ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การแยกเชื้อ และศึกษาแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ผลิตไฮโดรเจนจากธรรมชาติ

(Isolation and Studies of Hydrogen Producing Photosynthetic Bacteria from Natural)

โดย

นายสรายุทธ์ สนรักษา รหัสประจำตัว 43040663

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก

....

(ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง) **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกเชื้อ และศึกษาแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ผลิตไฮโดรเจนจากธรรมชาติ

(Isolation and Studies of Hydrogen Producing Photosynthetic Bacteria from Natural)

T096982

นายสรายุทธ์ สนรักษา รหัสประจำตัว 43040663

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2546

ปพ.
ส35ก
2546
96982
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน.เดือน.ปี.....
เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นายสรายุทธ์ สนรักษา : การแยกเชื้อ และศึกษาแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ผลิตไฮโดรเจนจากธรรมชาติ (Isolation and Studies of Hydrogen Producing Photosynthetic Bacteria from Natural) โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง: กรรมการ: ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์, ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพรบูลย์ 36 หน้า

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างน้ำที่คาดว่าจะมีแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจากคูน้ำข้างถนนฉลองกรุง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงโดยใช้อาหาร Basal medium ซึ่งเป็นอาหารที่ใช้แยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงทั่วไป พบแบคทีเรียสังเคราะห์แสง นำมาทดสอบการสร้างก๊าซโดยเลี้ยงใน Basal medium และเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงมาเปรียบเทียบการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้นมวัว แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวเหนียว เป็นวัตถุดิบ พบว่าสามารถย่อยแป้งข้าวเหนียวได้ดีที่สุด โดยไม่ต้องเติมอาหาร Basal medium จากนั้นนำก๊าซที่ได้จากการหมักไปวิเคราะห์ พบว่าก๊าซที่ได้มีปริมาณก๊าซไฮโดรเจนมากกว่าอากาศปกติด้วยปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันของน้ำมันมะกอก เมื่อนำศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ได้โดยเลี้ยงในอาหาร A-T medium ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม Purple Non-Sulfur bacteria พบว่าเป็นโคโลนีสีแดง รูปแท่ง ติดสีแกรมบวก

.....	.....	.....
ลายมือนักศึกษา	ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ เสนอแนวทาง และให้ข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์ในการศึกษา

ขอขอบพระคุณ พี่ต๊ะ ที่พร้อมให้คำปรึกษาและตอบคำถามข้อสงสัยของผม

ขอขอบคุณพี่ๆนักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกให้ปัญหาพิเศษสำเร็จลงด้วยดี

ท้ายที่สุดขอขอบพระคุณ บิดา – มารดารวมทั้งคนรอบข้างที่ให้กำลังใจ ข้าพเจ้าขอยกความดีและความสำเร็จครั้งนี้ทั้งหมดนี้ให้แด่ทุกท่าน

นายสราวุทธ์ สนรักษา

19 มีนาคม 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 ขอบเขตการวิจัย	2
1.3 วัตถุประสงค์	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 พลังงาน	3
2.2 กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจน	4
2.3 ผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากจุลินทรีย์สังเคาะห์แสง	10
2.4 นมวัว	15
2.5 ข้าว	18
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	20
3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์	20
3.2 การดำเนินการ	21
3.3 สถานที่ดำเนินงาน	22
3.4 วิธีการดำเนินการ	22
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	25
4.1ผลการเก็บน้ำตัวอย่าง และทดสอบน้ำตัวอย่าง	25
4.2 ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง	26
4.3 ผลการทดสอบการผลิตก๊าซในอาหารเหลว Basal medium	27
4.4 ผลการศึกษาชนิดวัตถุดิบ เพื่อใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ในอาหาร Basal medium และน้ำกรอง	28
4.5 ผลการศึกษา และติดตามการหมัก	29
4.6 ผลการวิเคราะห์ก๊าซที่ผลิตได้	30
4.7 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (2)

	หน้า
สรุปผลการทดลอง	33
ข้อเสนอแนะ	34
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้	7
ตารางที่ 2 เปรียบเทียบพลังงานที่ได้จากเชื้อเพลิงต่างๆ	15
ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของแร่ธาตุที่มีอยู่ในน้ำนมและเถ้าของนม	17
ตารางที่ 4 แสดงปริมานส่วนผสมของวัตถุดิบที่เติม และไม่เติมลงใน Basal medium	23
ตารางที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันมะกอกที่ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 237, 256.5 และ294.5 นาโนเมตร	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แสดง Electron transfer reactions และ metabolic reactions	14
ภาพที่ 2 การทดสอบการเกิดแก๊สของน้ำตัวอย่าง	25
ภาพที่ 3 การเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในจานเพาะเชื้ออาหาร Basal medium	26
ภาพที่ 4 การเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในหลอดอาหาร Basal medium	26
ภาพที่ 5 การทดสอบการผลิตก๊าซในหลอดอาหารเหลว Basal medium	27
ภาพที่ 6 แสดงน้ำหนักที่ลดลงของถังหมัก	28
ภาพที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ น้ำหนักที่ลดลงของถังหมัก pH และปริมาตรก๊าซ	29
ภาพที่ 8 กราฟการสแกนน้ำมันมะกอกปกติ	30
ภาพที่ 9 กราฟการสแกนน้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากก๊าซไฮโดรเจน	30
ภาพที่ 10 กราฟการสแกนมะกอกไฮโดรจีเนชันจากการหมัก	30
ภาพที่ 11 กราฟการสแกนมะกอกไฮโดรจีเนชันจากอากาศปกติ	31
ภาพที่ 12 แสดงการเจริญบนอาหาร A-T medium	32
ภาพที่ 13 การย้อมแกรม และส่องดูด้วยกล้องจุลฯกำลังขยาย 1000 เท่า	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน เมื่อพิจารณาถึงพลังงานนั้น เกือบทั้งหมดของพลังงานที่ใช้ ได้มาจากแหล่งพลังงานที่มีอยู่อย่างจำกัด ไม่ว่าจะเป็น น้ำมันเชื้อเพลิง ถ่านหิน เป็นต้น ล้วนแต่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากมายตามมา ดังนั้น หน่วยงานต่างๆ ทั่วโลกจึงพยายามที่จะค้นคว้า วิจัย และพัฒนา เพื่อผลิตพลังงานจากแหล่งพลังงานทางเลือกใหม่และที่สำคัญจะต้องไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบันพลังงานไฮโดรเจนเป็นพลังงานหนึ่งซึ่งกำลังเป็นที่สนใจจากนักวิจัยเป็นอย่างมาก ได้มีการศึกษา และค้นคว้าวิจัยต่างๆ มากมาย การที่จะได้มาซึ่งพลังงานไฮโดรเจนนั้น มีหลายวิธีด้วยกัน แต่ในช่วงระยะ 10 ปี ที่ผ่านมานี้ นักวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นให้ความสำคัญ กับการผลิตไฮโดรเจนจากจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นวิธีที่เข้าใกล้ธรรมชาติมากที่สุดและยังจะนำไปสู่ความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ก๊าซไฮโดรเจนไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส และไม่เป็นพิษ เชื้อเพลิงไฮโดรเจนอาจจะเป็นทางเลือกที่ดีที่สุดสำหรับที่จะเป็นเชื้อเพลิงในอนาคตของโลก เนื่องจาก ประการแรก เป็นทรัพยากรที่มีมากและมีอยู่อย่างไม่จำกัด ไฮโดรเจนสามารถสร้างขึ้นได้หลายวิธี โดยการใช้ electrolytic Thermochemical หรือ Photolytic ประการที่ 2 ไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิงที่สะอาด เมื่อมีการรวมตัวกันของไฮโดรเจนและออกซิเจนจากอากาศ จะปล่อยกระแสไฟฟ้า ความร้อน และน้ำซึ่งจะไม่สร้างอนุภาคเล็กๆ คาร์บอนไดออกไซด์ หรือมลพิษใดๆ ประการที่ 3 เราสามารถสร้างไฮโดรเจนได้ในอีกที่หนึ่ง แล้วนำไปใช้ในอีกที่หนึ่งได้ ไฮโดรเจนสามารถนำไปใช่ในการเผาไหม้ของเครื่องยนต์ เช่น รถยนต์ รถบรรทุก และรถบัส หรืออาจใช้เป็น fuel cell ก็ได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นพลังงานสำหรับเครื่องบินโดยสารแบบไอพ่น และเรือเดินสมุทร(Anonymous., 2002) คาดว่าจะเป็นพลังงานที่นำไปใช้ได้ในศตวรรษหน้า ข้อดีของเชื้อเพลิงไฮโดรเจนในการเผาไหม้ คือ ไม่มีควันพิษ สิ่งที่ได้สุดท้ายจะมีเพียงน้ำ และพลังงานที่ได้สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเพลิงชนิดอื่น (Jakub., 2001)

ไฮโดรเจนเป็นโมเลกุลที่ไม่ซับซ้อน เป็นธาตุที่มีน้ำหนักน้อยที่สุด และพบมากที่สุด ในนิวเคลียสของไฮโดรเจนจะประกอบด้วย 1 โปรตอนและมี 1 อิเล็กตรอนวิ่งรอบนิวเคลียส ไฮโดรเจนบริสุทธิ์ที่แท้จริงแล้วคือก๊าซไฮโดรเจน ซึ่งอะตอมของไฮโดรเจน 2 อะตอมมาสร้างพันธะกันเป็น 1 โมเลกุลก๊าซไฮโดรเจนจะไม่ทำปฏิกิริยากับธาตุอื่นๆ ที่อุณหภูมิห้อง แต่เมื่อถูกให้ความร้อนก๊าซไฮโดรเจนจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน 450 องศาเซลเซียส ซึ่งจะปล่อยพลังงานออกมามหาศาลการระเบิดจะเกิดขึ้นระหว่างเมื่อมี ไฮโดรเจน 6 เปอร์เซ็นต์ ในออกซิเจน ถึงออกซิเจน 5 เปอร์เซ็นต์ ในไฮโดรเจน(Jakub., 2001) โดยรูปที่พบมากที่สุดคือจะรวมตัวกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเจนเป็นน้ำ ซึ่งไม่เพียงแต่พบในรูปของน้ำเท่านั้น แต่ยังพบใน fossil fuel เช่น ปิโตรเลียม ถ่านหิน และก๊าซธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบในพืช ในสัตว์และ organic waste การเผาไหม้ของก๊าซไฮโดรเจนได้ พลังงาน 242 kJ / mole. (Anonymous., 2002)

1.2 ขอบเขตการวิจัย

ปัญหาพิเศษนี้เป็นการแยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจากธรรมชาติ และศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่แยกได้ โดยใช้นมวัว แป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวเหนียวเป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตก๊าซไฮโดรเจน

1.3 วัตถุประสงค์

1.1 เพื่อแยกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากธรรมชาติ

1.2 เพื่อศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พลังงาน

พลังงานเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ เพื่อประโยชน์ในการยังชีพ โดยเป็นกลไกนำไปสู่การมีอาหาร ความสะดวกสบายและการปรับปรุงคุณภาพชีวิต พลังงานที่มนุษย์ต้องการ เป็นพลังงานที่อยู่ในรูปที่ควบคุมปริมาณการใช้ได้ เช่น พลังงานความร้อน พลังงานไฟฟ้าและพลังงานแสงสว่าง เป็นต้น พลังงานอันเป็นประโยชน์โดยตรงต่อมนุษย์มักแปรสภาพมาจากพลังงานธรรมชาติ เช่น พลังงานแสงอาทิตย์และน้ำมันปิโตรเลียม เป็นต้น

2.1.1 การจำแนกประเภทของพลังงาน(ธนาคารกสิการไทย, 2525) ประเภทพลังงาน จัดแบ่งตามการพัฒนาแหล่งทรัพยากรพลังงาน แบ่งออกเป็น 2 ประเภท

2.1.1.1 แหล่งทรัพยากรพลังงานตามรูปแบบ (conventional energy resource) เป็นพลังงานที่ใช้กันมาเป็นปกติประจำวัน ได้แก่ ถ่านหิน ไฟฟ้าพลังน้ำ ก๊าซธรรมชาติ และผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียมบางชนิด

2.1.1.2 แหล่งทรัพยากรธรรมชาตินอกรูปแบบ (non-conventional energy resource) คือ พลังงานที่อาจใช้ในชีวิตประจำวันแต่ไม่แพร่หลาย อยู่ในระหว่างการพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสม ได้แก่ ก๊าซชีวมวล เชื้อเพลิงแอลกอฮอล์ พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานความร้อนใต้พิภพ พลังงานนิวเคลียร์ และการนำวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและอุสาหกรรมมาแปลงให้เป็นพลังงาน

2.1.2 หากจำแนกตามแหล่งที่ได้มาของพลังงาน อาจแบ่งได้เป็น 2 ประเภท

2.1.2.1 พลังงานต้นกำเนิด (primary energy) ได้แก่ น้ำ แสงอาทิตย์ กระแสลม ก๊าซธรรมชาติ น้ำมันดิบ ถ่านหิน แร่นิวเคลียร์ เป็นต้น

2.1.2.2 พลังงานแปลงรูป (secondary energy) ได้มาโดยการนำพลังงานต้นกำเนิดมาแปลงรูปเพื่อใช้ประโยชน์ในลักษณะต่าง ๆ เช่น พลังงานไฟฟ้า ผลิตภัณฑ์น้ำมันปิโตรเลียม เป็นต้น

ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้พลังงานจากแหล่งที่สำคัญ 3 ประเภท ได้แก่ น้ำมันเชื้อเพลิง ก๊าซธรรมชาติ ถ่านหินและลิกไนต์ โดยที่สัดส่วนของการใช้พลังงานดังกล่าวรวมกันแล้วเกินกว่าร้อยละ 90 ของการใช้พลังงานทั้งหมด (สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ, 2542) การใช้พลังงานมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ ในขณะที่แหล่งพลังงานส่วนใหญ่เป็นทรัพยากรที่ใช้สิ้นเปลือง เมื่อนำมาใช้อย่างไม่จำกัดในที่สุดจะหมดไปอย่างแน่นอนในอนาคต จึงได้มีความพยายามในการอนุรักษ์ทรัพยากรพลังงานอย่างจริงจัง ตลอดจนเร่งดำเนินนโยบายสำรวจ ค้นคว้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจัยและพัฒนาแหล่งทรัพยากรพลังงานอย่างกว้างขวาง โดยเน้นหนักในเรื่องพลังงานทดแทนน้ำมัน (บันเทิง, 2536)

ก๊าซไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิงบริสุทธิ์ที่ไม่ก่อให้เกิดมลพิษ เนื่องจากเมื่อเกิดการเผาไหม้จะไม่เหลือส่วนของไฮโดรคาร์บอนที่เผาไหม้ไม่หมดหรือก๊าซอื่น ๆ เช่น กรณีของแปล่งพลังงานเชื้อเพลิงจากฟอสซิล ก๊าซไฮโดรเจนจึงเป็นแหล่งพลังงานอีกแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจในการเป็นแหล่งพลังงานทดแทน ก๊าซไฮโดรเจนปกติเป็นเชื้อเพลิงที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มองไม่เห็น สามารถแพร่ไปในบริเวณต่าง ๆ ได้รวดเร็ว มีความหนาแน่นต่ำ ดังนั้นจึงเคลื่อนที่ผ่านอากาศได้รวดเร็ว การเผาไหม้ของเครื่องยนต์ที่ใช้ไฮโดรเจนจะมีการระเหยได้น้ำซึ่งจะเข้าสู่วัฏจักรในธรรมชาติต่อไป โดยไม่พบการเกิดคาร์บอนมอนอกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรคาร์บอน ที่เผาไหม้ไม่หมดเกิดขึ้นหลังจากการเผาไหม้ของไฮโดรเจนและไม่เกิดควันหรือกลิ่นเหม็นอีกด้วย เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนจะมีประโยชน์ในแง่ของการเป็นแหล่งพลังงานทดแทนในอนาคตแล้ว ยังมีความน่าสนในใจแง่อื่น ๆ อีก กล่าวคือมีการนำเอาก๊าซไฮโดรเจนมาใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม โดยเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการผลิตต่าง ๆ เช่น ใช้ในการผลิตปุ๋ยแอมโมเนีย ใช้ในการกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม และอุตสาหกรรมน้ำมันอื่น ๆ ซึ่งการผลิตจะต้องการไฮโดรเจนในกระบวนการ Hydroheating ซึ่งเป็นกระบวนการกำจัดซัลเฟอร์และสารตกค้างอื่น ๆ ในระหว่างการกลั่นน้ำมันดิบ ในอุตสาหกรรมน้ำมันพืชมีการนำก๊าซไฮโดรเจนมาใช้ในกระบวนการผลิตน้ำมันพืชโดยใช้ป้องกันการเกิดการออกซิไดซ์หรือทำให้น้ำมันออกซิไดซ์ได้ช้าลงเพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นหืน นอกจากนี้ยังมีการนำเอาก๊าซไฮโดรเจนไปใช้ในการเปลี่ยนน้ำมันเหลวไปเป็นไขมันแข็ง เช่น magarine ใช้ในการผลิตสบู่และอาหารสัตว์จากไขมันและ grease ใช้ในอุสาหกรรมการผลิตเหล็กโดยเป็นแหล่งพลังงานให้ความร้อนแก่เหล็ก เพื่อใช้เปลี่ยนแปลงและปรับปรุงคุณภาพบางประการของเหล็ก เช่น ความยืดหยุ่น ความทนทานต่อแรงกดดัน ทำให้โลหะมีความแข็ง และเพิ่มแรงต้านต่อการดึง รวมทั้งมีสมบัติของการเป็นแม่เหล็กอีกด้วย มีการใช้ไฮโดรเจนบริสุทธิ์ในการผลิตทังสเตน โมลิบดินัม และการผลิตแมกนีเซียม อุตสาหกรรมอื่น ๆ ที่มีการใช้ก๊าซไฮโดรเจน ได้แก่ การใช้ไฮโดรเจนในการตัดแก้ว และใช้ในการตัดและหลอมแร่ควอซท์

2.2 กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Haffman, 1935)

กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนกระทำได้หลายวิธี ทั้งนี้ขึ้นกับความเหมาะสมของปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนใช้วิธีต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

2.2.1 <u>การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากเชื้อเพลิงฟอสซิล</u>

ก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นเป็นการค้าเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมปิโตรเคมีนั้นผลิตจากก๊าซธรรมชาติซึ่งจัดเป็นเชื้อเพลิงฟอสซิล โดยผ่านการทำ steam reforming ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างสารไฮโดรคาร์บอนกับน้ำในรูปไอน้ำโดยอาศัยพลังงานความร้อน ทำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน กระบวนการทางอุตสหกรรมที่นิยมใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน เป็นกระบวนการที่เรียกว่า coal gasification แม้ว่าการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากเชื้อเพลิงฟอสซิลเป็นวิธีที่ใช้อย่างกว้างขวาง แต่วิธีนี้ยังมีข้อเสียที่ควรคำนึงถึง คือ ก่อให้เกิดมลพิษเนื่องจากการตกค้างของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่เผาไหม้ คาร์บอนไดออกไซด์และซัลเฟอร์เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อเพลิงฟอสซิลยังเป็นแหล่งของพลังงานที่จะหมดไปได้ในอนาคต

2.2.2 <u>การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธี electrolysis</u>

วิธีการนี้เป็นการใช้กระแสไฟฟ้าในการแยกโมเลกุลของน้ำโดยตรง ทำให้ได้ไฮโดรเจนอะตอมและออกซิเจนอะตอม ทั้งนี้โดยอาศัยอิเลคโทรด (electrode) 2 ขั้วที่ตรงข้ามกัน คือ positive electrode และ negative electrode วิธีการคือ จุ่ม electrode ลงในน้ำที่ทำให้มีความเป็นตัวนำมากขึ้นโดยกรเติมสารพวก electrode เช่น โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์หรือกรดซัลฟูริกลงไป ไฮโดรเจนอะตอมและออกซิเจนอะตอมจะแยกตัวออกจากกัน ไฮโดรเจนอะตอมจะไปเกาะที่ negative electrode และออกซิเจนอะตอมจะไปเกาะที่ positive electrode ในระดับอุตสาหกรรม โรงงานที่ใช้วิธี electrolysis ผลิตไฮโดรเจนนั้น จะใช้ถัง electrolyzer ที่ประกอบด้วย electrode, electrolyte, seperator ที่ทำหน้าที่ป้องกัน electrode และแยกก๊าซที่เกิดขึ้นจากขั้วต่าง ๆ นอกจากนี้ยังประกอบด้วย container ที่ค่อนข้างซับซ้อน ในการทำ electrolysis ที่สมบูรณ์ต้องการกระแสไฟฟ้า 90 กิโลวัตต์ ซึ่งจะผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ 1,000 ลูกบาศก์ฟุต หรือ 28 ลูกบาศก์เมตร แม้ว่าวิธีนี้จะให้ไฮโดรเจนที่มีความบริสุทธิ์ สูง แต่จะใช้ในกรณีที่ราคาของไฟฟ้ามีราคาถูกเท่านั้น เนื่องจากต้องใช้กระแสไฟฟ้าจำนวนมาก ข้อเสียอีกประการหนึ่งของวิธีนี้ คือ มีการสูญเสียพลังงานไปในการทำ electrolysis แต่ละขั้นตอน และการแยกโมเลกุลของน้ำให้เป็นไฮโดรเจนแออกซิเจนยังต้องทำในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 2,500 องศาเซลเซียสอีกด้วย ทั้งนี้เพราะแรงดึงดูดระหว่างอะตอมของไฮโดรเจนและอะตอมของออกซิเจนมีค่าสูง จึงต้องใช้พลังงานความร้อนสูงช่วยในการแยกอะตอมทั้งสอง

2.2.3 <u>การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธี thermochemistry</u>

เนื่องจากการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธี Electrolysis ต้องอาศัยความร้อนสูงมากแม้ เมื่อเทียบกับความร้อนที่ได้จากถังปฏิกรณ์นิวเคลียร์ซึ่งจะให้ความร้อนเพียง 220 – 320 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงมีการพัฒนาการผลิตโดยการใช้สารประกอบของปรอทโบรไมด์และแคลเซียมในกระบวนการซึ่งจะทำให้สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้โดยอาศัยความร้อนที่อุณหภูมิต่ำลง คือ อุณหภูมิประมาณ 200 – 780 องศาเซลเซียส ขั้นตอนในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีนี้เรียกว่า thermochemistry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 <u>การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์</u>

นอกจากวิธีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนต่าง ๆ ข้างต้นแล้ว ยังมีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์หลายชนิด โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมในการเจริญและให้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นผลผลิตนั้น แบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่

- กลุ่ม heterotrophic strictly anaerobes
- กลุ่ม heterotrophic facultative anaerobes
- *Desulfovibrio desulfuricans*
- กลุ่มของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (photosynthetic microorganisms)

โดยทั้ง 4 กลุ่มจะย่อยสารประกอบอินทรีย์ต่างชนิดกัน เพื่อใช้เป็นแหล่งให้อิเลคตรอน (electron donor) ในกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ดังแสดงในตารางที่ 1

2.2.4.1 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย heterotrophic strictly anaerobes

จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะสามารถผลิต pyruvate ที่เป็นตัวกลางในกระบวนการหมักได้แล้วจึงย่อยสลาย pyruvate ต่อไปโดย phosphoroclastic cleavage ดังสมการ

$$CH_3COCOOH + H_3PO_4 \longrightarrow CH_3COCOO\,PO_3H_2 + CO_2 + H_2$$

ทำให้มีการปลดปล่อยอิเลคตรอนระหว่างกระบวนการข้างต้น หรือที่เรียกว่ากระบวนการ oxidative decarboxylation ของ pyruvate อิเลคตรอนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจะอยู่ในรูปก๊าซไฮโดรเจน การศึกษาใน Clostridium pasteurianum พบว่าสาร ferredoxin เป็นสารตัวกลางในการส่งผ่านอิเลคตรอนจาก pyruvate หรือ hydrosulfate ไปเป็นก๊าซไฮโดรเจน โดยมีเอนไซม์ hybrogenase เป็นตัว catalyst (Gray และ Gest, 1965)

Karube และคณะ (1982) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำตาลกลูโคสโดยกิจกรรมของ Clostridium butyricum ที่ถูกตรึงรูป (immobilized cell) ใน acetylcellulose filter ร่วมกับการใช้ agar พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ถูกตรึงนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี glucose และเปปโตน (peptone) จะสามารถเปลี่ยน glucose ไปเป็นก๊าซไฮโดรเจนได้ 45 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้

Microorganisms	Electron donor(s) fpr hydrogen formation
Heterotrophic anaerobes, strict	
Clostridium butylicum	Pyruvate
C. pasteurianum	Pyruvate
C. pasteurianum	Ethanol
C. kluyveri	Pyruvate
C. telanomorphum	Glycine
Diplococcus gycinophilus	Pyruvate
Micrococcus lactolyticus	Pyruvate
M. aerogenes	Pyruvate
	Purines
	Pyrimidines
Butyribacterium rellgeri (G_7)	Pyruvate
Methanobacterium omelianskii	Acetaldehyde [b]
(Methanobacillus omelianskii)	Ethanol [b]
Heterotrophic anaerobe, faculative	
Escherichia coli and related *bacteria*	Formate
Aeromonas hydrophila	Formate
Bacillus macerans	Formate
B. polymyxa	Formate
Heterotrophic anaerobes, strict	
Desulfovibrio desulfuricans	Pyruvate[c]
	Formate[c]
Photosynthetic[d]	
Non – sulfur purple bacteria	Organic acids
Sulfur purple bacteria	Organic acids
	Thiosulfate
Anaerobically adapted algae	Reduced pyridine nucleotide

หมายเหตุ a : *C. telanomorphum* และจุลินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่ม heterotrophic strictly anaerobes มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนระหว่างกระบวนการคาแทบอลิซึมของกรดอะมิโน เช่น cysteine, serine, theronine, glutamate และ - keto acid mintermediates เป็น immediate electron donors

b : ในสภาวะที่ไม่มี carbon dioxide

c : ในสภาวะที่ไม่มี sulfate

d : เป็นการสร้างก๊าซไฮโดรเจนในสภาวะที่ขึ้นกับแสง ซึ่งมี pyridine nucleotide เป็นสารตัวกลางในการให้อิเลคตรอน จุลินทรีย์ที่สังเคราะห์แสงส่วนใหญ่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนในที่มีแสง โดยใช้กรดอินทรีย์เป็นแหล่งให้อิเลคตรอน แต่ก็มีบางชนิดที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนในที่มืดได้จากสับสเตรต พวก formate และ pyruvate ด้วยกลไกเช่นเดียวกับจุลินทรีย์ในกลุ่ม heterotrophic anaerobes

ที่มา : Gray และ Gest (1965)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Miyake และคณะ (1982) ได้เพาะเลี้ยง Clostridium butyricum สายพันธุ์ IFO 13949 ร่วมกับแบคทีเรียสังค์เคราะห์แสง Rhodopseudomonas sp. สายพันธุ์ RV ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบของ glucose ภายใต้การให้แสง พบว่า C. butyricum สามารถเปลี่ยน glucose ไปเป็น butyrate พร้อมกับผลิตไฮโดรเจนได้ โดยอาศัยการ catalyse ของเอนไซม์ hybrogenase ในขณะเดียวกัน Rhodopseudomonas sp. สายพันธุ์ RV จะสร้างก๊าซไฮโดรเจนจาก butyrate ที่ถูกผลิตขึ้นโดยอาศัยการ catalyse ของเอนไซม์ nitrogenase เป็นต้น

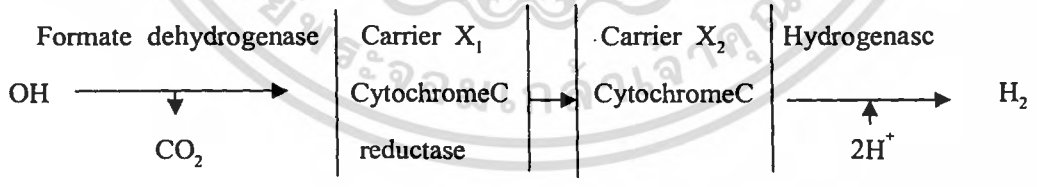
Taguchi และคณะ (1994) ศึกษาการสะสมอะมิเลสและการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ Ciostridium beijerinckii สายพันธุ์ AM 21B พบว่าเอนไซม์อะมิเลสถูกผลิตขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจาก 4 ชั่วโมง และผลิตได้สูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 12 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอช เท่ากับ 6.0 และพบว่าในสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะมิเลส ก๊าซไฮโดรเจนสูงที่สุดเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส และ พีเอช เท่ากับ 7.0

2.2.4.2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย heterotrophic facultative anaerobes

จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะสามารถย่อยสารประกอบอินทรีโดยกระบวนการ glycolysis ให้เกิดเป็นสารประกอบ pyruvate ซึ่งจะถูก metabolize ต่อไปโดยปฏิกิริยา phosphoroclastic cleavage ดังสมการ

$$CH_3COCOOH + H_3PO_4 \longrightarrow CH_3COOPO_3H_2 + HCOOH$$

Pyruvate จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบ formatm แล้ว formatm ที่เกิดขึ้นก็จะเปลี่ยนต่อไปเป็นก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยกระบวนการที่ไม่ใช้ออกซิเจน กระบวนการดังกล่าวจะถูกกระตุ่นโดยเอนไซม์ fomic hybrogenase enzyme complex ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์อยางน้อย 2 ชนิด คือ solubie fomic dehybrogenase และ hydrogenase และยังมีสารอื่นๆที่เป็น eiectron carrier ได้แก่ carrier X_1 และcarrier X_2 ดังสมการ



ทั้งนี้ carrier X_1 จะทำหน้าที่ของ cytochrome C reductase และ carrier X_2คือ cytochrome Cที่มี redox potential ต่ำ ทำหน้าที่ในการถ่ายเทอิเลคตรอนไปยัง hydrogenase โดยมี heme protein ทำหน้าที่เช่นเดียวกับ ferredoxin ในกระบวนการของ Clostridium (Gray และ Gest, 1965)

จากการ ศึกษาเซลล์ของแบคทีเรีย Rhodospirillum rubrum และ Klebsiella pneumoniae ที่ถูกตรึงโดยการ entrap ในวุ้น พบว่าสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจน เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงเชื้อมี dextrose ได้ปริมาณสุงกว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดแลกจากกัน การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย Citrobacter freundii ด้วยการใช้ gluce เป็นแหล่งคาร์บอนและให้พลังงาน เมื่อเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร ในสภาวะไร้ออกซิเจน พบว่ามีการผลิตก๊าซ 8.9 ลิตร ที่ประกอบด้วยก๊าซไฮโดรเจน 63 เปอร์เซ็นต์ และคาร์บอนไดออกไซด์ 37 เปอร์เซ็นต์ จาก glucose 30.8 กรัม ในเวลา 11 11 ชั่วโมง ซึ่งเท่ากับ 1.286 โมลไฮโดรเจนต่อโมล glucose

2.2.4.3 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย Desulfovibrio desulfuricans

แบคทีเรียชนิดนี้เป็น heterotrophic strictly anaerobe muj,u cytochrom C_3 (E_0 =-205 mV) ทำหน้าในการถ่ายเทอิเลคตรอน โดยมี ferredoxin ชนิดที่แตกต่างจาก anaerobe อื่น ๆ เป็นสารตัวกลางในการขนถ่ายอิเลคตรอน อาจเป็นได้ว่า แบคทีเรียชนิดนี้มี hydrogenlyase system แบบเดียวกับพวก heterotrophic fatultative anaerobes และมี phosphoroclastic cleavge เช่นเดียวกับพวก Clostridium แบคทีเรียชนิดนี้จะใช้สารประกอบ sulfate ในการผลิตไฮโดรเจน แต่บางสายพันธุ์จะผลิตไฮโดรเจนจาก pyruvate และ Fomate ได้เช่นกันแม้จะไม่มีสารประกอบ sulfate(Gray และ Gest, 1965)

2.2.4.4 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง

จุลินทรีผลิตกาซไฮโดรเจนที่มีแหล่งในอิเลคตรอน (electron donor) คือ reduced pyridine nucleotide ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidation) ของสารประกอบอินทรีและอนินทรีย์ โดยกลไกจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา reduction ของ hydsrogenions โดยอิเลคตรอนที่ได้จากคลอโรฟิลล์ที่รับการกระตุ้นจากแสง (Gray และ Gest,1965)

2.3 ผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง

2.3.1 <u>การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยสาหร่าย</u>

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนพบได้ใน hydrogen adapted green algae ภายใต้สภาวะที่มีแสงสว่าง โดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ hydrogenase (Lascelles, 1973) anaerobically adapted cells จะสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ช้าในสภาวะที่ไม่มีแสง แต่ผลิตได้สูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีแสง สาหร่ายที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุด คือ (initial saturation rate) สูงกว่า 100 ไมโครโมลไฮโตรเจนต่อชั่วโมงต่อมิลลิกรัมคลอโรฟิลล์

ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนซึ่งเป็นกิจกรรมของ Chlamydomonas sp. สายพันธุ์ MGA 161 โดยกระบวนการ durk fermentative hydrogen evolution ทั้งนี้ สายพันธุ์ W – 1S โดยกระบวนการ hydrogen photoevolution ทั้งนี้ สายพันธุ์ W-1s จะใช้ acetic acid และ ethanol ที่ปลดปล่อยออกมาโดย Chlamydomonas sp. สายพันธุ์ MGA 161 เป็นแหล่งให้อิเลคตรอนใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตก๊าซไฮโดรเจน และพบว่าการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์สองชนิดนี้มี conversion yield เท่ากับ 8 โมลไฮโดรเจนต่อโมล glucose ที่ได้จากแป้ง

2.3.2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย cyanobacteria

Cyanobacteria ผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยผ่านการ photolysis ของน้ำแต่อัตราการผลิตไฮโดรเจนไม่สูงนักเมื่อเทียบกับแบตทีเรียสังเคราะห์แสง cyanobacteria ที่เป็นพวก non heterocystous filamentous cyanobateria ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ เช่น Lyngbya sp. No.108 ซึ่งพบว่าสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุด เท่ากับ 124 มิลลิลิตรต่อกรัมน้ำหนักเซลล์ต่อวัน ภายใต้ความเข้มของแสง 1,000 ลักส์ พีเอช 6.5 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมี potassium nitrate 0.05 กรัมต่อลิตร และ yeast extract 0.01 เปอร์เซ็นต์ กระตุ้นการเจริญเติบโตและการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

นอกจากนี้ยังพบว่าความเค็ม มีผลต่อการผลิตก๊าไฮโดรเจน และการเจริญของ Lyngbya sp. Nc. 108 โดยพบว่าเมื่อเซลล์เจริญในสภาวะที่มี NaCI 3 เปอร์เซ็นต์ จะมีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ต่ำกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีเกลือความเข้มข้นต่ำ ๆ และพบว่าการตรึงเซลล์ใน calcium alginate ช่วยให้มีการผลิตก๊าซไฮโดรได้ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเทือความเค็มในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ calcium alginate ทำหน้าที่ป้องกันเซลล์จากการเกิดความดันออสโมติก (Kurada และ Ohta, 1991) และพบว่ามีการนำเอาไกลโคเจนและคาร์ดบไฮเดรตอื่น ๆ มาใช้เป็นแหล่งให้อิเลคตรอนในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนอีกด้วย

นอกจากนี้ยังพบการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจาก unicellular cyanobacteria ด้วยเช่นกัน เช่น Synechococcus sp. สายพันธุ์ Miami Bg 043511 ซึ่งมีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยอาศัย hydrogen photoproduction จากน้ำ แต่จะพบว่าการผลิตไฮโดรเจนมีอัตราลดลงเมื่อเซลล์มีอายุมากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการลดลงของไกลโคเจนภายในเซลล์ แต่เมื่อมีการเติมสารประกอบอินทรีย์จะทำให้การผลิตก๊าซไฮโดรเจนยังคงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง (Luo และ Mitsui, 1994)

2.3.3 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (photosynthetic bacteria)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ได้รับพลังงานสำหรับการเจริญจากแสงด้วยการเปลี่ยนพลังงานแสงไปเป็นพลังงานเคมีซึ่งเก็บไว้ในรูป adenosine triphosphate (ATP) โดยกระบวนการโฟโตฟอสโฟรีเลชั่น (photophorylation) ต่อมาเซลล์จะนำเอา ATP ที่เกิดขึ้น ไปใช้ในการสังเราะห์สารต่าง ๆ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลต่อไป โดยกลุ่มที่เป็น autotroph จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญแบบ photoherterctroph แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะนำคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในเซลล์ แล้วเปลี่ยนไปตามวัฏจักรคาลวิน (Calvin) และ tricarboxylic acid ด้วยปฏิกิริยาย้อยกลับ ส่วนภายใต้การเจริญแบบ photoherterctroph แบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเคราะห์แสงจะเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์บางชนิดไปในวิถี (pathway) ที่มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างต่างขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบอินทรีย์นั้น ๆ การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย pupple baclfur จะเกิดขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีแสงและต้องการ oxidizable substrate โดย purple sulfurbacteria เช่น thiosulfafe เป็นแหล่งให้อิเลคตรอน โดยกลไกจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดักชั่นของ gydrogen ion และอิเลคตรอนที่ได้จากครอโรฟิลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีการถ่ายทอิเลคตรอนโดยผ่าน transport system ของ photosynthetic apparatus (Lascelles, 1973) ส่วนพวก purple non-sulfur bacteria ที่จัดเป็น photoherterctroph เมื่อเจริญบนสารประกอบอินทรีย์ เช่น glutamate หรือสารตัวกลางที่ได้จากวัฏจักร citric acid ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนและใช้แสง (anaerobic photosynthetic growth) จะมีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ทั้งนี้อาศัยการเกิด reoxidation ของพวก reduced pyridine nucleotide แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะมีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุด ภายใต้สภาวะที่เซลล์สร้าง ATP และ reduced pyridine nucleotide ที่เกินความต้องการขององค์ประกอบที่เกี่ยวข้องกับ biosynthesis

ตัวอย่างของการศึกษาการสร้างก๊าซไฮโดรเจนโดแบคทีเรียพวก purple non-sulfur เช่นมีการแยกเชื้อแบตทีเรียสังเคราะห์แสงชนิด purple non-sulfur ในประเทศไทยตั้งแต่ปี 1979 เป็นต้นมา (Takahashi และคณะ, 1979) รวมทั้งได้ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่คัดแยกได้จากประเทศไทย โดยมีรายงานว่า มีแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ทั้งหมด 29 สายพันธุ์ (Takahashi และคณะ, 1979; Buranakarl และคณะ, 1982) และพบว่าสายพันธุ์ B5 มีอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุดเท่ากับ 140 ไมโครลิตรต่อชั่วโมงต่อมิลกรัมเซลล์ เมื่อใช้ malate เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งให้อิเลคตรอน และใช้ glutamate เป็นแหล่งไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Kim และคณะ, 1982b; Buranakarl และคณะ, 1982)

Zurrer และ Bachofen (1979) ได้ทำการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยกิจกรรมของ Rhodospirillum rubrum เมื่อเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (continuous culture) โดยใช้ glutamate เป็น growth limiting nitrogen source และ lactate เป็นแหล่งให้อิเลคตรอนพบว่ามีอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนเท่ากับ 20 มิลลิเมตรต่อชั่วโมงต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ก๊าซที่ได้มีองค์ประกอบของไฮโดรเจน 70-75 เปอร์เซ็นต์ และคาร์บอนไดออกไซด์ 25-30 เปอร์เซ็น

Segers และ Verstrate (1983) พบว่า Rhodopseudomonus capsulate, Rhodospirillum rubrum และ Rhodomicrobium vannielii สามารถใช้ lactate, acetate และ butyrate ในการสร้างก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยอัตราการผลิต 100-926 มิลลิลิตรของไฮโดรเจนต่อลิตรต่อวัน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>กลุ่มของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง</u> (Staley และคณะ, 1989)
แบคทีเรียสังเคราะห์แสงแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังนี้

2.3.3.1 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม green

แบคทีเรียใน family chlorobiaceae เช่น จีนัส Chlorobium เป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสง green sulfur ทั้งหมดจัดเป็นพวก bligate anaerobe และ obligate phototroph คือสามารถเจริญในที่ไม่มีออกซิเจนและให้แสงเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเท่านั้น เซลล์ของแบคทีเรียที่เจริญในที่ไม่มีออกซิเจนจะไม่มี chromaatophore เนื่องจากออกซิเจนที่มีอยู่ ยับยั้งการสังเคราะห์แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ (Bacteriochlorophyll) ของเซลล์ โดยทั่วไปแบคทีเรียสังเคราะห์แสง แต่บางสายพันธุ์สามารถใช้สารประกอบอินทร์เป็นตัวรีดิวส์หรือแหล่งให้อิเลคตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ เช่น ใช้สารประกอบอินทรีย์ sulfide เป็นแหล่งให้อิเลคตรอนได้ และบางสายพันธุ์สามารถใช้โมเลกุลของไฮโดรเจนได้ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ และ sulfide นอกจากนี้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม green นี้ ยังประกอบตัวแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็น multicellular filamentous ด้วย

2.3.3.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม purple sulfur

จัดอยู่ใน family Chromatiaceae เช่น Chromatium sp. ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติเป็นพวก obligate anaerobe และ obligate phototroph ใช้ sulfide และสารประกอบอนินทรีย์ sulfur และโมเลกุลของไฮโดรเจนเป็นตัวรีดิวส์หรือแหล่งให้อิเลคตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง เมื่อใช้ sulfur และสารประกอบอนินทรีย์ sulfur เป็นผลผลิตสุดท้าย ทำให้มีเม็ด sulfur กระจายอยู่ทั่วไปภายในเซลล์นี้อยู่ทั่วไปภายในเยื่อหุ้มและมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.0 ไมครอน แต่สำหรับ family Ectothiorhodospiraceae เป็นแบคทีเรียที่เม็ด sulfur ถูกสร้างอยู่ภายนอกเซลล์

2.3.3.3 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม purple non-sulfur

จัดอยู่ใน family Rhodospirillaceae เช่น Rhodopseudomonas sp., Rhodocyclus sp., Rhodospirillum sp. และ Rhodomicrobium sp. เป็นต้น ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติเป็น facultative anaerobe และเจริญในสภาวะที่มีแสงได้ สามารถใช้กรดอินทรีย์เป็นตัวรีดิวส์หรือแหล่งให้อิเลคตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง และใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนได้เช่นกัน สำหรับการสังเคราะห์สารไปเป็นส่วนประกอบของเซลล์นั้นแบคทีเรียกลุ่มนี้อาศัยพลังงานจากแสงและจากปฏิกิริยาเคมีได้ดี และยังสามารถใช้สารประกอบอนินทรีย์ในรูปโมเลกุลของไฮโดรเจนได้ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงชนิด purple non-sulfur ขาดความสามารถในการออกซิไดส์ sulfur ไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น sulfate สปีชีส์ส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้เมื่อมี sulfide เป็นแหล่งให้อิเลคตรอนสำหรับการสังเคราะห์แสง ซึ่งเมื่อ sulfide หรือ thiosulfate ถูกใช้เป็นแหล่งให้อิเลคตรอน แบคทีเรียกลุ่มนี้จะออกซิไดส์ sulfide หรือ thiosulfate โดยไม่เกิดสารประกอบอนินทีย์กำมะถันตัวกลาง หรือออกซิไดส์ sulfide หรือ thiosulfate ไปเป็นสารประกอบอนินทรีย์ sulfur ที่จะถูกขับออกนอกเซลล์และจะออกซิไดส์ต่อจนได้ sulfate ได้ยาก

นอกจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่มต่าง ๆ ข้างต้นแล้ว ยังมีแบคทีเรียในจีนัส Heliobacterium และ Erythrobacter ที่จัดเป็นแบคทีเรียสังเคาะห์แสง แต่จะมีลักษณะบางประการที่แตกต่างจากกลุ่มข้างต้น

แบคทีเรียสังเคาะห์แสงในกลุ่ม green suifur และ purple sulfur ต้องการวิตามินบี 12 (vitamin B12)ในการเจริญ แต่แบคทีเรียสังเคาะแสงในกลุ่ม purple non-suifur นั้นต้องการไบโอติน (biotin) , กรดพาราอามิโนเบนโซอิค(p-aminobenzoic acid),กรดนิโคตินิค(nicotinc acid) และไธอะมิน (thiamine HCI) ในการเจริญ เมื่อแบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีแสง จะสร้างรงค์วัตถุที่จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากออกซิเจนยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์รงค์วัตถุ และภายใต้สภาวะดังกล่าวแบคทีเรีย (purple non-suifur)จะได้รับพลังงานจากกระบวนการหายใจ (Lascelles, 1973)

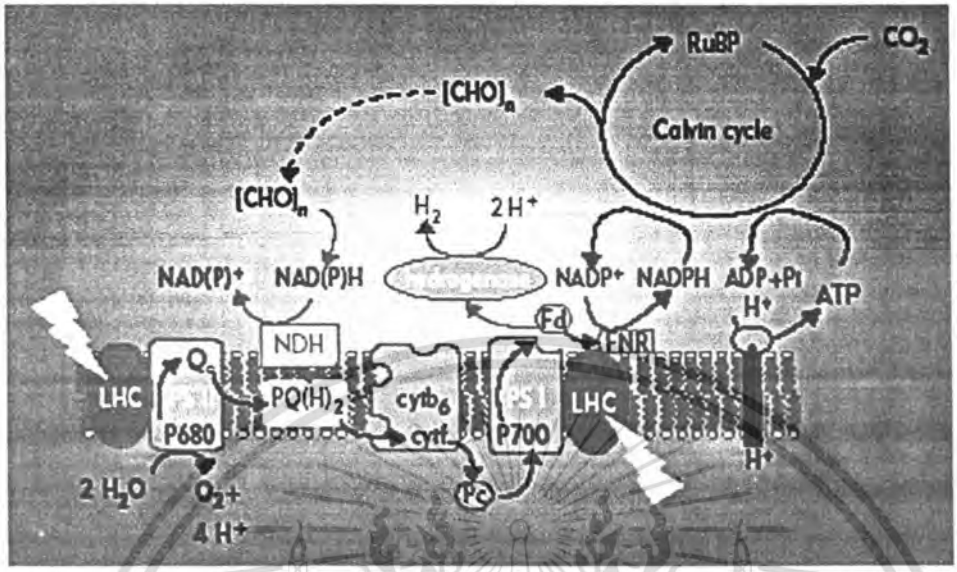
การเกิดไฮโดรเจนสามารถเกิดได้จากกระบวนการหมัก โดยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไพรูเวท ฟอร์เมท Reduced pyridine nucleotides (NADH, NADPH) ในกลไกเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ และกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยปฏิกิริยาreduced ferredoxins ใน Thylakoid membrane กลไกการผลิตไฮโดรเจนทั้งสองชนิดจะต้องเกิดภายใต้สภาวะ ไร้อากาศ เนื่องจากออกซิเจน จะยับยั้งกลไกของปฏิกิริยาของเอนไซม์ไฮโดรจีเนสทั้งสองประเภท การผลิตไฮโดรเจนของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงขึ้นอยู่กับความไวต่อออกซิเจนของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้แก่ Purple Sulfur bacteria (*Thiocapsa* และ *Chromantium*) , Non-Sulfur bacteria *Rhodospirillum* และ *Rhodopseudomonas*) ซึ่งสามารถสร้างไฮโดรเจนได้ในสภาวะไร้อากาศ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงเหล่านี้จะไม่ใช่น้ำเป็นตัวเริ่มในการสร้างไฮโดรเจน แต่จะใช้กรดอินทรีย์เป็นตัวเริ่ม เช่น lactate , acetate ตัวอย่างเช่น สมการดังต่อไปนี้

$$C_3H_6O_3 + 3H_2O \xleftrightarrow{\text{light}} 6H_2 + 3CO_2$$

ทำการทดลองโดยนำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่เป็น non-sulfur จากทะเล ในการทดลองนี้ใช้ *Rhodovulum* sp. มำการเลี้ยงใน marine RCVB medium เสริมด้วย L-malate ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้แสงตลอด เลี้ยงในรูปทรงสี่เหลี่ยม 3×2×2 ซนติเมตร เพื่อนำมาประเมินหา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของแสงและการสร้างไฮโดรเจน พบว่ามีการสร้างไฮโดรเจนอย่างต่อเนื่องภายใต้สภาวะที่มีอากาศ



ภาพที่ 1 แสดง Electron transfer reactions และ metabolic reactions

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบพลังงานที่ได้จากเชื้อเพลิงต่างๆ

เชื้อเพลิง	พลังงานที่ได้ (MJ/kg, 25oC)
ไฮโดรเจน	120
แก๊สโซลีน	47.27
ก๊าซธรรมชาติ	47.21
มีเทน	55.55
น้ำมันก๊าด (kerosene)	46.00
น้ำมันดิบ (crude oil)	45.55
ถ่านหิน	31.38
เอทานอล	29.70
เมทานอล	22.69
ไม้	17.12

ที่มา : Jakub., 2001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 น้ำนมวัว

ชูศรี บำรุงพฤกษ์ (2513 : 13-19) ได้กล่าวถึงเรื่องของนมดังนี้ความหมายของคำว่านมหรือน้ำนมว่า นมหรือน้ำนม (Milk) อาจจะให้คำนิยามได้ว่า เป็นสิ่งที่กลั่นจากเต้านมของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammals) เพื่อใช้เลี้ยงดูลูกอ่อน น้ำนมประกอบด้วยเม็ดไขมันเล็ก ๆ ลอยตัวอยู่ในของเหลวซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยเคซีอิน และโปรตีนอื่น ๆ น้ำตาลนม และเกลือแร่พวก inorganic น้ำนมที่กลั่นก่อน และหลังการคลอดลูกระยะหนึ่งเรียกว่าน้ำนมเหลือง (colostrum) ถ้าจะให้นิยามตามพระราชบัญญัติหรือกฎหมายที่เกี่ยวกับนมแล้ว คำว่า milk หมายถึงสิ่งที่รีดจากเต้านมของแม่โคโดยมิได้แยกออกหรือเจือปนซึ่งวัตถุใด ทั้งนี้ต้องรีดออกจากแม่วัวที่ปราศจากโรคอันอาจติดต่อมาถึงคนได้ และไม่มีนมน้ำเหลืองเจือปนอยู่ นอกจากนี้ยังได้ระบุถึงรายละเอียดอีกต่อไปด้วยถึงปริมาณไขมัน (milk fat) และของแข็งไม่รวมไขมันอีกด้วย

มนุษย์รู้จักใช้นมในการบริโภคมาหลายพันปีแล้ว จากการคัดเลือกและผสมพันธุ์ ทำให้ได้สัตว์ที่มีปริมาณนมมากและเหมาะแก่การบริโภค สัตว์พวกนี้ก็คือ วัว และ แพะ น้ำนมจากสัตว์พวกอื่น ๆ ก็ใช้เป็นอาหารของคนได้เช่นกัน เช่น นมกระบือ แกะแม้กระทั้งนมม้าและลา ส่วนประกอบของน้ำนมจากสัตว์ต่าง ๆ นี้มีคล้ายคลึงกันจะผิดกันไปบ้างก็เป็นส่วนประกอบปลีกย่อยหรือปริมาณเท่านั้น เนื่องจากมีการใช้นมโคเป็นอาหารกันมากทำให้คำว่านมหรือน้ำนม (milk)เป็นความหมายของนมโคไป หากจะกล่าวถึงน้ำนมของสัตว์อื่น ๆ ก็มักจะระบุชนิดของสัตว์ไว้ด้วย เช่น น้ำนมแพะ น้ำนมกระบือ เป็นต้น

ลักษณะทั่วไปของนม สีของน้ำนมแตกต่างกันไปตั้งแต่สีขาวออกน้ำเงินจนไปถึงสีเหลืองทอง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์สัตว์ ปริมาณของไขมัน และของแข็งที่มีอยู่ในน้ำนม ตลอดจนอาหารที่สัตว์กินเข้าไปด้วย น้ำนมจำนวนมาก ๆ จะทึบแสง ถ้าจำนวนน้อยแสงอาจผ่านได้บ้าง สำหรับน้ำนมที่มีการแยกไขมันออกหรือมีไขมันอยู่น้อยในธรรมชาติแล้วสีจะออกทางสีน้ำเงินน้ำนมที่มีรสหวานเล็กน้อย รสอื่นใดนอกเหนือไปจากนี้ถือว่าผิดปกติ สำหรับกลิ่นนั้นน้ำนมที่รีดใหม่ ๆ จะมีกลิ่นเฉพาะซึ่งจะระเหยไปเมื่อนมถูกอากาศ กลิ่นอื่น ๆ ก็ถือว่านมผิดปกติ น้ำนมมี amphoteric reaction มีความเป็นกรดเล็กน้อย ตั่งแต่ 0.10 - 0.25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณเป็นกรดแลคติค น้ำนมสดมี pH 6.5 เมื่อถูกความร้อนนมจะไม่มีลักษณะเปลี่ยนแปลง จนกระทั่งเกือบจะถึงจุดเดือดจะมีแผ่นฝ้าแข็งปรากฏบนผิวหน้า และถ้าถูกความร้อนอยู่เป็นเวลานานสีของน้ำนมจะเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาล ถ้าเติมกรดลงไปในน้ำนมจะมีการตกตะกอนเป็นก้อนขุ่นขาวลักษณะคล้ายเยลลี่เรียกกันว่า curd ซึ่งจะมีน้ำใส ๆ แยกตัวออกมาเรียกว่า whey เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทัศน์จะพบว่าน้ำนมประกอบด้วยเมล็ดไขมันจำนวนมากลักษณะเป็นรูปกลมมีขนาดต่าง ๆ กัน น้ำนมสดถ้าถูกทิ้งไว้ประมาณ 2 - 3 ชั่วโมง ไขมันจะรวมตัวกันเป็นชั้นด้านบนเรียกว่า ครีม และถ้าปล่อยน้ำนมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิธรรมดา 60 - 70 องศฟาเรนไฮร์ (15.6 – 21.1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือนานกว่านั้นจะมีรสเป็นกรดและต่อมาก็จะรวมตัวกันเป็นก้อนนิ่ม ๆ คล้ายเยลลี่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำนมมีองค์ประกอบหลักดังนี้

1. น้ำ
2. ของแข็งทั้งหมดในนม ซึ่งประกอบด้วย
   - ไขมัน
   - โปรตีน
   - น้ำตาล
   - เกลือแร่หรือเถ้า
   - แร่ธาตุ (Minerals)

ถ้านำน้ำนมมาระเหยน้ำให้แห้งแล้วนำไปเผาไหม้จะได้ผงสีขาว ซึ่งเรียกว่า เถ้า นำไปชั่งจะพบว่ามีอยู่ประมาณ 0.7 % และเมื่อคุณศึกษาคุณสมบัติทางเคมีต่อไปจะได้ผลว่า เถ้าเป็นส่วนประกอบที่สลับซับซ้อน มีแร่ธาตุอยู่จำนวนหนึ่งเช่นเดียวกับที่พบในร่างกายสัตว์ น้ำนมประกอบด้วย K, Na, Ca, Mg, Cl, P และ S ค่อนข้างมากและมีพวก Fe, Cu, Zn, Al, Mn, Co และ I เป็นส่วนน้อย นอกจากนี้ยังมี Si, Bo, Ti, Va, Ru, Li, Sr เข้าไปอยู่ในส่วนประกอบของเคซีอินและ lactoglobulin

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของแร่ธาตุที่มีอยู่ในน้ำนมและเถ้าของนม

แร่ธาตุ%	%ในน้ำนม	%ในเถ้าของน้ำนม
K	0.140	20.0
Ca	0.125	17.4
Cl	0.103	14.5
P	0.096	13.3
Na	0.056	7.8
Mg	0.012	1.45
S	0.025	3.6

ที่มา : ชูศรี., 2513

แร่ธาตุในนมส่วนใหญ่ค่อนข้างคงที่ การเปลี่ยนแปลงปริมาณแร่ธาตุในน้ำนม เนื่องมาจากอาหารเกิดขึ้นได้น้อยมากและการขาดแคลเซียม และฟอสฟอรัส ในอาหารก็ไม่มีผลต่อปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัส ในน้ำนมเพราะแม่โคจะดึงจากร่างกายมาใช้ 1 ใน 3 ของแคลเซียมในน้ำนมอยู่ในรูปสารละลาย ส่วนที่เหลืออยู่ในรูปสารแขวนลอย โดยรวมตัวกับ casein , phosphorus และcitrate เมื่อนำนมไปต้มหรือพาสเจอร์ไรท์ร่างกาย สามารถนำแคลเซียมไปใช้ประโยชน์ได้เพียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 - 20% เท่านั้น แต่เนื่องจากในน้ำนมโคมีแคลเซียมสูงกว่าในน้ำนมคนแม้จะใช้นมโคเลี้ยงเด็กก็สามารถให้แคลเซียมอย่างเพียงพอในการเจริญเติบโตของเด็กได้ แร่ธาตุ โปแตสเซียม โซเดียม และคลอรีน สามารถละลายได้ดีในน้ำนม ส่วนแร่ธาตุตัวอื่นๆ จะอยู่ทั้งในรูปสารละลายและสารแขวนลอย

น้ำนม ยู.เอช.ที (U.H.T. Milk)

U.H.T.Milk ย่อมาจากคำว่า Ultra High Temperature or Ultra Treated Milk หมายถึง น้ำนมดิบที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 133 องศาเซลเซียสไม่น้อยกว่า 1 วินาที บรรจุในภาชนะและสภาวะปลอดเชื้อ ทั้งนี้ต้องผ่านกรรมวิธีทำน้ำนมสดให้เป็นเนื้อเดียวกัน

จุดประสงค์การให้ความร้อนแบบยู.เอช.ที.

1.ทำลายเชื้อจุลินทรีย์และสปอร์ทุกชนิด

2.ทำให้เอนไซม์บางชนิดไม่สามารถทำงานได้โดยเฉพาะ lipase และ phosphatase

3.เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาทำให้เก็บได้นานไม่น้อยกว่า 3 เดือน

4.ไม่เกิดกลิ่น cooked flavorกรรมวิธีในการผลิตน้ำนม U.H.T.

2.5 ข้าว

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า (Gramineae) ซึ่งจัดอยู่ในสกุล (genus) *Oryza* สกุลนี้ ประกอบด้วยชนิด (species) ต่าง ๆ ถึง 25 ชนิด แต่ชนิดที่เพาะปลูกเป็นอาหารมีเพียง 2 ชนิด คือ ชนิด *sativa* ซึ่งปลูกทั่วไปในเขตต่าง ๆ ของโลก และ ชนิด *glaberrima* ซึ่งปลูกอยู่บ้างในอัฟริกาตะวันตก *O. glaberrima* แตกต่างจาก *O. sativa* ตรงที่ไม่มีการแตก secondary branch ของ panicle และมีความแตกต่างเล็กน้อยในส่วนของขนบน lemma และความยาวของ ligule

ชนิด *sativa* มีการปรับตัวเข้ากับสภาพท้องที่ต่าง ๆ สามารถจำแนกได้เป็น 3 subspecies คือ subspecies *indica*, *japonica* และ *javanica*

ข้าวทั้ง 3 subspecies ดังกล่าว จะมีแหล่งปลูกต่างกันกล่าวคือ ข้าว *indica* นั้น รวมถึงพันธุ์จากศรีลังกา, จีนทางใต้และตอนกลาง, ชวา, ปากีสถาน, ฟิลิปปินส์, ไต้หวัน และประเทศในเขตร้อนอื่น ๆ ในขณะที่ *japonica* เป็นพันธุ์ที่มีอยู่ทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกของจีน ในญี่ปุ่น และในเกาหลี subspecies *javanica* ซึ่งมีการกำหนดเพิ่มเติมภายหลังหมายถึงข้าวพวก bulu และ gundil ของอินโดนีเซีย (bulu มีหนวดข้าวยาว ส่วนข้าว gundil ไม่มีหนวดข้าว) ต่อมาเมื่อมีการรวบรวมพันธุ์ข้าวจำนวนมาก ๆ พันธุ์เข้าก็พบว่า ลักษณะต่าง ๆ ที่กล่าวแล้วนั้น เป็นลักษณะที่มีความแปรปรวนอย่างต่อเนื่อง และการที่เกิดการเป็นหมัน (sterility) เมื่อผสมระหว่างพันธุ์ก็ไม่สามารถใช้เป็นข้อสรุปได้ว่าเป็นข้าวคนละ subspecies กัน เพราะการเป็นหมัน เป็นเรื่องซับซ้อน และอาจเนื่องจากสาเหตุอื่น ๆ ด้วยไม่ใช่เป็นเพราะต่าง subspecies กันเพียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96952

อย่างเดียว ดังนั้นการจำแนกข้าวเป็น 3 subspecies ตามสภาพท้องที่ก็ค่อย ๆ ลดความสำคัญลง เพราะมีพันธุ์บางพันธุ์ที่จัดว่าอยู่ใน japonica group ขึ้นอยู่แถบเนปาล, รัฐ Orissa ในอินเดีย และทางภาคเหนือของไทย

<u>การจำแนกทางอนุกรมวิธาน</u> (Taxonomic classification)

Class : Angiospermae

Subclass : Monocotyledoneae

Order : Graminales

Family : Gramineae

Sub-family : Pooideae

Tribe : *Oryzeae*

Genus : *Oryza*

Species : *sativa*

Scientific name : *Oryza sativa* L.

Common name : Rice

<u>เมล็ดข้าว</u> (Rice fruit, Rice grain, Rice seed)

เมล็ดข้าวเป็นผลชนิด caryopsis ซึ่งจะมีเมล็ด (seed) ติดกับผนังรังไข่ที่สุกแล้ว (pericarp) เมล็ดข้าวประกอบด้วยรังไข่ที่สุกแล้วพร้อมทั้งมี lemma, palea rachilla,sterile lemmas และหนวดข้าว (ถ้ามี) ติดอยู่ ส่วนที่เป็นเปลือกคือ lemma, palea, sterile lemma, rachilla และหนวดข้าว รวมเรียกว่า แกลบ (hull หรือ husk)

เมล็ดข้าวที่แยกส่วนแกลบออกเรียกว่า caryopsis หรือ ข้าวกล้อง (brown rice) ชั้นนอกสุดของข้าวกล้องคือชั้นของ pericarp ซึ่งแบ่งย่อยออกได้เป็น 3 ชั้น คือ epicarp, mesocarp และ endocarp ถัดจาก pericarp เข้ามาจะเป็นชั้นของ tegmen หรือ seed coat ถัดจาก tegment เข้ามาจะเป็นชั้นของ aleurone layear aleurone layer จะเป็นเยื่อชั้นในสุดที่ห่อหุ้ม endosperm และ คัพภะ (embryo)

คัพภะ ซึ่งอยู่ทางด้านล่างของเมล็ดทางด้าน lemma จะประกอบด้วยส่วนที่จะเจริญเป็นต้นเรียกว่า plumule และส่วนที่จะเจริญเป็นรากเรียกว่า radicle

Plumule จะถูกหุ้มด้วย coleoptile และ radicle จะมี coleorhiza ห่อหุ้ม ซึ่งองค์ประกอบทั้ง 4 นี้ รวมเรียกว่า embryonic axis ซึ่งจะถูกยึดทางด้านในโดย scutellum (cotyledon) ซึ่งอยู่ติดกับ endosperm ส่วนของ coleoptile จะถูกล้อมรอบด้วย scutellum และ epiblast ซึ่งเป็นท่อส่งน้ำส่งอาหารที่เชื่อมติดกับด้านข้างของ scutellum

Endosperm จะประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่อยู่ปะปนกับโปรตีน ข้าวเหนียวจะมีแป้งชนิด amylopectin เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเมื่อทำปฏิกริยากับสารละลายไอโอดีนโปตัสเซียม ไอโอไดด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะให้สีน้ำตาลแดง ส่วนแป้งข้าวเจ้าจะมีทั้ง amylose และ amylopectin ซึ่งเมื่อทำปฏิกริยากับสารละลายไอโอดีน-โปตัสเซียมไอโอไดด์ จะให้สีน้ำเงินเข้ม ใน endosperm นอกจากจะประกอบด้วย แป้งและโปรตีนแล้วยังประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ, ไขมัน, เยื่อใย และสารอินทรีย์

ข้าวเหนียว (glutinous rice) จะมีแป้งอะมัยโลเพคตินเป็นส่วนใหญ่คือประมาณ 95% และมีแป้งอะมัยโลสน้อยมากหรือไม่มี ส่วนข้าวเจ้า (non-glutinous rice) นั้นมีปริมาณอะมัยโลสสูง 10-30% มีอะมัยโลเพคติน 70-90% ตัวอย่างข้าวเจ้าพันธุ์ดีที่ทางการแนะนำได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105, ขาวตาแห้ง 17, เหลืองปะทิว 123, กำผาย 41, กข. 1, กข. 5, กข.7 ฯลฯ ส่วนพันธุ์ข้าวเหนียวที่ทางการแนะนำ ได้แก่ เหนียวสันป่าตอง, กข.2, กข.4, กข.6, กข.8 , กข.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 น้ำทิ้งมีลักษณะเป็นสารละลายสีแดง

3.1.1.2 นมวัว

3.1.1.3 แป้งข้าวจ้าว

3.1.1.4 แป้งข้าวเหนียว

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 เครื่องชั่งละเอียด4ตำแหน่ง–รุ่นNO.4120,บริษัทOHAUSCorporation , Swizerland

3.1.2.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ(Autoclave) - รุ่น SS 245,บริษัท Tomy Seiko Co,LTD , Japan

3.1.2.3 กล้องจุลทรรศน์ – รุ่น CH30RF200,บริษัท Olympus Optical CO.,LTD , Japan

3.1.2.4 ตู้อบลมร้อน (Oven) - บริษัท WTB binder ,Germany

3.1.2.5 Hot Plate – รุ่น C8-2 , บริษัท Kendo Electric CO.,LTD. , Thailand

3.1.2.6 ช้อนตักสาร

3.1.2.7 เข็มเขี่ยเชื้อ (loop)

3.1.2.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.2.9 กระดาษชั่งสาร

3.1.2.10 rack

3.1.2.11 กระบอกน้ำกลั่น

3.1.2.12 สายยาง

3.1.2.13 จุกยางเบอร์ 10

3.1.3 เครื่องแก้ว

3.1.3.1 จานเพาะเชื้อ

3.1.3.2 หลอดทดลอง

3.1.3.3 Erlementary flask ขนาด 250 ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.4 ปิเปต ขนาด 0.1, 5 และ 10 ml.

3.1.3.5 บีกเกอร์ ขนาด 250 ml.

3.1.3.6 กระบอกตวง 100,200 ml.

3.1.3.7 แท่งแก้วคน

3.1.2.8 ท่อนำก๊าซ

3.1.3.9 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.3.10 จานเพาะเชื้อ

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์

3.1.2.2 I_2/KI

3.1.2.3 สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4)

3.1.2.4 ผงโลหะนิเกิล (Ni)

3.1.2.5น้ำมันมะกอก

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.3.1 อาหาร Basal medium pH 6.8-7.2 เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์ทั่วไป ซึ่งประกอบด้วย KH_2PO_4 0.33 กรัม, $MgSO_4.7H_2O$ 0.33 กรัม, NaCl 0.5 กรัม, $CaCl_2.2H_2O$ 0.05 กรัม, Sodium succinate 1.0 กรัม, Yeast extract 0.02 กรัม และ แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร (Noparatnaraporn, N. and Nagai, S., 1986)

3.1.3.2 อาหาร A-T medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม Purple Non-Sulfur bacteria ในระดับ species ซึ่งประกอบด้วย $NaHCO_3$ 3.0 กรัม, NH_4Cl 1.0 กรัม, Na_2S 0.39 กรัม, $MgCl_2.6H_2O$ 0.5 กรัม, K_2HPO_4 0.5 กรัม, $CaCl_2.2H_2O$ 0.1 กรัม, NaCl 1.0 กรัม, Na_2SO_4 0.7 กรัม, Na-acetate 1.0 กรัม, Yeast extract 1.5 กรัม Trace element solution 1.0 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

3.2 การดำเนินการ

การดำเนินการมี 7 ขั้นตอน คือ

3.2.1 เก็บน้ำตัวอย่าง

3.2.2 แยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

3.2.3 ทดสอบการผลิตก๊าซ

3.2.4 ศึกษาชนิดวัตถุดิบในอาหาร Basal medium และน้ำกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

3.2.5 ศึกษา และติดตามการหมัก

3.2.6 วิเคราะห์ก๊าซที่ผลิตได้

3.2.7 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์

3.3 สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 วิธีการดำเนินการ

3.4.1 <u>การทดลองที่ 1. เก็บน้ำตัวอย่าง</u>

3.4.1.1 เก็บน้ำตัวอย่างที่คาดว่าจะมีแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

3.4.1.1.1 คูน้ำข้างถนนฉลองกรุง จำนวน 2 ตัวอย่าง

3.4.1.1.2 เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 1 ตัวอย่าง

3.4.1.1.3 อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ตัวอย่าง

3.4.1.2 สังเกตสีและการเกิดก๊าซ โดยปิเปตน้ำตัวอย่าง 15 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาดกลางที่มีหลอดดักก๊าซ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องและมีแสง

3.4.1.3 ตรวจดูการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซและนำหลอดที่พบก๊าซไปทดลองต่อในการทดลองที่ 2. ต่อไป

3.4.2 <u>การทดลองที่ 2. แยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง</u>

3.4.2.1 นำน้ำตัวอย่างผ่านการทดสอบในข้อ 3.4.1 มา Spread plate ในอาหารแข็ง Basal medium

3.4.2.2 นำไปบ่มภายใต้สภาวะไร้อากาศในแอนแอโรบิกจาร์ และมีแสง โดยใช้หลอดไฟนีออนเป็นแหล่งกำเนิดแสงเป็นเวลา 3-5 วัน

3.4.2.3 ตรวจหาโคโลนีในอาหารแข็ง สีเหลือง ส้ม น้ำตาล ชมพู แดง และเขียวทั้งบนวุ้นและใต้วุ้น

3.4.2.4 นำโคโลนีจากข้อ 3.4.2.3 ไป streak บนอาหารแข็ง Basal mediumบ่มภายใต้สภาวะไร้อากาศในแอนแอโรบิกจาร์ และมีแสง โดยใช้หลอดไฟนีออนเป็นแหล่งกำเนิดแสงเป็นเวลา 3-5 วัน เพื่อแยกโคโลนีเดียว

3.4.2.4 นำโคโลนีเดียวจากข้อ3.4.2.4ไป Strap ใน slant อาหารแข็ง Basal medium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การทดลองที่ 3. ทดสอบการผลิตก๊าซ

3.4.3.1 บรรจุอาหางเหลว Basal medium ในหลอดฝาเกลียวขนาดกลางที่มีหลอดดักก๊าซ โดยมีช่องว่างของอากาศประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3.4.3.2 ก่อนนำไปใช้ต้องอุ่นอาหารเหลว Basal medium ในหลอดฝาเกลียว โดยคลายฝาออกก่อน แล้วอุ่น 30 นาทีเพื่อไล่อากาศ

3.4.3.3 เมื่ออุ่นเสร็จปิดฝาให้สนิท และหล่อเย็นจนเท่ากับอุณหภูมิห้อง

3.4.3.4 ถ่ายเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่แยกได้มาเลี้ยงในหลอด ปิดฝาให้สนิท

3.4.3.5 บ่มที่อุณหภูมิห้องและมีแสงแดดส่องถึงเป็นเวลา 5 วัน

3.4.3.6 เลือกหลอดที่เกิดก๊าซไปทดลองในการทดลองต่อไป

3.4.4 การทดลองที่ 4. ศึกษาชนิดวัตถุดิบ เพื่อใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ในอาหาร Basal medium และน้ำกรอง

3.4.4.1 เตรียมอาหารลงในขวดแก้วทรงแบนขนาด 700 มิลลิลิตร โดยกำหนดส่วนผสมที่เติมลงในอาหารเหลว Basal medium และน้ำกรอง ดังตารางที่ 3.4.4.1

ตารางที่ 4 แสดงปริมานส่วนผสมของวัตถุดิบที่เติม และไม่เติมลงใน Basal medium

ชุดที่	Basal medium			ชุดที่	น้ำกรอง		
	นมวัว (กรัม/ลิตร)	แป้งข้าวจ้าว (กรัม/ลิตร)	แป้งข้าวเหนียว (กรัม/ลิตร)		นมวัว (กรัม/ลิตร)	แป้งข้าวจ้าว (กรัม/ลิตร)	แป้งข้าวเหนียว (กรัม/ลิตร)
1	-	-	-	5	-	-	-
2	30	-	-	6	30	-	-
3	-	30	-	7	-	30	-
4	-	-	30	8	-	-	30

3.4.4.2 นำอาหารที่เตรียมได้ใส่ลงในขวดแก้วทรงแบนขนาด 700 มิลลิลิตร ปริมาณ 600 มิลลิลิตร

3.4.4.3 ติดตั้งอุปกรณ์ โดยต่อจุกยางเข้ากับท่อนำก๊าซที่มีปลายด้านหนึ่งจุ่มอยู่ที่ก้นขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น

3.4.4.5 นำเชื้อที่ผ่านการทดสอบการผลิตก๊าซจากทดลองที่ 3. ถ่ายลงในขวดอาหารที่เตรียมไว้ ปิดจุกสนิทแล้วชั่งน้ำหนักเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.6 บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่ที่มีแสงแดดส่องถึงเป็นเวลา 5 วัน ตรวจผลโดยชั่งน้ำหนักทุกๆ 24 ชั่วโมง

3.4.4.7 เลือกชุดการทดลองที่มีน้ำหนักหายไปมากที่สุดไปทำการทดลองต่อในการทดลองที่ 5. ต่อไป

3.4.5 <u>การทดลองที่ 5. การศึกษา และติดตามการหมัก</u>

3.4.5.1 เมื่อคัดเลือกชุดการทดลองที่มีน้ำหนักหายไปมากที่สุดในการทดลองที่ 3.4.4 โดยเลี้ยงในสภาวะ และอาหารเดิม

3.4.5.2 ต่อท่อนำก๊าซผ่านสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเก็บก๊าซที่ผ่านสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยการแทนที่น้ำในบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร

3.4.5.3 ตรวจบันทึกการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง และปริมาตรก๊าซที่ได้ทุกๆ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งไม่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาตรก๊าซ

3.4.5.5 เมื่อบันทึกปริมาตรก๊าซแล้วเก็บก๊าซในบิวเรต โดยการแทนที่น้ำในกระบอกตวงแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ก๊าซต่อไป

3.4.5.6 ทดสอบการติดไฟของก๊าซในบิวเรต

3.4.6 <u>การทดสอบการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันกับน้ำมันมะกอก</u>

3.4.6.1นำก๊าซที่เก็บในระหว่างการหมักจากทดลองที่ 3.4.5 มาทำปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันกับน้ำมันมะกอก โดยใช้ Ni เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิที่ 70°C โดยเปรียบเทียบกับก๊าซไฮโดรเจนและอากาศปกติ

3.4.6.2 นำน้ำมันมะกอกปกติ และน้ำมันมะกอกที่ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันมาเจือจางเป็น 200 ppm. แล้วนำไปสแกนด้วย UV- Spectrometer

3.4.6.3 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสง (Nishimura, S.,1986)

3.4.7 <u>การทดลองที่ 6. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์</u>

3.4.7.1 นำจากการที่ใช้ในการทดลองที่ 3.4.5 มา streak plate บนอาหารแข็ง Basal medium และ A-T medium

3.4.7.2 นำไปบ่มภายใต้สภาวะไร้อากาศในแอนแอโรบิกจาร์ และมีแสง โดยใช้หลอดไฟนีออนเป็นแหล่งกำเนิดแสงเป็นเวลา 5 วัน

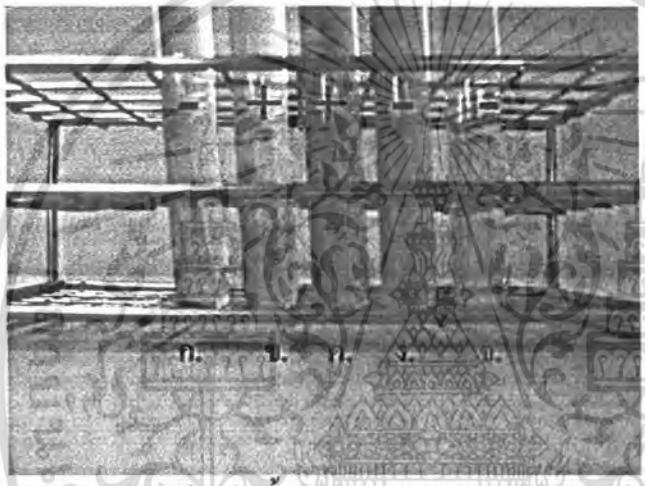
3.4.7.3 ตรวจดูสี และลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่าย้อมแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการเก็บน้ำตัวอย่าง และทดสอบน้ำตัวอย่าง

จากการเก็บตัวอย่างเก็บน้ำตัวอย่างที่คาดว่าจะมีแบคทีเรียสังเคราะห์แสง คูน้ำข้างถนนฉลองกรุง จำนวน 2 ตัวอย่าง เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 1 ตัวอย่าง และที่ อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ตัวอย่าง แล้วนำมาทดสอบการเกิดก๊าซพบว่า ตัวอย่างที่ คูน้ำข้างถนนฉลองกรุง จำนวน 1 ตัวอย่าง และเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 1 มีการสร้างก๊าซในหลอดทดสอบ



ภาพที่ 2 การทดสอบการเกิดแก๊สของน้ำตัวอย่าง

ก.,ข.สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง **ค.,ง.** คูน้ำข้างถนนฉลองกรุง **จ.** อ.บ้านโพธิ์ จ.ฉะเชิงเทรา

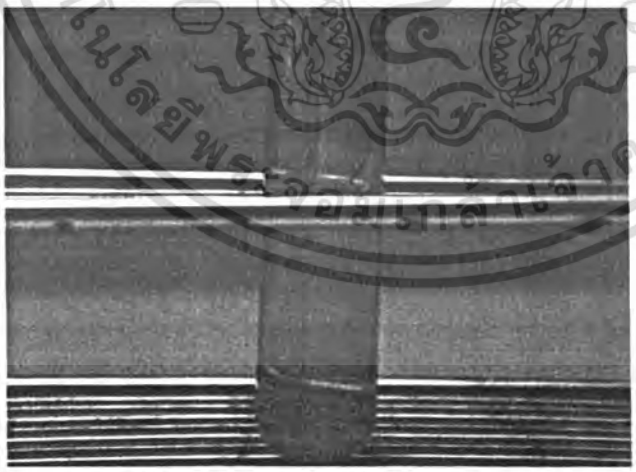
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง จากน้ำตัวอย่างที่ คูน้ำข้างถนนฉลองกรุง จำนวน 1 ตัวอย่าง และสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังจำนวน 1 ตัวอย่าง พบโคโลนีจุลินทรีย์สีเขียวจากตัวอย่างที่เก็บจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และโคโลนีสีแดงจากตัวอย่างที่เก็บจากคูน้ำข้างถนนฉลองกรุง นำมาแยกโคโลนีเดียว

ภาพที่ 3 การเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในจานเพาะเชื้ออาหาร Basal medium

จากนั้นนำโคโลนีเดี่ยวทาแทงในหลอดอาหาร Basal medium พบว่าสามารถเจริญได้ตามแนวรอยแทง



ภาพที่ 4 การเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในหลอดอาหาร Basal medium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการทดสอบการผลิตก๊าซในอาหารเหลว Basal medium

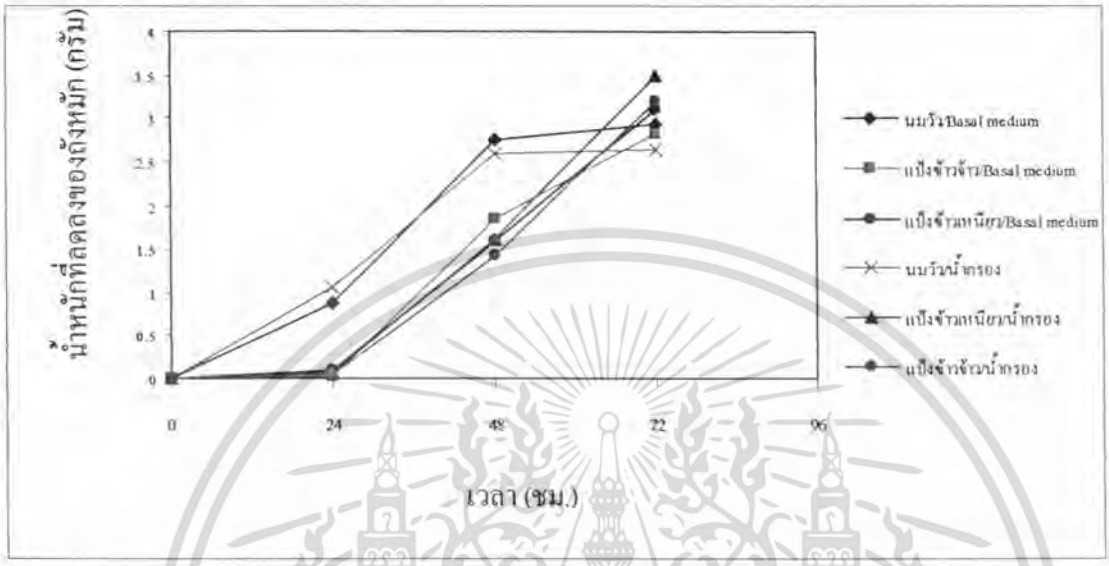
เมื่อนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบการผลิตก๊าซในอาหารเหลว Basal medium พบว่าเชื้อทั้งสองสามารถเจริญได้ทั่วทั้งหลอดอาหารเหลว และมีสร้างก๊าซในหลอดดักก๊าซ

ภาพที่ 5 การทดสอบการผลิตก๊าซในหลอดอาหารเหลว Basal medium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการศึกษาชนิดวัตถุดิบ เพื่อใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ในอาหาร Basal medium และน้ำกรอง

จากการการศึกษาชนิดวัตถุดิบ เพื่อใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ในอาหาร Basal medium และน้ำกรอง โดยการติดตามการลดลงของน้ำหนักของถังหมักและอาหารเป็นดังนี้



ภาพที่ 6 แสดงน้ำหนักที่ลดลงของถังหมัก

4.4.1 จากกราฟพบว่านมวัวมีอัตราการลดลงของน้ำหนักที่มากกว่าแป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวเหนียวในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ที่ 24-48 ชั่วโมงมีอัตราการลดลงของน้ำหนักใกล้เคียงกัน และที่ช่วง 48-72 ชั่วโมง นมวัวมีอัตราการลดลงของน้ำหนักลดลง ส่วนแป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวเหนียวมีอัตราการลดลงของน้ำหนักค่อนข้างคงที่ เนื่องจากนมวัวมีส่วนประกอบที่เป็นน้ำมากกว่าแป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวเหนียว และมีปริมาณอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนน้อยกว่า

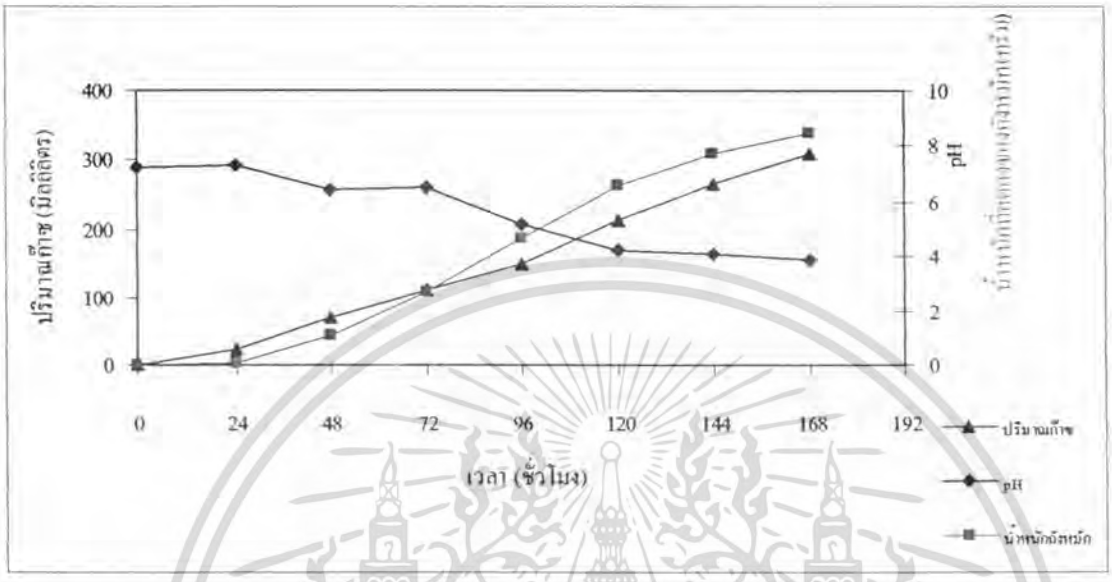
4.4.2 เปรียบเทียบการหมักวัตถุดิบในอาหาร Basal medium และน้ำกรอง พบว่าในน้ำกรองมีอัตราการลดลงของน้ำหนักมากกว่าในอาหาร Basal medium

4.4.3 แป้งข้าวเหนียวในน้ำกรองมีอัตราการลดลงของน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุด จึงเลือกชุดการทดลองนี้ไปทดสอบในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการศึกษา และติดตามการหมัก

จากการศึกษา และติดตามการหมักโดยติดตามค่า pH ปริมาตรก๊าซ และการลดลงของน้ำหนักของถังหมักและอาหาร เป็นดังนี้



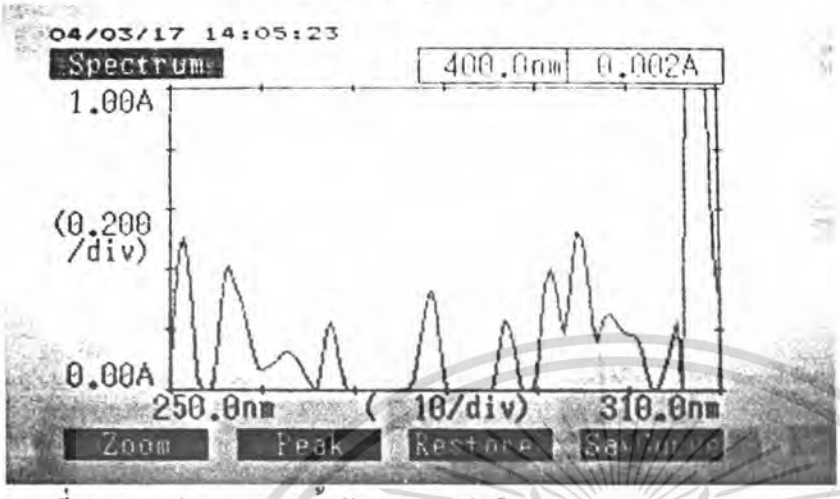
ภาพที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ น้ำหนักที่ลดลงของถังหมัก pH และปริมาตรก๊าซ

จากกราฟพบว่าการลดลงของของน้ำหนักของถังหมักและอาหารแปลผันตรงกับปริมาตรก๊าซ และแปลผกผันกับค่า pH

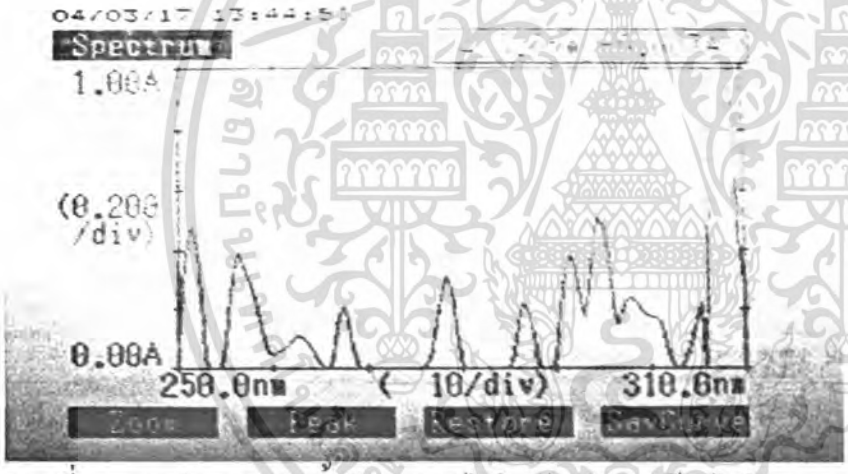
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลการวิเคราะห์ก๊าซที่ผลิตได้

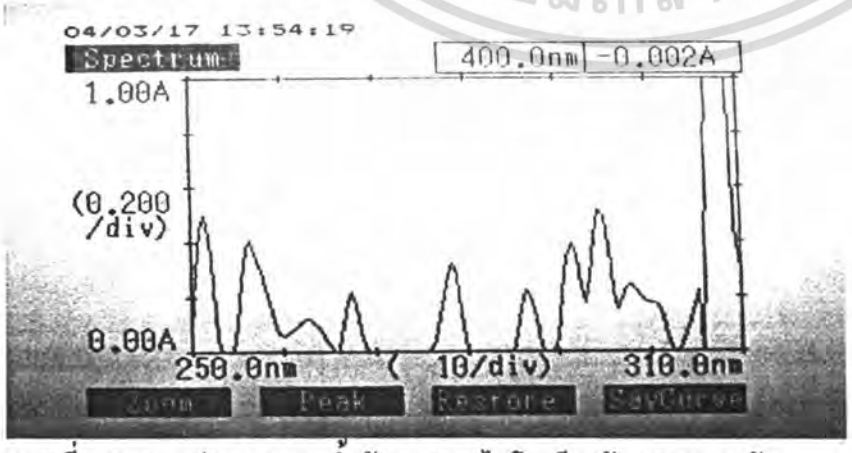
จากการนำน้ำมันมะกอกปกติ และน้ำมันมะกอกที่ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันมาเจือจางเป็น 200 ppm. แล้วนำไปสแกนด้วย UV- Spectrometer ได้กราฟดังนี้



ภาพที่ 8 กราฟการสแกนน้ำมันมะกอกปกติ

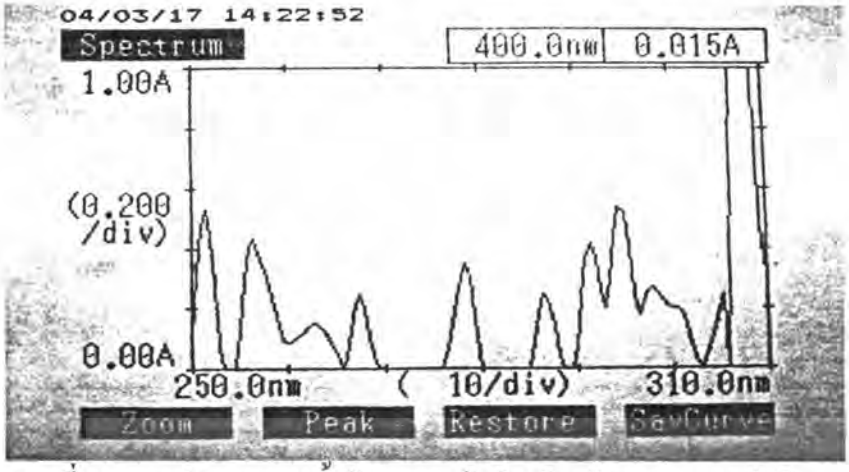


ภาพที่ 9 กราฟการสแกนน้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากก๊าซไฮโดรเจน



ภาพที่ 10 กราฟการสแกนน้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 11 กราฟการสแกนน้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากอากาศปกติ

ตารางที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันมะกอกที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 237, 256.5 และ294.5 นาโนเมตร

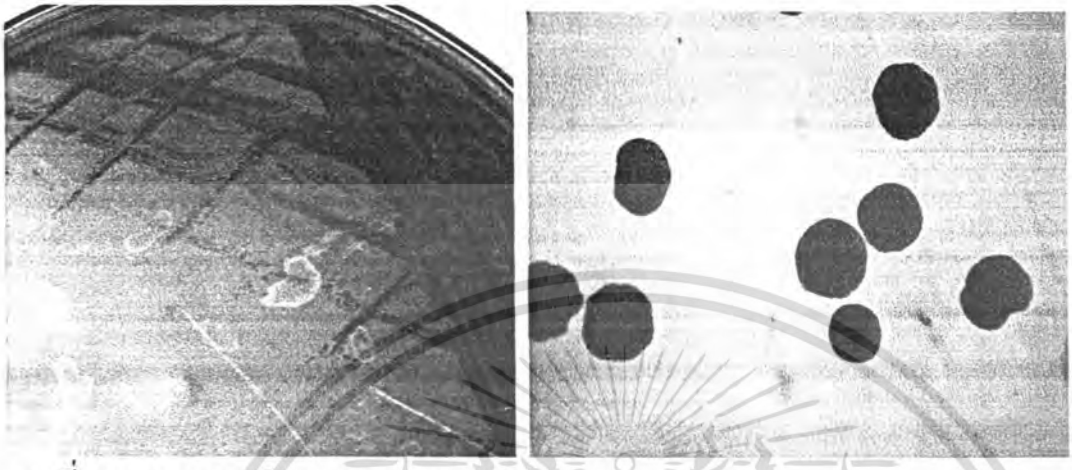
น้ำมันมะกอกที่ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชัน	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 237 nm.	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 256.5 nm.	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 294.5 nm.
น้ำมันมะกอกปกติ	0.158	0.411	0.518
น้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากการหมัก	-	0.404	0.513
น้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากก๊าซไฮโดรเจน	0.133	0.394	0.506
น้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากอากาศปกติ	0.180	0.434	-

จากค่าการดูดกลืนแสงพบว่าปริมาณการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันของน้ำมันมะกอกต่าง ๆ พบว่าน้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากอากาศปกติมีค่ามากที่สุดรองลงมาคือน้ำมันมะกอกปกติ น้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากการหมัก และน้ำมันมะกอกไฮโดรจีเนชันจากก๊าซไฮโดรเจน ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์

จากการที่ใช้ในการทดลองที่ 3.4.5 มา Streak plate บนอาหารแข็ง Basal medium และ A-T medium พบโคโลนีสีแดง ดังภาพที่ 11



ภาพที่ 12 แสดงการเจริญบนอาหาร A-T medium

ย้อมแกรม ตรวจดูสี และลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าตัวเซลล์เป็นรูปแท่ง ติดสีแกรมบวก

ภาพที่ 13 การย้อมแกรม และส่องดูด้วยกล้องจุลฯกำลังขยาย 1000 เท่า

จากการทดลองพบว่าเชื้อที่แยกได้เป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่ม Purple non-sulfer bacteria

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองครั้งนี้ข้อบกพร่องหลายสิ่งที่ต้องปรับปรุง

1. ควรเก็บตัวอย่างที่คาดว่าจะมีแบคทีเรียที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงให้มากขึ้น
2. ควรเพิ่มชนิดวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาและใช้ในอัตราส่วนให้หลากหลายหรือใช้ผสมกัน
3. ควรเพิ่มปริมาตรถังหมักให้ใหญ่ขึ้นและใช้แสงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงานเพื่อให้ใกล้เคียงกับการนำไปใช้จริง
4. ควรปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ก๊าซไฮโดรเจนให้ง่ายต่อการแปรผลและเที่ยงตรงมากขึ้น
5. ก๊าซที่ผลิตได้ควรหาวิธีนำไปใช้อย่างง่ายๆ และวิเคราะห์ความคุ้มทุน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ประพาส วีระแพทย์. 2521. ความรู้เรื่องข้าว. สาขาคัดพันธุ์ต้านทานศัตรูข้าว. กองการข้าว กรมวิชาการเกษตร. 71 หน้า.

ธนาคารกสิกรไทย. 2536. น้ำมันและพลังงาน. (ม.ป.ท.)

สำนักงานคณะกรรมการนโยบายพลังงานแห่งชาติ. 2542. สถานการณ์ในช่วง 10 เดือนแรก ของปี 2542. นโยบายพลังงาน 46:99-118.

บันเทิง ตัณฑวัฒน์. 2536. รายงานประจำปี 2535. กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคดนโลยี และ สิ่งแวดล้อม, กรุงเทพฯ. 858น.

นภาวรรณ นพรัตนราภรณ์. และกฤตวรรณ วงศ์ศิริเดช. 1996 การศึกษาแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ในอีเอ็ม. ว. เกษตรศาตร์ (วิทย์.) ปีที่ 30: 32-33, 1996

Anonymous. 2002. "Hydrogen Pure and Simple." Hydrogen Economy, NREL/JA-810-31697., July2002. pp.10-13.

Gray, C. T. and H. Gest. 1965. Biological formation of molecular hydrogen. Science 148 : 186-192.

Haffman, P. 1935. The forever Fuel : The Story of molecular hydrogen. Science 148 : 186-192.

Imhoff, JF. And HG. Truper. Int. J. Syst. Bacterology, 150: 130-139, 1992.

Jakub puze. Altnative Energy Sourse. February 2001.

Kim, J.S., K. Ito, H. Yamauchi and H. Takahashi. 1982 b. Selection of a photosynthetic bacterium suitable for hydrogen production in outdoor cultures among stains isolated in Seoul, Taegu, Sendia and Bangkok areas. Agric. Biol chem. 46(6) : 1469-1474.

Kumar, G. R., and T. M. Vatsala. 1989. Hydrogen production from glucose by *Citrobacter freundii*. Indian J. of Experimental-Biology 27(9) : 824-825.

Lascelles, J. 1973. Microbial Photosynthesis. Dowden, Hutchison Ross, Inc., Pennsylvania. 401 p.

Luo H. Y. and A. Mitsui. 1994. Hydrogen production by organic subtrate in anerobic nitrogen fixing marine unicellular Cyanobacterium. Biotech. Bioeng. 44: 1255-1260.

Nishimura, S. Handbook of Heterogeneous Catalytic Hydrogenation for Organic Synthesis.,Tokyo ,2001

Noparatnaraporn, N. and Nagai, S.1986. "Selection of *Rhudobacter sphaeroides* P47 as a useful soruce of singer cell protein. J. Appl Gen. Microbiol 32 (6), 1986

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.Basal medium pH 6.8-7.2

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์ทั่วไป ซึ่งประกอบด้วย KH_2PO_4 0.33 กรัม, $MgSO_4.7H_2O$ 0.33 กรัม, NaCl 0.5 กรัม, $CaCl_2.2H_2O$ 0.05 กรัม, Sodium succinate 1.0 กรัม, Yeast extract 0.02 กรัม และ แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร (Noparatnaraporn, N. and Nagai, S., 1986)

2. A-T medium

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม Purple Non-Sulfur bacteria ในระดับ species ซึ่งประกอบด้วย $NaHCO_3$ 3.0 กรัม, NH_4Cl 1.0 กรัม, Na_2S 0.39 กรัม, $MgCl_2.6H_2O$ 0.5 กรัม, K_2HPO_4 0.5 กรัม, $CaCl_2.2H_2O$ 0.1 กรัม, NaCl 1.0 กรัม, Na_2SO_4 0.7 กรัม, Na-acetate 1.0 กรัม, Yeast extract 1.5 กรัม Trace element solution 1.0 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้