียที่สามารถใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มนี้บำบัดได้จึงมีมากมาย โดยทั่วๆไปจะเป็นน้ำเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มีสารอินทรีย์ น้ำเสียทางการเกษตร น้ำเสียจากอุตสาหรรมอาหาร น้ำเสียจากอาคารบ้านเรือน น้ำเสียจากอุตสาหกรรมการใช้จุลินทรีย์ เช่น ผลิตเบียร์ ยาปฏิชีวนะ ฯลฯ น้ำเสียจากอุตสาหกรรมทางเคมีและปิโตรเลียม และอุตสาหกรรมของเสียในรูปก๊าซต่างๆ เป็นต้น ซึ่งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถันที่นิยมนำ มาให้ในการบำบัดของเสียต่างๆ จะอยู่ในสกุล *Rhodopseudumonas*, *Rhodobacter, Rhodospirillum* และ *Rhodocyclus* โดยที่แบคทีเรียสังเคราะห์กลุ่มไม่สะสมกำ มะถันดังกล่าว จะทำให้น้ำเสียมีคุณภาพดีขึ้นได้โดย

(1) ช่วยลดค่า BOD, COD และ TOC (total organic carbon) สามารถลดได้ถึง 20-99 เปอร์เซ็นต์

(2) ย่อยสลายสารประกอบที่เป็นพิษต่าง ๆ มากมาย

(3) ย่อยสลายสารประกอบ อะโรมาติค (aromatic)

(4) เคลื่อนย้ายพวกคาร์บอนมอนนอกไซด์ (CO)

(5) เกิดกระบวนการ de-nitrification และde-ammonification ทำ ให้ช่วยลดแอมโมเนียและไนเตรทที่เป็นปัญหาในการบำบัดน้ำเสียได้

นอกจากนี้การกำ จัดของเสียยังสามารถทำ ได้โดยใช้ผลิตภัณฑ์เหลือใช้ (by-product) จากการผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยว, วิตามิน, ไฮโดรเจน, 5-aminolevulinic acid, herbicide, biomass ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและเลี้ยงสัตว์ปีก, ปุ๋ยชีวภาพ และยา

2.4.7 ใช้ย่อยสลายพลาสติก (Polyester)

สารที่แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มดังกล่าวผลิต คือ poly-ß-hydroxyalkanoates (PHA)โดย *Rhodobacter sphaeroides* และ poly-ß-hydroxybutyrate (PHB) โดย *Rhodospirillum rubrum*

2.4.8 ใช้สารกำจัดวัชพืชและยาฆ่าแมลงชีวภาพ

สารที่ผลิตคือ 5-aminolevulinic acid (ALA) ซึ่งแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงกลุ่มไม่สะสมกำ มะถันที่ผลิตสารนี้ เช่น *Rhodobacter palustris* (ได้ ALA 750 nmol) , *Rhodobacter sphaeroides* (ได้ ALA 2,000-4,000 nmol)

2.4.9 ใช้เป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ

เชื้อเพลิงที่แบคทีเรียสังเคราะห์กลุ่มไม่สะสมกำ มะถันผลิตคือ ก๊าซไฮโดเจน (H_2) โดย *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodospirillum molischianum, Rhodobacter sphaeroides, Rhodobacter capsulatus, Rhodobacter sulfidophilus, Rhodobacter marinus, Rhodopseudomonas palustris, Rhodopseudomonas acidophila, Rhodopseudomonas rutila,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rhodobium vannielii, Rhodocyclus gelatinosus ฯลฯ (Sasikala และ Ramana, 1995) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Rhodopseudomonas* ในน้ำเสียจากโรงงานนม และโรงงานผลิตน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 50-60 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ดีกว่าเพาะเลี้ยงในอาหารปกติ (Thangaraj และ Kulandaivelu, 1994) *Rhodopseudomonas sphaeroides* สายพันธุ์ B5 แยกได้ในประเทศไทยสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีกิจกรรมของเอนไซม์ไฮโดรจิเนส สูงกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Watanabe และคณะ, 1981)

2.4.10 ใช้ทำปุ๋ยชีวภาพ

เช่น *Rhodobacter capsulatus, Rhodobacter. sphaeroides, Rhodopseudomonas viridis, Rhodocyclus gelatinosus, Rhodopseudomonas blastica* ฯลฯ สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนในอากาศได้ จึงมีการนำ ไปใส่ในนาข้าว, ปลูกถั่วฝักยาว, ปลูกมะเขือเทศ, ปลูกมะนาวและส้ม เป็นต้น ช่วยเพิ่มธาตุไนโตรเจนโดยไม่ต้องใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ทำ ให้ต้นพืชเจริญดีขึ้น

2.4.11 ใช้ผลิตสารอื่น ๆ

ซึ่งมีการศึกษากันน้อยมาก เช่น การผลิตแคโรทนีอยด์ใช้เป็นสีย้อมธรรมชาติ, ผลิตสารhopanoid ใช้ในการรักษาโรค ซึ่งแยกจาก *Rhodopseudomonas palustris* ผลิตแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์, ผลิต S-adenosyl-L-cystein, กรดนิวคลีอิค, corrinoid, brasinosteroids เป็นต้น

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จารุวรรณ (2532) ได้นำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงไปใช้บำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานมันสำปะหลัง พบว่าสามารถลดค่าซีโอดีได้มากถึงร้อยละ 94.4 เมื่อใช้แบคทีเรียเป็นหัวเชื้อในปริมาณร้อยละ 10.0 และเพิ่มเป็นร้อยละ 50.0 ทำให้ความสามารถในการกำจัดความสกปรกในน้ำเสียเพิ่มสูงขึ้นเป็น ร้อยละ 96.45

พุทธชาด (2541) ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *Rhodopseudomonas sphaeroides* 3701 ในสภาวะไร้อากาศ มีแสง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่ากรดอะซิติกและกรดแลคติกถูกใช้ได้ดีและสามารถเปลี่ยนเป็นแก๊สไฮโดรเจนได้ โดยกรดแลคติกเป็นแหล่งอิเล็คตรอนที่ดีที่สุด

จินตนา (2543) ทำการแยกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจากแหล่งต่างๆได้ 26 สายพันธุ์ จากจำนวนที่มี 13 สายพันธุ์มีความสามารถในการย่อยแป้งมันสำปะหลังดิบและสุกได้ดี พบว่าสายพันธุ์ SB 46/1 ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียง *Rhodobacter sphaeroides* มีความสามารถสูงสุดในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน และสายพันธุ์ SB24 มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ *Rhodocyclus gelatinosus* มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสย่อยแป้งมันสำปะหลังดิบและสุกในปริมาณสูง ใน 48 ชั่วโมงแรกของการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายใต้สภาวะไร้อากาศมีแสง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าสายพันธ์ SB24 มีอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากแป้งมันสำปะหลังเท่ากับ 0.531 มิลลิลิตรต่อชั่วโมงต่อมิลลิกรัมโปรตีน และจากแป้งมันสำปะหลังสุก เท่ากับ 0.422 มิลลิลิตรต่อชั่วโมงต่อมิลลิกรัมโปรตีน ส่วนสายพันธุ์ SB 46/1 ไม่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากแป้งมันสำปะหลังสุกได้ในเวลา 48 ชั่วโมง แต่สามารถใช้กลูโคสในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ และความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมเท่ากับ 30.0 มิลลิโมลาร์ โดยมีอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนเท่ากับ 1.937 มิลลิลิตรต่อชั่วโมงต่อมิลลิกรัมโปรตีน

มงคล (2547) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ที่ 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Rubrivivax gelatinosus* SB24 , *Rhodocyclus gelatinosus* SB55 , *Rhodobacter sphaeroides* SB46/1 โดยใช้แป้งดิบทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวโพด และแป้งถั่วเขียวเป็นแหล่งให้อิเล็กตรอน พบว่า 2 สายพันธุ์แรกสามารถย่อยแป้งดิบทั้ง 5 ชนิดและผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน ความเข้มแสง 10 กิโลลักซ์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ส่วน *Rhodobacter sphaeroides* SB46/1 ไม่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากแป้งดิบใดๆ แต่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้มากที่สุดเมื่อใช้กรดมาลิกเป็นแหล่งให้อิเล็กตรอน และเมื่อขยายการผลิตสู่ถังหมัก 5.7 ลิตร โดยใช้สายพันธุ์ที่เหมาะสมกับแป้งดิบแต่ละชนิด สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวโพด และแป้งถั่วเขียวได้ปริมาณสูงถึง 8.3 12.9 15.9 5.2 และ 8.5 ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพในการใช้สารตั้งต้นของแป้งดิบทั้ง 5 ชนิดเท่ากับร้อยละ 99.15 94.25 99.16 84.58 และ 81.67 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

1. เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันที่ได้จากแหล่งน้ำบริเวณรอบๆ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2. เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันสายพันธุ์ OS33 ที่ได้รับจากกลุ่มโครงงานพิเศษ ปีการศึกษา 2553 เรื่อง "การผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและ *Saccharomyces cerevisiae*"

3.2 สารเคมี

3.2.1 กลูโคส
3.2.2 โมโนโซเดียมกลูตาเมต
3.2.3 แป้งมันสำปะหลัง
3.2.4 ข้าวดิบ
3.2.5 ข้าวสุก
3.2.6 สารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5.0
3.2.7 พาราฟินเหลว
3.2.8 สารละลายไอโอดีน
3.2.9 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์
3.2.10 สารละลายของไฮโดรเจนคลอไรด์ (HCl) ความเข้มข้น 1 โมลาร์
3.2.11 Copper reagent
3.2.12 Nelson reagent
3.2.13 กรดซัลฟูริก ความเข้มข้นร้อยละ 96.0
3.2.14 อะซิโตน
3.2.15 เมทานอล

3.3. อุปกรณ์

3.3.1 เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave)
3.3.2 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
3.3.3 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
3.3.4 ตู้เขี่ยเชื้อ (Lamina flow)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 กล้องจุลทรรศน์

3.3.6 vacuum system

3.3.7 โถดูดอากาศ (desicaactors)

3.3.8 ตู้ดูดควัน

3.3.9 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์

เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันที่ได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณรอบๆสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง มาเลี้ยงในอาหารเหลว Minimal medium of Ormerod (ภาคผนวก ก.) ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต ในขวดแบน นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ อุณหภูมิประมาณ 35 – 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ดูการเปลี่ยนสีของอาหารเหลวในขวดแบน ซึ่งจะเป็นสีเป็นสีแดง แล้วนำไปลากลงบนอาหารแข็งสูตร A (ภาคผนวก ก.) ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคสและเป็นแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต คว่ำจานเพาะเชื้อไว้ในโถดูดอากาศ ทำการดูดอากาศออกแล้วเติมก๊าซไนโตรเจนเข้าไป ทำซ้ำ 3 รอบ นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ อุณหภูมิ ประมาณ 35 – 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ตรวจดูโคโลนีที่เป็นสีแดง ชมพู หรือ ส้ม แล้วนำไปเลี้ยงต่อไปจนได้เชื้อบริสุทธิ์

3.4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้มาศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาทางชีวเคมีบางประการของการจัดจำแนกเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ตาม Bergy's Manual of systematic Bacteriology

3.4.2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria บริสุทธิ์ที่ทำการคัดแยกได้ ซึ่งเจริญอยู่บนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง และแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต มาส่องดูลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.4.2.2 การศึกษาลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียโดยการย้อมแกรม

การย้อมแกรมเป็นการย้อมสีของผนังเซลล์แบคทีเรีย เพื่อแยกความแตกต่างของชนิดแบคทีเรียแกรมบวก และ แกรมลบ เนื่องจากส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียทำให้เกิดสีต่างกัน โดยเริ่มจากหยดน้ำลงบนสไลด์ 1 หยด จากนั้นใช้ลูป (Loop) แตะเชื้อนำมาสเมียร์ (Smear)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บนแผ่นสไลด์ เกลี่ยให้เป็นฟิล์มบางๆ จากนั้นทิ้งไว้จนรอยสเมียร์แห้ง ตรึงสไลด์โดยผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง หยดสีคริสตัลไวโอเลต (Cystal violet) ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วทำการล้างด้วยน้ำยาแกรมไอโอดีน (Gram iodine) ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลาไม่เกิน 30 วินาที ล้างด้วยน้ำ แล้วหยดสีซาฟรานิน (Safranin) ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศ จากนั้นนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.4.2.3 การศึกษาการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง และแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต โดยการแทง (stab) เชื้อลงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว แล้วเทพาราฟินเหลวปลอดเชื้อปิดทับด้านบน นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ อุณหภูมิ 35 – 40 องศาเซลเซียส สังเกตการเคลื่อนที่จากลักษณะการเจริญของเชื้อรอบรอยแทง

3.4.3 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria บนอาหารแข็ง

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria บริสุทธิ์ที่ทำการคัดแยกได้ และเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันสายพันธุ์ OS33 มาศึกษาความสามารถในการย่อยแป้ง โดยการนำมาเพาะเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่ใช้แหล่งคาร์บอนพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่แป้ง คือ แป้งมันสำปะหลัง นำจานเพาะเชื้อมาคว่ำลงในโถดูดอากาศทำการดูดอากาศออกแล้วเติมก๊าซไนโตรเจนเข้าไป ทำซ้ำ 3 รอบ นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ ที่ อุณหภูมิ 35 - 40 องศาเซลเซียส ตรวจดูความสามารถในการย่อยแป้งโดยการหยดสารละลายไอโอดีนลงในจานเพาะเชื้อ ถ้าเชื้อมีการย่อยแป้งเกิดขึ้นจะเห็นรอบๆ โคโลนีของเชื้อ เป็นสีเหลืองของสารละลายไอโอดีน ส่วนบริเวณที่ไม่มีการย่อยแป้งจะเห็นเป็นสีน้ำเงินของการทำปฏิกิริยาระหว่างแป้งกับสารละลายไอโอดีนเกิดขึ้น

3.4.4 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ในอาหารเหลวสูตร A ในสภาวะไร้อากาศ และในสภาวะที่มีอากาศ

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่มีความสามารถในการย่อยแป้งที่แยกได้และเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันสายพันธุ์ OS33 จากอาหารแข็งมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต ซึ่งอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 1 ต่อ 1 จากนั้นดูดตัวอย่างเชื้อปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 1.0 มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นพอลิแซ็กคาร์ไซด์ ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง ข้าวดิบ ข้าวสุก ส่วนแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต เทพาราฟินเหลวปลอดเชื้อปิดทับด้านบน นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส และในสภาวะที่ไม่มีแสงแต่ใช้ออกซิเจน แล้วเก็บตัวอย่างเชื้อทุกๆ 48 ชั่วโมงเป็นเวลา 144 ชั่วโมง

3.4.4.1 ตรวจวัดการเจริญของเซลล์

ในการตรวจวัดการเจริญของเซลล์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ข้าวดิบ และข้าวสุก ในสองสภาวะคือ สภาวะไร้อากาศ และสภาวะที่มีอากาศ สามารถติดตามการเจริญของเซลล์ได้โดยการสกัดแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ โดยใช้สารละลายผสมระหว่างอะซิโตน ต่อ เมทานอล อัตราส่วน 7 ต่อ 2 แล้วนำไปวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 775 นาโนเมตร

3.4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar)

นำตัวอย่างเชื้อมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็น 5 นาที นำส่วนใสมาทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่างๆ แล้วดูดตัวอย่างแต่ละความเจือจางมา 1.0 มิลลิลิตร นำมาตรวจวัดหาปริมาตรน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล – ซัลฟูริก (ภาคผนวก ค.) วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมด

3.4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (reducing sugar)

นำตัวอย่างเชื้อมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนใสมาทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่างๆ แล้วดูดตัวอย่างแต่ละความเจือจางมา 1.0 มิลลิลิตร นำมาตรวจวัดหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ด้วยวิธี Somogyi – Nelson (ภาคผนวก ค.) วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับมาตรฐานน้ำตาลรีดิวส์

3.4.4.4 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส

นำตัวอย่างเชื้อมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยนำส่วนใสที่ได้และสารละลายน้ำแป้ง 1 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาทำการทดสอบกับสารละลายไอโอดีน 1 ml เพื่อหากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยการนำไปทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 40 , 60 และ 80 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 4 ชั่วโมง โดยเวลาที่ทำการทดสอบ คือ 0 , 5 , 10 , 15 , 30 , 60 และ 120 นาทีตามลำดับ หลังจากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 542 นาโนเมตร แล้วคิดหาเปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่ลดลงเหลือ 50% จึงทำการยุติกิจกรรมของเอนไซม์ แล้วบันทึกระยะเวลาที่ทำการทดลองตามอุณหภูมิที่กำหนด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การคัดแยกเชื้อและการเลี้ยงเชื้อให้บริสุทธิ์

จากการนำเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันที่ได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณรอบๆสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันสายพันธุ์ OS33 ที่ได้รับจากกลุ่มโครงงานพิเศษ ปีการศึกษา 2553 เรื่อง "การผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและ *Saccharomyces cerevisiae*" มาเลี้ยงในอาหารเหลว Minimal medium of Ormerod ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมตในขวดแบน นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ อุณหภูมิประมาณ 35 – 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนสีในขวดแบนเป็นสีแดง จึงนำไปลากลงบนอาหารแข็งสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคสและเป็นแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต คว่ำจานเพาะเชื้อไว้ในโถดูดอากาศทำการดูดอากาศออกแล้วเติมก๊าซไนโตรเจนเข้าไป ทำซ้ำ 3 รอบ นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ อุณหภูมิประมาณ 35 – 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่ามีโคโลนีที่เป็นสีแดงชมพู หรือ ส้มของเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันเจริญบนจานอาหารแข็งสูตร A จึงได้นำมาทำการคัดแยกเชื้อต่อจนได้เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันที่บริสุทธิ์

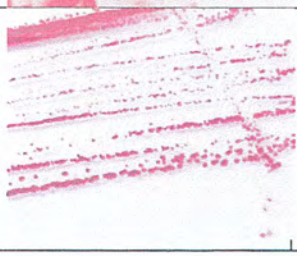
4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ และสายพันธุ์ OS33

4.2.1 การศึกษาลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้มาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาโดยการสังเกตลักษณะโคโลนี และการศึกษารูปร่างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการย้อมแกรม พบว่า สามารถคัดแยกเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ได้จำนวน 13 ไอโซเลท ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังตารางที่ 4.1

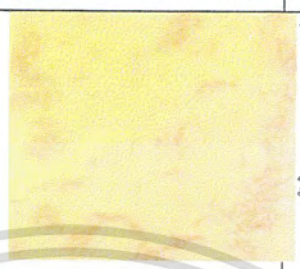
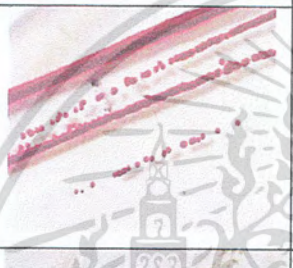
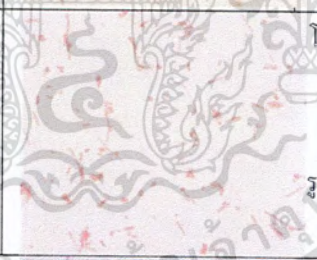
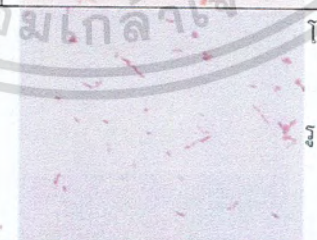
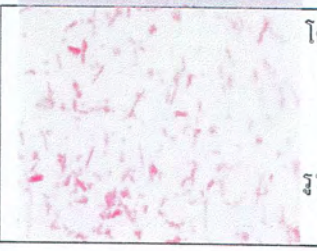
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ non – sulfur photosynthesis bacteria ที่คัดแยกได้

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างเซลล์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
1			โคโลนี : มีสีแดงเข้ม ลักษณะกลม โค้งนูน ขอบเรียบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ
2			โคโลนี : มีสีส้มอมแดง ลักษณะขอบเรียบ มันวาว เจริญในอาหารวุ้น รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะกลม ต่อกันเป็นสายสั้นๆ
3			โคโลนี : มีสีแดง ลักษณะขอบเรียบ ขนาดเล็ก รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ ต่อกันเป็นสายสั้นๆ
4			โคโลนี : มีสีแดง ลักษณะขอบหยักโค้งนูน มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ
5			โคโลนี : มีสีแดง มีลักษณะโค้งนูน ขอบเรียบ ขนาดเล็ก รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ
6			โคโลนี : มีสีแดงเข้ม ขนาดเล็ก มีลักษณะโค้งนูน มันวาว ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ

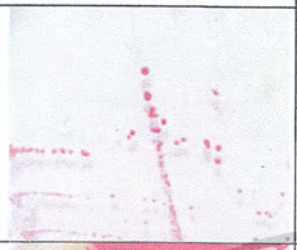
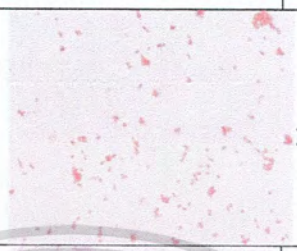
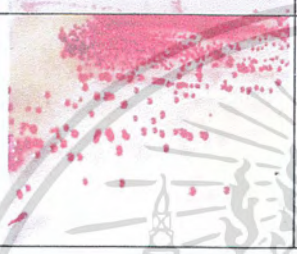
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1(ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ non – sulfur photosynthesis bacteria ที่คัดแยกได้

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างเซลล์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
7			โคโลนี : มีสีชมพูอมแดง ขนาดเล็ก มีลักษณะโค้งนูน ขอบเรียบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ
8			โคโลนี : มีสีแดงเข้ม ลักษณะโค้งนูน ขอบเรียบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อน
9			โคโลนี : มีสีน้ำตาลเข้ม ขนาดใหญ่ ลักษณะโค้งนูน ขอบเรียบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนต่อกันเป็นสาย
10			โคโลนี : มีสีเขียวอ่อน ขนาดเล็ก มีลักษณะกลม โค้งนูน ขอบเรียบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆต่อกัน
11			โคโลนี : มีสีน้ำตาลอ่อน ขนาดเล็ก มีลักษณะกลม ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆต่อกัน
12			โคโลนี : มีสีน้ำตาล ขนาดเล็ก มีลักษณะกลม ขอบเรียบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1(ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ non – sulfur photosynthesis bacteria ที่คัดแยกได้

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างเซลล์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
13			โคโลนี : มีสีชมพูอ่อน ลักษณะกลม โค้งนูน มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะกลม
OS33			โคโลนี : มีสีแดงเข้ม ลักษณะกลม โค้งนูน รอบเรียบ มันวาว รูปร่างเซลล์ : มีลักษณะเป็นท่อนสั้นต่อกันเป็นสายสั้นๆ

4.2.2 การศึกษาการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง และแหล่งไนโตรเจนเป็น โมโนโซเดียมกลูตาเมต โดยการแทง (stab) เชื้อลงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว แล้วเทพาราฟินเหลวปลอดเชื้อปิดทับด้านบน นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ อุณหภูมิ 35 – 40 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อ นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ มีการเคลื่อนที่ จำนวน 8 ไอโซเลท และ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ จำนวน 5 ไอโซเลท ดังรูปที่ 4.1 และ 4.2

รูปที่ 4.1 แสดงการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ ในหลอดอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.2 แสดงการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ ในหลอดอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง

จากการศึกษาการเคลื่อนที่ของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สามารถสรุปได้ว่า ไอโซเลทที่ 1 2 3 4 5 6 7 และไอโซเลทที่ 8 มีการเคลื่อนที่ ส่วนไอโซเลทที่ 9 10 11 12 และไอโซเลทที่ 13 ไม่มีการเคลื่อนที่

4.3 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic บนอาหารแข็ง

เมื่อนำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ 14 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการย่อยแป้งโดยการทำ point inoculation บนจานอาหารแข็งสูตร A โดยใช้สารละลายไอโอดีนทดสอบการย่อยแป้ง พบว่า เชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 สามารถย่อยแป้งได้ และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้สามารถย่อยแป้งได้ มี 14 ไอโซเลท เมื่อทำการทดสอบการย่อยแป้ง พบว่า เชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria 14 ไอโซเลท มีความสมารถในการย่อยแป้งบนจานอาหารสูตร A ทำให้เห็นเป็นบริเวณใสที่เกิดจากการย่อยแป้งเพื่อใช้ในการเจริญของเชื้อเป็นบริเวณกว้าง ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3

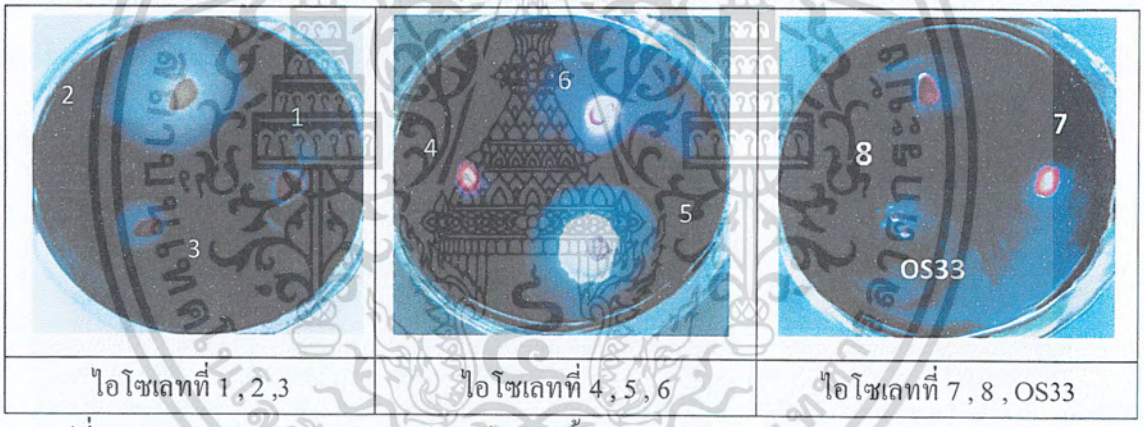
ตารางที่ 4.2 ความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้เชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 บนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแป้งแหล่งคาร์บอน

ไอโซเลท	ขนาดของโคโลนี(cm)	เส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone (cm)
1	0.8	1.5
2	1.1	4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) ความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้เชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 บนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแป้งแหล่งคาร์บอน

ไอโซเลท	ขนาดของโคโลนี(cm)	เส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone (cm)
3	0.8	1.5
4	0.9	1.0
5	0.7	4.1
6	0.8	1.3
7	0.9	1.6
8	0.8	1.3
OS33	0.7	0.9



ไอโซเลทที่ 1 , 2 ,3 | ไอโซเลทที่ 4 , 5 , 6 | ไอโซเลทที่ 7 , 8 , OS33

รูปที่ 4.3 แสดงความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ บนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

จากการทดลองหาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้เชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 บนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแป้งแหล่งคาร์บอน พบว่า เชื้อไอโซเลทที่ 1 2 3 4 5 6 7 8 และสายพันธุ์ OS33 สามารถย่อยแป้งได้

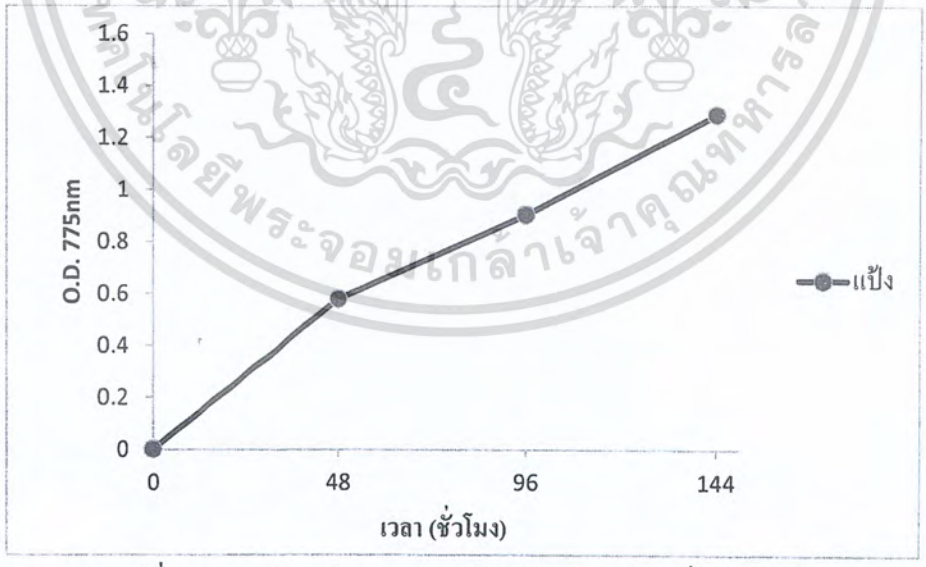
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ ในอาหารเหลวสูตร A ในสภาวะไร้อากาศ และในสภาวะที่มีอากาศ

นำเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่มีความสามารถในการย่อยแป้งที่แยกได้และเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันสายพันธุ์ OS33 จากอาหารแข็งมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต ซึ่งอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 1 ต่อ 1 จากนั้นดูดตัวอย่างเชื้อปริมาตรร้อยละ 1.0 มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นพอลิแซ็กคาร์ไรด์ ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง ข้าวดิบ ข้าวสุก ส่วนแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต ในสภาวะไร้อากาศ เทพาราฟินเหลวปลอดเชื้อปิดทับด้านบน นำไปบ่มภายใต้ความเข้มแสง 1000 – 1500 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส และในสภาวะที่มีอากาศนำไปบ่มใน skaker ที่มีความเร็วรอบ 200 rpm อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วเก็บตัวอย่างเชื้อทุกๆ 48 ชั่วโมงเป็นเวลา 144 ชั่วโมง

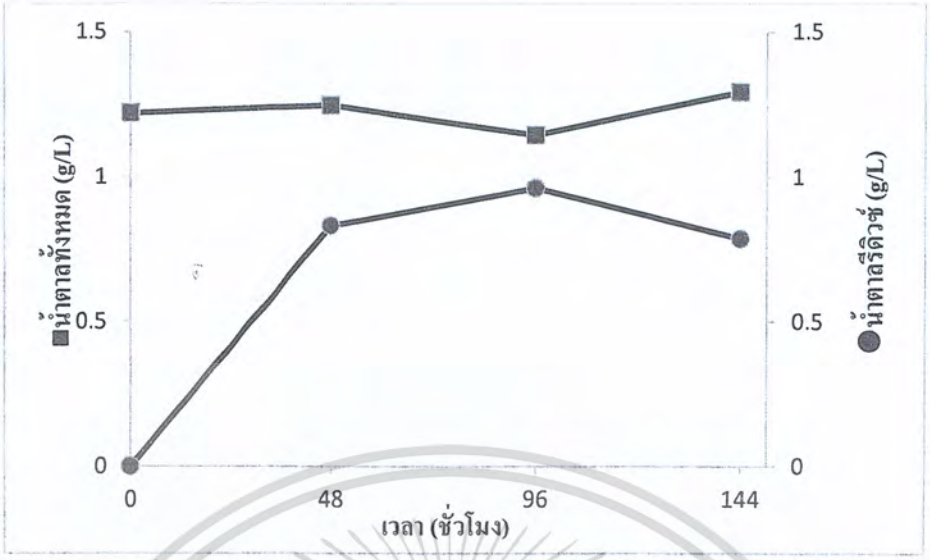
4.4.1. ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ ในอาหารเหลวสูตร A ที่แหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ข้าวสุก ข้าวดิบ ในสภาวะไร้อากาศ

4.4.1.3 อาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้งไอโซเลทที่ 1



<u>รูปที่ 4.4</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>รูปที่ 4.5</u> แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่าเชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีการเจริญเท่ากับ 1.287 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าเชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ได้อย่างต่อเนื่อง

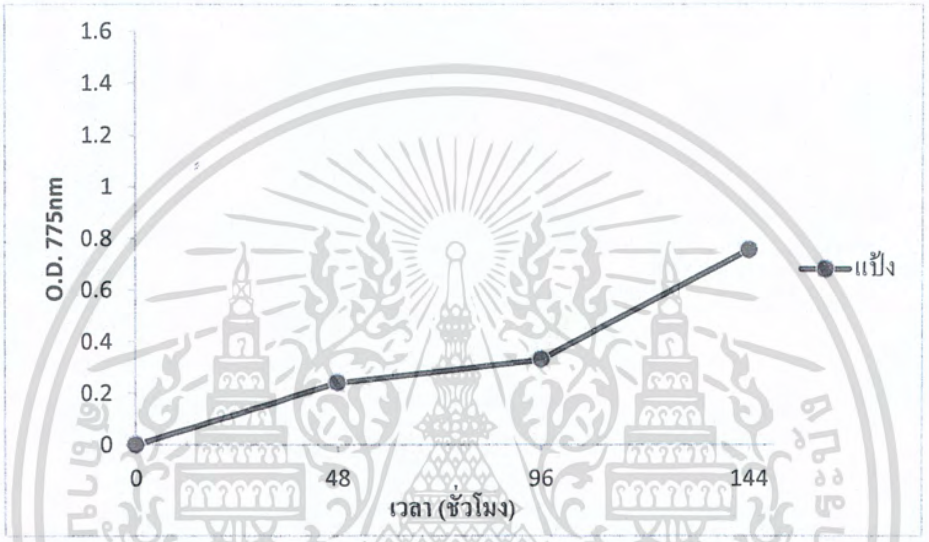
เมื่อนำมาวิเคราะห์การใช้น้ำตาลพบว่าในช่วงแรกของการเจริญตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 48 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.8316 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้สำหรับการเจริญได้ และหลังจากชั่วโมงที่ 48 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณเกือบคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับ 0.9616 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีอัตราการย่อยใกล้เคียงกับอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญ และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 0.7866 กรัมต่อลิตร อาจเนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลในแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสจนหมดแล้วจึงทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มีค่าลดลง อัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้สูงกว่าอัตราการย่อยสลาย และเชื้อมีการเจริญขึ้นอย่างต่อเนื่อง

สำหรับปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมด มีปริมาณน้ำตาลสะสมมากตั้งแต่ชั่วโมงแรกๆ ของการเจริญอาจเนื่องมาจากมีน้ำตาลที่ติดมากับแป้งตั้งแต่เริ่มต้น หลังจากนั้นในชั่วโมงที่ 48 จนถึงชั่วโมงที่ 96 ปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดมีค่าลดลง เนื่องจากเชื้ออาจย่อยน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ให้กลายเป็นน้ำตาลรีดิวส์เพื่อนำไปใช้ในการเจริญ และเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากเชื้อมีการย่อยแป้งให้ได้เป็นน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้น เพราะมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำอย่างต่อเนื่องจนอาจไม่เพียงพอที่เชื้อจะย่อยให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสเพื่อใช้ในการเจริญต่อไปได้ จึงทำให้เชื้อย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้น

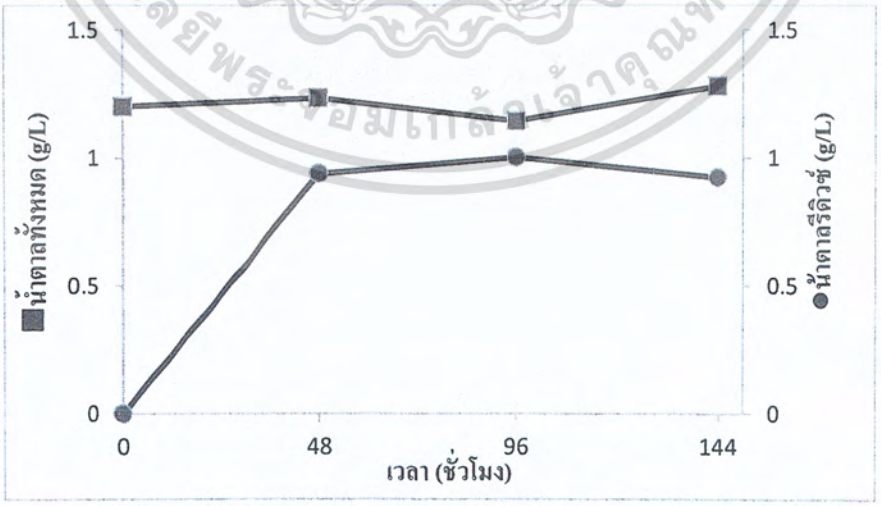
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีแสง ไร้อากาศ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมง 96 เชื้อมีการย่อยแป้งจนได้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้อย่างต่อเนื่องแต่หลังจากชั่วโมงที่ 96 น้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณลดลงในขณะที่น้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดมีประมาณเพิ่มขึ้น

ไอโซเลทที่ 2



<u>รูปที่ 4.6</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



<u>รูปที่ 4.7</u> แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่า ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 เชื้อมีการเจริญเล็กน้อย และเจริญสูงขึ้นเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144

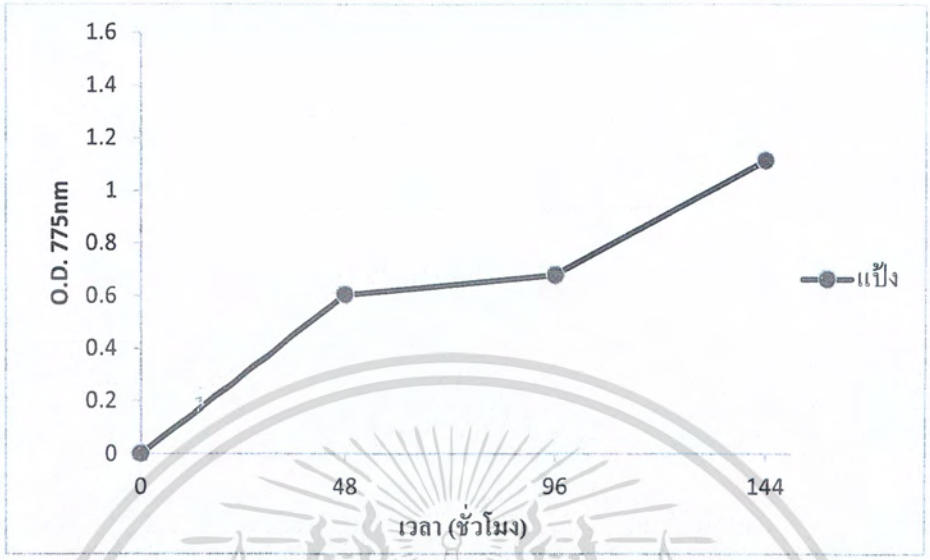
เมื่อนำมาวิเคราะห์การใช้น้ำตาลพบว่า ในชั่วโมงที่ 48 มีการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับ 0.962 กรัมต่อลิตรเนื่องจากเชื้อมีการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ เมื่อถึงชั่วโมงที่ 96 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น และลดลงเล็กน้อยเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 สังเกตได้ว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์คงที่ เนื่องจากอัตราการย่อยสลายน้ำตาลทั้งหมดให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ใกล้เคียงกับอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้สำหรับการเจริญของเชื้อ

สำหรับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่ามีปริมาณคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 และมีปริมาณลดลงในชั่วโมงที่ 96 เนื่องจากเชื้อมีอัตราการย่อยน้ำตาลทั้งหมดให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์สูง แต่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอีกครั้งในชั่วโมงที่ 144 อาจเนื่องจากปริมาณน้ำตาลละลายน้ำที่ลดลงจนอาจไม่เพียงพอที่เชื้อจะย่อยต่อไปให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสเพื่อใช้ในการเจริญ เชื้อจึงย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นเพื่อให้เพียงพอต่อการนำไปใช้

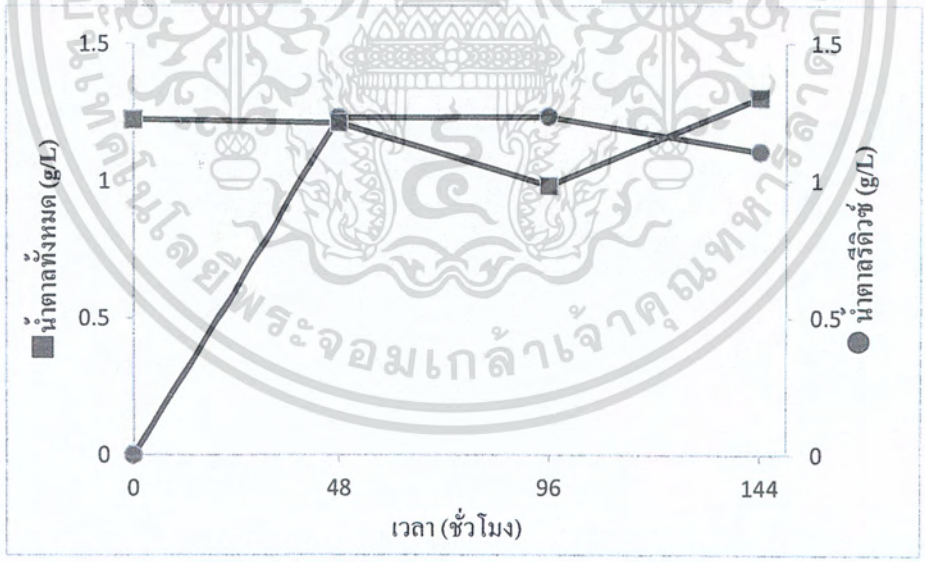
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2 ในอาหารสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีแสง ไร้อากาศ พบว่า ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมง 48 เชื้อมีการย่อยแป้งจนได้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ ในชั่วโมงที่ 48 ถึงชั่วโมงที่ 96 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ยังคงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ก็เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเช่นกัน อาจอธิบายได้ว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่สูงเกินไปมีสิทธิไปยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ และปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมดมีค่าลดลง จนอาจไม่เพียงพอต่อการเจริญจึงทำให้เชื้อมีการย่อยแป้งเพิ่มขึ้น ในชั่วโมงที่ 144 และมีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แสดงให้เห็นว่าเชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ได้อย่างต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลทที่ 5



รูปที่ 4.8 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



รูปที่ 4.9 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่าเชื้อมีการเจริญจนถึงชั่วโมงที่ 48 และมีการเจริญเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยจนถึงชั่วโมงที่ 96 เนื่องจากเชื้อมีการสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ช้าลง ในชั่วโมงที่ 144 พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้น เนื่องจากแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ที่สูงขึ้น อาจอธิบายได้ว่าเชื้อนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญได้

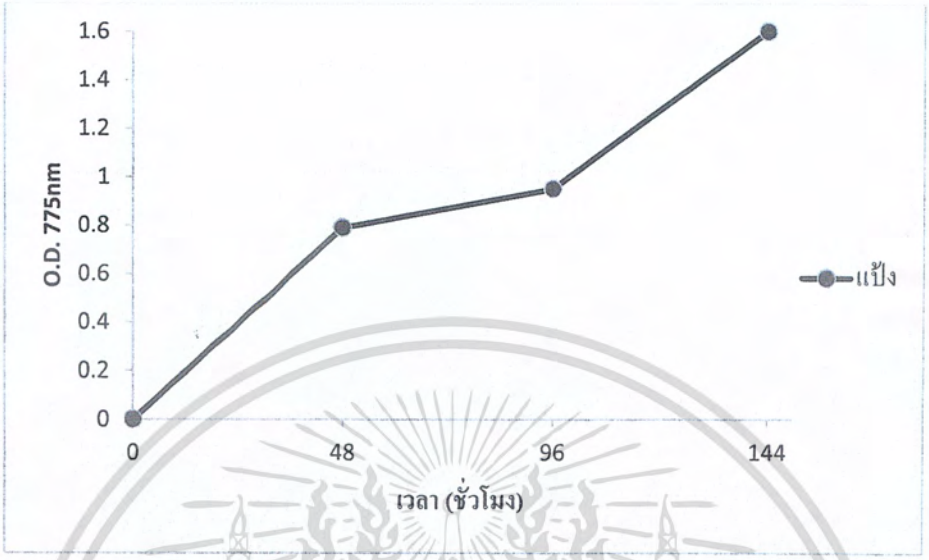
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่าในชั่วโมงที่ 48 มีการสะสมของปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สูงถึง 1.232 กรัมต่อลิตร อาจเนื่องจากมีการย่อยสลายน้ำตาลทั้งหมดเป็นน้ำตาลรีดิวส์ในปริมาณที่สูง แต่หลังจากชั่วโมงที่ 48 จนถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่า มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์คงที่และลดลงเล็กน้อย โดยในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับ 1.105 กรัมต่อลิตร อาจเนื่อง เชื้อมีการย่อยน้ำตาลในแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสจนใกล้หมดแล้วจึงทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มีค่าลดลงเล็กน้อย อัตราการย่อยน้ำตาลในแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์มีค่าใกล้เคียงกับการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ ถึงแม้ปริมาณน้ำตาลจะคงที่แต่เชื้อยังคงมีการเจริญอยู่

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด พบว่ามีปริมาณน้ำตาลลดลงมากในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 0.982 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปใช้ในการเจริญ และมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 144 เนื่องจากปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ลดลงอาจไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ เชื้อจึงย่อยแป้งเพื่อให้ได้น้ำตาลเพิ่มขึ้น

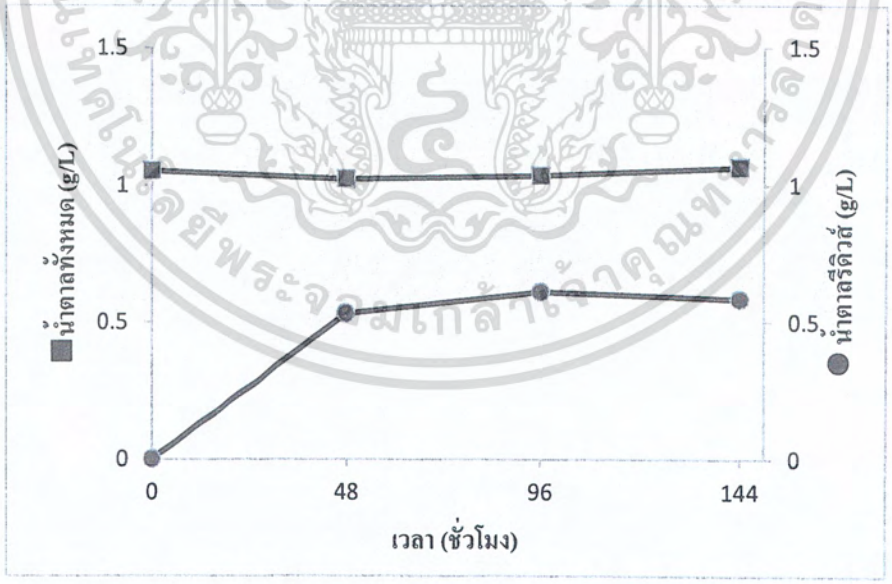
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ มีแสง ในชั่วโมงที่ 48 มีน้ำตาลรีดิวส์ในปริมาณที่สูงมาก ในขณะที่น้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดมีปริมาณลดลงเล็กน้อย และเชื้อมีการเจริญสูง อธิบายได้ว่า เชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ได้ตามปกติ แต่อัตราการย่อยสลายน้ำตาลในแป้งเป็นน้ำตาลรีดิวส์มีค่าน้อยกว่าอัตราการนำน้ำตาลไปใช้สำหรับการเจริญ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 48 น้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณเกือบคงที่เพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย ปริมาณของแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 48 ถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณเกือบคงที่ อธิบายได้ว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่มีมากในช่วงแรกอาจไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้น อธิบายได้ว่าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลได้อีกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OS33



รูปที่ 4.10 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



รูปที่ 4.11 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่าเชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่องโดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และมีปริมาณสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 1.600 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ได้อย่างต่อเนื่อง

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่า ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณเท่ากับ 0.532 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่ จนถึงชั่วโมงที่ 144 โดยเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่ชั่วโมงที่ 96 อาจเนื่องจากหลังจากการย่อยน้ำตาลในแป้งให้ได้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ในชั่วโมงที่ 48 อัตราการย่อยน้ำตาลในแป้งเป็นน้ำตาลรีดิวส์ และอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้เพื่อการเจริญมีค่าใกล้เคียงกัน

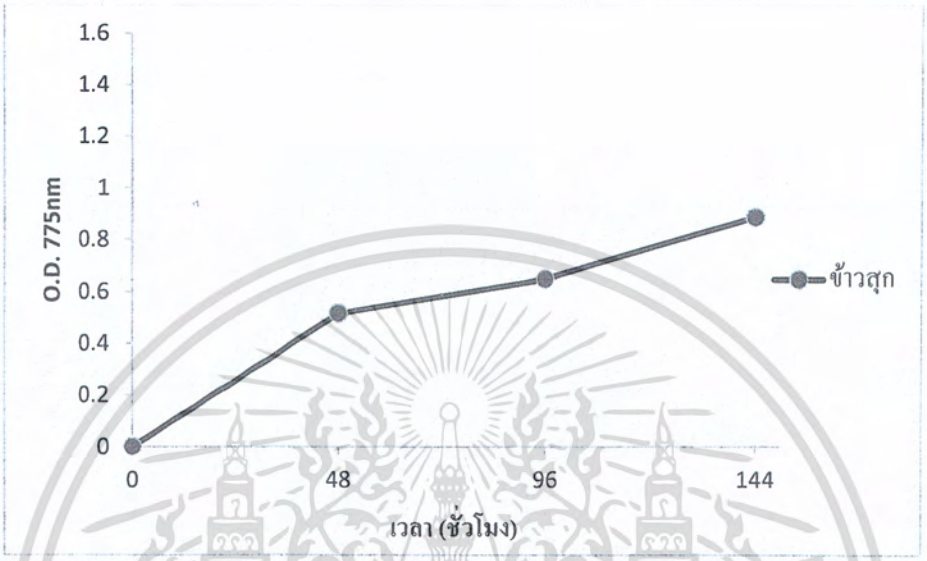
สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด พบว่ามีปริมาณคงที่ตลอดการวิเคราะห์ โดยมีปริมาณลดลงเล็กน้อยที่ชั่วโมงที่ 48 ถึงชั่วโมงที่ 96 เนื่องจากเชื้อย่อยน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ให้กลายเป็นน้ำตาลรีดิวส์เพื่อนำไปใช้ในการเจริญ และมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่ชั่วโมงที่ 144 เนื่องจากน้ำตาลรีดิวส์ไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการเจริญเติบโตจึงทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลที่คงที่นี้ อาจอธิบายได้ว่าอัตราการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำ มีค่าใกล้เคียงกับอัตราการย่อยน้ำตาลให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ มีแสง ในชั่วโมงที่ 48 มีน้ำตาลรีดิวส์ในปริมาณที่สูงมาก ในขณะที่น้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดมีปริมาณลดลงเล็กน้อย และเชื้อมีการเจริญสูง อธิบายได้ว่า เชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ได้ตามปกติ แต่อัตราการย่อยสลายน้ำตาลในแป้งเป็นน้ำตาลรีดิวส์มีค่ามากกว่าอัตราการนำน้ำตาลไปใช้สำหรับการเจริญ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 48 น้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณเกือบคงที่เพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย ปริมาณของแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 48 ถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อย อธิบายได้ว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่มีมากในช่วงแรกอาจไปยับยั้งการเจริญของเชื้อแต่ไม่มากพอให้เชื้อหยุดการเจริญ แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้น อธิบายได้ว่าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลได้อีกครั้ง

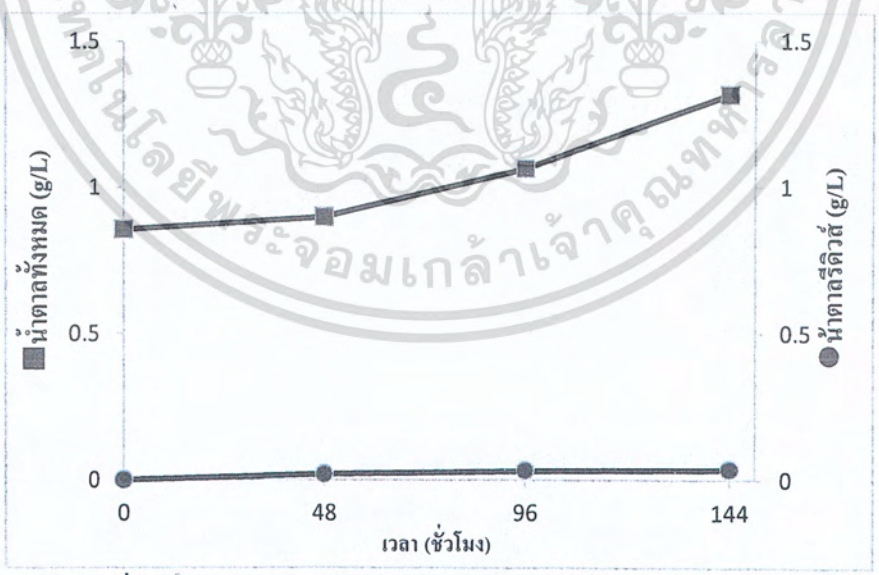
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.4 อาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก

ไอโซเลทที่ 1



<u>รูปที่ 4.12</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซลทที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



<u>รูปที่ 4.13</u> แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

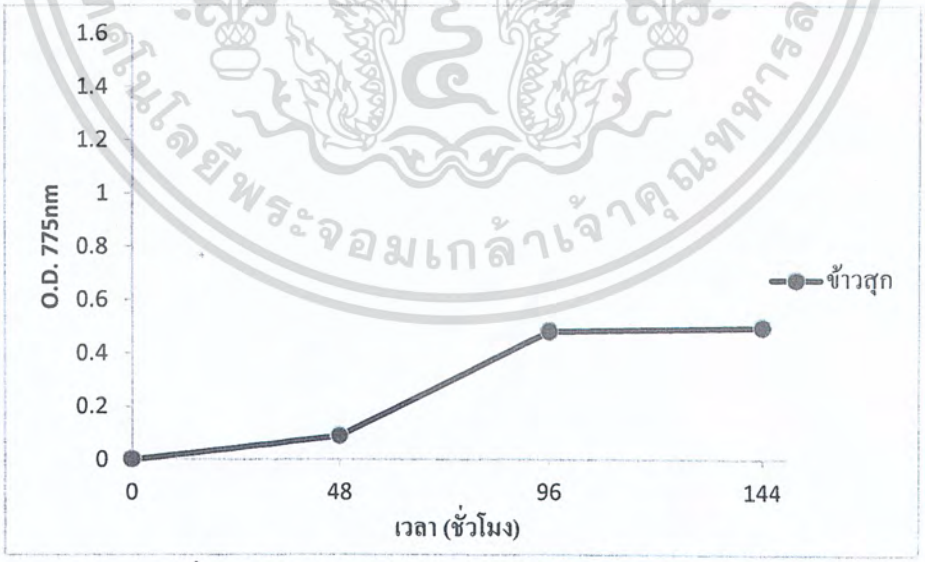
สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่าเชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.884 กรัมต่อลิตร

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สะสมในปริมาณน้อยคงที่ตลอดการทดลอง อธิบายได้ว่า เชื้อมีอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ใกล้เคียงกับอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญ

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่า มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นโดยในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณน้ำตาลเท่ากับ 1.317 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีอัตราการย่อยข้าวสุกเป็นน้ำตาลละลายน้ำเพื่อให้ปริมาณน้ำตาลเพียงพอสำหรับการเจริญในอัตราที่สูงกว่าการนำย่อยน้ำตาลให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ ทำให้เกิดการสะสมเพิ่มขึ้น

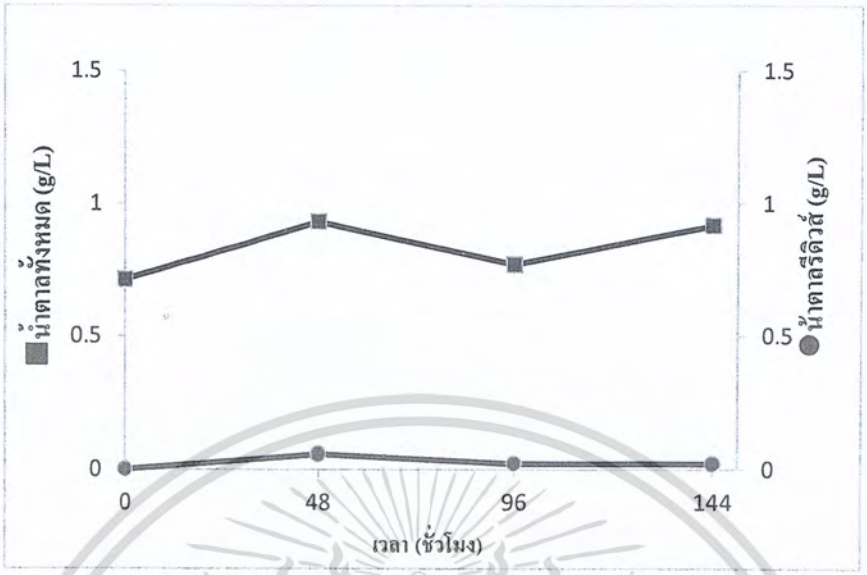
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศมีแสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 144 น้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณน้อยคงที่ และมีการเจริญของเชื้ออย่างต่อเนื่อง อธิบายได้ว่า เชื้อมีการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญได้อย่างเต็มที่

ไอโซเลทที่ 2



<u>รูปที่ 4.14</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซลทที่ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>รูปที่ 4.15</u> แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยคือ 0.088 กรัมต่อลิตร อาจเนื่องจากในช่วงแรกเชื้อนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ในการเจริญได้ไม่เต็มที่ แต่ในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นถึง 0.480 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อเริ่มนำน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากข้าวสุกมาใช้ในการเจริญได้เพิ่มขึ้น และในชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในปริมาณคงที่ อาจอธิบายได้ว่า เชื้อนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ในการเจริญช่วงแรกจนมีปริมาณน้อยลง ทำให้ไม่เพียงพอต่อการเจริญในช่วงท้าย

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สะสมน้อยคงที่ตลอดการทดลอง โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นมาเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 48 อาจเนื่องจาก มีการย่อยน้ำตาลละลายให้กลายเป็นน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นเพื่อให้เพียงพอสำหรับนำมาใช้ในการเจริญ

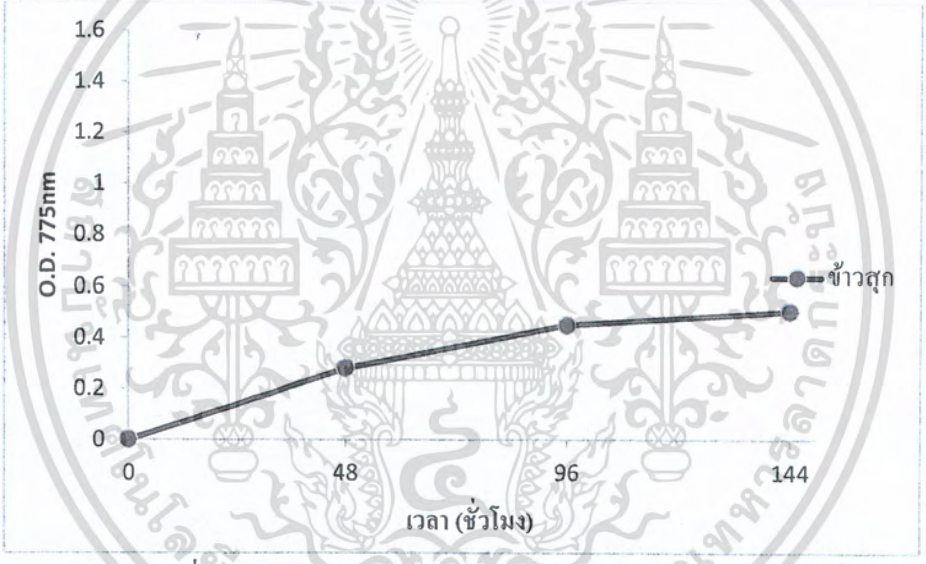
สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นและลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 48 มีการสะสมของน้ำตาลละลายน้ำเท่ากับ 0.932 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อย่อยข้าวสุกให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้นเพื่อให้เพียงสำหรับนำไปใช้ในการเจริญ ในชั่วโมงที่ 96 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลลดลงเท่ากับ 0.769 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์สูงกว่าอัตราการย่อยข้าวสุกเพื่อให้ได้น้ำตาลละลายน้ำ และอาจเนื่องจากปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลละลายน้ำที่ลดลงจนอาจไม่พอต่อการเจริญต่อไปในชั่วโมงที่ 144 จึงพบว่ามีการสะสมของปริมาณน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 0.917 กรัมต่อลิตร

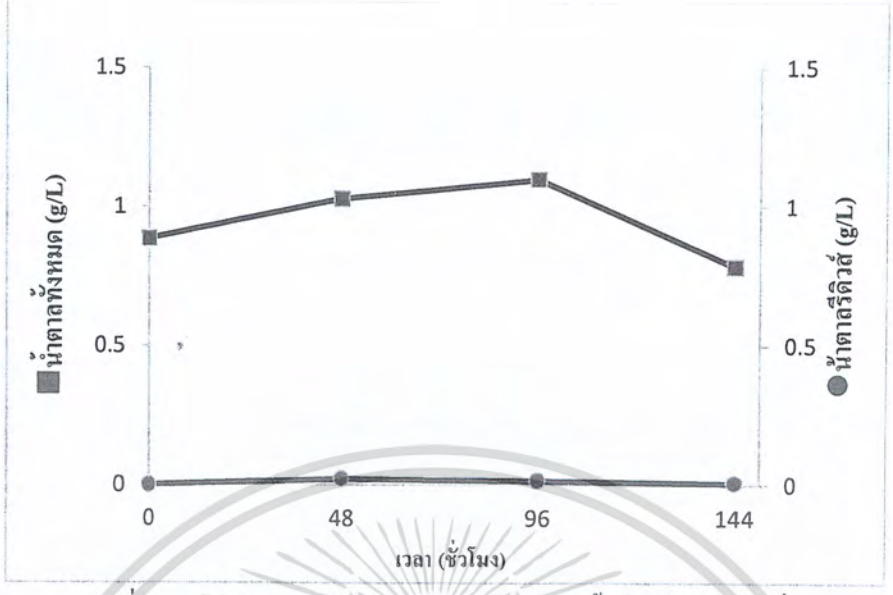
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศมีแสง พบว่าอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์มีค่าใกล้เคียงกับอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้สำหรับการเจริญ ทำให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สะสมน้อยคงที่ แต่การเจริญค่อนข้างต่ำ อาจอธิบายได้ว่า มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในอาหารที่เชื้อจะนำมาใช้ในการเจริญค่อนข้างน้อย

ไอโซเลทที่ 5



<u>รูปที่ 4.16</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซลทที่ 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นในอัตราคงที่ โดยในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.280 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ในการเจริญได้อย่างต่อเนื่อง

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สะสมน้อยคงที่ตลอดการทดลอง สามารถอธิบายได้ว่าเชื้อมีอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญเท่ากับอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้

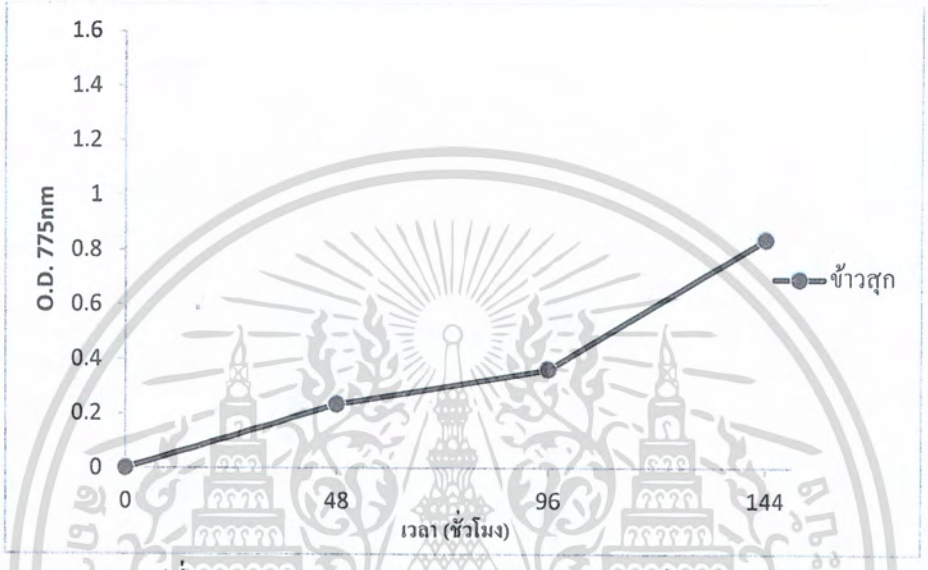
สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำเท่ากับ1.100 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยข้าวสุกให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำในอัตราที่สูงคงที่ และในชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำลดลงเท่ากับ 0.785 กรัมต่อลิตร เนื่องจากมีปริมาณน้ำตาลสะสมในปริมาณที่มากเพียงพอหรืออาจไม่สามารถย่อยข้าวสุกให้เป็นน้ำตาลได้อีกเชื้อจึงหยุดการย่อยข้าวสุกให้เป็นน้ำตาล แต่ยังคงมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์อย่างต่อเนื่องทำให้น้ำตาลละลายน้ำมีปริมาณลดน้อยลง

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ

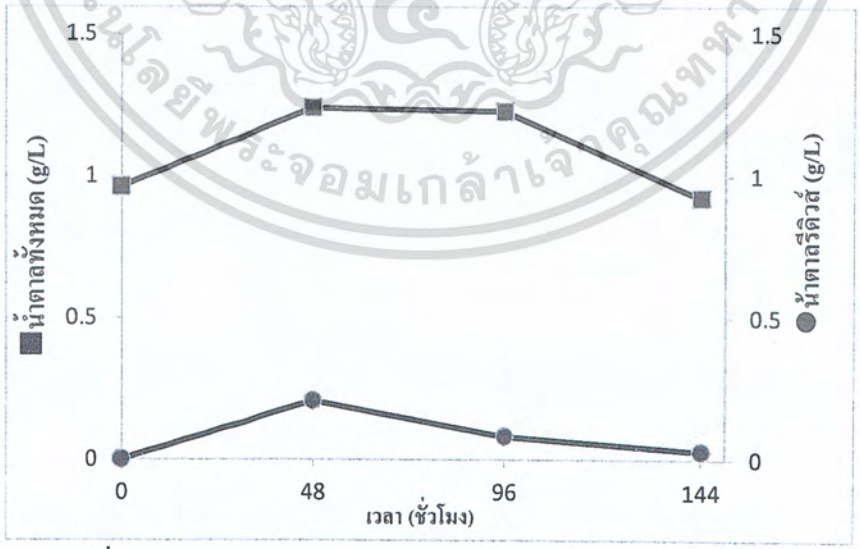
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีแสง พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์น้อยคงที่ตลอดการทดลอง และมีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ตลอดการทดลองเช่นกัน อธิบายได้ว่าเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญได้อย่างต่อเนื่อง

OS33



<u>รูปที่ 4.18</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



<u>รูปที่ 4.19</u> แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาลสายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณลดลงเล็กน้อย เท่ากับ 0.362 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณเท่ากับ 0.838 กรัมต่อลิตรอธิบายได้ว่าเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้สำหรับการเจริญได้อย่างต่อเนื่อง

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.206 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์สำหรับใช้ในการเจริญ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากเชื้อมีอัตราการนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สูงกว่าการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์

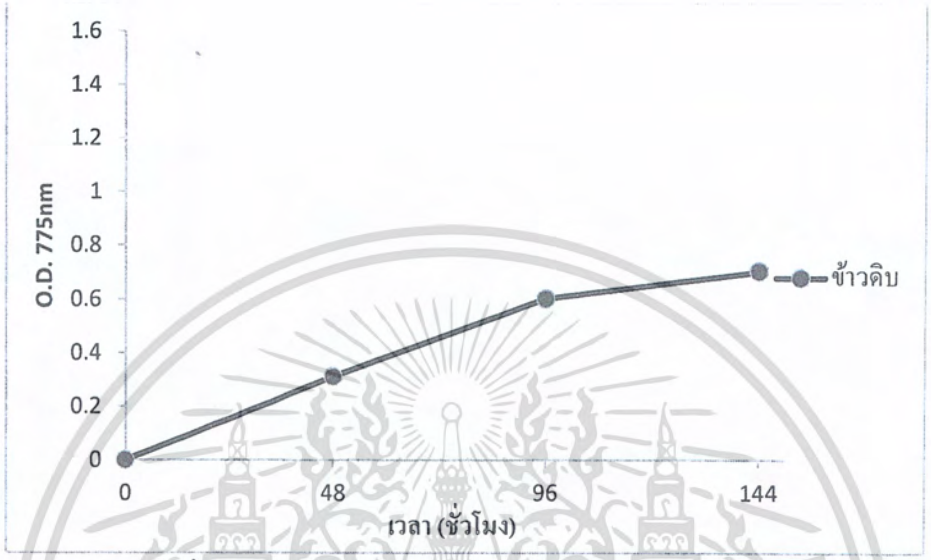
สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด ในชั่วโมงที่ 48 มีการสะสมของน้ำตาลละลายน้ำสูงถึง 1.240 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำลดลงเท่ากับ 0.923 กรัมต่อลิตร เนื่องจากการสะสมของน้ำตาลที่มากพอเชื้อจึงอาจหยุดการย่อยข้าวสุกให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำ แต่ยังคงมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์อยู่จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลละลายน้ำในระบบมีค่าลดลง

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ มีแสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 96 เชื้อมีการเจริญค่อนข้างช้า อธิบายได้ว่าปริมาณน้ำตาลที่สะสมมากในระบบอาจไปยับยั้งการเจริญของเชื้อเล็กน้อย หรือเชื้อมีการสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ช้า แต่ในชั่วโมงที่ 144 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และปริมาณน้ำตาลละลายน้ำลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มสูงขึ้น แสดงว่าเชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ในการเจริญได้ดีขึ้น

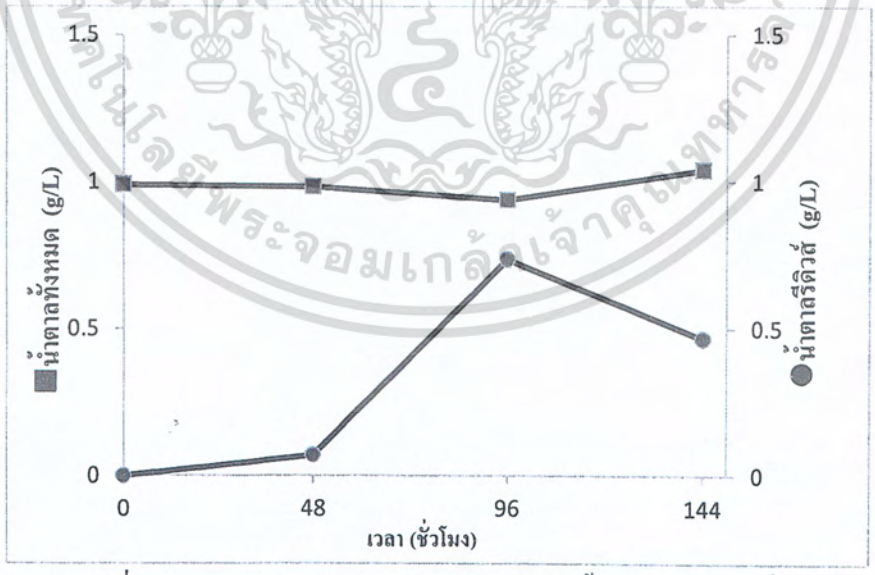
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.5 อาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ

ไอโซเลทที่ 1



รูปที่ 4.20 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



รูปที่ 4.21 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 เชื้อมีอัตราการเจริญสูงขึ้นอย่างคงที่ โดยในชั่วโมงที่ 96 มีการสะสมของแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.602 กรัมต่อลิตร แต่มีปริมาณลดลงเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 0.703 กรัมต่อลิตร

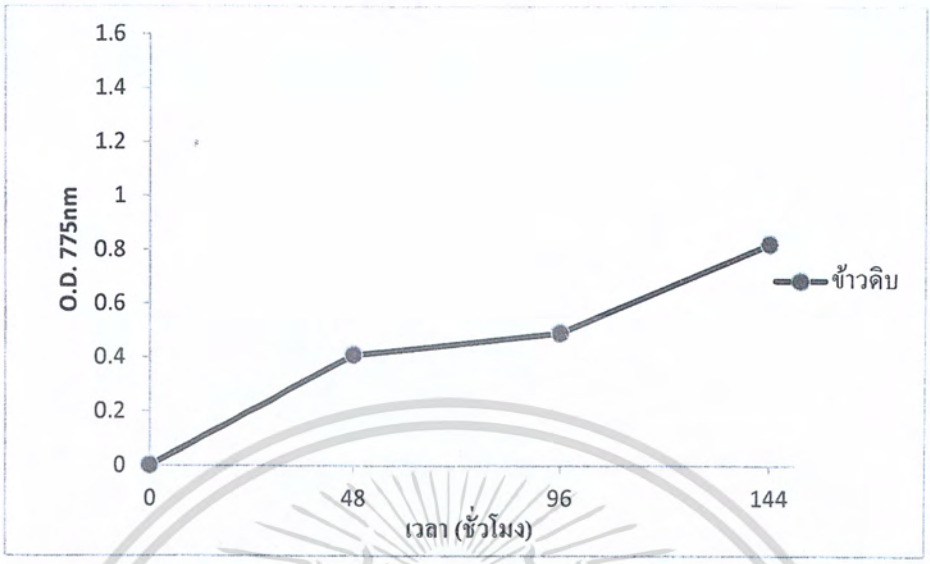
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่าในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ค่อนข้างน้อย และเพิ่มขึ้นสูงมากในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 0.735 กรัมต่อลิตร เนื่องจากอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์มีสูงกว่าการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญ แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลง เท่ากับ 0.465 กรัมต่อลิตร เนื่องจากการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณสูงเชื้อจึงอาจหยุดการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ และมีการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญอย่างต่อเนื่องทำให้มีปริมาณลดลง หรืออธิบายได้อีกว่าอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญมีค่าสูงขึ้นมากกว่าอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำ

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดพบว่ามีปริมาณคงที่ตลอดการทดลอง โดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณลดลงเล็กน้อย และเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 144 อธิบายได้ว่าเชื้อมีอัตราการย่อยน้ำตาลในข้าวดิบใกล้เคียงกับอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้

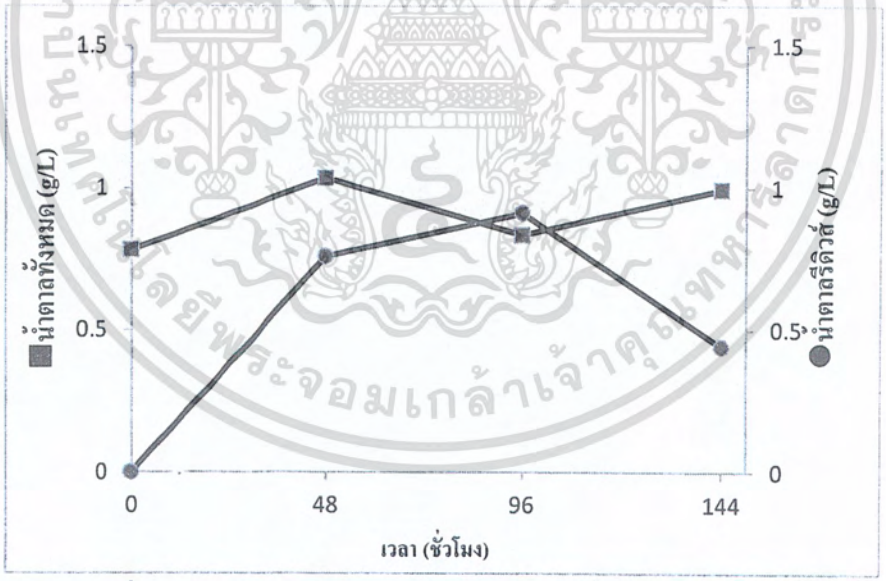
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศมีแสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 เชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ในการเจริญได้อย่างคงที่ต่อเนื่อง แต่ในชั่วโมงที่ 144 มีการสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ลดลง อธิบายได้ว่าน้ำตาลรีดิวส์ที่เพิ่มสูงมากในชั่วโมงที่ 96 อาจไปยับยั้งการเจริญทำให้เชื้อมีการเจริญลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลทที่ 2



รูปที่ 4.22 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



รูปที่ 4.23 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ จากการวิเคราะห์ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ พบว่าเชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่องโดยในชั่วโมงที่ 96 มีการเจริญลดลงเกือบคงที่เท่ากับ 0.490 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 0.820 กรัมต่อลิตร อธิบายได้ว่าเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ในการเจริญได้อย่างต่อเนื่อง

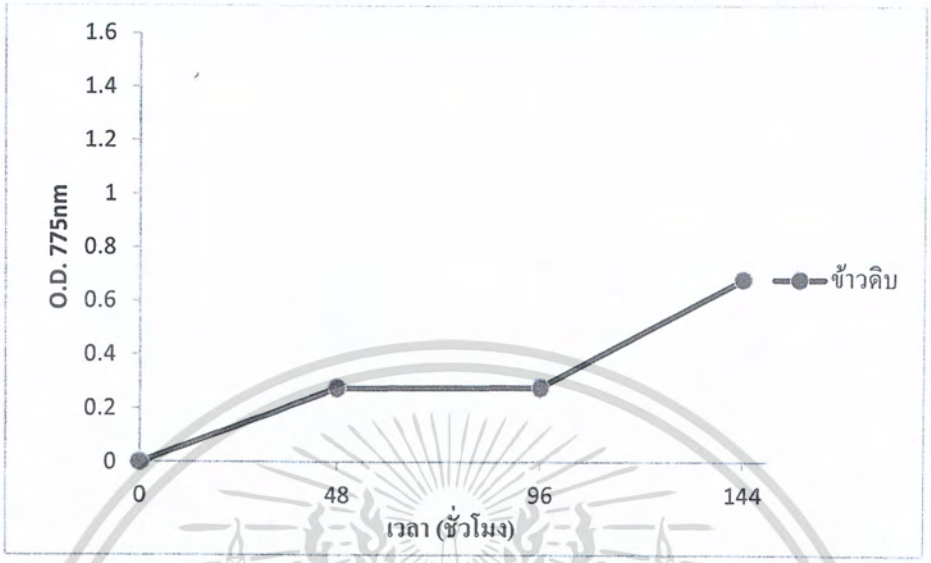
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สะสมเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยมีค่าเท่ากับ 0.759 กรัมต่อลิตร เนื่องจากอาจเชื้อเริ่มย่อยน้ำตาลละลายน้ำกลายเป็นน้ำตาลรีดิวส์เพื่อนำมาใช้สำหรับการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น จนถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สะสมเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย โดยมีค่าเท่ากับ 0.912 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญเติบโตในปริมาณที่สูงขึ้น แต่ยังคงมีการปล่อยเอนไซม์สลายน้ำตาลในข้าวดิบทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ยังคงสูงขึ้นเรื่อยๆ และในชั่วโมงที่ 144 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัด มีค่าเท่ากับ 0.442 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้อย่างเต็มที่

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำในช่วง 48 ชั่วโมงแรกพบว่ามีค่าสูงขึ้น เนื่องจากเชื้อปล่อยเอนไซม์ย่อยข้าวดิบเพื่อให้ได้น้ำตาลในอัตราที่สูงกว่าการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ จนถึงชั่วโมงที่ 96 น้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดมีปริมาณลดลง เท่ากับ 0.835 กรัมต่อลิตรอาจเนื่องจากน้ำตาลมีปริมาณมากพอในการย่อยสลายเพื่อให้ได้เป็นน้ำตาลรีดิวส์เชื้อจึงหยุดการย่อยข้าวดิบ ทำให้มีปริมาณน้ำตาลลดลง แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 น้ำตาลละลายน้ำมีปริมาณเพิ่มขึ้นอาจเนื่องจากน้ำตาลรีดิวส์ไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการเจริญเติบโตจึงทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้น

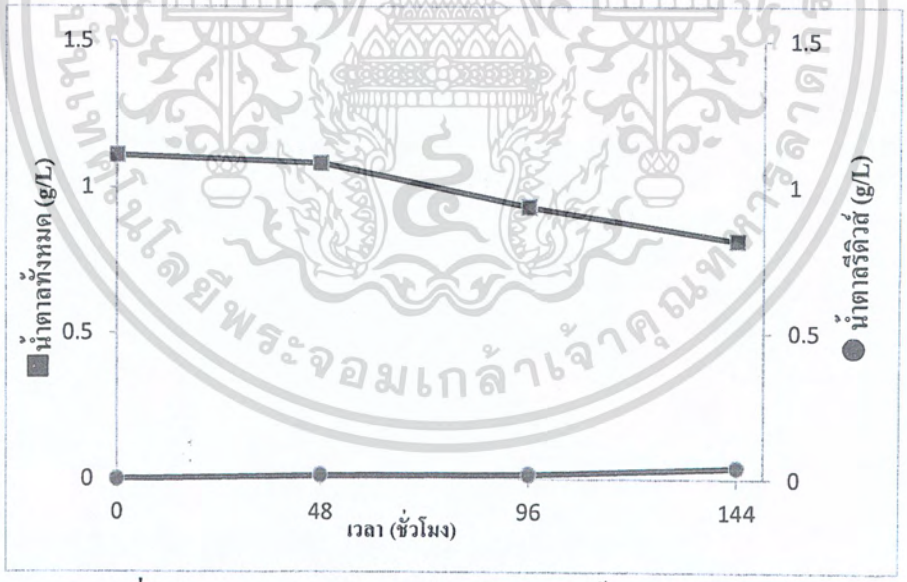
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้แสง มีอากาศ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมง 96 เชื้อมีการย่อยแป้งจนได้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้อย่างต่อเนื่อง แต่ชั่วโมงที่ 48 ถึงชั่วโมงที่ 96 ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีปริมาณเกือบคงทีอาจเนื่องจากการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์ที่มีมากเกินไปจนอาจไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงและปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำทั้งหมดมีค่าสูงขึ้นอธิบายได้ว่า น้ำตาลละลายน้ำมีปริมาณลดลงจนอาจไม่เพียงพอต่อการเจริญจึงทำให้เชื้อมีการย่อยแป้งเพิ่มขึ้น และปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีการนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ได้อย่างต่อเนื่องได้อีกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลทที่ 5



4.24 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



รูปที่ 4.25 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่า มีการสะสมของแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในชั่วโมงที่ 43 เท่ากับ 0.274 กรัมต่อลิตรและมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 อาจเนื่องจาก เชื้อมีการสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ช้า แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์สูงถึง 0.679 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ได้อย่างเต็มที่

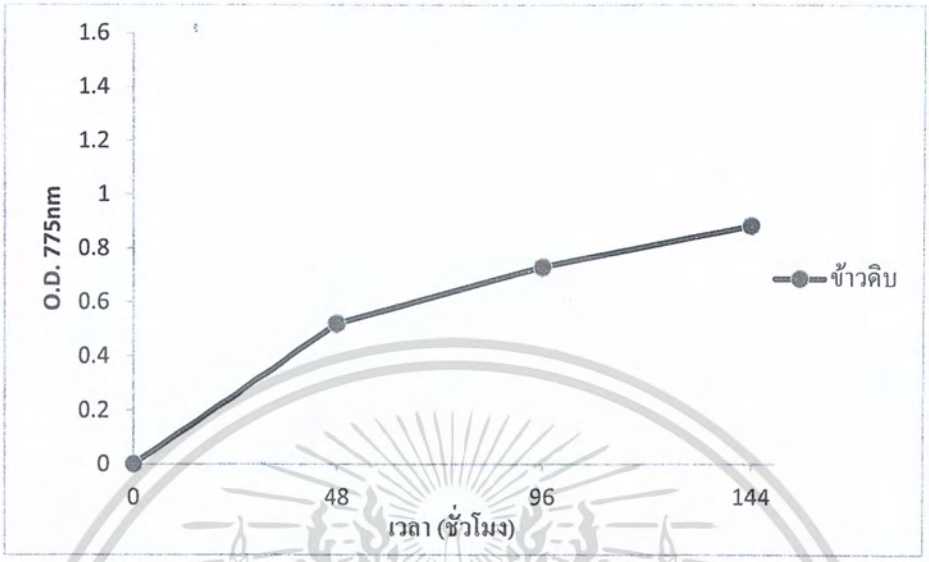
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่ามีการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์น้อยคงที่ตลอดการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นมาเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 0.040 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง แสดงว่าเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลกลูโคสสำหรับการเจริญเรื่อยๆ อย่างต่อเนื่อง

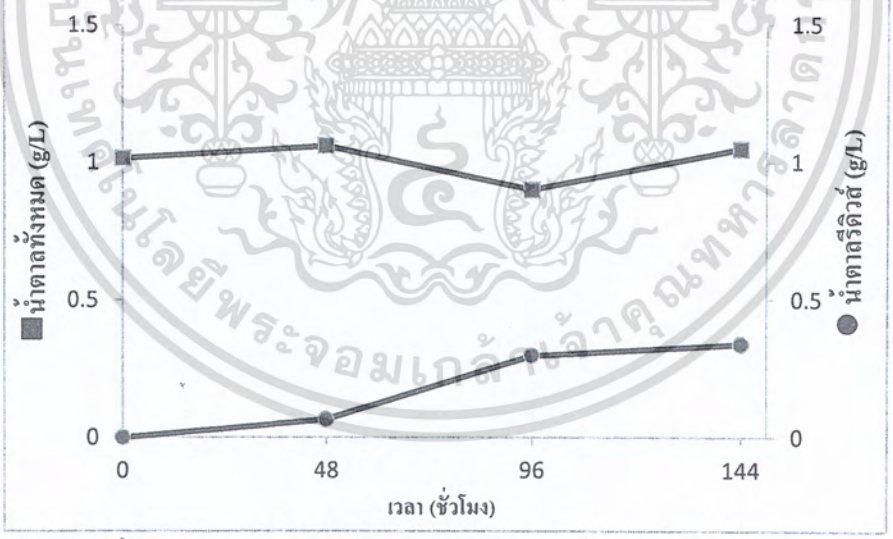
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศมีแสง พบว่า ปริมาณน้ำตาลละลายน้ำมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่น้ำตาลรีดิวส์มีอัตราการย่อยน้ำตาลรีดิวส์ สำหรับการเจริญเท่ากับอัตราการสลายน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ จึงทำให้มีค่าน้อยคงที่ และเชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่อง แต่ในช่วงแรกอาจมีการสะสมของปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ต่ำ จึงอาจอธิบายได้ว่าเชื้อมีการสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OS33



4.26 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ



รูปที่ 4.27 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ พบว่าเชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่องโดยในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.881 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่าเริ่มมีการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์ในปริมาณที่สูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เนื่องจากเชื้อมีอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้สำหรับการเจริญน้อยกว่าอัตราการย่อยน้ำตาลทั้งหมดให้ได้น้ำตาลกลูโคส โดยในชั่วโมงที่ 144 มีการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับ 0.338 กรัมต่อลิตร

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดเพิ่มขึ้นมาจากชั่วโมงที่ 0 เล็กน้อย และมีปริมาณลดลงเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 คือเท่ากับ 0.899 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ในอัตราที่สูง แต่เนื่องจากปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ลดลงจนอาจไม่พอต่อการนำไปใช้ในการเจริญ เชื้อจึงทำการย่อยน้ำตาลในข้าวดิบเพิ่มขึ้นอีก ทำให้ในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำสูงขึ้นเท่ากับ 1.047 กรัมต่อลิตร

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบไร้อากาศ มีแสง ตลอดการทดลองเชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่อง และมีอัตราการสร้างแบคเทอริโปคลอโรฟิลล์ค่อยๆลดลง อธิบายได้ว่าการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์ที่เพิ่มสูงขึ้นอาจยับยั้งการเจริญของเชื้อเล็กน้อย แต่อาจไม่มากพอที่จะยับยั้งการเจริญได้

ผลการทดลองความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลทที่ 1 2 และ 5 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ OS33 ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ มีแสง

เมื่อพิจารณาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลทที่ 1 2 และ 5 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ OS33 ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ มีแสง ด้วยอาหารสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ต่างชนิดกัน คือ แป้ง ข้าวสุก และข้าวดิบ ในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้งนั้น เชื้อสายพันธุ์ OS33 สามารถเจริญได้ดีที่สุด โดยมีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 1.600 กรัมต่อลิตรรองลองมาคือเชื้อไอโซเลทที่ 1 5 และ 2 ตามลำดับ

ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก พบว่า เชื้อสายพันธุ์ ไอโซเลทที่ 1 มีความสามารถในการย่อยข้าวสุกให้กลายเป็นกลูโคสสำหรับใช้ในการเจริญได้ใกล้เคียงกับเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OS33 โดยเชื้อ ไอโซเลทที่ 1 และเชื้อสายพันธุ์ OS33 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 144 สูงสุดใกล้เคียงกัน คือ 0.884 และ 0.838 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

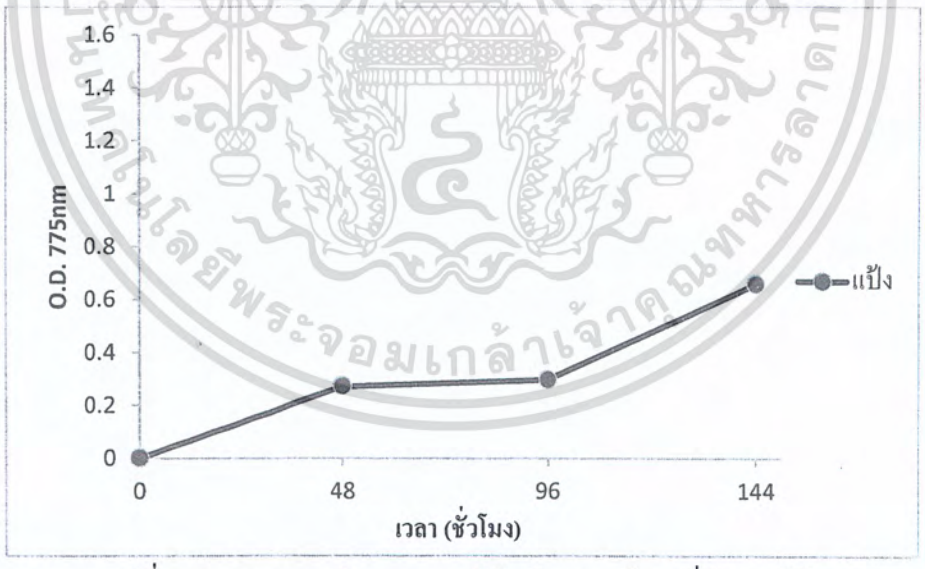
และในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท และเชื้อสายพันธุ์ OS33 สามารถเจริญและย่อยข้าวดิบได้ดีพอๆกัน แต่เชื้อที่มีการเจริญมากที่สุดคือสายพันธุ์ OS33 โดยมีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 0.881 รองลงมาคือเชื้อไอโซเลทที่ 2 1 และ 5 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 3 ชนิด ภายใต้การสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ มีแสง พบว่า เชื้อสามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอน เป็น แป้ง ข้าวดิบ และ ข้าวสุก ตามลำดับ

4.4.2 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria สายพันธุ์ OS33 และเชื้อ purple non-sulfur photosynthetic bacteria ที่คัดแยกได้ ในอาหารเหลวสูตร A ที่แหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ข้าวสุก ข้าวดิบ ในสภาวะที่มีอากาศ

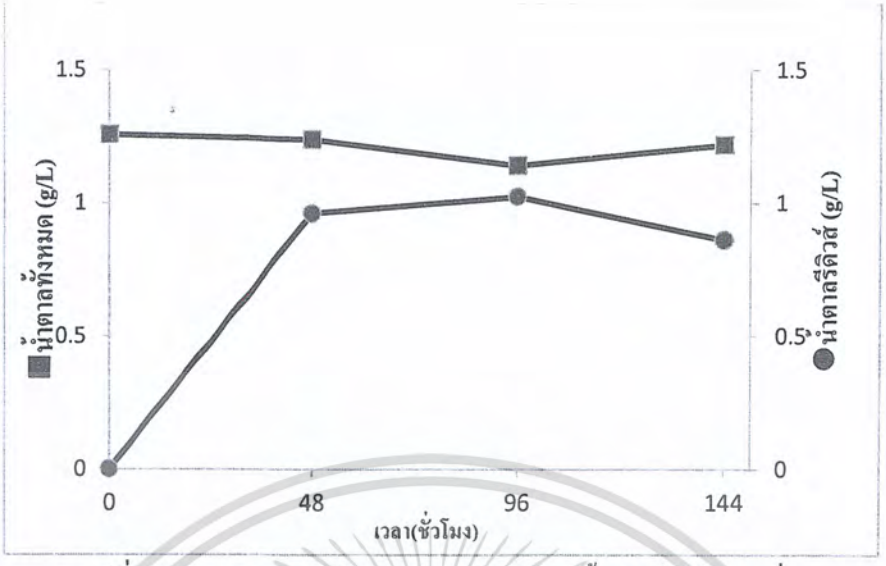
4.4.2.1 อาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง

ไอโซเลทที่ 1



<u>รูปที่ 4.28</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>รูปที่ 4.29</u> แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่า ในชั่วโมงที่ 48 เชื้อมีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.271 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 และมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 144 คือเท่ากับ 0.656 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ในการเจริญได้ดีขึ้น

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ในชั่วโมงที่ 48 พบว่า มีการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์ในปริมาณที่สูงถึง 0.962 กรัมต่อลิตรและมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 96 เนื่องจาก อัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดมีค่าสูงกว่าอัตราการย่อยน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้สำหรับการเจริญ เมื่อทำการวัดน้ำตาลอีกครั้งในชั่วโมงที่ 144 พบว่าน้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณลดลงเท่ากับ 0.862 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในอัตราที่เพิ่มขึ้น

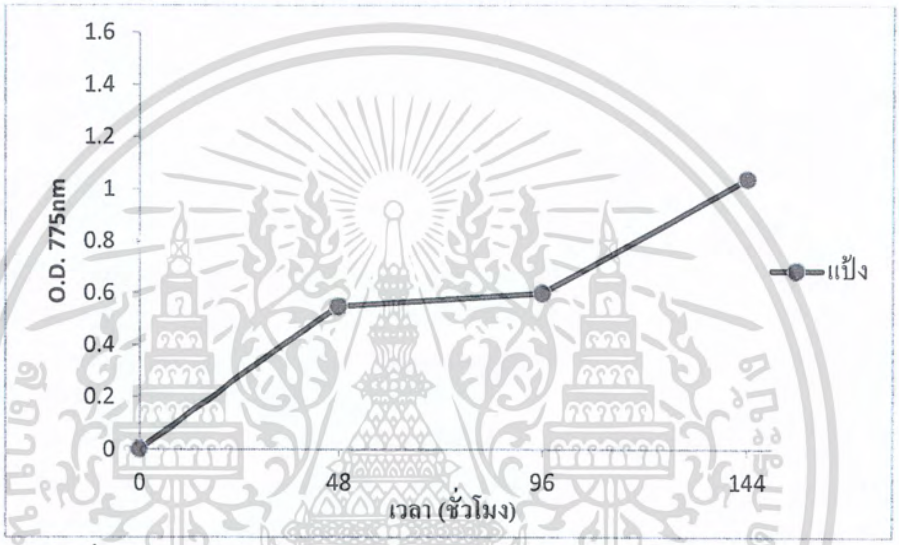
สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำเกือบคงที่ตลอดการทดลอง โดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำลดลงเล็กน้อย เท่ากับ 1.142 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ในอัตราที่สูงกว่าอัตราการย่อยแป้งให้ได้เป็นน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากปริมาณน้ำตาลที่ลดลง จนอาจไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ เชื้อจึงย่อยน้ำตาลในแป้งเพิ่มขึ้น

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้

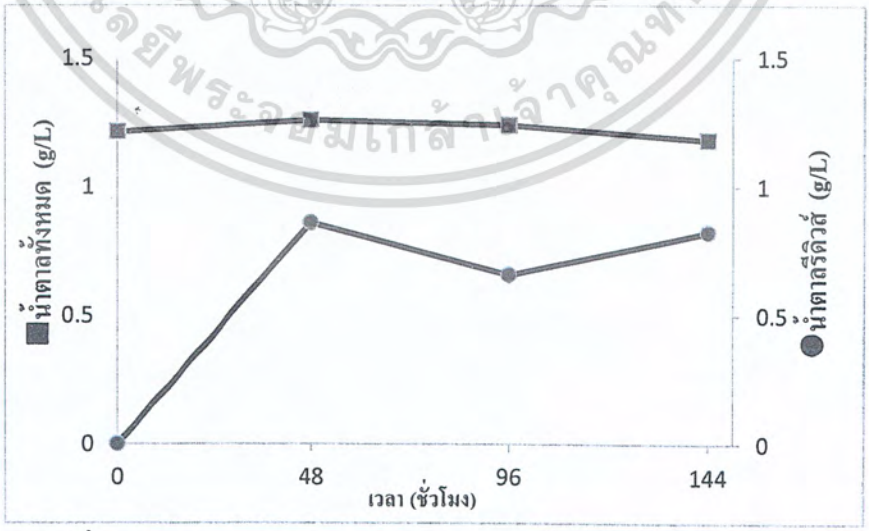
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 เชื้อมีอัตราการเจริญน้อยมาก สังเกตได้จากปริมาณการสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ หรืออาจเนื่องจากเชื้อมีการสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ช้าทำให้ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ที่วิเคราะห์ได้มีค่าน้อย ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่สูงก็อาจไปยับยั้งการเจริญได้เช่นกัน แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์สูงขึ้นในขณะที่น้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณลดลง แสดงว่าเชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสที่ย่อยได้ ไปใช้สำหรับการเจริญได้ดีขึ้น

ไอโซเลทที่ 2



รูปที่ 4.30 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



รูปที่ 4.31 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสงโดยเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 48 มีการสะสมของปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์สูงที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 0.5470 กรัมต่อลิตร จนถึงชั่วโมงที่ 96 พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์คงที่ อาจกล่าวได้ว่าขณะนั้นมีการสะสมของน้ำตาลในระบบมาก จนทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญ แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นมากอย่างเห็นได้ชัด โดยมีค่าเท่ากับ 1.0370 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ได้อีก

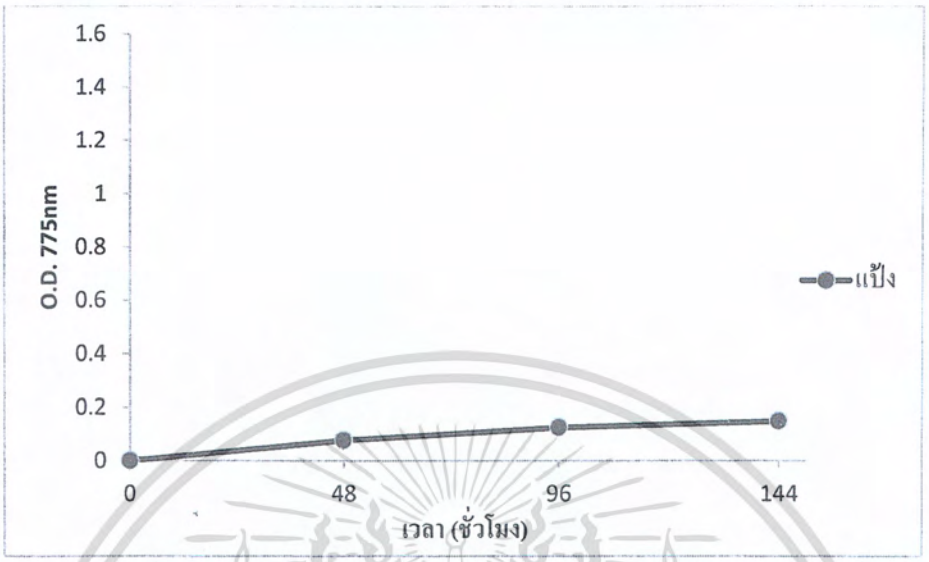
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ในชั่วโมงที่ 48 พบว่า มีการสะสมของปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สูงถึง 0.8600 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อย่อยน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดเป็นน้ำตาลรีดิวส์สำหรับใช้ในการเจริญได้มาก และเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลง เท่ากับ 0.6583 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในปริมาณที่สูงกว่าการสลายน้ำตาลละลายน้ำ จึงทำให้มีค่าลดลง แต่ในชั่วโมงที่ 144 มีการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.8233 กรัมต่อลิตร อาจเนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดน้อยลงจนมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการเจริญจึงมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเพื่อให้น้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด พบว่ามีค่าคงที่ ตลอด 144 ชั่วโมง อาจมีเพิ่มขึ้นหรือลดลงเล็กน้อยในช่วงท้าย เนื่องจากปริมาณการย่อยแป้งเพื่อให้ได้น้ำตาลกับการย่อยน้ำตาลที่มีในระบบให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ที่เชื้อสามารถนำไปใช้ในการเจริญได้มีปริมาณใกล้เคียงกัน จึงทำให้มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดคงที่

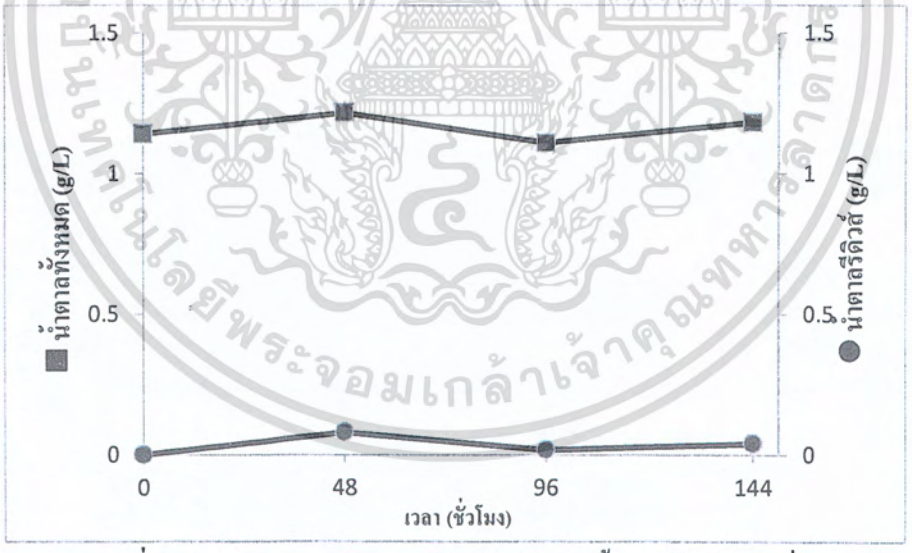
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2 ในอาหารสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง เชื้อนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ในการเจริญเติบโตได้ตามปกติในช่วงแรก แต่เมื่อมีการสะสมของน้ำตาลที่มากขึ้นจนอาจเกิดการยับยั้งการเจริญทำให้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 จนถึงชั่วโมงที่ 96 มีอัตราการเจริญที่คงที่ และมีการนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ในการเจริญได้อีกครั้งในช่วงท้ายในปริมาณที่สูง อัตราการเจริญจึงมีค่าสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลทที่ 5



รูปที่ 4.32 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้ Isolate 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



รูปที่ 4.33 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 เชื้อมีเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอย่างคงที่ จนถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.145 กรัมต่อลิตร

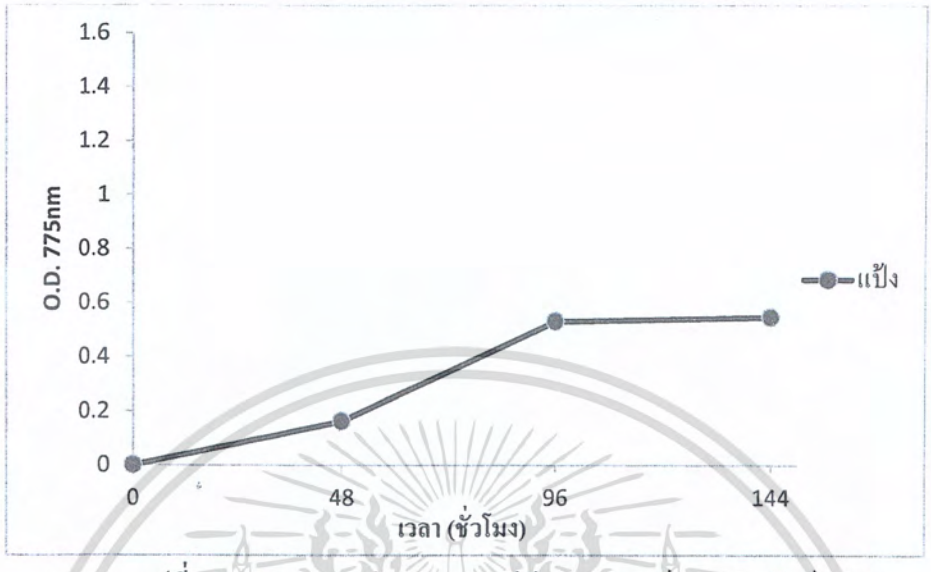
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์น้อยเกือบคงที่ตลอดการทดลอง โดยในชั่วโมงที่ 48 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.079 กรัมต่อลิตร มีปริมาณลดลงเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในชั่วโมง 144 อาจเนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด พบว่ามีค่าเกือบคงที่เช่นเดียวกับน้ำตาลรีดิวส์ โดยในชั่วโมงที่ 48 มีการสะสมของน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้น เท่ากับ 1.217 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณลดลงเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 แต่ในชั่วโมงที่ 144 มีน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย เนื่องจากเชื้อทำการย่อยน้ำตาลในแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์สำหรับไปใช้ในการเจริญเพิ่มขึ้น

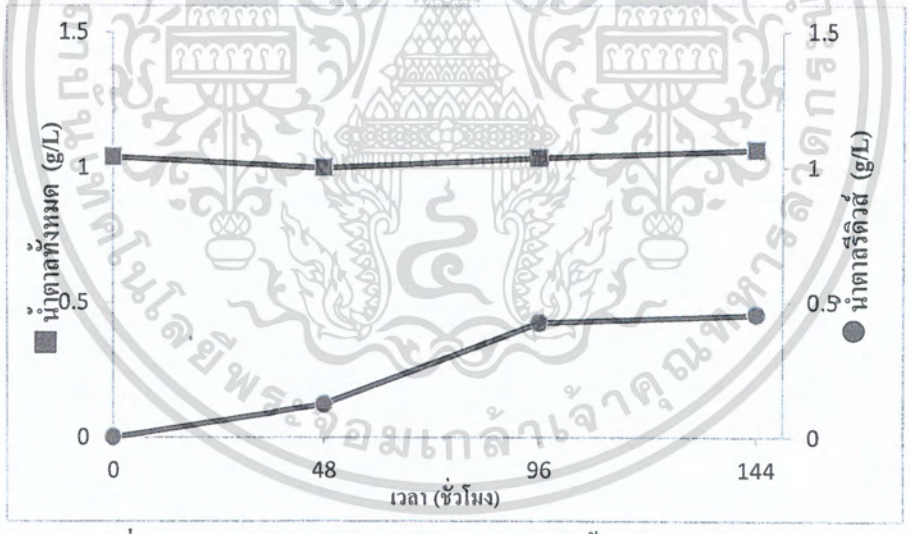
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง ตลอดการทดลองพบว่า การสะสมของน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวส์มีอัตราการย่อยสลายคงที่ ในขณะที่ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอย่างคงที่ อธิบายได้ว่า เชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสที่มีทั้งหมดในระบบมาใช้ได้อย่างต่อเนื่อง แต่ปริมาณน้ำตาลในระบบอาจมีน้อยจนไม่เพียงพอต่อการนำมาใช้ในการเจริญ สังเกตได้จากปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ที่ค่อยๆเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในอัตราที่ไม่สูงมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OS33



รูปที่ 4.34 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



รูปที่ 4.35 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมง ที่ 96 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.530 กรัมต่อลิตรและมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 144

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

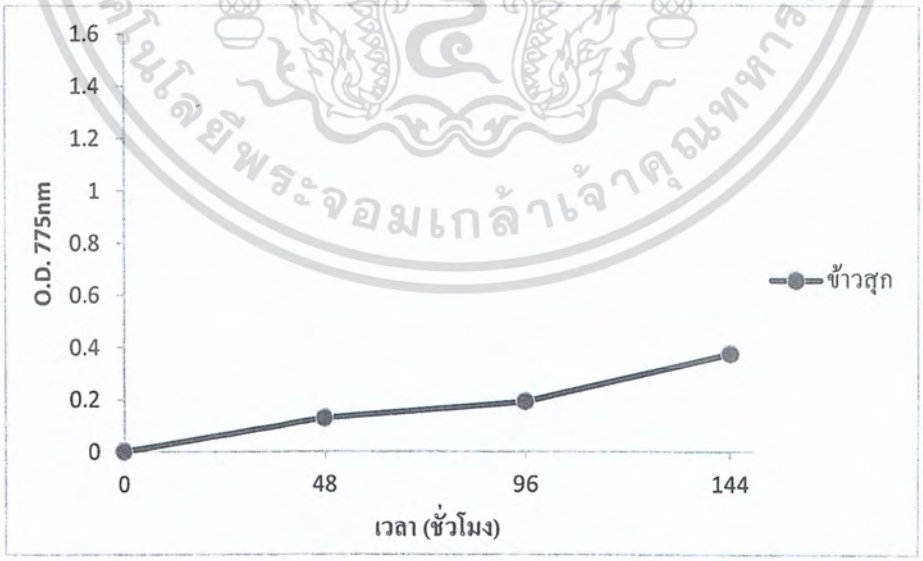
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล มีการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.424 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ในอัตราที่สูงกว่าการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญ และยังคงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์คงที่จนถึงชั่วโมงที่ 144

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด มีปริมาณคงที่ตลอดการทดลอง เนื่องจากเชื้อมีการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดในอัตราที่ใกล้เคียงกับการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ที่เชื้อจะสามารถนำไปใช้ในการเจริญได้

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ก็เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเช่นกัน เมื่อถึงชั่วโมงที่ 96 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เพิ่มสูงขึ้น อาจไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ สังเกตได้จากแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ที่มีปริมาณคงที่เมื่อทำการวิเคราะห์ในชั่วโมงที่ 144

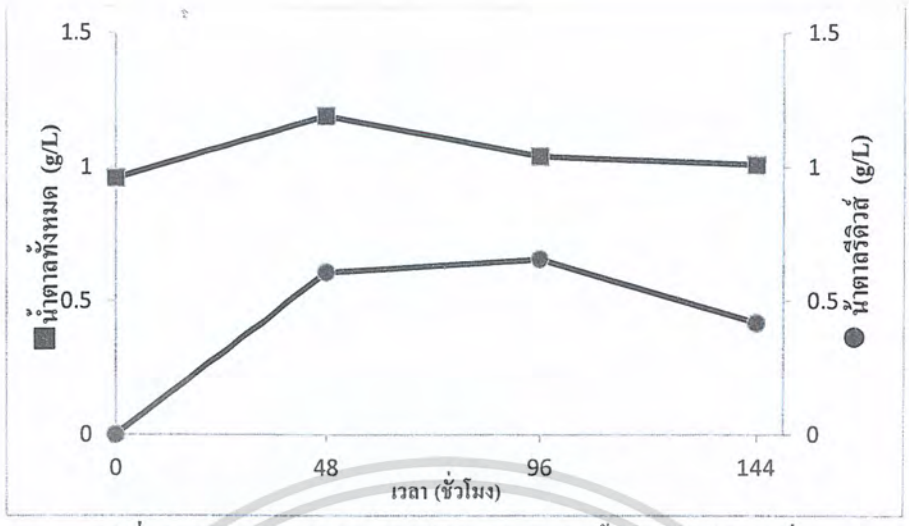
4.4.2.2. อาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก

ไอโซเลทที่ 1



<u>รูปที่ 4.36.</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.35 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อ ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 เชื้อมีเจริญเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.374 กรัมต่อลิตร

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่า ในชั่วโมงที่ 48 มีการสะสมของน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับ 0.607 กรัมต่อลิตร และชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นมาอีกเล็กน้อย เนื่องจากเชื้อมีการย่อยข้าวสุกให้เป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ในชั่วโมงที่ 144 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงเท่ากับ 0.417 กรัมต่อลิตร เนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สะสมที่เพิ่มมากในช่วงแรก เชื้ออาจลดการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ลง แต่ยังคงมีการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้อย่างต่อเนื่อง จึงทำให้มีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัด

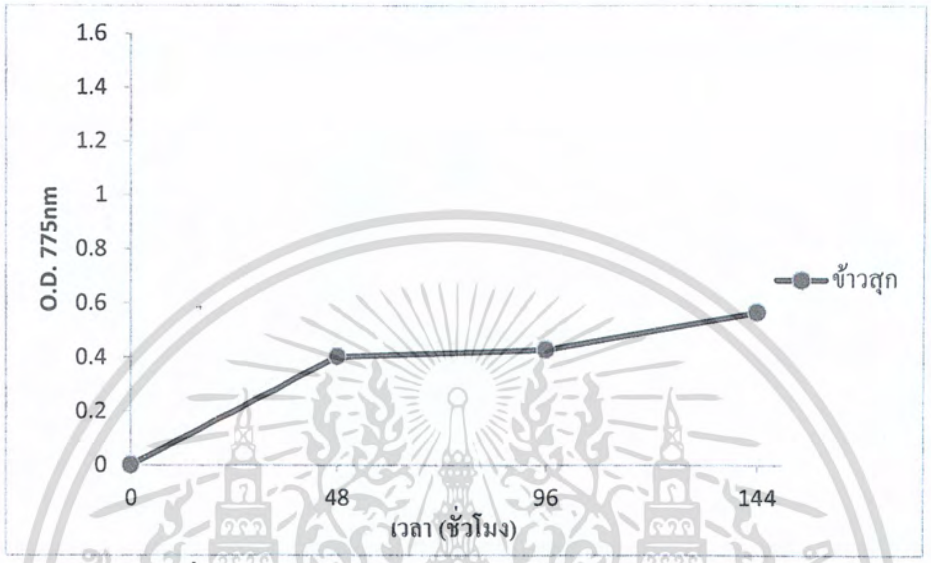
สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด พบว่าในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้นถึง 1.192 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยข้าวสุก เป็นน้ำตาลละลายน้ำ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 48 ถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำเท่ากับ 1.008 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด เป็นน้ำตาลรีดิวส์ในอัตราที่สูงขึ้น

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 1 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศไร้แสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 48 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เพิ่มสูงขึ้นอาจไปยับยั้งการเจริญของ

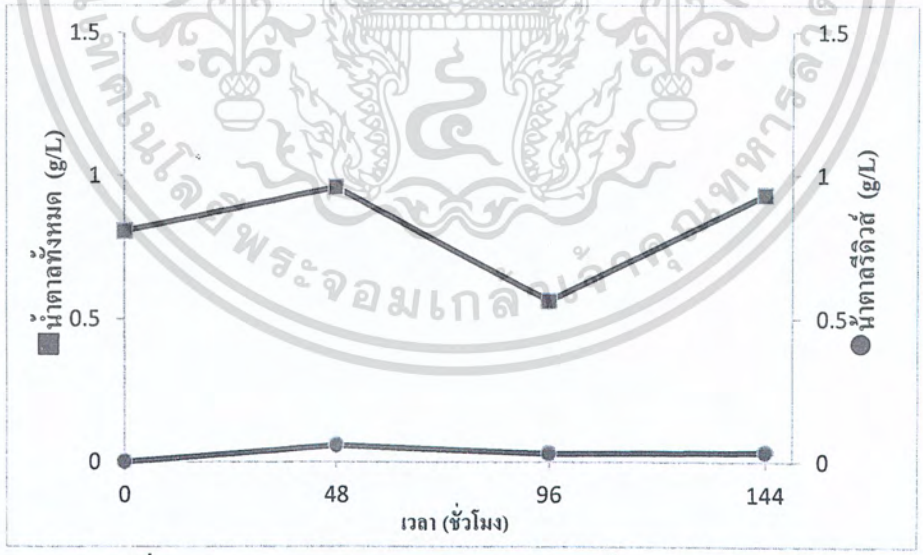
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ ทำให้มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ค่อนข้างต่ำ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 48 พบว่าปริมาณน้ำตาลละลายน้ำมีค่าลดลงและมีการใช้น้ำตาลกลูโคสสำหรับการเจริญเพิ่มขึ้น ทำให้ในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น

ไอโซเลทที่ 2



รูปที่ 4.36 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



รูปที่ 4.37 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อ ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เท่ากับ 0.401 กรัมต่อลิตร เนื่องจากในช่วงแรกเชื้อสามารถนำน้ำตาลมาใช้ได้ตามปกติ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีปริมาณคงที่ จนถึงชั่วโมงที่ 96 อาจเนื่องจากเกิดการยับยั้งการเจริญ และมีปริมาณเพิ่มขึ้นอีกครั้งในชั่วโมงที่ 144 คือเท่ากับ 0.565 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อสามารถนำน้ำตาลรีดิวส์มาใช้ได้ตามปกติอีกครั้ง

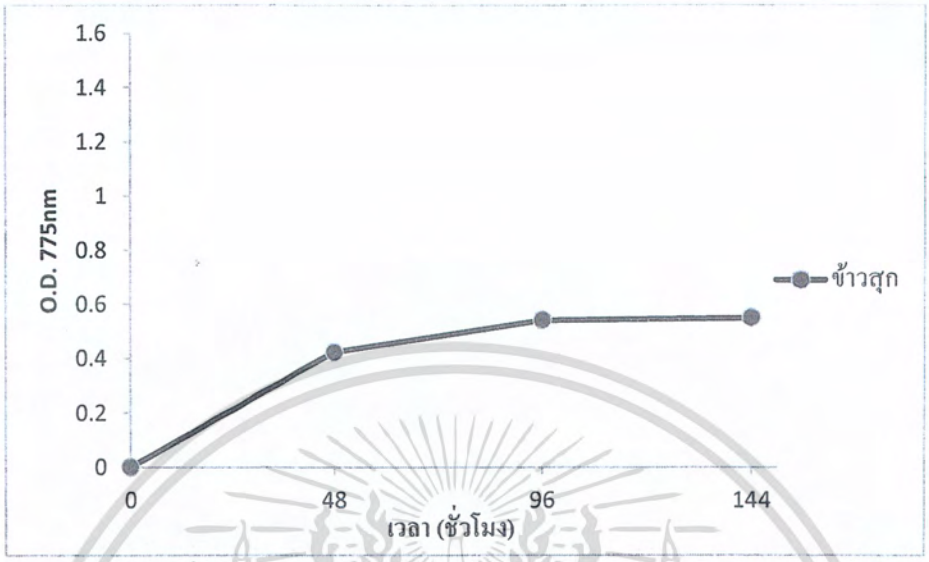
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.058 กรัมต่อลิตรเนื่องจากเชื้อย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิว์สำหรับนำไปใช้ในการเจริญ และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 144 เนื่องจากเชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ได้ตามปกติ

สำหรับปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด พบว่ามีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.958 กรัมต่อลิตร เนื่องจากมีการย่อยข้าวสุกให้ได้เป็นน้ำตาลละลายน้ำในปริมาณที่สูง เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 86 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงอย่างเห็นได้ชัด คือเท่ากับ 0.562 กรัมต่อลิตา อาจเนื่องจากปริมาณน้ำตาลละลายน้ำที่สะสมมากเกินไปในช่วงแรก ทำให้เชื้อหยุดการย่อยข้าวสุกให้ได้เป็นน้ำตาลละลาย้ำ ในขณะที่ยังคงมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์อย่างต่อเนื่อง แต่เนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ลดลงจนอาจไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการเจริญ เชื้อจึงทำการย่อยข้าวสุกให้ได้น้ำตาลละลายน้ำในปริมาณที่สูงขึ้น เพื่อให้เพียงพอต่อการนำไปใช้ โดยในชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมด เท่ากับ 0.931 กรัมต่อลิตร

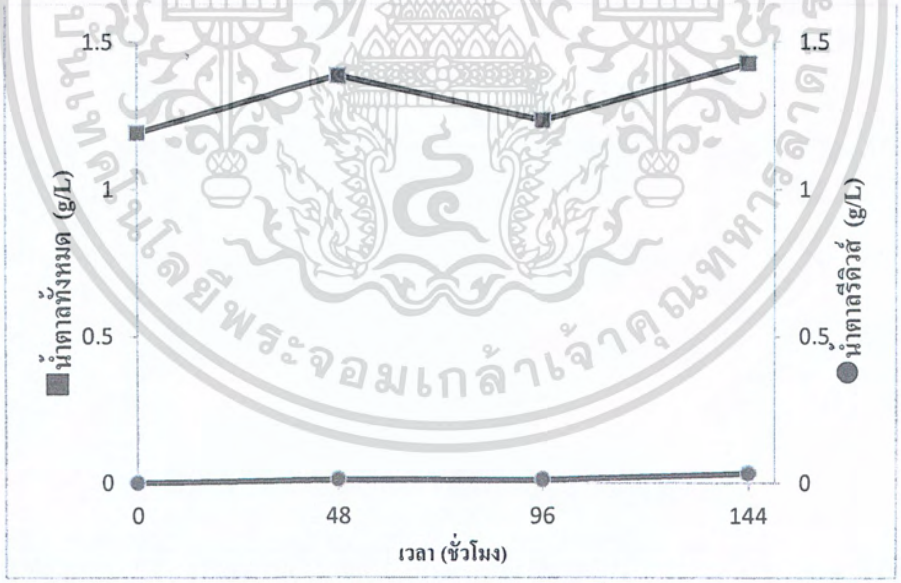
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 2 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศไร้แสง ตั้งแต่ชั่วโมงที 0 ถึงชั่วโมงที่ 48 เชื้อนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ในการเจริญได้ตามปกติ แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์คงที่ อาจอธิบายได้ว่าปริมาณน้ำตาลละลายน้ำที่น้อยเกินไปจนไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการเจริญ ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญ ในชั่วโมงที่ 144 พบว่าเชื้อสามารถสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นได้ครั้ง เนื่องจาก เชื้อมีการย่อยข้าวสุกจนได้น้ำตาลละลายน้ำในปริมาณที่มากเพียงพอต่อการเจริญต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลทที่ 5



<u>รูปที่ 4.38</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



<u>รูปที่ 4.39</u> แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 0.423 กรัมต่อลิตร เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 0.542 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 142

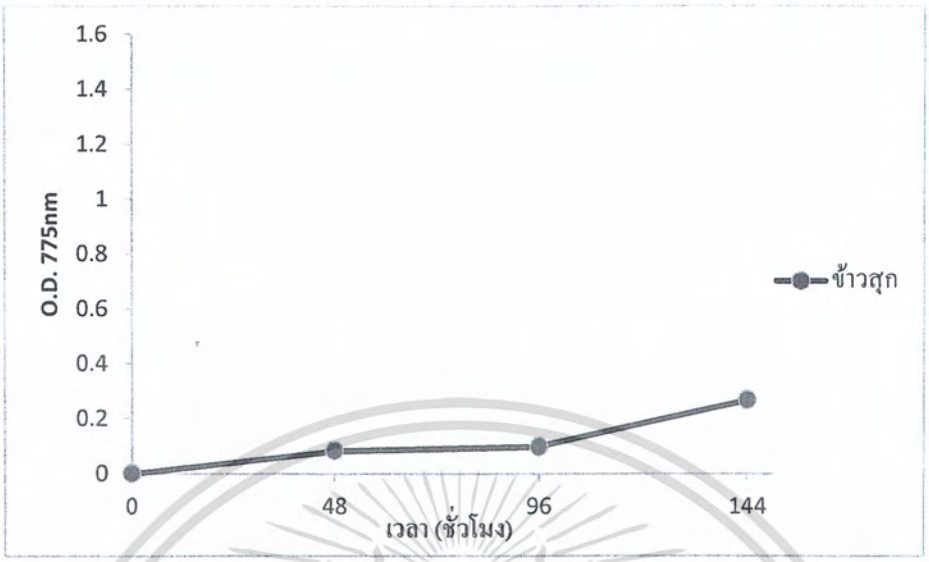
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่าตลอดการวิเคราะห์มีน้ำตาลรีดิวส์ในปริมาณน้อยและมีปริมาณค่อนข้างคงที่ โดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณลดลงเล็กน้อยเท่ากับ 0.012 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญ หรือกล่าวได้ว่ามีอัตราการนำน้ำตาลไปใช้สูงกว่าอัตราการย่อยน้ำตาลในข้าวสุกให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ และในชั่วโมงที่ 144 มีน้ำตาลรีดิวส์ในปริมาณเพิ่มขึ้นเนื่องจากเชื้อย่อยน้ำตาลที่ละลายน้ำให้กลายเป็นน้ำตาลรีดิวส์มากขึ้นเพื่อให้น้ำตาลรีดิวส์มีปริมาณเพียงพอที่เชื้อจะนำไปใช้ในการเจริญได้

สำหรับปริมาณน้ำตาลที่ละลายทั้งหมด ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นเนื่องจากเชื้อย่อยข้าวสุก เพื่อให้ได้น้ำตาลละลายน้ำมากขึ้น และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำลดลง เนื่องจากเชื้อย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่เชื้อสามารถนำไปใช้ได้ แต่ในชั่วโมงที่ 144 พบว่าปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นอีกครั้งอาจเนื่องจากน้ำตาลรีดิวส์ไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการเจริญเติบโตจึงทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลละลายน้ำเพิ่มขึ้น

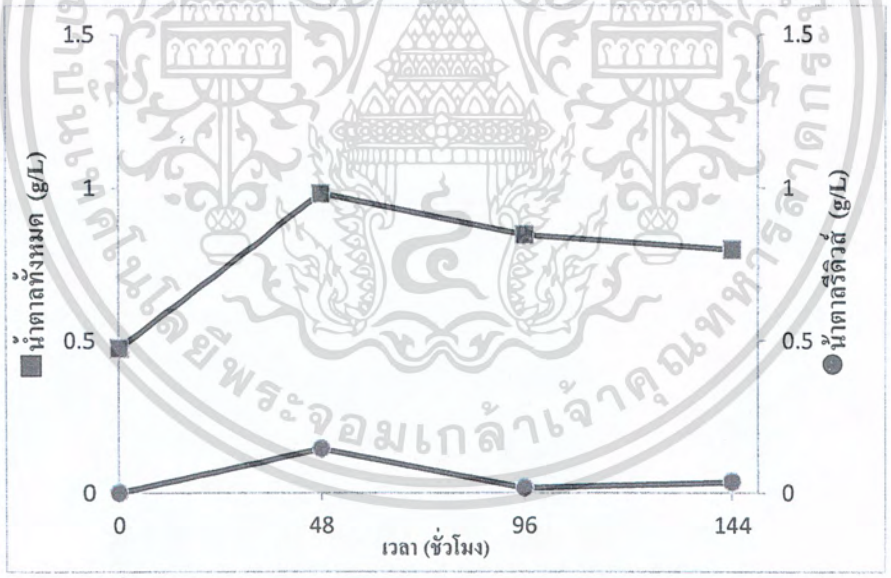
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 5 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศไร้แสง ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มีค่าน้อยคงที่ แต่ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ที่สูงมีปริมาณเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 96 และมีปริมาณคงที่ ในชั่วโมงที่ 144 อาจอธิบายได้ว่าเชื้อใช้น้ำตาลที่มีในข้าวสุกเพื่อการเจริญอย่างเต็มที่ในช่วงแรก และเมื่อเวลาผ่านไป น้ำตาลในข้าวสุกมีปริมาณลดลงทำให้อัตราการย่อยน้ำตาลทั้งหมดให้ได้เป็นน้ำตาลรีดิวส์มีค่าน้อยลง จนไม่เพียงพอที่เชื้อจะเจริญต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OS33



รูปที่ 4.40 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



รูปที่ 4.41 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณแบคเทอริโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.081 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.266 กรัมต่อลิตร

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่าในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.144 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อทำการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์เพื่อใช้ในการเจริญ เมื่อถึงชั่วโมงที่ 96 ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับ 0.016 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้สำหรับการเจริญ และอาจมีอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวส์ต่ำกว่าอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ ทำให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลง แต่ในชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นมาอีกเล็กน้อย อาจเนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ลดลงอาจไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ เชื้อจึงย่อยน้ำตาลละลายน้ำเพื่อให้ได้เป็นน้ำตาลรีดิวส์เพิ่ม

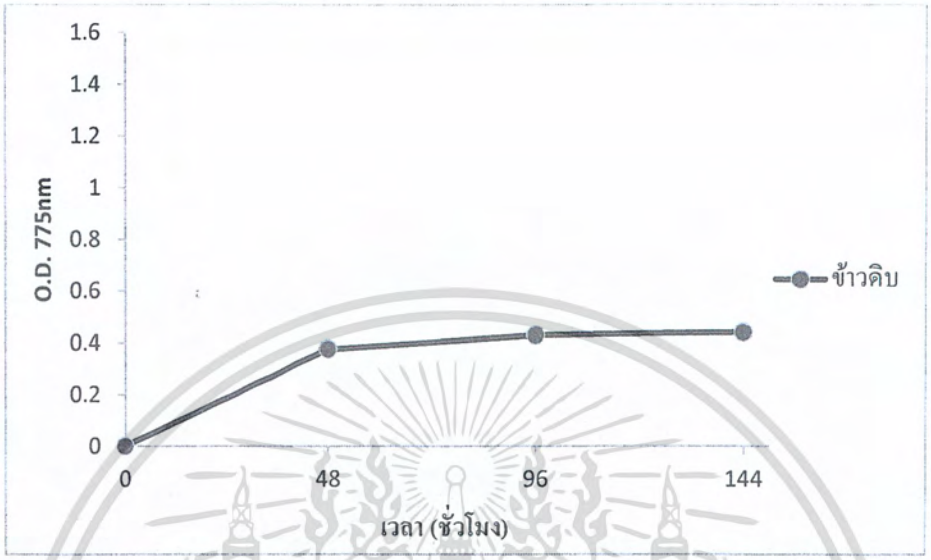
สำหรับปริมาณน้ำตาลที่ละลายทั้งหมด พบว่ามีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นสูงมากในชั่วโมงที่ 48 เนื่องจากเชื้อทำการย่อยข้าวสุกให้ได้เป็นน้ำตาลละลายน้ำสำหรับใช้ในการเจริญต่อไป โดยเท่ากับ 0.982 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่องในชั่วโมงที่ 96 และ 144 อธิบายได้ว่าเชื้อย่อยน้ำตาลละลายน้ำเพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวส์อย่างต่อเนื่อง

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึง 96 พบว่ามีการสร้างแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในปริมาณน้อย อาจเนื่องจากปริมาณน้ำตาลที่สะสมมากในช่วงแรก อาจไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ แต่เมื่อเชื้อหยุดการย่อยน้ำตาลเพิ่ม ก็เริ่มนำน้ำตาลมาใช้ในการเจริญได้ตามปกติในชั่วโมงที่ 144

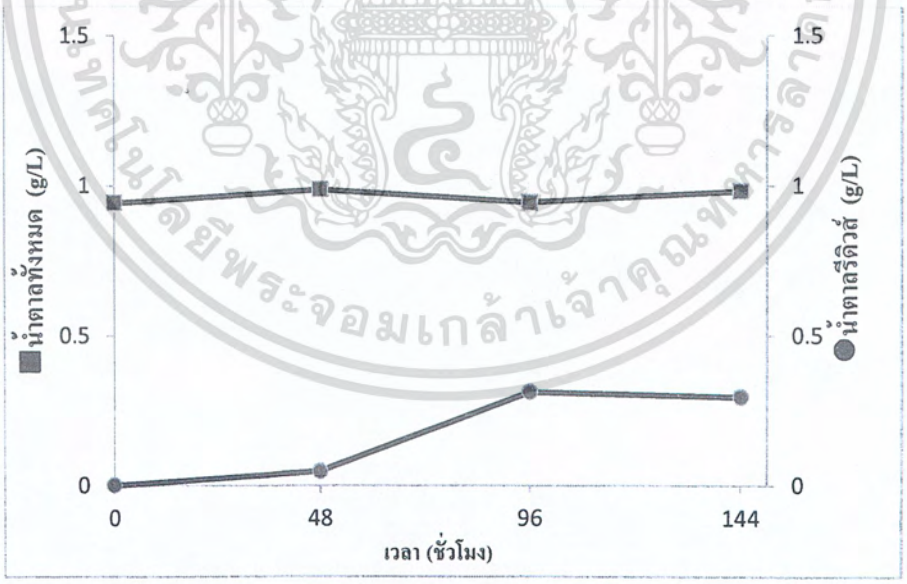
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.3 อาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ

ไอโซเลทที่ 1



รูปที่ 4.42 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



รูปที่ 4.43 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อ ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.375 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณเกือบคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 144

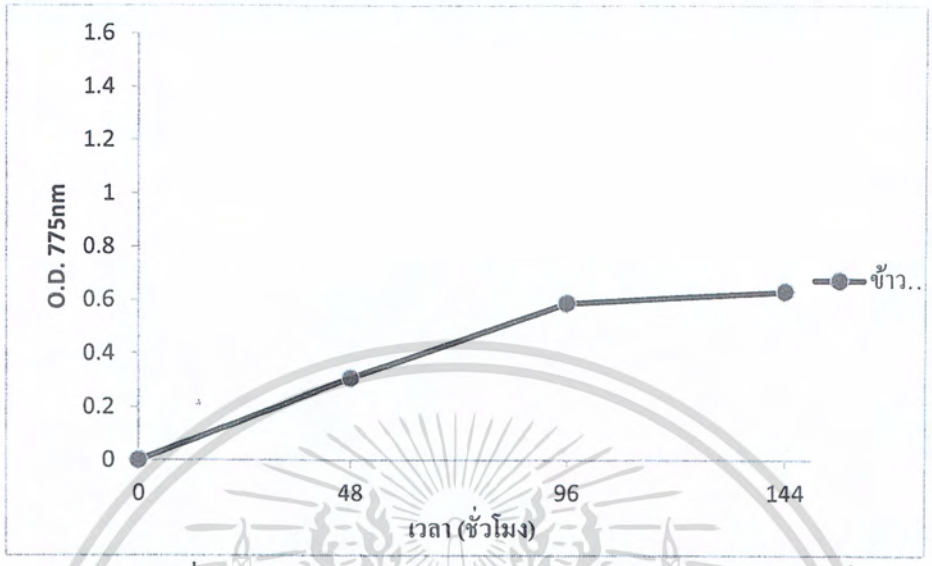
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่า ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณรีดิวส์เพิ่มขึ้นในปริมาณน้อย เท่ากับ 0.047 กรัมต่อลิตร เนื่องจากอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์มีค่าใกล้เคียงกับอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญ แต่เมื่อถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มสูงถึง 0.312 กรัมต่อลิตร เนื่องจากมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ในอัตราที่สูงขึ้น จึงมีการสะสมของน้ำตาลมากขึ้น และในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงเล็กน้อย เนื่องจากเชื้อนำไปใช้ในการเจริญ

สำหรับปริมาณน้ำตาลที่ละลายทั้งหมด พบว่ามีปริมาณเกือบคงที่ตลอดการทดลอง โดยเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย เนื่องจากเชื้อมีการย่อยข้าวดิบเป็นน้ำตาลในอัตราที่ใกล้เคียงกับอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์

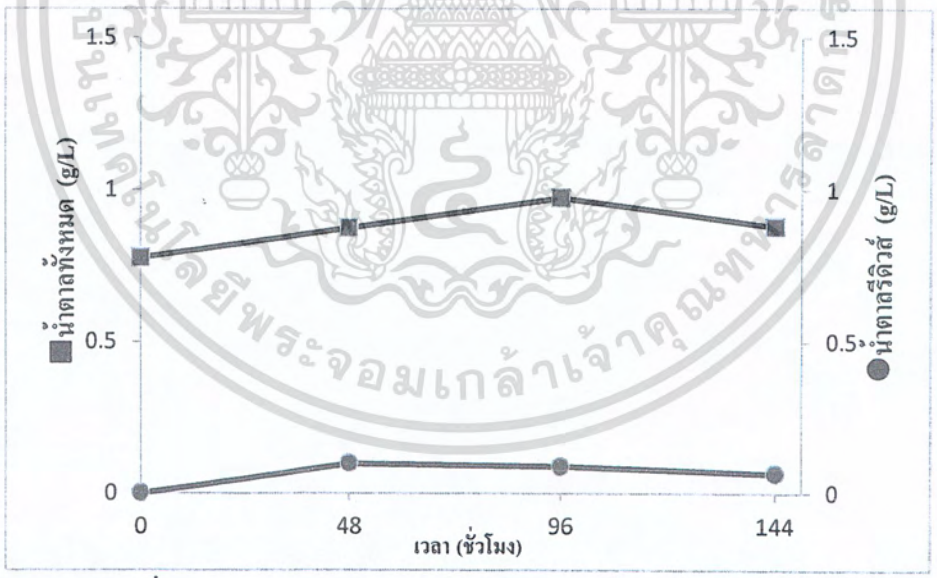
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ ไอโซเลทที่ 1 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์และน้ำตาลรีดิวส์ที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 48 อธิบายได้ว่าเชื้อนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ในการเจริญตามปกติ แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 และ 144 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่สะสมอาจไปยับยั้งการเจริญ ทำให้มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เกือบคงที่โดยค่อยๆเพิ่มขึ้นมาเล็กน้อย สังเกตจากปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ลดลงเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 144

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลทที่ 2



รูปที่ 4.44 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



รูปที่ 4.45 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อ ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่าเชื้อมีการเจริญเจริญอย่างต่อเนื่อง สังเกตได้จากปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.632 กรัมต่อลิตร

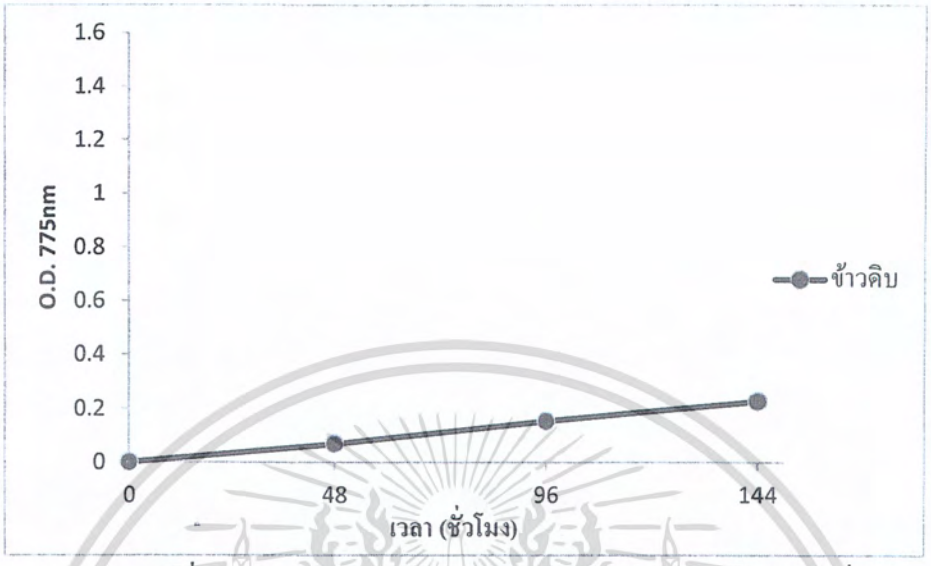
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ในชั่วโมงที่ 48 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เท่ากับ 0.097 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์สำหรับใช้ในการเจริญ และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงเรื่อยๆ จนถึงชั่วโมงที่ 144 คือเท่ากับ 0.064 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้อย่างต่อเนื่อง

สำหรับปริมาณน้ำตาลที่ละลายทั้งหมด พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 0.975 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยข้าวดิบให้ได้เป็นน้ำตาลละลายน้ำ โดยอัตราการย่อยข้าวดิบเป็นน้ำตาลมีค่าสูงกว่าอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์ และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลลดลงเท่ากับ 0.880 กรัมต่อลิตรเนื่องจากเชื้อย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์

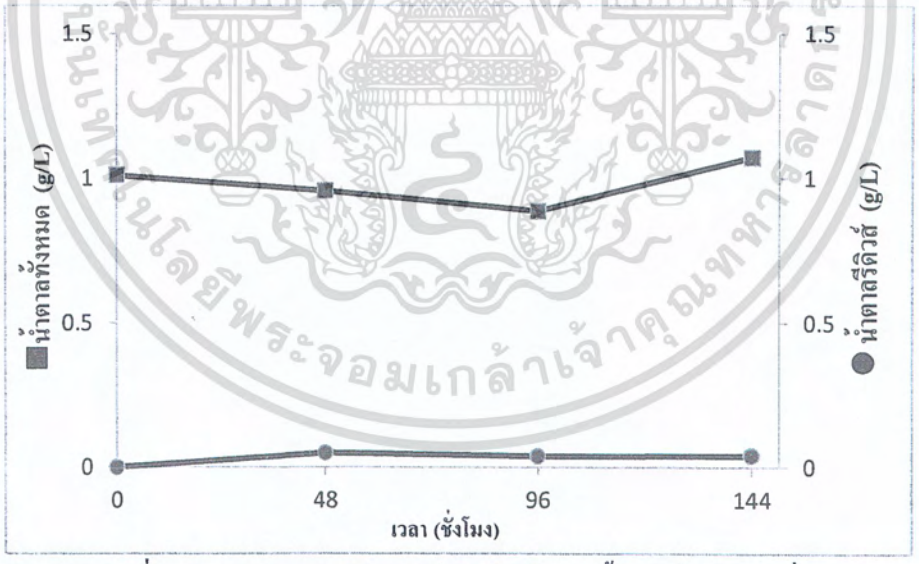
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ ไอโซเลทที่ 2 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศไร้แสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ที่สูงขึ้นเนื่องจากเชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสไปใช้สำหรับการเจริญได้ตามปกติ แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 144 พบว่าแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีปริมาณลดลง อาจอธิบายได้ว่าปริมาณน้ำตาลที่ลดลงอาจไม่เพียงพอให้เชื้อนำมาใช้ในการเจริญได้เต็มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลทที่ 5



<u>รูปที่ 4.46</u> แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลทที่ 5 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



<u>รูปที่ 4.47</u> แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเจริญของเชื้อ ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่าเชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่องตลอดการทดลอง โดยในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.227 กรัมต่อลิตร

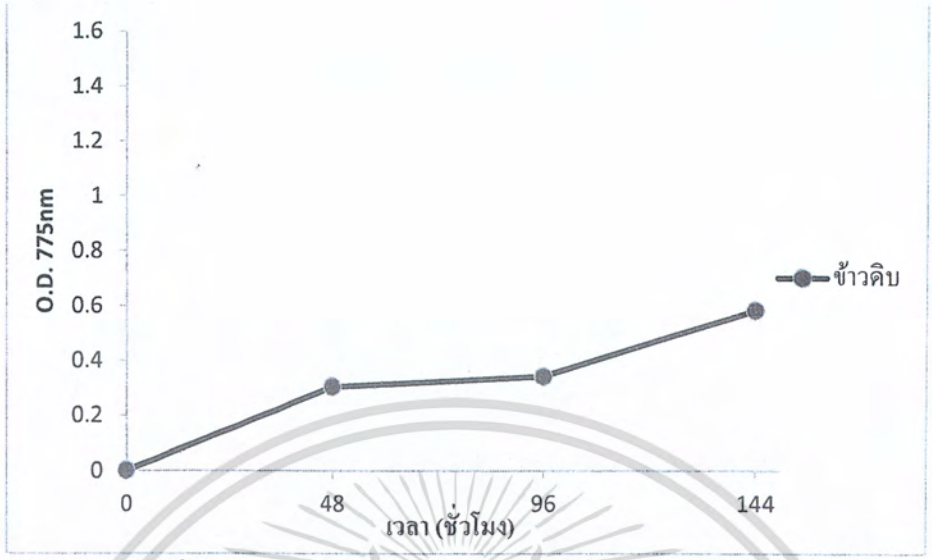
เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล พบว่ามีการสะสมของปริมาณน้ำตาลรีดิวส์น้อยเกือบคงที่ โดยในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.050 กรัมต่อลิตร เนื่องจากอัตราการย่อยน้ำตาลละลายน้ำเป็นน้ำตาลรีดิวส์มีค่าน้อยกว่าอัตราการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงเล็กน้อยและคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 144

สำหรับปริมาณน้ำตาลที่ละลายทั้งหมด ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำลดลงอย่างต่อเนื่องโดยในชั่วโมงที่ 96 มีปริมาณเท่ากับ 0.887 กรัมต่อลิตร เนื่องจากมีการนำน้ำตาลละลายน้ำมาย่อยเป็นน้ำตาลรีดิวส์เพื่อใช้ในการเจริญ และเมื่อปริมาณน้ำตาลลดลงจนอาจไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ เชื้อจึงย่อยข้าวดิบเพื่อให้ได้น้ำตาลละลายน้ำในปริมาณที่สูงขึ้น

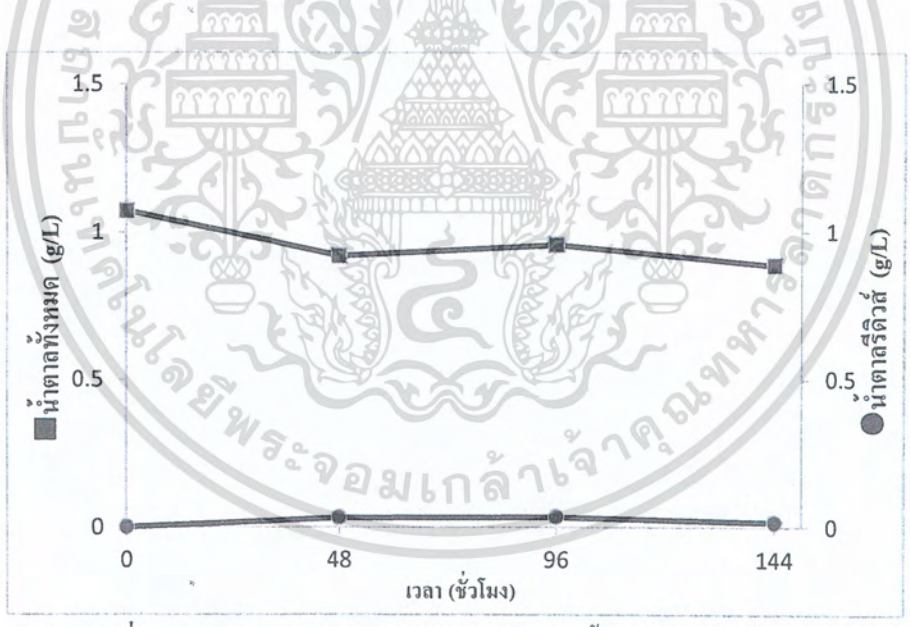
สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ ไอโซเลทที่ 5 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศไร้แสง เชื้อสามารถนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ในการเจริญได้ตามปกติ โดยปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่มีระบบอาจมีน้อยจนไม่เพียงพอให้เชื้อนำมาใช้ในการเจริญได้อย่างเต็มที่จึงทำให้มีอัตราการเจริญที่ค่อนข้างต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OS33



รูปที่ 4.48 แสดงการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ OS33 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ



รูปที่ 4.49 แสดงผลการวิเคราะห์การวัดปริมาณน้ำตาล สายพันธุ์ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

สำหรับการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณแบคเทอริโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.303 กรัมต่อลิตรและมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 และมีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 0.581 กรัมต่อลิตร

เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ตลอดการทดลองพบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์น้อยเกือบคงที่ โดยในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.032 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์สำหรับใช้ในการเจริญ และมีปริมาณลดลงเมื่อเข้าถึงชั่วโมงที่ 144 เนื่องจากเชื้อมีการนำน้ำตาลรีดิวส์ไปใช้ในการเจริญ

สำหรับปริมาณน้ำตาลที่ละลายทั้งหมด ในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงเท่ากับ 0.920 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำให้เป็นน้ำตาลรีดิวส์ในอัตราที่สูง และเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย อาจเนื่องจากปริมาณน้ำตาลที่ลดลงในช่วงแรก อาจไม่เพียงพอสำหรับใช้ในการเจริญ และในชั่วโมงที่ 144 มีปริมาณน้ำตาลลดลงอีกครั้ง เนื่องจากเชื้อมีการย่อยน้ำตาลละลายน้ำ เป็นน้ำตาลรีดิวส์อีกครั้ง

สรุปได้ว่าการเจริญของเชื้อ OS33 ในอาหารสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ในสภาวะการบ่มแบบมีอากาศ ไร้แสง พบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 48 แต่มีปริมาณคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 อธิบายได้ว่าปริมาณน้ำตาลที่ลดลงมากในช่วงแรกอาจไม่เพียงพอที่เชื้อนำมาใช้ในการเจริญได้อย่างเต็มที่ เมื่อเชื้อทำการย่อยแป้งดิบเพื่อให้มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้น จึงพบว่ามีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 144

ผลการทดลองความสามารถในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลทที่ 1 2 และ 5 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ OS33 ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ

จากการทดลองเพื่อทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลทที่ 1 2 และ 5 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ OS33 ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ ด้วยอาหารสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ต่างชนิดกัน คือ แป้ง ข้าวสุก และข้าวดิบ ในอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 1 ต่อ 1 เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง เชื้อที่สามารถเจริญได้ดีที่สุดคือ เชื้อไอโซเลทที่ 2 โดยมีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 1.037

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เชื้อไอโซเลทที่ 1 และเชื้อสายพันธุ์ OS33 เนื่องจากมีความสามารถในการเจริญและย่อยแป้งได้ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ เชื้อไอโซเลทที่ 5 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ต่ำที่สุด คือ 0.149 กรัมต่อลิตร

ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เชื้อไอโซเลทที่ 2 และ 5 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 144 สูงสุดพอๆกัน คือ 0.565 และ 0.550 ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อ ไอโซเลทที่ 1 และ เชื้อสายพันธุ์ OS33

สำหรับในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ พบว่า เชื้อไอโซเลทที่ 2 มีความสามารถในการย่อยและเจริญในข้าวดิบ ดีกว่าเชื้อสายพันธุ์ OS33 เล็กน้อย โดยเชื้อไอโซเลที่ 2 และเชื้อสายพันธุ์ OS33 มีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 144 คือ 0.632 และ 0.581 ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อไอโซเลทที่ 1 และ 5

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 3 ชนิด ภายใต้การสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบมีอากาศ พบว่า เชื้อสามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอน เป็น แป้ง ข้าวสุก และข้าวดิบ ได้ใกล้เคียงกัน แต่อาหารเหลวที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าเชื้อไอโซเลทที่ 2 ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์สูงที่สุด

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงใน 2 สภาวะ คือ มีอากาศและไร้อากาศ พบว่า ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศเชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุด

4.5 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส

เมื่อนำตัวอย่างเชื้อมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยนำส่วนใสที่ได้และสารละลายน้ำแป้ง 1 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาทำการทดสอบกับสารละลายไอโอดีน 1 ml เพื่อหากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยการนำไปทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 40 , 60 และ 80 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 2 ชั่วโมง โดยเวลาที่ทำการทดสอบ คือ 0 , 5 , 10 , 15 , 30 , 60 และ 120 นาทีตามลำดับ หลังจากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 542 นาโนเมตร แล้วคิดหาเปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่ลดลง 50% จึงทำการยุติกิจกรรมของเอนไซม์ แล้วบันทึกระยะเวลาที่ทำการทดลองตามอุณหภูมิที่กำหนด ได้ผลการทดลองดังนี้

นำน้ำแป้ง 1% มาทำการสอบกับสารละลายไอโอดีน 1 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 542 นาโนเมตร คิดเป็น 100%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

O.D.	dilute	O.D. x dilution factor	คิดเป็น %
0.825	4	3.3	100

4.5.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง

4.5.1.1 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

<u>ตารางที่ 4.3.</u> แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่ง คาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.805	4	3.22	97.58
	5	0.803	4	3.21	97.33
	10	0.724	4	2.90	87.76
	15	0.638	3	1.91	58.00
	30	0.754	2	1.51	45.70
isolate2	0	0.801	4	3.20	97.09
	5	0.782	4	3.13	94.79
	10	0.647	3	1.94	58.82
	15	0.821	2	1.64	49.76
isolate5	0	0.784	3	2.35	71.27
	5	0.627	3	1.88	57.00
	10	0.602	3	1.81	54.73
	15	0.814	2	1.63	49.33
OS33	0	0.823	4	3.29	99.76
	5	0.738	4	2.95	89.45
	10	0.634	3	1.90	57.64
	15	0.699	2	1.40	42.36

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 มีปฏิกิริยาลดลง 50% ในเวลา 30 นาที ส่วน Isolate 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.1.2 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.803	4	3.21	97.33
	5	0.732	4	2.93	88.73
	10	0.647	3	1.94	58.82
	15	0.659	2	1.32	39.94
isolate2	0	0.799	4	3.20	96.85
	5	0.676	3	2.03	61.45
	10	0.734	2	1.47	44.48
isolate5	0	0.782	3	2.35	71.09
	5	0.716	3	2.15	65.09
	10	0.674	2	1.35	40.85
OS33	0	0.815	4	3.26	98.79
	5	0.643	3	1.93	58.45
	10	0.692	2	1.38	41.94

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 มีปฏิกิริยาลดลง 50% ในเวลา 15 นาที ส่วน Isolate 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 10 นาที

4.5.1.3 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.806	4	3.22	97.70
	5	0.754	3	2.26	68.55
	10	0.876	2	1.75	53.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน

isolate2	0	0.802	4	3.21	97.21
	5	0.765	2	1.53	46.36
isolate5	0	0.786	3	2.36	71.45
	5	0.738	2	1.48	44.73
OS33	0	0.819	4	3.28	99.27
	5	0.701	2	1.40	42.48

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 มีปฏิกิริยาลดลง 50% ในเวลา 10 นาที ส่วน Isolate 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 5 นาที

4.5.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวสุก

4.5.2.1 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.6. แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.724	3	2.17	65.82
	5	0.664	3	1.99	60.36
	10	0.654	3	1.96	59.45
	15	0.702	2	1.40	42.55
isolate2	0	0.713	3	2.14	64.82
	5	0.625	3	1.88	56.82
	10	0.618	3	1.85	56.18
	15	0.721	2	1.44	43.70
isolate5	0	0.689	3	2.07	62.64
	5	0.674	3	2.02	61.27
	10	0.845	2	1.69	51.21
	15	0.768	2	1.54	46.55
OS33	0	0.721	3	2.16	65.55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6.(ต่อ) แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

	5	0.63	3	1.89	57.27
	10	0.621	3	1.86	56.45
	15	0.702	2	1.40	42.55

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 , 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 15 นาที

4.5.2.2 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.726	3	2.18	66.00
	5	0.632	3	1.90	57.45
	10	0.621	3	1.86	56.45
	15	0.724	2	1.45	43.88
isolate2	0	0.714	3	2.14	64.91
	5	0.648	3	1.94	58.91
	10	0.672	2	1.34	40.73
isolate5	0	0.7	3	2.10	63.64
	5	0.648	3	1.94	58.91
	10	0.721	2	1.44	43.70
OS33	0	0.725	3	2.18	65.91
	5	0.634	3	1.90	57.64
	10	0.78	2	1.56	47.27

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 มีปฏิกิริยาลดลง 50% ในเวลา 15 นาที ส่วน Isolate 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2.3 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.72	3	2.16	65.45
	5	0.577	3	1.73	52.45
	10	0.6	2	1.20	36.36
isolate2	0	0.721	3	2.16	65.55
	5	0.797	2	1.59	48.30
isolate5	0	0.687	3	2.06	62.45
	5	0.551	3	1.65	50.09
OS33	0	0.723	3	2.17	65.73
	5	0.734	2	1.47	44.48

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวสุกเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 มีปฏิกิริยาลดลง 50% ในเวลา 10 นาที ส่วน Isolate 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 5 นาที

4.5.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นข้าวดิบ

4.5.3.1 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.808	3	2.42	73.45
	5	0.783	3	2.35	71.18
	10	0.762	3	2.29	69.27
	15	0.752	3	2.26	68.36
	30	0.72	2	1.44	43.64
isolate2	0	0.732	3	2.20	66.55
	5	0.717	3	2.15	65.18
	10	0.645	3	1.94	58.64
	15	0.738	2	1.48	44.73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 (ต่อ) แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate5	0	0.638	3	1.91	58.00
	5	0.623	3	1.87	56.64
	10	0.603	3	1.81	54.82
	15	0.645	2	1.29	39.09
OS33	0	0.801	3	2.40	72.82
	5	0.784	3	2.35	71.27
	10	0.648	3	1.94	58.91
	15	0.755	2	1.51	45.76

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 มีปฏิกิริยาลดลง 50% ในเวลา 30 นาที ส่วน Isolate 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 15 นาที

4.5.3.2 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.10 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.804	3	2.41	73.09
	5	0.787	3	2.36	71.55
	10	0.629	3	1.89	57.18
	15	0.738	2	1.48	44.73
isolate2	0	0.734	3	2.20	66.73
	5	0.653	3	1.96	59.36
	10	0.721	2	1.44	43.70
isolate5	0	0.632	3	1.90	57.45
	5	0.598	3	1.79	54.36
	10	0.754	2	1.51	45.70
OS33	0	0.804	3	2.41	73.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
	5	0.726	3	2.18	66.00
	10	0.708	2	1.42	42.91

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 มีปฏิกิริยาลดลง 50% ในเวลา 15 นาที ส่วน Isolate 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 10 นาที

4.5.3.3 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดลองที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน

เชื้อ	เวลา	O.D.	dilution	O.D. x dilution factor	คิดเป็น%
isolate1	0	0.805	3	2.42	73.18
	5	0.595	3	1.79	54.09
	10	0.806	2	1.61	48.85
isolate2	0	0.742	3	2.23	67.45
	5	0.825	2	1.65	50.00
isolate5	0	0.624	3	1.87	56.73
	5	0.705	2	1.41	42.73
OS33	0	0.798	3	2.39	72.55
	5	0.718	2	1.44	43.52

เมื่อทำการทดลองการหากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ที่มีข้าวดิบเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า Isolate 1 มีปฏิกิริยาลดลง 50% ในเวลา 10 นาที ส่วน Isolate 2 , 5 และ OS33 มีปฏิกิริยาลดลง 50 % ในเวลา 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันที่ได้จากแหล่งน้ำบริเวณรอบๆสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถันสายพันธุ์ OS33 ที่ได้รับจากกลุ่มโครงงานพิเศษ ปีการศึกษา 2553 เรื่อง "การผลิตเซลล์ไฟฟ้าทางชีวภาพโดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่างแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและ *Saccharomyces cerevisiae*" เมื่อนำมาเลี้ยงบนจานอาหารแข็ง Omerod พีเอช 6.8 ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และมีแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมตนั้น สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ 8 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลทที่ 1 2 3 4 5 6 7 8 และ OS33

เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยศึกษาลักษณะโคโลนี พบว่า เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถัน ทั้ง 8 ไอโซเลท ที่คัดแยกได้นั้น โคโลนีของเชื้อมีลักษณะกลม โค้งนูน ขอบเรียบ หรือ หยัก พื้นผิวโคโลนีมันวาว หรือ ด้าน โคโลนีมีสีแดง แดงอมชมพู ส้ม หรือ น้ำตาล เมื่อนำมาศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อติดสีแดงแกรมลบทั้งหมด เซลล์มีรูปร่างกลม หรือ ท่อน ต่อกันเป็นสายสั้นๆ และเชื้อส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้

เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงไม่สะสมกำมะถัน ทั้ง 8 ไอโซเลท ที่คัดแยกได้เมื่อศึกษาความสามารถในการย่อยแป้ง โดยการเพาะเลี้ยงบนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง โดยมีแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต พบว่า เมื่อทดสอบความสามารถในการย่อยแป้งด้วยสารละลายไอโอดีนบนจานอาหารแข็งสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้ง เชื้อไอโซเลทที่ 1 2 5 สามารถย่อยแป้งได้ดี และเชื้อ OS33 เห็นบริเวณใสที่เชื้อทำการย่อยแป้งออกมารอบๆเชื้อ

เมื่อนำเชื้อไอโซเลทที่ 1 2 5 และ OS33 มาศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งในอาหารเหลวสูตร A ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดต่างๆ ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง ข้าวสุก และข้าวดิบ โดยมีแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต ในสภาวะไร้อากาศและในสภาวะที่มีอากาศ เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า ในสภาวะที่มีอากาศ ไม่ใช้แสง ไอโซเลทที่ 2 สามารถเจริญได้ดีกว่าในทุกแหล่งคาร์บอน โดยเชื้อไอโซเลทที่ 2 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนที่เป็นแป้ง มีค่าการเจริญที่ความยาวคลื่น 775 นาโนเมตร เป็น 1.037 รองลงมา คือ ข้าวดิบ และข้าวสุก มีค่าการเจริญที่ความยาวคลื่น 775 นาโนเมตร เป็น 0.632 และ 0.565 ตามลำดับ และในสภาวะไร้อากาศ ใช้แสง พบว่า เชื้อ OS33 สามารถเจริญได้ดีกว่าเกือบทุกแหล่งคาร์บอน มีเพียงแหล่งคาร์บอนที่เป็นข้าวสุกเท่านั้น ที่ไอโซเลทที่ 1 เจริญได้ดีกว่าเล็กน้อย โดยเชื้อ OS33 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในแหล่งคาร์บอนที่เป็นแป้ง มีค่าการเจริญที่ความยาวคลื่น 775 นาโนเมตร เป็น 1.6 รองลงมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ ข้าวดิบ และ ข้าวสุก มีค่าการเจริญที่ความยาวคลื่น 775 นาโนเมตร เป็น 0.881 และ 0.838 ตามลำดับ

เมื่อนำตัวอย่างเชื้อมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยนำส่วนใสที่ได้และสารละลายน้ำแป้ง 1% ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 1 ml มาทำการทดสอบกับสารละลายไอโอดีน 1 ml เพื่อหากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยการนำไปทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 40 , 60 และ 80 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 2 ชั่วโมง โดยเวลาที่ทำการทดสอบ คือ 0 , 5 , 10 , 15 , 30 , 60 และ 120 นาทีตามลำดับ หลังจากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 542 นาโนเมตร แล้วคิดหาเปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่ลดลง 50% จึงทำการยุติกิจกรรมของเอนไซม์ พบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในไอโซเลทที่ 1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นแป้ง และข้าวดิบ มีระยะเวลาในการทำกิจกรรมเอนไซม์ได้นานถึง 30 นาที และในแหล่งคาร์บอนที่เป็นข้าวสุก มีระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาในการทำกิจกรรมเอนไซม์ภายในเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในไอโซเลทที่ 1 ในทุกแหล่งคาร์บอน มีระยะเวลาในการทำกิจกรรมเอนไซม์ได้นานถึง 15 นาที ส่วนไอโซเลทที่ 2 5 และ OS33 มีระยะเวลาการทำกิจกรรมของเอนไซม์ภายในเวลา 10 นาที และที่อุณหภูมิ 80 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในไอโซเลทที่ 1 ในทุกแหล่งคาร์บอนมีระยะเวลาในการทำกิจกรรมเอนไซม์ได้นานถึง 10 นาที ส่วนไอโซเลทที่ 2 5 และ OS33 มีระยะเวลาทำกิจกรรมของเอนไซม์ภายในเวลา 5 นาที จึงทำให้สรุปได้ว่าในการหากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส พบว่า ไอโซเลทที่ 1 มีระยะเวลาในการทำกิจกรรมของเอนไซม์ได้นานที่สุดในทุกๆอุณหภูมิ และเกือบทุกแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543. เทคโนโลยีแป้ง.พิมพ์ครั้งที่ 2.กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กิ่งจันทร์ จูมพลหล้า.2541. การคัดแยกแบคทีเรียในกลุ่ม Actinomycetes ที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้จากดิน. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น

จารุวรรณ หวะสุววรณ. 2552.การกำจัดและการใช้ประโยชน์จากน้ำทิ้งโรงงานมันสำปะหลังโดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์ด้วยแสงร่วมกับ heterotrophic bacteria. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

จินตนา ชอบวิจักษณ์ 2543. การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ด้วยแป้งมันสำปะหลังใ วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ดวงพร คันธโชติ. 2530.อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ.กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ.2547.จุลชีววิทยาทั่วไป.พิมพ์ครั้งที่ 4.สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.กรุงเทพฯ.

นิธิยา รัตปานนท์. 2539. เคมีอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 340.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

อรพิน ภูมิภมร .2533. เทคโนโลยีของแป้ง : เคมีของแป้งและเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์จากแป้งบางชนิดที่ผลิตในประเทศไทย. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

พุทธชาดิ แผนสมบุญ. 2541. การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ Rhodopseudomonas sphaeroides 3701. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มงคล งามเจริญวงษ์. 2547. การใช้แป้งดิบเป็นแหล่งให้อิเล็กตรอนสำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ศิริลักษณ์ สันพา. 2544. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ทนอุณหภูมิสูงเพื่อใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวกล้อง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา ,มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สายสนม ประดิษฐดวง. 2537. ผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มจากแป้งข้าว, ในการประชุมวิชาการ: ศักยภาพข้าวไทยทิศทางใหม่อุตสาหกรรม 4 กุมภาพันธ์ 2537. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 19-24.

Beynum, G.M.A., van, and Roels, J.A., 1985, Starch Conversion Technology, Marcel Dekker, Inc., New York, p. 326.

Biel, A. L. (1992). How brand image drive brand equity. Journal of Advertising Research, 32(6), RC6-RC12.

Brock, T.D. and M.T. Madigan. 1991. Biology of Microorganisms. 6th ed.,Prentice-Hall International, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey. 847 p.

Brock, T.D., M.T. Madigan, J. M. Martinko and J. Parker. 1994. Biology of Microorganisms. 7th ed., Prentice Hall International, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey. 909 p.

Burgess, J.G., R. Kawaguchi, A. Yamada and T. Matsunaga. 1994. *Rhodobacter marinus* sp. nov. a new marine hydrogen producing photosynthetic bacterium.Microbiol. 140 : 965-970.

Choorit, W., Abe, N., Kaneko, J., Noparatnaraporn, N., Kamio, Y. and Izaki, K. 1993. Isolation and properties of new photosynthetic bacteria isolated from seawater. Bioscience Biotechnology Biochemistry. 57, 2189-2191

Hensen, T.A. and I.F. Imhoff. 1985. *Rhodobacter veldkampii*, a new species of phototrophic purple nonsulfur bacteria. Int. J. Syst. Bacteriol. 35 : 115-116.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hood, L.F. 1982. Current concept of starch structure, pp. 217-236. In D.R. Clinback and G.E. Inglett, eds. Food Carbohydrate. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.

Imhoff, J. F. 1988. Anoxygenic phototrophic bacteria. pp.207-274. *In* B. Austin (ed.). Methods in Aquatic Bacteriology. John Wiley and Sons, Ghicheter, New York.

Imhoff, J. F. 1992. Taxonomy, phylogeny, and general ecology of anoxygenic phototrophic baeteria,. *In* N. H. Mann, and N. G. Carr (ed.). Photosynthetic Prokaryotes. Vol.6. Plnum Press, Now York and Londan. pp. 53-92

John, M., J. Schmidt and H. Kneifel. 1983. Iodine-maltosaccharide complexes: Relation Between chain length and color. Carbohydrate. Res. 119: 254-257.

Keppen, O.I. and V.M. Gorlenke. 1975. A new species of purple budding bacteria containing bacteriochlorophyll b. Miorobiol. 44 : 224-229.

Kerr, R. W. 1950. Chemistry and Industry of starch. Academic Press, New York. 691.

Kobayashi . M. 2000. Waste Remediation and Treatment Using Anoxygenic Phototropic Bacteria. Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. 1269-1282.

Kulp, K. 1975. Enzymes in Food Processing. 2nd ed. New York: Academic Press, Inc.,53-122.

Levett, PN. 1990. Anaerobic Bacteria a Functional Biology. St Edmunds bury Press Ltd. Philadephia. 116 p.

Lineback, D.R. 1966. Structure Starch-Degrading Enzymes. AACC short Course on Starch: Structure, Properties and Food uses. 27-29 August, Bangkok. 44.

Madigan, M.T. 1988. Microbiology, physiology and ecology of phototrophic bacteria, pp. 39-111. *In* Zehnder, A.J.B. (ed). Biology of Anaerobic Microorganisms. John Wiley & Sons, New York.

Madigan, M.T., D.O. Jung, C.R. Woese. and L.A. Achenbach. 2000. *Rhodoferax antarcticus* sp, nov. , a moderately psychrophilic purple nonsulfur bacterium isolated from an Antarctic microbial mat.16p. แหล่งที่มา: http://link.springer.de/customer/se...00140/paper/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

s002030000140ch110.html, September 6, 2000.

Madigan, M.T., J.M. Martinko and J. Parker. 2000. Biology of Microorganisms 9th ed. Prentice Hall International, Inc., Upper Saddle River, New Jersey. 991 p.

Nelson, N. 1994. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 153 : 375-380.

Neutzling, O., J.F. Imhoff and H.G. Truper. 1984. *Rhodopseudomonas adriaticus* sp.nov., a new species of the *Rhodospillacae*, dependent on reduced sulfur compounds. Arch. Microbiol. 137 : 256-261.

Noparatnarapora, N., W. Wongkomchawarit, D. Kantachate and S. Nagai. (1986) J. Ferment. Technol. 64, 141-143.

Oates, C.G. 1996. Physical modification of starch. Trends in Food Science and Technology. 8:375-382. อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Olliver, B. 1994. Anaerobic bacteria from hypersaline environments. Microbiol. Rev.58(1) : 27-38.

Ormerod, J. C., K. S. Ormerod and H. Gest. 1961. Light dependent utilization of organic compounds and photoproduction of molecular hydrogen by photosynthetic bacteria : relationship with nitrogen metabolism. Arch. Biochem. Biophys. 94 : 449-463.

Pfenning, N. 1974. *Rhodopseudomonas globiformis*, sp. n., a new species of *Rhodospirillaceae*. Arch. Microbiol. 100 : 197-206.

Pfenning, N. 1978. General physiology and ecolgy of photosynthetic bacteria. pp. 3-18. *In* R.K. Clayton and W.R. Sistorm (eds.). The Photosynthetic. Bacteria. Plenum Press. New York.

Pfenning, N. and H. G. Truper. 1989. Anoxygenic phototrophic bacteria, pp.1635-1682. In J.T.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Prasertsan, P., W. Choorit and S. Suwanno. 1993. Isolation, identification and growth conditions of photosynthetic bacteria found in seafood processing waste water. World J. Microbiol. Biotechnol. 9(3) : 590-592.

Sasikala, K.,CH.V. Ramana, P. Raghuveer and K.L. Lovacs. 1993. Anoxygenic photrophic bacteria : physiology and advances in hydrogen product echnology, pp. 211-295. In S. Neidleman and A.I. Leskin (eds.). Advances in Applied Microbiology. Vol. 38. Academic Press, San Diego.

Sasikala, C. and C.V. Ramara. 1995. Biotechnological potentials of anoxygenic phototrophic bacteria I and II, pp. 173-227. In S.L. Neidleman and A.J. Laskin (eds.). Advances Applied Microbiology. Vol. 41. Academic Press, San Diego.

Schlegel, H.G. 1993. General Microbiology. 7th ed., Cambridge University Press, Cambridge. 655p.

Smith, P.S. 1982. Starch derivatives and their use in foods. In D.R. Lineback and G.E. Inglett (eds.). Food Carbohydrates. The AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut. 237-261

Shipman, R.H., L.T. Fan and I.C. Kao. 1977. Single cell protein production by photosynthetic bacteria. Advance Appl. Microbiol. 21 : 161-181.

Stadtwald-Demchick, R., F.R.Tuner and H. Gest. 1990b. *Rhodopseudomonas cryptolactis*, sp. nov., a new thermotolerant species of budding phototrophic purple bacteria. FEMS Microbiol. Lett. 71 : 117-120.

Staley, J. T., M. P. Bryant, N. Pfenning and T. G. Holt (eds.). 1989. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.3.* The William and Wilkins, Co., Baltimore.

Swinkels, J.J.M. 1985. Sources of starch, its chemistry and physics. In Starch Conversion Technology.(Van Beynum, G.M.A and Roles, J.A. eds.). Marcel Dekker, Inc., New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Teague,W.M. and Brumm,P.J. (1992) In Schenck,F.W. and Hebeda,R.E.(eds) Starch Hydrolysis Products: Worldwide Technology, Production and Applications. VCH, New York, pp. 45–77

Thangaraj, A., Kulandaivelu, G., 1994. Biological hydrogen photoproduction using dairy and sugarcane wastewaters. Bioresource Technology, 48, 9-12

Truper, H.G. 1989. Physiology and biochemistry of phototrophic bacteria, pp. 267-303 *In* H.G. Schlegel and B. Bowien (eds.). Autotrophic Bacteria. Science Tech Publishers, Madison, Wiscosin.

Vreeland, R.H. and L. Hochstein. 1992. The Biology of Holophilic Bacteria. CRC Press. Inc., Now York. 309 p.

Watanabe, K., Kim, JS, Ito, K., Buranakarl, L., Kampee,T. and Takahashi, H. 1981. Thermostable nature of hydrogen production by non-sulfur purple photosynthetic bacteria isolated in Thailand. Agricultural Biology and Chemistry, 45, 217-222.

.Young, A.H. 1984. Fractionating of Starch, In J. L. Bemillerand E.F. Paschall(eds.). Starch: Chemical and technology. 2nd ed., Academic Press, Florida. 249-284.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Minimal medium of Ormerod (Omerod, et al., 1961) ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนเป็นโมโนโซเดียมกลูตาเมต เติมวิตามิน 4 ชนิด คือ ไธอามิน ไบโอติน กรดนิโคตินิค และ กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก ซึ่งมีองค์ประกอบดังนี้

K_2HPO_4	0.9	กรัมต่อลิตร
KH_2PO_4	0.6	กรัมต่อลิตร
$MgSO_4.7H_2O$	0.2	กรัมต่อลิตร
CaCl2 . $2H_2O$	7.5	มิลลิกรัมต่อลิตร
FeSO4 . $7H_2O$	11.8	มิลลิกรัมต่อลิตร
EDTA. 2Na	20.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
ρ-aminobenzoic acid	1.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
Thiamine HCl	1.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
Biotin	15.0	ไมโครกรัมต่อลิตร
Nicotinic acid	1.0	มิลลิกรัมต่อลิตร
Trace element	1.0	มิลลิกรัมต่อลิตร

Trace element ประกอบด้วย

H_3BO_3	280.0	มิลลิกรัม
MnSO4 . $4H_2O$	210.0	มิลลิกรัม
Na2MoO2 . $2H_2O$	75.0	มิลลิกรัม
ZnSO4 . $7H_2O$	24.0	มิลลิกรัม
$Cu(NO_3)_2.3H_2O$	4.0	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิกรัม

ปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A ซึ่งมีองค์ประกอบดังต่อไปนี้

แหล่งคาร์บอน	10	กรัมต่อลิตร
โมโนโซเดียมกลูตาเมต	10	กรัมต่อลิตร
Na_2HPO_4	10	กรัมต่อลิตร
Yeast extract	1	กรัมต่อลิตร

แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน จะเปลี่ยนแปลงตามวัตถุประสงค์ของการทดลอง ปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
สารเคมี

1.การเตรียมสารละลายไอโอดีน

1.1 ละลายไอโอดีน 1.0 กรัม และโปแตสเซียมไอโอไดด์ 2.0 กรัม ในแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 ปริมาตร 700 มิลลิลิตร

1.2 เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 300 มิลลิกรัม ผสมสารละลายให้เข้ากัน เก็บสารละลายไอโอดีนที่ได้ในขวดสีชา

2. การเตรียมสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5.0

2.1 ละลายฟีนอล 50.0 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร

2.2 เติมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน

2.3 เก็บสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5.0 ที่ได้ไว้ในขวดสีชา

3. การเตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลัง (Starch) มาตรฐาน

3.1 ชั่งแป้งมันสำปะหลัง 5.0 มิลลิกรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร

3.2 เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บเป็น stock solution จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 0 – 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลาย Somogyi Reagent

Solution I : ประกอบด้วย

Sodium potassium tartrate (Rochelle salt)	12	กรัม
Na2CO3(anhydrous)	24	กรัม
$NaHCO_3$	16	กรัม
Na_2SO_4 (anhydrous)	144	กรัม
น้ำกลั่น		

(ละลายสารละลายข้างต้นในน้ำกลั่น จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 800 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Solution || : ประกอบด้วย

$CuSO4 . 5H_2O$	4	กรัม
Na_2SO_4 (anhydrous)	36	กรัม
น้ำกลั่น	200	กรัม

เตรียม Somogyi Reagent โดยผสม Solution | 4 ส่วน กับ Solution || 1 ส่วน

5. การเตรียมสารละลาย Nelson Reagent

2.1 สารละลาย ammonium molybdate $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 50 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 42 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี

2.2 ละลาย Sodium arsenate (Na_2NAsO_4) 3.5762 กรัม (หรือ $Na_2NAsO_4.7H_2O$ 3 กรัม) ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2.3 เติมสารละลายข้อ 2.2 ลงในสารละลายข้อ 2.1 ผสมให้เข้ากันดี แล้วจึงบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บในขวดสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) โดยวิธีฟีนอล – ซัลฟูริก (ตามวิธีของ dubois , 1956)

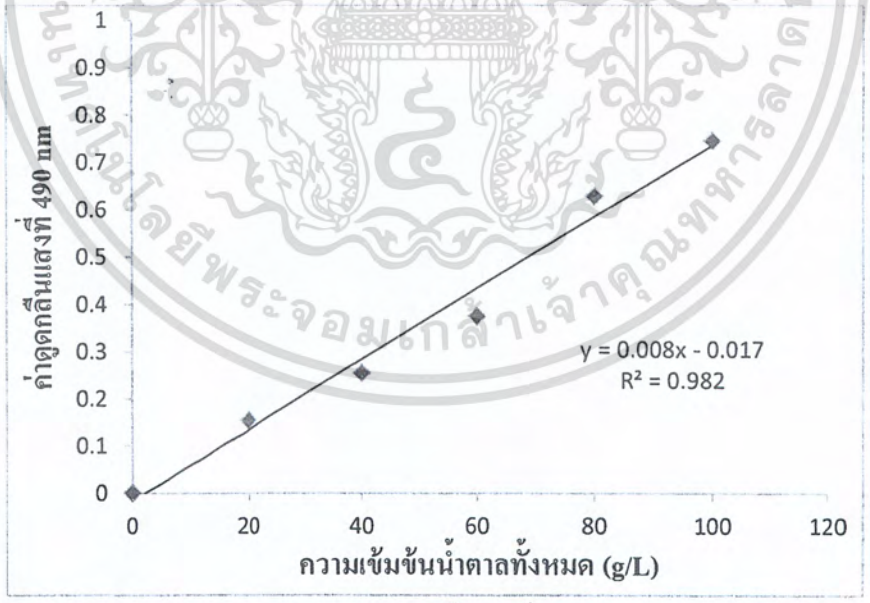
1.1. หากราฟมาตรฐาน โดบใช้สารละลายแป้งมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้น 0 – 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.2. นำสารละลายตัวอย่างละ 1.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดสอบ เติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ลงไป 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

1.3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 96 ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็วภายในตู้ดูดควัน โดยปล่อยกรดลงไปที่ผิวหน้าของเหลวโดยตรง จะทำให้การผสมที่ดีมากกว่าการค่อยๆปล่อยลงข้างหลอด

1.4. ตั้งหลอดทดสอบของผสมทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นนำมาเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 10 –20 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

1.5. นำไปแช่เย็นเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน



กราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. **การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ โดยวิธี Somogyi – Nelson (ตามวิธีของ Nelson ,1994)**

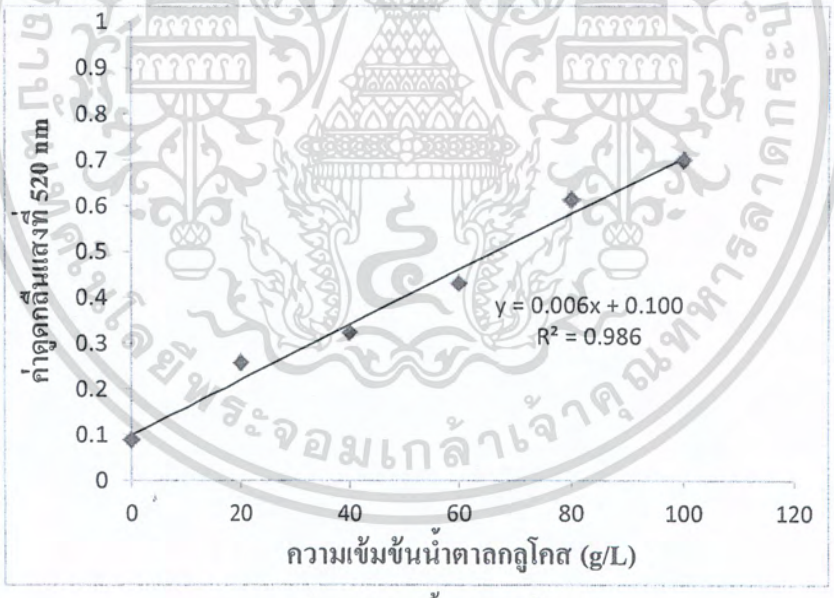
2.1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส โดยอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสประมาณ 1 – 2 ชั่วโมง ความเข้มข้น 0 , 20 , 40 , 60 , 80 , 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่น บรรจุในหลอดทดสอบหลอดละ 1.0 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ

2.2. เติม Copper reagent 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยทำให้น้ำเย็นจัด

2.3. เติม Nelson reagent 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

2.4. เติมน้ำกลั่น 5.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 นาโน-เมตร เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลกลูโคสและค่าดูดกลืนแสง

2.5. การวิเคราะห์ตัวอย่าง ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่มีน้ำตาลกลูโคสจำนวน 1.0 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดสอบแล้วนำไปวิเคราะห์ตามวิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสข้างต้น



กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแบคเทอริโรคลอโรฟิลล์ (Bacteriochlorophyll) และการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 775 นาโนเมตร

นำตัวเชื้อตัวอย่างบรรจุในหลอดแอฟเพนดรอปปริมาตร 1 มิลลิลิตรแล้วนำมาสกัดแบคเทอริโรคลอโรฟิลล์ในที่มืด โดยใช้สารละลายผสมระหว่างอะซิโตนต่อเมทานอลอัตราส่วน 7 ต่อ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 150 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เวลา 5 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 775 นาโนเมตร บันทึกผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้