การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหาร BG11

HYDROGEN PRODUCTION OF GREEN ALGA *Tetraspora* sp. CU2551 IN BG11 MEDIUM

นายนพรัตน์ เอี่ยวไทย

นางสาวประราศี ทองอำปา

นางสาวอมลรดา ด้านประสิทธิ์

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเคมีสิ่งแวดล้อม

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหาร BG11

HYDROGEN PRODUCTION OF GREEN ALGA *Tetraspora* sp. CU2551 IN BG11 MEDIUM

นายนพรัตน์ เพ็ชรไทย

นางสาวปะราลี หอมจำปา

นางสาวอมลรดา ตันประสิทธิ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเคมีสิ่งแวดล้อม

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

HYDROGEN PRODUCTION OF GREEN ALGA *Tetraspora* sp. CU2551 IN BG11 MEDIUM

MISTER NOPPARAT PETCHTHAI

MISS PARALI HOMCHAMPA

MISS AMOLRADA TANPRASITH

A SPECIAL PROJECT PROBLEM EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN ENVIRONMENTAL CHEMISTRY

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหาร BG11

Hydrogen production of alga *Tetraspora* sp. CU2551 in BG11 medium

ชื่อนักศึกษา นายนพรัตน์ เพ็ชรไทย 55050935

นางสาวปะราลี หอมจำปา 55050956

นางสาวอมลรดา ตันประสิทธิ์ 55051035

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เคมีสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์ ประธานกรรมการ	
ดร.ธิปชัย วัฒนวิจารณ์ กรรมการ	
ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2251 ในอาหาร BG11 Hydrogen production of alga *Tetraspora* sp. CU2251 in BG11 medium
ชื่อนักศึกษา	นายนพรัตน์ เพ็ชรไทย 55050935 นางสาวปะราลี หอมจำปา 55050956 นางสาวอมลรดา ตันประสิทธิ์ 55051035
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมีสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

บทคัดย่อ

ปัจจุบันสังคมให้ความสนใจกับปัญหาสิ่งแวดล้อมมากขึ้นทำให้เกิดการคิดค้นหาแหล่งพลังงานทางเลือกที่ยั่งยืน ไฮโดรเจนเป็นพลังงานทางเลือกหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจากเป็นพลังงานที่สะอาด ในปัจจุบันการผลิตไฮโดรเจนจากสาหร่ายเป็นที่น่าสนใจเนื่องจากสาหร่ายสามารถผลิตไฮโดรเจนได้ภายใต้สภาวะที่มีแสงเป็นแหล่งพลังงานและยังสามารถเจริญเติบโตในสภาวะออโตโทรป สาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 เป็นสาหร่ายที่ให้ผลผลิตของไฮโดรเจนสูง โครงงานพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของอาหารและออกซิเจนในอากาศต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในระบบอาหาร BG11 จากการทดลองพบว่าสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหาร BG11 และ BG11 ที่ขาดแหล่งฟอสฟอรัส (BG11-P) โดยที่ในอาหาร BG11-P สาหร่ายจะโตได้เป็นครึ่งหนึ่งของสภาวะในอาหาร BG11 ผลการศึกษาการผลิตก๊าซพบว่า ตรวจไม่พบก๊าซไฮโดรเจนทั้งในอาหาร BG11 และ BG11 ที่ขาดแหล่งอาหารต่างๆ ทั้งภาวะที่มีออกซิเจนและขาดออกซิเจน อย่างไรก็ตามการเลี้ยง *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหาร tris-acetate-phosphate (TAP) เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วทำการย้ายเซลล์ไปสู่อาหารต่างๆ ภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน พบว่า BG11-N (ขาดไนโตรเจน) จะให้อัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงที่สุด คิดเป็น 8.92 nmol/mgCell/h ตามด้วย BG11-N-P-S BG11-N-P BG11-N-S และ BG11-P จะให้อัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนคิดเป็น 2.21 2.17 1.73 และ 0.20 nmol/mgCell/h ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการเพิ่มโอกาสสำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551

คำสำคัญ : พลังงานสะอาด, สาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551, ไฮโดรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Hydrogen production of alga *Tetraspora* sp. CU2251 in BG11 medium
Students	Mr. Nopparat Petchthai Miss Parali Homchampa Miss Amolrada Tanprasith
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Environmental Chemistry
Academic Year	2015
Advisor	Dr. Cherdsak Maneeruttanarungroj

ABSTRACT

Nowadays, our socials interested in the environmental problems leading to the searching for the sustainable energy source. Hydrogen is one of best choice in alternative energy source since it serves as the clean energy source. Hydrogen production from microalgae is interesting since algae can produce the gas under light illumination and can grow under autotrophic condition. Green alga *Tetraspora* sp. CU2551 is previously characterized as the hydrogen-producing organism. This study focuses on the effect of medium and oxygen in the air to the gas production in BG11 medium system. The results showed that *Tetraspora* sp. CU2551 could grow in BG11 and BG11 deprived nitrogen (BG1-N), a half rate was observed in BG11-P compared to BG11. The gas production results indicated that no production was observed in neither BG11 nor BG11 deprived other nutrients under both oxygenic and anaerobic conditions. However, growing *Tetraspora* sp. CU2551 in tris-acetate-phosphate (TAP) for 24 hr followed by transferring cells to other medium could lead cells to produce the gas under anaerobic condition. The maximum gas production rate was observed in BG11-N (nitrogen deprivation) representing 8.92 nmol/mgCell/h. The later extends were found in BG11-N-P-S BG11-N-P BG11-N-S and BG11-P representing 2.21 2.17 1.73 and 0.20 nmol/mgCell/h, respectively. This study enables the possibility in hydrogen production from green alga *Tetraspora* sp. CU2551.

Keywords : Clean energy, algae *Tetraspora* sp. CU2551, hydrogen production

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ต้องขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งแก่อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ ที่วิจารณ์ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำและข้อเสนอแนะต่างๆในการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในการทำโครงงานพิเศษนี้จนประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการภาควิชาเคมี ที่อำนวยความสะดวกในการเบิกอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือตลอดการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาโท ที่ได้ให้คำแนะนำต่างๆตลอดการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณ อาจารย์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ ภาค วัดคุม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการทำเครื่องบ่ม

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบิดา มารดา และบุคคลในครอบครัว รวมทั้งเพื่อนๆที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดในการทำโครงงานพิเศษ

นพรัตน์ เพ็ชรไทย
ปะราลี หอมจำปา
อมลรดา ตันประสิทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญ (ต่อ) ..... จ
สารบัญ (ต่อ) ..... ฉ
สารบัญ (ต่อ) ..... ช
สารบัญตาราง ..... ซ
สารบัญรูป ..... ฌ
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ญ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 สาหร่าย 3
2.2 หลักเกณฑ์การจำแนกสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่ 3
2.3 ชนิดของสาหร่าย 4
2.3.1 ดิวิชั่น โรโดไฟตา (Division Rhodophyta) สาหร่ายสีแดง 4
2.3.2 ดิวิชั่นไซยาโนไฟตา (Division Cyanophyta) สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว 5
2.3.3 ดิวิชั่น คลอโรไฟตา (Division Chlorophyta) สาหร่ายสีเขียว 6
2.3.4 ดิวิชั่นยูกลีโนไฟตา (Divion Euglenophyta) ยูกลีนอยด์ 6
2.3.5 ดิวิชั่นฟีโอไฟตา (Division Phaeophyta) สาหร่ายสีน้ำตาล 7
2.3.6 ดิวิชั่นคริสโทไฟตา (Division Chrysophyta) สาหร่ายสีทอง 8
2.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 9
2.4.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย 9
2.4.2 การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย 10
2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย 12
2.4.3.1 ผลของปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.3.2 ผลของปริมาณของแหล่งซัลเฟอร์ต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว 14
2.4.3.3 ผลของปริมาณของแหล่งฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว 14
2.5 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย 15
2.5.1 พลังงานทดแทน 15
2.5.2 อาหารเสริมในคน และ อาหารสัตว์ 15
2.5.3 ช่วยในการบำบัดน้ำเสีย 15
2.5.4 ก๊าซชีวภาพหรือ ไบโอแก๊ส 15
2.6 ก๊าซไฮโดรเจน 16
2.6.1 คุณสมบัติของไฮโดรเจน 16
2.6.2 คุณประโยชน์ของไฮโดรเจน 16
2.6.3 แนวคิดเกี่ยวกับการแยกโมเลกุลน้ำเพื่อผลิตไฮโดรเจน 18
2.6.4 การเกิดปฏิกิริยาแยกโมเลกุลน้ำเพื่อผลิตไฮโดรเจน 19
2.7 การผลิตไฮโดรเจน (Hydrogen Production) 20
2.7.1 การสลายตัวด้วยความร้อน (Thermal Decomposition, Thermolysis) 20
2.7.2 กระบวนการเร่งปฏิกิริยาเชิงแสง (Photocatalytic Process) 21
2.7.3 การรีฟอร์มมีเทน(Methane Reforming) 22
2.7.4 การรีฟอร์มด้วยพลาสมา (Plasma Reforming) 22
2.7.5 กระบวนการไอน้ำ-เหล็ก (Steam-iron Process) 22
2.7.6 การแยกสลายด้วยไฟฟ้า (Electrolysis) 23
2.7.7การแยกกรองด้วยไฟฟ้า (Electrodialysis) 24
2.8 การผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ (Biohydrogen Production) 24
2.8.1 การผลิตไฮโดรเจนด้วยการหมัก (Fermentation Hydrogen Production) 25
2.8.2 การสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis) 26
2.8.3 หน่วยผลิตเชื้อเพลิงไฮโดรเจน (Hydrogen Fuel Processor) 27
2.8.4 การแยกด้วยเมมเบรน (Membrane Separation) 27
2.9 เครื่อง GC (Gas Chromatogarph) 28
2.9.1 คุณสมบัติของเครื่อง GC 29
2.9.2 คุณสมบัติของเครื่อง MS 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.9.3 การทำงานของเครื่อง GC-MS 30
2.9.4 ข้อดีของเครื่อง GC-MS 30
2.9.5 ข้อเสียของเครื่อง GC-MS 30
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 30
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 33
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง 33
3.2 สารเคมี 33
3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ 33
3.2.2 สารเคมีสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ 33
3.2.3 ยาปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 35
3.2.4 ก๊าซมาตรฐานและก๊าซที่ใช้ในการวิเคราะห์ไฮโดรเจน 35
3.3 อุปกรณ์ 35
3.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 36
3.4.1 อาหารBlue-Green medium (BG11) 36
3.5 วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551 37
3.6 วิธีการเตรียมสาหร่ายก่อนถ่ายเชื้อสาหร่ายลงในสูตรอาหารที่ต่างกัน 38
3.7 วิธีการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในอาหารที่ต่างกัน 39
3.8 วิธีการวัดค่าการเจริญเติบโตของสาหร่าย 40
3.9 วิธีการศึกษาผลของการขาดสารอาหารที่มีผลต่อรูปร่างเซลล์ 40
3.10 วิธีการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียวโดยการแปรผัน ระยะเวลาใน BG11 เพื่อดูอายุเซลล์ 40
3.11 วิธีการวัดปริมาณการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว 41
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 44
4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหารที่แปรผันชนิดของอาหาร 44
4.2 ผลของการขาดสารอาหารที่มีผลต่อรูปร่างเซลล์ 45
4.3 ผลการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายโดยการแปรผันระยะเวลาใน BG11 47
4.4 ผลการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายในวิธีเลี้ยงใน TAP แล้ว adapt ลงอาหาร BG11 ทั้ง 8 สูตร 48
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษา 50
เอกสารอ้างอิง 52
ภาคผนวก ก 55
ภาคผนวก ข 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ค 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 สารเคมีที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย..... 11

ตารางที่ 3.1 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจน
ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ..... 43

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน..... 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 สาหร่ายสีแดง 5
รูปที่ 2.2 สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว 5
รูปที่ 2.3 สาหร่ายสีเขียว 6
รูปที่ 2.4 ยูกลีนอยด์ 7
รูปที่ 2.5 สาหร่ายสีน้ำตาล 8
รูปที่ 2.6 สาหร่ายสีทอง 9
รูปที่ 2.7 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายน้ำมัน 15
รูปที่ 2.8 คุณสมบัติของก๊าซไฮโดรเจน 17
รูปที่ 2.9 แนวความคิดในการแยกโมเลกุลน้ำด้วยแสงอาทิตย์และสารกึ่งตัวนำ
เพื่อผลิตพลังงานไฮโดรเจน 19
รูปที่ 2.10 กระบวนการการเกิดปฏิกิริยาแยกโมเลกุลน้ำ 20
รูปที่ 2.11 Catalytic Decomposition การสลายตัวด้วยตัวเร่งปฏิกิริยา 21
รูปที่ 2.12 การเคลื่อนที่ของไอออน และการเกิดปฏิกิริยาในการแยกสลายน้ำด้วยไฟฟ้า 23
รูปที่ 2.13 การเคลื่อนที่ของไอออน และเซลล์เคมีไฟฟ้าในกระบวนการแยกกรองด้วยไฟฟ้า 24
รูปที่ 2.14 การผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ 25
รูปที่ 2.15 กระบวนการหมัก 26
รูปที่ 2.16 กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง 27
รูปที่ 2.17 การแยกไนโตรเจน และออกซิเจนจากอากาศด้วยเมมเบรน 28
รูปที่ 3.1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายบนอาหารแข็ง BG-11 37
รูปที่ 3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเหลว BG-11 38
รูปที่ 3.3 ภาพก่อน-หลังการปั่นเหวี่ยง 38
รูปที่ 3.4 สาหร่ายในอาหาร 8 สูตร สูตรละ 2 ฟลาสก์เพื่อนำไปวัดค่าการเจริญเติบโต 39
รูปที่ 3.5 ขณะปิเปตเซลล์สาหร่ายและฟลาสก์ทั้ง 5 ฟลาสก์เพื่อทำ Vary วัน 5 วัน 40
รูปที่ 3.6 สาหร่ายในอาหาร BG-11 8 สูตรที่ adapt มาจากอาหาร TAP รอเป่าอาร์กอน 24 ขวด 42
รูปที่ 3.7 ขณะเป่าก๊าซอาร์กอน 42
รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD730 กับระยะเวลา 44
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการบ่มกับปริมาณไฮโดรเจนที่ผลิตได้ 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ	ความหมาย
g	กรัม
mg	มิลลิกรัม
mL	มิลลิลิตร
M	โมลหรือโมล่าร์
µg	ไมโครกรัม
µl	ไมโครลิตร
L	ลิตร
°C	องศาเซลเซียส
H_2	ไฮโดรเจน
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
h	hour
OD	Optical density

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ในปัจจุบันการคิดหาแหล่งพลังงานทางเลือกของพลังงานทดแทนที่ยั่งยืนนั้น ได้รับความสนใจสังคมเป็นอย่างมาก โดยที่ต้องเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และใช้ทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ได้อย่างคุ้มค่าที่สุด พลังงานเข้ามาเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการดำเนินชีวิต พลังงานที่มนุษย์ใช้ส่วนใหญ่ผลิตมาจากถ่านหิน น้ำมันดิบ รวมถึงเชื้อเพลิงฟอสซิล เป็นต้น ซึ่งเป็นทรัพยากรที่สิ้นเปลือง และกำลังจะลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจและการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร ความต้องการในการใช้พลังงานมีปริมาณมากขึ้นทุกปี ส่งผลให้เกิดผลกระทบในด้านต่างๆ ทั้งภาคอุตสาหกรรม ภาคการขนส่ง รวมทั้งภาคเศรษฐกิจของประเทศ และยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศของโลก ก่อให้เกิดสภาวะโลกร้อนซึ่งทวีความรุนแรงมากขึ้นทุกวัน หน่วยงานต่างๆทั้งในประเทศไทย และต่างประเทศจึงได้ตระหนักถึงผลกระทบดังกล่าว จึงหันมาสนใจที่จะศึกษาแหล่งพลังงานทดแทนที่มีอยู่ในธรรมชาติและมีปริมาณอย่างไม่จำกัด ที่เพียงพอต่อความต้องการทั้งในปัจจุบันและอนาคต พลังงานทดแทนที่มีการศึกษาในปัจจุบัน คือ พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานความร้อนใต้พิภพ พลังงานก๊าซชีวภาพและพลังงานไฮโดรเจน เป็นต้น

พลังงานไฮโดรเจนจึงเป็นทางเลือกหนึ่งของพลังงานทดแทน ที่กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ซึ่งเป็นพลังงานสะอาดและยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม จึงทำให้ถูกยกว่าเป็นสุดยอดพลังงานสะอาดที่ควรจะนำมาใช้แทนเชื้อเพลิงฟอสซิล พลังงานไฮโดรเจนเป็นพลังงานที่มีประสิทธิภาพในการเผาไหม้สูง เนื่องจากเมื่อถูกนำไปเผาไหม้แล้วจะไม่ก่อให้เกิดสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ในการผลิตไฮโดรเจนนั้นมีด้วยกันหลายวิธี ในทางอุตสาหกรรมนิยมใช้วิธีทางกายภาพ แต่การผลิตด้วยกระบวนการนี้มีต้นทุนค่อนข้างสูง แต่ในการทดลองครั้งนี้สนใจการผลิตไฮโดรเจนโดยกระบวนการทางชีวภาพ หรือที่เรียกกันว่า “ไบโอไฮโดรเจน”

สาหร่ายจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สำคัญ เพราะสาหร่ายเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีศักยภาพสูงต่อการนำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจน สาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ถูกค้นพบจากแหล่งน้ำจืดในธรรมชาติและในนาข้าวที่อยู่ทางภาคกลางของประเทศไทย *Tetraspora* sp. CU2551 โตได้ในอาหารหลายชนิด ได้แก่ TAP (Tris-Acetate-Phosphate) BG11และ N8 นอกจากนี้แล้วยังพบว่า *Tetraspora* sp. CU2551 มีความสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ผ่านการเร่งโดยเอมไซม์ hydrogenase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า *Tetraspora* sp. CU2551 สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ในอาหาร TAP และอาหาร TAP ที่ขาดแหล่งไนโตรเจนและแหล่งฟอสฟอรัส (TAP-N-S) การทดลองครั้งนี้จึงต้องการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนใน อาหาร BG11 ในการทดลองจึงอยากดูผลของแร่ธาตุต่างๆที่จะส่งผลต่อการผลิตก๊าซต่อไป โดยที่อาหารปกติ เราจะเรียกว่า BG11 หากขาดแหล่งไนโตรเจน จะเรียกว่า BG11-N นอกจากนั้นแล้วยังมีแหล่งฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ เป็นต้น ที่น่าจะส่งผลต่อระบบเมตาลิซึมภายในเซลล์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเจริญของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหาร BG11 สูตรต่างๆ
2. เพื่อศึกษาอิทธิพลของอาหารและออกซิเจนในอากาศต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. วัดอัตราการเติบโตของสาหร่ายในอาหาร BG11, BG11-N, BG11-P, BG11-S, BG11-N-P, BG11-P-S, BG11-N-S, BG11-N-P-S
2. วัดความสามารถของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในอาหาร BG11, BG11-N, BG11-P BG11-S, BG11-N-P, BG11-P-S, BG11-N-S, BG11-N-P-S ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. หาสภาวะใหม่ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่นอกเหนือจากระบบเดิม
2. มีสภาวะที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่าย (Algae)

สาหร่าย หมายถึง สิ่งมีชีวิตชั้นต่ำตรงกับภาษาอังกฤษว่า algae และภาษากรีกว่า phykos เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์จนถึงขนาดใหญ่ที่มองดูเหมือนมีรากลำต้นและใบซึ่งรวมเรียกว่า ทัลลัส (thallus) ส่วนใหญ่มีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง

2.2 หลักเกณฑ์การจำแนกสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่

1. รงควัตถุในสาหร่ายมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น คลอโรฟิลล์ มี 4 ชนิด Chlorophyll – a,b, c, d แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นสารสีประกอบ (Accessory pigments) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด แคโรทีน(Carotenes) มีสีส้ม เป็นสารสีพวกไฮโดรคาร์บอนและแซนโธฟิลล์(Xanthophylls) หรือออกซีแคโรทีน (Oxycarotene) มีสีเหลือง ไฟโคบิโลโปรตีน(Phycobiloproteins) เป็นสารสีประกอบเช่นเดียวกันแคโรทีนอยด์ แต่ไฟโคบิโลโปรตีนเป็นสารประกอบเชิงซ้อน สาหร่ายแต่ละชนิดมีรงควัตถุแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ

2. ประเภทของอาหารสะสม (Type of reserved product) อาหารสะสมเป็นผลจากการสังเคราะห์แสงซึ่งเป็นการใช้พลังงานรังสีเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนที่ได้มาจากน้ำหรือจากแหล่งไฮโดรเจนอื่น ๆ ผลจากการสังเคราะห์แสงได้น้ำตาลซึ่งนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหายใจในขบวนการไกลโคโลซีส (Glycolysis)อาหารสะสมของสาหร่ายจะได้สารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเก็บสะสมไว้ในรูปของแป้ง (Strach) เลียวโคซิน (Leucosin) ลามินาริน (Laminarin) แมนนิทอล (Manitol) ไขมัน (Fat)น้ำมัน (Oil) คอเรสเทอรอล (Chloresterol) เออโกสเทอรอล (Ergosterol) ฟิวโดสเทอรอล(Focosterol) พารามายรอน (Paramyron) เป็นต้น

3. ประเภทขององค์ประกอบของผนังเซลล์ (Type of cell wall components) เซลล์ของสาหร่ายคล้ายกับเซลล์ของพืชทั่วไป คือประกอบด้วยโครงสร้างที่สำคัญ 3 ประการคือ ผนังเซลล์ไซโตพลาสซึมและนิวเคลียส ผนังเซลล์สาหร่ายหลายชนิดไม่มีผนังเซลล์บางชนิดผนังเซลล์ก็เปลี่ยนแปลงไปโดยมีสารอื่นมาห่อหุ้ม แต่ส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารจำพวกคาร์โบไฮเดรตบางชนิดประกอบด้วยซิลิเกต (Silicate) เช่น ผนังเซลล์ของไดอะตอมบางชนิดประกอบด้วยโปรตีนลิปิต มิวโดเพบไทด์ (Mucopeptide) และเซลลูโลส ฯลฯ ผนังเซลล์ส่วนใหญ่มี 2 ชั้นชั้นนอกมีลักษณะอ่อนนิ่มหรือเป็นเมือกละลายได้ในน้ำเดือดเป็นพวกเพตติน ส่วนผนังชั้นในประกอบด้วยเซลลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. จำนวนและตำแหน่งของแฟลกเจลลัม (Flagellum) สาหร่ายหลายชนิดมีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ ซึ่งอาจพบทั้งในเซลล์ปกติ (Vegetative cell) หรือผนังเซลล์สืบพันธุ์(Reproduction cell) เซลล์ของสาหร่ายทุกดิวิชั่นยกเว้น Cyanophyta จะมีหนวด จำนวนหนวดในแต่ละเซลล์มี 1, 2, 4, 8 หรือเป็นวง แต่ส่วนใหญ่มักมีหนวด 2 เส้นในเซลล์ปกติ ส่วนเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศหรือซูโอสเปอร์ (Zoospore) มักมีหนวด 2 หรือ 4 เส้น ส่วนเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือแกมีต (Gemete) มักมีหนวด 2 เส้น สาหร่ายแต่ละชนิดจะมีจำนวนลักษณะและตำแหน่งที่เฟลกเจลลัมฝังตัวอยู่นั้นแตกต่างกัน ซึ่งสามารถใช้ความแตกต่างดังกล่าวนี้แยกหมวดหมู่ของสาหร่ายได้

2.3 ชนิดของสาหร่าย

ปัจจุบันสาหร่ายจัดอยู่ในอาณาจักรโพรทิสตา (Kingdom Protista) ประกอบด้วย 9 Division แบ่งโดยอาศัยหลักเกรณฑ์ต่างๆ คือ ชนิดและคุณสมบัติของสารสี องค์ประกอบทางเคมีของอาหารสะสมหรือ ผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์แสง องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของผนังเซลล์ ลักษณะรูปร่างและการจัดระเบียบของเซลล์ ตลอดจนโครงสร้าง และวิธีการสืบพันธุ์ โดยสามารถจำแนกสาหร่ายเป็น Division ดังนี้

2.3.1 ดิวิชั่น โรโดไฟตา (Division Rhodophyta) หรือ สาหร่ายสีแดง

สาหร่ายสีแดง (red algae) สาหร่ายสีแดงมีวิวัฒนาการแตกต่างจากสาหร่ายอื่นๆ ที่ไม่มีระยะที่มี flagella เลยในวัฏจักรของชีวิต ที่เรียกว่าสาหร่ายสีแดงก็เนื่องจาก มี accessory pigments สีแดงที่ชื่อ phycoerythrin ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเดียวกับที่พบในสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวหรือ cyanobacteria ที่ชื่อ phycocyanin ที่มีสีน้ำเงินซึ่งเชื่อว่า plastids ของสาหร่ายสีแดงเกิดจาก primary endosymbiosis กับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแม้ว่าจะได้ชื่อว่าสาหร่ายสีแดง แต่ Rhodophyta ไม่ทุกชนิดที่มีสีแดง ในที่ลึกๆ จะมีสีดำหรือเกือบดำ สีแดงสดที่ความลึกปานกลาง และในที่น้ำตื้นจะมีสีเขียว เนื่องจากมี phycoerytrin น้อยสาหร่ายสีแดงจะมีอยู่อย่างมากมายตามชายฝั่งทะเลเขตร้อนของโลกแต่ก็มีบางชนิด อยู่ในน้ำจืดสาหร่ายสีแดงส่วนใหญ่จะเป็นพวกที่มีหลายเซลล์ แต่ขนาดจะไม่ใหญ่เท่าสาหร่ายสีน้ำตาล สาหร่ายสีแดงหลายชนิดจะเป็นเส้นยาวๆ แบบ filaments ที่แตกกิ่งก้านสาขา ส่วนฐานจะเป็น holdfast ที่ยึดเกาะกับวัตถุใต้น้ำวัฏจักรชีวิตของสาหร่ายสีแดงชนิดต่างๆ จะแปรผันต่างกันออกไป แต่ลักษณะร่วมกันก็คือ เซลล์สืบพันธุ์ไม่มี flagella และอาศัยกระแสน้ำเป็นตัวพาไป ให้เกิดการปฏิสนธิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.1 สาหร่ายสีแดง

ที่มา: https://kingdomprotist.wordpress.com

2.3.2 ดิวิชั่นไซยาโนไฟตา (Division Cyanophyta) สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว

สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวนี้เป็นสาหร่ายที่พบมากที่สุด มีอยู่ทั่วไปทั้งในน้ำและบนบก ต้านทานภูมิอากาศได้ดี ดังนั้นจึงพบสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวเจริญเติบโตได้ดีทั้งในบ่อน้ำพุร้อน หรือแถบขั้วโลก คุณสมบัติพิเศษที่สามารถจะช่วยต้านทานต่อภาวะผิดปกติได้อย่างดีก็คือ สารที่มีลักษณะเป็นเมือกคล้ายวุ้นที่หุ้มอยู่ภายนอกเซลล์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับโครงสร้างอย่างง่ายๆ ภายในเซลล์ด้วย สาหร่ายชนิดนี้นอกจากสามารถนำมาตากแห้งเพื่อใช้เป็นอาหารบริโภค ซึ่งนับว่าเป็นอาหารยอดนิยมในหมู่ชาวเอเชียตะวันออก คือ ญี่ปุ่น เกาหลี และสาธารณรัฐประชาชนจีน นอกจากนี้สาหร่ายประเภทนี้นิยมนำมาทำเป็นสาหร่ายอัดเม็ด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์คลอเรลลาและสไปรูลิน่าหรือเกลียวทอง

รูปที่ 2.2 สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว

ที่มา: http://www.superfoodliving.com/blue-green-algae

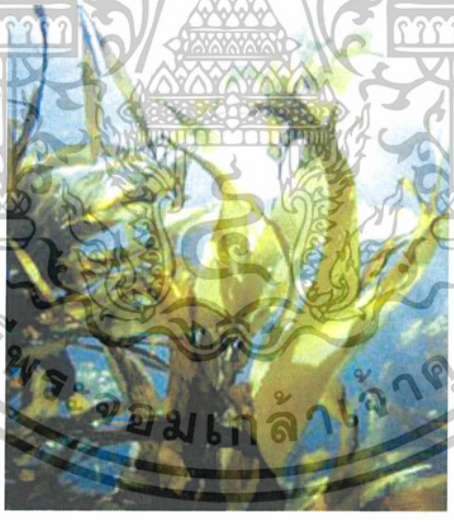
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 ดิวิชั่น คลอโรไฟตา (Division Chlorophyta) สาหร่ายสีเขียว

ปริมาณสาหร่ายสีเขียวมีมากพอๆกับสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวเจริญเติบโตได้ดีทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม แต่จะไม่มีความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ผิดปกติได้เช่นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว รูปร่างและขนาดของสีเขียวต่างกันตามชนิด บางชนิดที่ขึ้นในน้ำทะเลและมีสารพวกหินปูนมาเกาะทำให้มีลักษณะเป็นแผ่นแข็งสีขาว บางชนิดมีลักษณะเป็นเส้นเกาะลอยเป็นแพตามบ่อหรือตามชายฝั่งที่มีน้ำใส ซึ่งชนิดนี้ชาวบ้านแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่าเทา สามารถนำมาประกอบอาหารบริโภคได้ สาหร่ายสีเขียวน้ำจืดที่รู้จักกันดีอีกอย่างหนึ่ง คือ สาหร่ายไฟ พบมากตามท้องนาที่มีน้ำขัง อย่างไรก็ตาม ในต่างประเทศสาหร่ายสีเขียวที่ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางมีอยู่ 2 สายพันธุ์คือ

1. CHLORELLA ได้แก่ C. PYRENOIDOSA, C. ELLIPSOIDEA และ C. SOROK-NIANA ซึ่งประเทศที่กำลังทำการค้นคว้าวิจัยถึงประโยชน์ คือ สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น

2. SCENEDESMUS ได้แก่ S. ACUTUS กำลังอยู่ในระหว่างการค้นคว้าทดลองในประเทศเยอรมันตะวันตก อินเดีย เปรู และไทย และ S. OBLIQUS ก็กำลังอยู่ในระหว่างความสนใจค้นคว้าทดลองของนักวิทยาศาสตร์ในประเทศเชโกสโลวะเกีย



รูปที่ 2.3 สาหร่ายสีเขียว
ที่มา: www.sites.google.com

2.3.4 ดิวิชั่นยูกลีโนไฟตา (Divion Euglenophyta) ยูกลีนอยด์

สิ่งมีชีวิตในดิวิชันนี้เรียกว่า ยูกลีนอยด์ (euglenoid) อาจถูกจัดให้เป็นโปรโตซัวในคลาสแฟลกเจลลาตา หรือ คลาสไฟโทแมสติโกฟอเรีย หรืออาจถูกจัดไว้ในกลุ่มของสาหรายก็ได้ เนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถสังเคราะห์ อาหารด้วยแสงได้เหมือนพืช คลอโรพลาสต์มีหลายรูปแบบทั้งแบบแฉก มีคลอโรฟิลล์เป็นชนิด เอ และ บีคาโรทีน แซนโทฟีลล์ สะสมอาหารเป็นแป้ง เรียกว่า พาราไมลัม (Paramylum) แต่ไม่มีผนังเซลล์ (มีเยื่อหุ้ม เซลล์อยู่นอกสุด ถัดเข้าไปเป็น Pellicle) และมีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่เป็น flagellum 1-3 เส้น (หรือ มากกว่า) ทางด้านหน้า ทางด้านหนามช่องเปิดต่อเข้าไปในเซลล์ มีส่วนของ reservoir ซึ่งใกล้ ๆ นี้จะมี Contractile vacuole มีออร์กาเนลแบบยูคาริโอตทั่วไป อาจพบ granule ที่มีสีแดง นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ และค่อนมาทางด้านท้าย มี Eye spot หรือ Stigma เป็นอวัยวะรับแสงติดกับ reservoir ภายในมีสีแดงส้ม ของ Astraxanthin และ Echinemone รวมกับแคโรทีนอยด์อื่น ๆ ในไซโทพลาซึม (จึงทำหน้าที่ทั้งช่วยรับ แสง และควบคุมการเคลอนที่) สามารถพบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย น้ำเค็ม ในดินชื้นแฉะ ตัวอย่างของ สาหรายดิวิชั่น ได้แก่ ยูกลีน่า (Euglena) และฟาคัส (Phacus)

รูปที่ 2.4 ยูกลีนอยด์

ที่มา: http://protistakingdompccnst.blogspot.com/

2.3.5 ดิวิชั่นฟีโอไฟตา (Division Phaeophyta) สาหร่ายสีน้ำตาล

สาหร่ายในไฟลัมฟีโอไฟตา เรียกโดยทั่วไปว่าสาหร่ายสีน้ำตาล (Brown algae) ทั้งนี้เพราะมีรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีน้ำตาล คือ ฟิวโคแซนทีน (Fucoxanthin) อยู่มากกว่าคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ ซี สาหร่ายสีน้ำตาลมีมากในทะเลตามแถบชายฝั่งที่มีอากาศเย็น มีเพียง 35 จีนัสที่พบในน้ำจืด สาหร่ายสีน้ำตาลมักเรียกชื่อทั่วไปว่า sea weed เพราะเป็นวัชพืชทะเล ผนังเซลล์เป็นสารพวกเซลลูโลสและกรดอัลจินิก (alginic acid) ซึ่งสามารถสกัดสารอัลจิน (algin) มาใช้ประโยชน์ได้ รูปร่างและขนาดแตกต่างกันไป มีตั้งแต่ขนาดเล็กต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จนถึงขนาดใหญ่มองเห็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยตาเปล่า บางชนิดมีรูปร่างเป็นสายยาวแตกกิ่งก้าน เช่น Ectocarpus บางชนิดมีรูปร่างเป็นแผ่นแผ่แบนหรือคล้ายใบไม้โบกไหวอยู่ในน้ำ เช่น Laminaria บางชนิดคล้ายต้นปาล์มขนาดเล็กเรียกว่า Sea palm บางชนิดคล้ายต้นไม้เล็ก ๆ เช่น Sargassum หรือสาหร่ายนุ่น หรือรูปร่างคล้ายพัด เช่น Padina สาหร่ายสีน้ำตาลมีหลายเซลล์ พวกที่มีขนาดใหญ่มากเรียกว่า เคลป์ (Kelp) ซึ่งอาจมีความยาว 60-70 เมตร เช่น Macrocystis , Nereocystis

รูปที่ 2.5 สาหร่ายสีน้ำตาล

ที่มา: https://kingdomprotista2014.files.wordpress.com/2014/09/fucus.jpg

2.3.6 ดิวิชั่นคริสโทไฟตา (Division Chrysophyta) สาหร่ายสีทอง

สาหร่ายสีทองถูกตั้งชื่อตามสีที่เกิดจาก carotenoid ใน plastids เซลล์มักมี flagella 2 เส้นที่ปลายด้านหนึ่งของเซลล์ สาหร่ายพวกนี้มีอยู่ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม บางชนิดเป็น mixotrophic โดยดูดซึมสารอาหารที่เป็นสารอินทรีย์ แต่บางชนิดกินอาหารโดยกลืนสารอินทรีย์เข้าไปในเซลล์โดยตรงโดยผ่านทางบริเวณฐานของ flagella ส่วนมากสาหร่ายพวกนี้จะเป็นเซลล์เดี่ยวๆแต่บางพวกจะอยู่เป็น colonyเมื่อมีเซลล์อยู่กันอย่างหนาแน่นมากๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่2.6 สาหร่ายสีทอง

ที่มา: http://www.bloggang.com

2.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

2.4.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย (Algal cultivation) สาหร่ายต้องการน้ำ แสงแดด และคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตเหมือนพืชชนิดอื่นๆ สาหร่ายสามารถโตได้ดีในพื้นที่ที่มีอากาศร้อนและมีแสงแดดมาก ดังนั้นประเทศไทยจึงเหมาะต่อการเลี้ยงสาหร่าย การเลี้ยงสาหร่ายสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด และระบบปิด

1. การเพาะเลี้ยงในระบบเปิด (open-system)

   เป็นวิธีการเลี้ยงสาหร่ายแบบธรรมชาติ เช่น เลี้ยงในบ่อน้ำ คลอง และชายทะเล เป็นต้น แต่การเลี้ยงสาหร่ายโดยวิธีนี้ยากต่อการดูแล ทั้งในเรื่องการปนเปื้อนของบ่อน้ำ เช่น แบคทีเรีย ที่มีผลกระทบต่อการเติบโตของสาหร่ายและการควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

2. การเพาะเลี้ยงในระบบปิด (closed-system bioreactor plants)

   เป็นการเพาะเลี้ยงที่มีการวิจัยและพัฒนามากเพราะการเพาะเลี้ยงวิธีนี้สามารถควบคุมอุณหภูมิ และสิ่งปนเปื้อนได้ง่าย อีกทั้งยังสามารถพัฒนาและออกแบบให้อยู่ในช่วงที่สาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงระบบปิดสามารถตั้งใกล้กับโรงงานที่ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสามารถแบ่งสภาวะการเพาะเลี้ยงออกเป็น 3 สภาวะ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แบบออโตโทรฟิค (Autotrophic cultivation)

เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ใช้แสงและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากธรรมชาติเป็นหลัก ในการเจริญเติบโตและสังเคราะห์สารชีวมวลต่างๆ หรือคือการใช้อนินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงาน

2. แบบเฮทเทอโรโทรฟิค (Heterotrophic cultivation)

เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น กลูโคส ซูโครส หรือกากน้ำตาล เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ซึ่งจะเพาะเลี้ยงในที่ที่ไม่มีแสงหรือในที่มืดตลอดเวลา

3. แบบมิกโซโทรฟิค (Mixotrophic cultivation)

เป็นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สารประกอบอินทรีย์คาร์บอนและแสงเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานโดยแสงที่ใช้อาจเป็นแสงจากธรรมชาติหรือจากหลอดไฟภายในระยะที่เหมาะสม

2.4.2 การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย คือ อาหารหรือสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงซึ่งจำเป็นต้องทราบว่าสาหร่ายชนิดที่เพาะเลี้ยงมีความต้องการธาตุอาหารแต่ละชนิดมากน้อยเพียงใดซึ่งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่าย

ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient) ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการมาใช้ในปริมาณมากเพื่อการเจริญเติบโต เช่น คาร์บอน(C) ไนโตรเจน (N) ซัลเฟอร์ (S) โซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แมกนีเซียม (Mg) และแคลเซียม (Ca)
2. ธาตุอาหารรอง (Micronutrients) หรือ Trace Metals) ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สาหร่ายต้องการใช้ในปริมาณค่อนข้างน้อย ซึ่งเมื่อเติมลงในอาหารจะช่วยให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีขึ้น แต่ถ้าไม่มีการเติมลงไปในอาหาร การเจริญเติบโตของสาหร่ายจะช้าลงเล็กน้อย

โดยปกติสูตรอาหารที่ดีและเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ควรประกอบไปด้วยธาตุอาหารทั้ง 2 ประเภท ซึ่งส่วนใหญ่สารเคมีที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมี ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สารเคมีที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย (อาภารัตน์, 2549)

ธาตุอาหารหลัก	ธาตุอาหารรอง
NaCl	H3BO3
KCl	$MnCl2.4H_2O$
$CaCl_2.2H_2O$	$MnSo4.6H_2O$
$MgCl_2.6H_2O$	$FeSo4.7H_2O$
Na_2So_4	$FeSO4.7H_2O$
K_2SO_4	$CoCl2.6H_2O$
$MgSO_4.7H_2O$	$ZnSO4.7H_2O$
$NaNO_3$	$CuSO_4$
KNO_3	$Na_2MoO_4.2H_2O$
$Ca(NO_3)2.4H_2O$	Vitamins
NH_4NO_3	Vitamins B12
$NaH2PO_4.2H_2O$	Biotin
KH_2PO_4	Nicotinic Acid
K_2HPO_4	Calcium Panthothenate
Na_2CO_3	p-Aminobenzoic Acid
Na_2HCO_3	Thymine
$Na_2SIO_3.9H_2O$	Folid

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยทั่วไปมี 2 ลักษณะ คือ

1.อาหารเหลว (Liquid media)ประกอบด้วย 2 ประเภทคือ

1.1 ธาตุอาหารหลัก(Macronutrients)

1.2 ธาตุอาหารรอง(Micronutrients)

- ธาตุอาหารรองอนินทรีย์(Inorganic micronutrients)

- ธาตุอาหารรองอินทรีย์(Organic micronutrients)แบ่งได้ 3 กลุ่มคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.คาร์โบไฮเดรต

2.เกลืออินทรีย์หรือสารประกอบที่มีเกลืออินทรีย์อยู่ด้วย

3.วิตามิน

2.อาหารแข็งหรืออาหารวุ้น (Solid or Agar Media) เตรียมได้จากการเติมวุ้น (Bacto-Agar) ลงไปในอาหารเหลวประมาณ 1-1.5%

2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตสาหร่ายโดยมีอยู่หลากหลายปัจจัยสามารถแบ่งเป็น 2 ปัจจัยหลัก ได้แก่ ปัจจัยทางฟิสิกส์ และปัจจัยทางเคมี

ปัจจัยทางฟิสิกส์ เช่น

1. ความเข้มแสง (Light Intensity)

ความเข้มแสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ถ้าความเข้มของแสงสูง เช่น การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในที่มีแสงแดดจ้า ความสามารถในการใช้พลังงานแสงของสาหร่ายจะลดลง ความเข้มแสง และความลึกของบ่อมีผลต่อความสามารถในการรับพลังงานแสงของสาหร่าย ปริมาณแสงที่ส่องผ่านจะลดลงตามความลึกของบ่อ นั่นคือ จะมีความลึกที่ระดับหนึ่งซึ่งทำให้สาหร่ายใช้พลังงานแสงได้ดีที่สุด ความเข้มแสงที่เหมาะต่อการเจริญของสาหร่ายเกลียวทองเมื่อเพาะเลี้ยงสภาพกลางแจ้งคือ ๓๐-๓๕ กิโลลักซ์

2. อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาต่างๆภายในเซลล์สาหร่ายการทำงานของเอนไซม์ โครงสร้างและองค์ประกอบต่างๆในเซลล์สาหร่าย ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและปริมาณน้ำมันในเซลล์สาหร่ายซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์ของสาหร่ายที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยทั่วไปสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ Chlorella sp.มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 25-27 องศาเซลเซียสถ้าอุณหภูมิสูงถึง 30 องศาเซลเซียสจะเป็นอันตรายต่อเซลล์ (Scragg rt al.,2002 อ้างใน ผกาวดี แก้วและคณะ,2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ความเป็นกรดด่าง (PH)

ความเป็นกรดด่างเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเพราะสาหร่ายแต่ละชนิดมีความต้องการในระดับที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปสาหร่ายส่วนมากจะเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง

4. ความเค็ม (Salanity)

มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยเฉพาะสาหร่ายน้ำเค็ม

ปัจจัยทางเคมี เช่น

1. สารอาหาร

แหล่งคาร์บอน(Carbon source) เป็นธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายสามารถใช้ได้ทั้งในรูปของอินทรีย์และอนินทรีย์เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายได้ในน้ำซึ่งอยู่ในรูปของคาร์บอนเนตและไบคาร์บอนเนต กลูโคส เป็นต้น โดยคาร์บอนจะอยู่ในรูปใดนั้นขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดด่าง(pH) ของอาหาร ซึ่งโดยทั่วไปสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Scenedesmus* sp.มีค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 6.5-8.5

แหล่งไนโตรเจน (Nitrogen source) เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายซึ่งส่งผลต่อการชักนำให้สะสมน้ำมัน โดยจำเป็นต้องมีการควบคุมการเพาะเลี้ยงให้อยู่ในสภาวะที่ขาดไนโตรเจนหรือมีในปริมาณที่จำกัด จะมีผลทำให้อัตราการสังเคราะห์น้ำมันของสาหร่ายเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ไนโตรเจนมีบทบาทที่สำคัญต่อกระบวนเมตาบอลิซึมในเซลล์สาหร่ายอีกทั้งยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในกรดอะมิโน โปรตีน และเอนไซม์ภายในเซลล์ โดยความสามารถในการใช้แหล่งของไนโตรเจนแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย ในสาหร่ายที่ขาดแคลนไนโตรเจน หรือมีปริมาณไนโตรเจนที่จำกัดจะทำให้อัตราการสังเคราะห์น้ำมันเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้เกิดการสะสมน้ำมันภายในเซลล์เพิ่มขึ้น(Hammond and Glatz,1988; Thompson,1996; Illman et al.,2000; Scragg et al.,2002; Rosenberg et al.,2008; Widjaja et al.,2009 อ้างในผกาวดี แก้วและคณะ ,2552)และถ้าสาหร่ายขาดไนโตรเจนจะมีผลต่อการสังเคราะห์แสงและปริมาณรงควัตถุของเซลล์ทำให้สาหร่ายมีสีที่เปลี่ยนไปด้วย (Hammond and Glatz,1988) อ้างใน (ผกาวดี แก้วและคณะ,2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3.1 ผลของปริมาณของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว

แหล่งไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญรองจากคาร์บอนในแง่ของปริมาณและมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสามารถใช้ไนโตรเจนทั้งในรูปอนินทรีย์และอินทรีย์แหล่งไนโตรเจนส่วนมากมาจากไนเตรท แอมโมเนีย หรือยูเรีย (Grobbelaar, 1995) ไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในสาหร่าย เป็นองค์ประกอบของโปรตีนและเอนไซม์ที่ทำงานภายในเซลล์ของสาหร่าย จากรายงานวิจัยพบว่าการขาดไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อส่งผลทำให้สาหร่ายผลิตไนโตรเจนได้สูงขึ้น แต่การเจริญเติบโตลดลง

2.4.3.2 ผลของปริมาณของแหล่งซัลเฟอร์ต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว

ซัลเฟอร์เป็นธาตุอาหารหลักอีกชนิดหนึ่งที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวนอกจากนี้ยังมีความสำคัญสำหรับการสร้างโปรตีนในเซลล์ โดยเป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนซีสเทอีนและเมทไทโอนีน ซัลเฟอร์ที่สาหร่ายส่วนใหญ่ใช้อยู่รูปของสารอินทรีย์ที่เป็นเกลือของโลหะได้แก่ ซัลเฟต ซัลไฟท์และซัลไฟด์ (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543) การขาดซัลเฟอร์ จะช่วยในการลดการทำงานของระบบแสงที่สองทำให้เกิดการผลิตออกซิเจนลดลง จึงไม่มีออกซิเจนมากพอที่จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส นอกจากนี้ในอาหารที่ขาดซัลเฟอร์ สาหร่ายจะมีการสะสมแป้งตลอดระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง โดยทำให้มีการหายใจลดลงและผลิตไฮโดรเจนได้ปริมาณมากขึ้น (Kosourov และคณะ, 2005; Melis และคณะ, 2000)

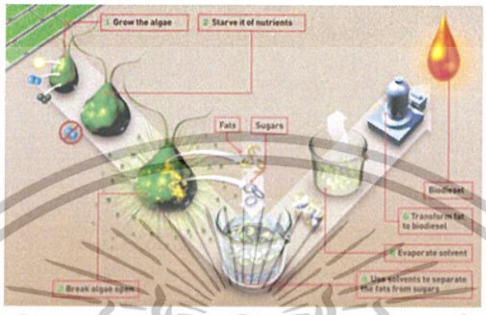
2.4.3.3 ผลของปริมาณของแหล่งฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว

ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเซลล์สาหร่าย มันแสดงให้เห็นว่าฟอสฟอรัสแทนที่ไนโตรเจนได้เป็นสารอาหารหลักสำหรับสาหร่ายในสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติมากมาย ผลกระทบทันทีจากการขาดฟอสฟอรัสประกอบด้วยการลดลงของการสังเคราะห์และการเกิดใหม่ของสารตั้งต้นในวัฏจักรคาลวิน-เบนสันและผลที่ตามมาคือการลดลงของอัตราความต้องการการใช้แสงสำหรับการตรึงคาร์บอนคล้ายกับผลกระทบของการขาดไนโตรเจน ความอดอยากฟอสฟอรัสจะลดคลอโรฟิลล์ เอ และโปรตีนดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรตในเซลล์สาหร่าย การขาดฟอสเฟตแสดงให้เห็นถึงผลในการสะสม astaxanthin และลดการเจริญเติบโตโดยรวมในเซลล์ การลดลงของ phycobilisomes ภายใต้เงื่อนไขของการขาดฟอสฟอรัส เนื่องจากการแบ่งเซลล์และการหยุดการสังเคราะห์ phycobilisomes ดังที่แสดงให้เห็น Theodorou et al. ตั้งข้องสังเกตว่า การอดอาหารฟอสฟอรัสใน Selenastrum minutum จะไปลดอัตราการหายใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การใช้ประโยชน์จากสาหร่าย

2.5.1 พลังงานทดแทน คือ ไบโอดีเซลเนื่องจากสาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำมันในเซลล์สูงเมื่อเทียบกับพืชที่ให้น้ำมันชนิดอื่นๆ นอกจากนี้สาหร่ายยังโตไวให้ผลผลิตสูงและต้นทุนต่ำเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งสามารถนำไปใช้ทดแทนพลังงานฟอสซิลที่กำลังจะหมดไปได้



รูปที่2.7 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายน้ำมัน

รูปที่:https://app.enit.kku.ac.th/mis/administrator/doc_upload/20140308094137.pdf

2.5.2 อาหารเสริมในคน และ อาหารสัตว์ เนื่องจากในเซลล์สาหร่ายมีโปรตีน และแคโรทีนอยด์ในปริมาณที่สูง จึงนิยมนำมาทำเป็นอาหารเสริม สำหรับผู้ป่วยพักฟื้นและผู้ที่กำลังลดน้ำหนัก รวมทั้งนำไปทำอาหารสัตว์โดยเฉพาะปลาสวยงาม และ สัตว์ปีกที่ต้องการให้เนื้อ , ไข่แดงมีสีสด

2.5.3 ช่วยในการบำบัดน้ำเสีย พบว่าน้ำเสียที่ผ่านการเลี้ยงสาหร่ายมาแล้วมีคุณภาพน้ำที่ดีขึ้น โดยเฉพาะค่า Biochemical Oxygen Demand(BOD) , Total Phosphorus(TP) ที่มีค่าลดลง เนื่องจากแบคทีเรียย่อยสารอินทรีย์ในน้ำเสีย(ที่ทำให้ค่า BOD สูง) แล้วได้สารประกอบที่เหมาะแก่กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลสาหร่ายทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีและต้องการอาหารคือ P , N ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่า BOD , TP ลดลงตามไปด้วย (ยุวดี พีรพรพิศาล, 2537)

2.5.4 ก๊าซชีวภาพ หรือ ไบโอแก๊ส คือ แก๊สที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ จากการย่อยสลายอินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจน แก๊สชีวภาพประกอบด้วยแก๊สหลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นแก๊สมีเทน (CH_4) ประมาณ 50-70% และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ประมาณ 30-50% ส่วนที่เหลือเป็นแก๊สชนิดอื่น ๆ เช่น ไฮโดรเจน (H_2) ออกซิเจน (O_2) ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ไนโตรเจน (N_2) และไอน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ก๊าซไฮโดรเจน

พลังงานเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญอย่างยิ่งยวดต่อการพัฒนาประเทศ โดยความต้องการใช้พลังงานมีเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องซึ่งพลังงานเชื้อเพลิงในปัจจุบันนั้นส่วนใหญ่ได้มาจากพลังงานฟอสซิลเมื่อเผาไหม้แล้วจะทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณมากที่เป็นสาเหตุของปรากฏการณ์เรือนกระจก จากการสำรวจทำให้เห็นว่า พลังงานที่ใช้ในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้มาจากถ่านหินและปิโตรเลียม ซึ่งมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่องทำให้ทุกประเทศทั่วโลกมีความตื่นตัวเป็นอย่างมากในการแสวงหาและประยุกต์ใช้พลังงานทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงปิโตรเลียม ซึ่งพลังงานไฮโดรเจนก็เป็นอีกหนึ่งพลังงานทางเลือกที่สำคัญและเป็นพลังงานที่น่าสนใจในขณะนี้

ในปัจจุบันได้มีการใช้พลังงานเชื้อเพลิงไฮโดรเจนกันอย่างแพร่หลายในประเทศอุตสาหกรรมอีกทั้งยังนำไปประยุกต์ใช้กับพลังงานดั้งเดิมได้ เช่น เครื่องกังหัน เครื่องพ่นไอน้ำ เชื้อเพลิงสำหรับครัวเรือน และยังสามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้โดยการป้อมเข้าเซลล์เชื้อเพลิง นักวิจัยทั่วโลกได้ให้ความสนใจเป็นอย่างมากที่จะพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงมาประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆเนื่องมาจากประสิทธิภาพของเซลล์เชื้อเพลิงมีค่าสูงกว่าอุปการณ์ผลิตไฟฟ้าแบบอื่นๆมาก

ไฮโดรเจนเป็นสะสารที่ให้พลังงานสูงและผลจากการเผาผลาญของไฮโดรเจนไม่ว่าจะด้วยการเผาใหม่โดยตรงหรือโดยปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีในเซลล์เชื้อเพลิงต่างก็มีผลผลิตเป็นก๊าซออกซิเจนและไอน้ำเท่านั้นจึงไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งก็ถือได้ว่าเป็นการเผาไหม้เชื้อเพลิงที่สะอาดมากซึ่งไฮโดรเจนมีค่าความร้อนสูงถึง 122 กิโลจูลต่อกรัม (Madawar et.al, 2000) ซึ่งพลังงานไฮโดรเจนนั้นสามารถนำมาพัฒนาต่อยอดให้เป็นพลังงานเชื้อเพลิงหลังได้

2.6.1 คุณสมบัติของไฮโดรเจน

ไฮโดรเจนเป็นธาตุที่เบาที่สุดและเป็นองค์ประกอบของน้ำที่เป็นปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดของสิ่งมีชีวิตบนโลก เป็นโมเลกุลมีทั่วไปตามธรรมชาติ บรรยากาศในโลกมีก๊าซไฮโดรเจนประมาณ 0.1 ppm.มีความแข็งแรงในการยึดโมเลกุล เท่ากับ 436 kJ/mol (104 kcal/mol) ดังนั้น เมื่อต้องการให้ไฮโดรเจนโมเลกุลทำปฏิกิริยา จึงต้องใช้พลังงานเพื่อทำลายความแข็งแรงในการยึดโมเลกุลดังกล่าว เช่น เพิ่มอุณหภูมิ ใช้สารเร่งปฏิกิริยา เป็นต้น ไฮโดรเจนอะตอมปประกอบด้วยนิวเคลียส์ อยู่กลางภายในนิวเคลียส์ ประกอบด้วยโปรตอน และนิวตรอน มีอิเล็คตรอนวิ่งรอบนอก เหมือนธาตุอื่นๆ ไฮโดรเจนมี 3 ไอโซโทปขึ้นกับจำนวนโปรตอน และจำนวนนิวตรอนที่ต่างกัน ดังนี้

1. ไฮโดรเจน (Hydrogen) มีจำนวนโปรตอน 1 โปรตอน จำนวน 1 นิวตรอน มีน้ำหนักอะตอม เท่ากับ 1.0078

2. ดิวเทอเรียม (Deuterium) มีจำนวนโปรตอน 2 โปรตอน จำนวน 1 นิวตรอน มีน้ำหนักอะตอม เท่ากับ 2.0141

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ตริเที่ยม (Tritium) มีจำนวนโปรตอน 3 โปรตอน จำนวน 1 นิวตรอน มีน้ำหนักอะตอม เท่ากับ 3.0161

ลักษณะทั่วไปของไฮโดรเจนทั้ง 3 สถานะ ไฮโดรเจนที่เป็นของแข็ง ไม่มีสี โครงสร้างผลึก 6 เหลี่ยม Molar Volume = 22.56 cm3/mol ไฮโดรเจนที่เป็นของเหลวไม่มีสี ค่า Viscosity ต่ำ เคลื่อนที่ได้เร็ว ไฮโดรเจนที่เป็นก๊าซ ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่เป็นพิษ ก๊าซไฮโดรเจน 1 ลิตร มีมวล 0.0898 กรัม

รูปที่ 2.8 คุณสมบัติของก๊าซไฮโดรเจน

ที่มา : https://www.enaa.or.jp/WE-NET/suiso/suiso1_e.html

โมเลกุลของไฮโดรเจน มี 2 รูปแบบ คือ Ortho-Hydrpgen และ Para-Hydrogen ทั้งสองชนิดมีลักษณะการหมุนของนิวเคลียสอะตอม โดย Ortho-Hydrpgen มีนิวเคลียสอะตอมที่ประกอบเป็นโมเลกุลหมุนไปในทิศทางเดียวกัน ส่วน Para-Hydrogen มีนิวเคลียสอะตอมที่ประกอบเป็นโมเลกุลหมุนไปในทิศทางตรงกันข้าม ทำให้คุณสมบัติด้าน Thermodynamics แตกต่างกัน แต่คุณสมบัติทางเคมีไม่ต่างกัน อัตราส่วนสมดุลระหว่าง Ortho-Hydrpgen : Para-Hydrogen = 3:1 ที่อุณหภูมิห้อง เรียกว่า Normal Hydrogen และ Para-Hydrogen เป็นรูปแบบไฮโดรเจนที่มีพลังงานต่ำ ความร้อนจากปฏิกิริยาในการเปลี่ยน Normal Hydrogen ไปเป็น Para-Hydrogen เรียกว่า DH การละลายของไฮโดรเจนในของเหลวได้น้อย จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยไฮโดรเจนมีค่าการละลาย ที่ 273.15 °K = 1.755x103 mol% การละลายของไฮโดรเจนในโลหะ

2.6.2 คุณประโยชน์ของไฮโดรเจน

1. แหล่งพลังงานดั้งเดิมก่อให้เกิดก๊าซเรือนกระจก ซึ่งก๊าซชนิดนี้ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศของโลกโดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนมอนออกไซด์ ซึ่งเกิดจากการสันดาป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Combustion) ของสารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำมัน แต่พลังงานไฮโดรเจนเป็นพลังงานสะอาด ไม่ก่อให้เกิดก๊าซเรือนกระจก

2. การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงดั้งเดิม ไม่ว่าจะมาจากยานพาหนะหรือแหล่งอุตสาหกรรมต่าง ๆ ก่อให้ เกิดกลุ่มควันและฝุ่นละออง แต่พลังงานไฮโดรเจนไม่ก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศเหล่านี้

3. พลังงานไฮโดรเจนสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับงานที่ต้องใช้พลังงานดั้งเดิมได้ เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับครัวเรือน เครื่องยนต์สันดาปภายใน เครื่องกังหัน และเครื่องไอพ่น

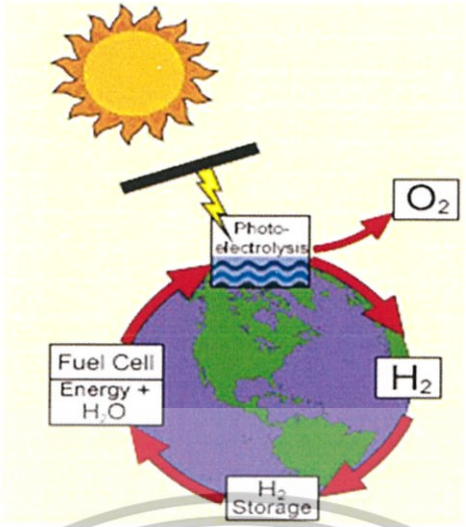
4. ค่าพลังงานเชื้อเพลิงที่ได้จากไฮโดรเจนจะมากกว่าค่าพลังงานเชื้อเพลิงไฮโดรคาร์บอน และเชื้อ เพลิงจากแอลกอฮอร์ เช่น เมทานอลและเอทานอลถึง 2.5 และ 5 เท่า ตามลำดับ

5. ก๊าซไฮโดรเจนสามารถนำไปใช้กับเซลล์เชื้อเพลิง (Fuel cell) ในการผลิตไฟฟ้า ซึ่งอยู่ระหว่างการพัฒนาและคาดว่าจะนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอนาคต

2.6.3 แนวคิดเกี่ยวกับการแยกโมเลกุลน้ำเพื่อผลิตไฮโดรเจน

แนวความคิดของกระบวนการแยกโมเลกุลน้ำ (Water splitting reaction) เพื่อผลิตพลังงานไฮโดรเจน ได้ถูกพัฒนาขึ้นเนื่องมาจากความมั่นใจที่ว่า กระบวนการนี้สามารถเป็นแหล่งของพลังงานไฮโดรเจนที่ยั่งยืน (Sustainable energy) แหล่งของสารตั้งต้นที่นำมาใช้ในการผลิตพลังงานในกระบวนการนี้ซึ่งได้แก่ แหล่งน้ำ ก็เป็นแหล่งพลังงานที่สามารถหาได้อย่างไม่จำกัด นอกจากนี้พลังงานไฮโดรเจนที่ผลิตได้จากกระบวนการนี้ก็ไม่มีสารผลิตภัณฑ์อื่น ที่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมเจอปนอีกด้วย แต่เนื่องจากปฏิกิริยานี้เป็น ปฏิกิริยาที่ดูดความร้อนสูงเพื่อใช้ในการผลิตไฮโดรเจน แหล่งของพลังงานความร้อนในอุดมคติที่สามารถจะนำมาใช้งานได้ต้องเป็นแหล่งที่สามารถหาได้ในปริมาณมากเพียงพอ และไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม พลังงานแสงอาทิตย์ซึ่งเป็นแหล่งของพลังงานที่สามารถนำกลับมาใช้ได้ใหม่ (Renewable resource) มีความเหมาะสมเป็นอย่างมากสำหรับนำมาใช้งานในกระบวนแยกโมเลกุลน้ำนี้ นอกจากนี้การนำพลังงานแสงอาทิตย์มาใช้ในการผลิตพลังงานไฮโดรเจนจากกระบวนการ แยกโมเลกุลน้ำ ยังเป็นวิธีการที่น่าสนใจเป็นอย่างมากในมุมมองของการเปลี่ยนพลังงานแสง อาทิตย์เป็นพลังงานเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 แนวความคิดในการแยกโมเลกุลน้ำด้วยแสงอาทิตย์และสารกึ่งตัวนำเพื่อผลิตพลังงานไฮโดรเจน

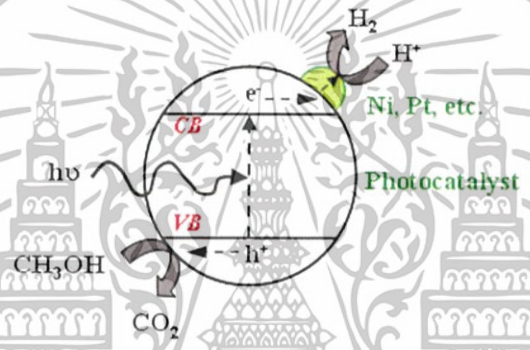
ที่มา: http://www2.slac.stanford.edu/tip/2003/mar21/hydrogen.htm

2.6.4 การเกิดปฏิกิริยาแยกโมเลกุลน้ำเพื่อผลิตไฮโดรเจน

ในกลุ่มของสารกึ่งตัวนำที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้แสงร่วม ไททาเนีย (TiO_2) ได้รับความสนใจมากที่สุดในการนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการกำจัดสารพิษที่ส่ง ผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและในกระบวนการเร่งปฏิกิริยาที่ใช้แสงร่วมต่าง ๆ นับจากมีการริเริ่มคิดค้นการนำไททาเนียอิเล็คโทรด (TiO_2electrode) มาใช้ในกระบวนการเคมีไฟฟ้าที่เหนี่ยวนำด้วแสง (Photoelectrochemical process) สำหรับการแยกโมเลกุลน้ำโดยกลุ่มนักวิจัยชาวญี่ปุ่นได้แก่ Fujishima และ Honda ในปี 1972 ทำให้จนถึงปัจจุบันนี้มีความสนใจอย่างต่อเนื่องในการนำไททาเนียมาใช้เป็นตัว เร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาการแยกโมเลกุลน้ำเพื่อผลิตพลังงานไฮโดรเจนภายใน ระบบที่มีการฉายแสงเมื่อไททาเนียทำการดูดซับโฟตอน (Photon) ที่มีพลังงานเท่ากับหรือมากกว่าค่าความแตกต่างระหว่างค่าพลังงานในระดับคอนดัคชันแบนด์ (Conduction band, CB) และวาเลนซ์แบนด์ (Valence band, VB) หรือเป็นที่รู้จักกันว่าพลังงานแบนด์แกป (Energy band gap) จะทำให้เกิดการกระตุ้นให้อิเล็คตรอนในระดับชั้นพลังงานวาเลนซ์แบนด์เคลื่อน ที่ไปอยู่ในระดับชั้นพลังงานคอนดัคชันแบนด์ ทำให้เกิดคอนดัคชันแบนด์อิเล็คตรอน (Conduction band electron, e-cb) และวาเลนซ์แบนด์โฮล (Valence band hole, h+vb) ขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในความเป็นจริงแล้ว ไฮโดรเจนไม่สามารถถูกผลิตขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพบนพื้นผิวของไททาเนียที่ ยังไม่ได้รับการปรับแต่ง เนื่อง จากพลังงานแบนด์แกปของไททาเนียมีค่าสูงคือ 3.2eV สำหรับไททาเนียชนิดอนาเทส (Anatase) และ 3.0 eV สำหรับไททาเนียชนิดรูไทล์ (Rutile) ทำให้เกิดการรวมตัวกลับของอิเล็คตรอนและโฮลได้ง่าย การแก้ไขข้อจำกัดนี้อย่างมีประสิทธิภาพทำได้โดยการใช้สารที่เอื้อให้เกิดปฏิกิริยา (Sacrificial reagent)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น เมทานอล ซึ่งสารนี้จะเข้าร่วมในปฏิกิริยาโดยการกำจัดโฮลด้วยกระบวนการออกซิเดชันที่ วาเลนซ์แบนด์ ในขณะที่ปฏิกิริยาการเกิดไฮโดรเจนสามารถเกิดที่คอนดันชันแบนด์ด้วยกระบวนการรีดักชันของน้ำด้วยอิเล็คตรอน นอกจากนี้ การแก้ไขข้อจำกัดดังกล่าวอย่างมีประสิทธิภาพอีกวิธีหนึ่งคือการใส่ตัวเร่ง ปฏิกิริยาร่วม ซึ่งโดยส่วนมากแล้วจะเป็นโลหะทรานซิชันเช่น นิกเกิล (Ni) แพลตินัม (Pt) เป็นต้น ลงไปบนพื้นผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาหลักไททาเนีย โดยตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมเหล่านี้จะทำหน้าที่เร่งการเคลื่อนที่ของอิเล็คตรอน จากเวเลนซ์แบนด์หลังจากการดูดซับแสงและกระตุ้นด้วยแสงแล้วให้ไปสู่นอกระบบ ซึ่งก็คือการเกิดปฏิกิริยาการเกิดไฮโดรเจนที่คอนดักชันแบนด์ได้เร็วขึ้น อย่างมากโดยสรุป กระบวนการการเกิดปฏิกิริยาแยกโมเลกุลน้ำเมื่อทำการแก้ไขข้อจำกัดต่างๆสามารถแสดงได้ดังรูป



รูปที่ 2.10 กระบวนการการเกิดปฏิกิริยาแยกโมเลกุลน้ำ

ที่มา: http://tv11.prd.go.th/tv11/ewt_news.php?nid=212&filename=gov

2.7 การผลิตไฮโดรเจน (Hydrogen Production)

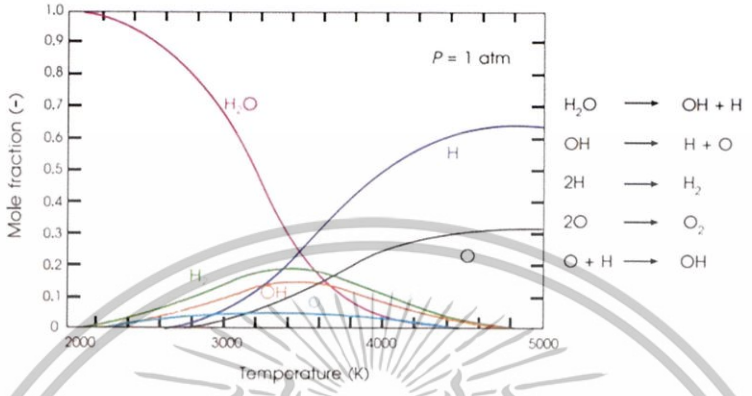
ไฮโดรเจนที่นำมาใช้งานสามารถผลิตได้จากแหล่งไฮโดรเจนด้วยกระบวนการต่าง ๆ ได้หลายวิธีการดังต่อไปนี้

2.7.1 การสลายตัวด้วยความร้อน (Thermal Decomposition, Thermolysis)

การสลายตัวของสารตั้งต้นด้วยความร้อนที่ให้ผลผลิตอย่างน้อย 2 ชนิด สำหรับการสลายตัวของน้ำด้วยความร้อนเกิดได้น้อยแม้ที่อุณหภูมิสูงมาก เช่น ที่อุณหภูมิ 2,200 เคลวิน แตกตัวเพียงร้อยละ 3 และที่อุณหภูมิ 3,200 เคลวิน แตกตัวประมาณร้อยละ 50 ได้ไอออน อนุมูล อะตอม และโมเลกุลของไฮโดรเจน และออกซิเจนหลายชนิด เช่น ไฮโดรเจนไอออน (Hydrogen ion, H+) ออกซิเจนไอออน (Oxygen ion, O2-) ไฮโดรเจน (Hydrogen, H2) ออกซิเจน (Oxygen, O2) ไฮดรอกไซด์ไอออน (Hydroxide ion, OH-) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide, H2O2) และไฮโดรเพอรอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซิล หรืออนุมูลเพอรอกซิล (Hydroperoxyl, Peroxyl Radical, HO2) ข้อจำกัดของปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยความร้อนในการประยุกต์ใช้งานจริงเชิงอุตสาหกรรมหรือเชิงพาณิชย์ คือ ความคงทนของอุปกรณ์หรือวัสดุในกระบวนการที่ต้องทำงานที่อุณหภูมิสูง



รูปที่ 2.11 Catalytic Decomposition การสลายตัวด้วยตัวเร่งปฏิกิริยา

ที่มา: http://ienergyguru.com/2015/07/hydrogen-production/

การสลายตัวของสารตั้งต้นที่ให้ผลผลิตอย่างน้อย 2 ชนิด ผ่านปฏิกิริยาเคมีด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาช่วยให้อุณหภูมิการแตกตัว (Dissociation Temperature) ต่ำลง สำหรับการสลายตัวของน้ำ ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาได้โมเลกุลของสารหลายชนิดผ่านปฏิกิริยาเคมีทางอ้อม (Indirect Chemical Reaction) เกิดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 1,000 เคลวิน จึงเป็นการลดข้อจำกัดของกระบวนการการสลายตัวด้วยความร้อน ตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีการใช้งานกันมาก คือ สารประกอบของธาตุหมู่แฮโลเจน (Halogen) เช่น เฟอร์รัสคลอไรด์ (Ferrous Chloride, FeCl2) แคลเซียมโบรไมด์ (Calcium Bromide, CaBr2) และแมกนีเซียมไอโอไดด์ (Magnesium Iodide, MgI2) ข้อจำกัดหลักของปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาในการประยุกต์ใช้เชิงอุตสาหกรรมหรือเชิงพาณิชย์ คือ ค่าใช้จ่ายในการผลิตสูงและประสิทธิภาพของกระบวนการต่ำ

2.7.2 กระบวนการเร่งปฏิกิริยาเชิงแสง (Photocatalytic Process)

กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจน ด้วยวิธีการแตกตัวของน้ำ โดยใช้สารกึ่งตัวนำ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเชิงแสง ซึ่งรับโฟตอน (Photon) จากแสงอาทิตย์ไปกระตุ้นอิเล็กตรอน (Electron) จากแถบวาเลนซ์เคลื่อนที่ผ่านแถบพลังงาน (Energy Band) สู่แถบนำไฟฟ้า (Conduction Band) และเกิดเป็นหลุม (Hole) ทำให้น้ำแตกตัวเป็นแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สออกซิเจน จากนั้นผ่านเข้ากระบวนการทำไฮโดรเจนให้บริสุทธิ์ ตัวเร่งปฏิกิริยาเชิงแสงที่นิยมใช้ ได้แก่ ไทเทเนียมไดออกไซด์ (Titanium Dioxide, TiO2) ทังเสตนออกไซด์ (Tungsten (III) Oxide, WO3) และแพลทินัม (Platinum, Pt)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นต้น ประสิทธิภาพของกระบวนการขึ้นอยู่กับโครงสร้างผลึก สมบัติรวม และพื้นที่ผิวของตัวเร่งปฏิกิริยา ข้อเสียของกระบวนการนี้ คือ ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ต้องมีความทนทานต่อการกัดกร่อนในน้ำ และมีประสิทธิภาพกระบวนการต่ำอยู่ที่ร้อยละ 8-14

2.7.3 การรีฟอร์มมีเทน (Methane Reforming)

การผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากแก๊สธรรมชาติด้วยวิธีอุณหเคมี (Thermochemistry) การรีฟอร์มด้วยไอน้ำ หรือการรีฟอร์มแบบออโตเทอร์มัล (Autothermal Reforming) ตัวเร่งปฏิกิริยาที่นิยมใช้ คือ นิกเกิล (Nickel, Ni) อุณหภูมิที่ใช้ดำเนินการอยู่ในช่วง 500-1,000 องศาเซลเซียส ผลผลิตที่ได้เป็นแก๊สสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบของแก๊สไฮโดรเจนและคาร์บอนมอนอกไซด์เป็นหลัก ได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และแก๊สมีเทน เป็นผลิตภัณฑ์ร่วม จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการทำไฮโดรเจนให้บริสุทธิ์ (Hydrogen Purification) ตัวอย่างเช่น การดูดซับแบบสลับความดัน (Pressure Swing Adsorption) การแยกด้วยเมมเบรน เป็นต้น

2.7.4 การรีฟอร์มด้วยพลาสมา (Plasma Reforming)

กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากไฮโดรคาร์บอน โดยอาศัยหลักการการแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระของแก๊สพาหะ (Carrier Gas) ด้วยแรงดันไฟฟ้าที่ความดันบรรยากาศ แล้วทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น มีข้อดี คือ ทำให้เกิดปฏิกิริยารีฟอร์มิง (Reforming Reaction) ได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ ไม่จำเป็นต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้สามารถใช้สารตั้งต้นที่มีกำมะถันได้ มีประสิทธิภาพดี ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาน้อยและให้อัตราการเปลี่ยนสารตั้งต้นสูง แต่จำเป็นต้องอาศัยแหล่งจ่ายไฟฟ้าศักย์สูง และอาจเกิดเสื่อมสภาพของขั้วไฟฟ้าได้เมื่อเพิ่มศักย์ไฟฟ้า

2.7.5 กระบวนการไอน้ำ-เหล็ก (Steam-iron Process)

กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจนทางการค้าเก่าแก่ที่สุดที่สามารถผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่มีความบริสุทธิ์สูงโดยใช้ปฏิกิริยารีดักชัน-ออกซิเดชัน (Reduction-Oxidation Reaction) ของเหล็กออกไซด์ (Iron Oxide) หรือแมกนีไทต์ (Magnetite, Fe_3O_4) ประกอบด้วยปฏิกิริยา 2 ขั้น ได้แก่ ขั้นของปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction Reaction) ของเหล็กออกไซด์ด้วยแก๊สรีดิวซ์ (Reducing Gas) เช่น แก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ แก๊สไฮโดรคาร์บอน และแก๊สสังเคราะห์และขั้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันของเหล็กด้วยไอน้ำ

ปฏิกิริยาขั้นที่ 1: $Fe_3O_4 + 4CO$ (or Reducing Gas) $\longrightarrow 3Fe + 4CO_2$ (or Oxidizing Gas)

ปฏิกิริยาขั้นที่ 2: $3Fe + 4H_2O \longrightarrow Fe_3O_4 + 4H_2$

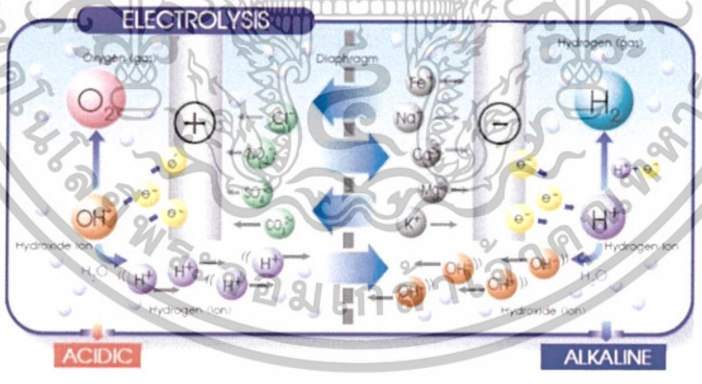
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยารวม: CO (or Reducing Gas) + H2O⟶CO2 (or Oxidizing Gas) + H2

การเกิดปฏิกิริยาข้างเคียงอื่นๆ ที่ไม่ใช่ปฏิกิริยาขั้นที่ 1 และ 2 ด้วย จึงส่งผลให้เกิดเหล็กออกไซด์ได้หลายรูปแบบในผลิตภัณฑ์ เช่น วูสไทต์ (Wustite, FeO) และเกิดปฏิกิริยาการแตกสลาย/ออกซิเดชันขึ้นจำนวนมากพร้อมๆกัน

2.7.6 การแยกสลายด้วยไฟฟ้า (Electrolysis)

การให้ไฟฟ้ากระแสตรงที่ขั้วไฟฟ้าของเซลล์เคมีไฟฟ้าเพื่อให้ไอออนในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ เคลื่อนที่ไปเกิดปฏิกิริยาที่ขั้วไฟฟ้า ปฏิกิริยาเคมีเกิดเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation Reaction) หรือ รีดักชัน (Reduction Reaction) ในทิศทางที่ไม่สามารถเกิดเองได้ถ้าไม่ให้กระแสไฟฟ้า โดยกระแสไฟฟ้าที่ให้จะต้องให้มากกว่าค่าโวลต์มาตรฐานที่ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้น เช่น การแยกสลายน้ำด้วยไฟฟ้าจะต้องใช้ค่าโวลต์ที่สูงกว่า 1.229 โวลต์ ในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยการแยกสลายน้ำด้วยไฟฟ้าที่ขั้วแคโทดเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction Reaction) ของโปรตอน (ไฮโดรเจนไอออน) ในภาวะกรด (2H+ + 2e-⟶H2) ส่วนในภาวะเบสจะเกิดปฏิกิริยารีดักชันของน้ำ (2H2O + 2e-⟶H2 + 2OH-) ที่ขั้วแอโนดเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้แก๊สออกซิเจน(H2O⟶1/2O2 + 2H+ + 2e-) ข้อดีของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากวิธีนี้จะมีความบริสุทธิ์สูง ข้อเสีย คือค่าใช้จ่ายด้านกระแสไฟฟ้าสูง



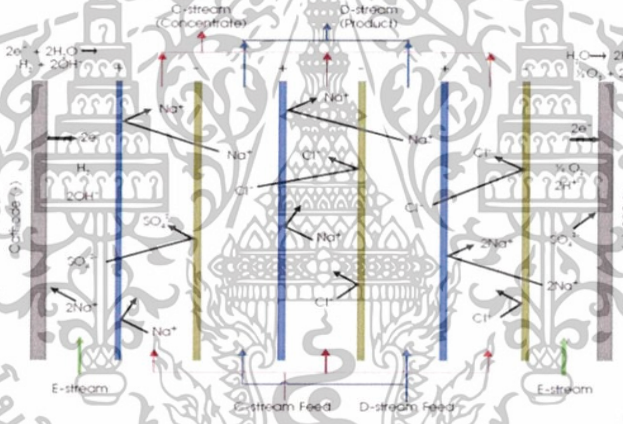
รูปที่ 2.12 การเคลื่อนที่ของไอออน และการเกิดปฏิกิริยาในการแยกสลายน้ำด้วยไฟฟ้า

ที่มา: http://ienergyguru.com/2015/07/hydrogen-production/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.7 การแยกกรองด้วยไฟฟ้า (Electrodialysis)

การแยกไอออนโดยเฉพาะไอออนของสารละลายเกลือผ่านเมมเบรนแลกเปลี่ยนไอออนได้ ความเข้มข้นของไอออนบวกและลบที่สูงขึ้นในแต่ละช่องเซลล์เคมีไฟฟ้าโดยอาศัยความต่างศักย์หรือกระแสไฟฟ้าที่ให้กับระบบ สารละลายความเข้มข้นต่ำจะเข้าสู่เซลล์เคมีไฟฟ้าที่มีเมมเบรนแลกเปลี่ยนไอออนลบและบวกคั่นอยู่ระหว่างขั้วไฟฟ้า ไอออนลบจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วแอโนดผ่านเมมเบรนแลกเปลี่ยนไอออนลบ จากนั้นจะถูกกั้นด้วยเมมเบรนแลกเปลี่ยนไอออนบวก ส่วนไอออนบวกจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วแคโทดผ่านเมมเบรนแลกเปลี่ยนไอออนบวกและถูกกั้นด้วยเมมเบรนแลกเปลี่ยนไอออนลบ ทำให้เกิดการกรองแยกเป็นส่วนที่มีความเข้มข้นสูงของไอออนลบและบวกคนละช่องของเซลล์ที่กั้นด้วยเมมเบรน การกรองแยกนี้นิยมใช้กันในรูปของเซลล์ที่ต่อเป็นแบบอนุกรมหลายเซลล์โดยคั่นด้วยเมมเบรนแลกเปลี่ยนไอออนลบและบวกสลับกันไป ผลพลอยได้ของกระบวนการนี้ คือ เกิดแก๊สไฮโดรเจนที่ขั้วแคโทด และแก๊สออกซิเจนที่ขั้วแอโนดโดยมีกลไกเดียวกับการแยกน้ำด้วยไฟฟ้า



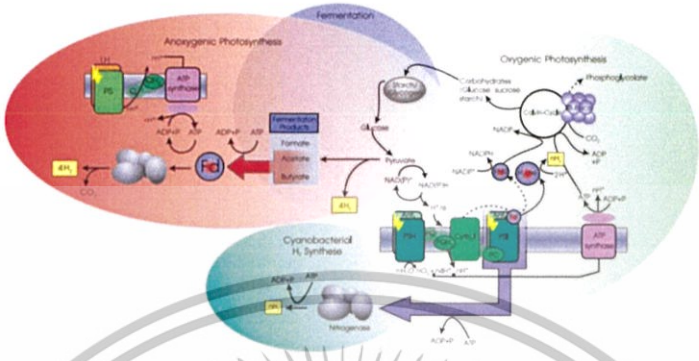
รูปที่ 2.13 การเคลื่อนที่ของไอออน และเซลล์เคมีไฟฟ้าในกระบวนการแยกกรองด้วยไฟฟ้า
ที่มา: http://ienergyguru.com/2015/07/hydrogen-production/

2.8 การผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ (Biohydrogen Production)

การผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่มีความบริสุทธิ์สูงด้วยกระบวนการทางชีวภาพผ่านสิ่งมีชีวิตจำพวกจุลินทรีย์(microorganism) สารตั้งต้นหลักของกระบวนการได้แก่ น้ำของเสียอินทรีย์ หรือชีวมวล จุลินทรีย์ที่มีการใช้งานในกระบวนการ ได้แก่ สาหร่าย (Algae) แบคทีเรีย (Bacteria) หรืออาร์เคีย (Archaea) โดยอาจต้องใช้เอนไซม์ (Enzyme) หรือสารประกอบจำพวกโปรตีนช่วยเร่งปฏิกิริยา จำแนกการผลิตไฮโดรเจนชีวภาพได้ 2 แบบ ได้แก่ การจำแนกตามการใช้แสงภายในกระบวนการ คือ กลุ่มที่ใช้และไม่ใช้แสงภายในกระบวนการ และการจำแนกตามลักษณะของกระบวนการ การผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรเจนทางตรงและทางอ้อม ปัจจุบันยังไม่มีเทคโนโลยีหลักที่ใช้ผลิตไฮโดรเจนชีวภาพเชิงพาณิชย์ เนื่องจากข้อจำกัดด้านความรู้ความเข้าใจ และประสิทธิภาพของกระบวนการต่ำ



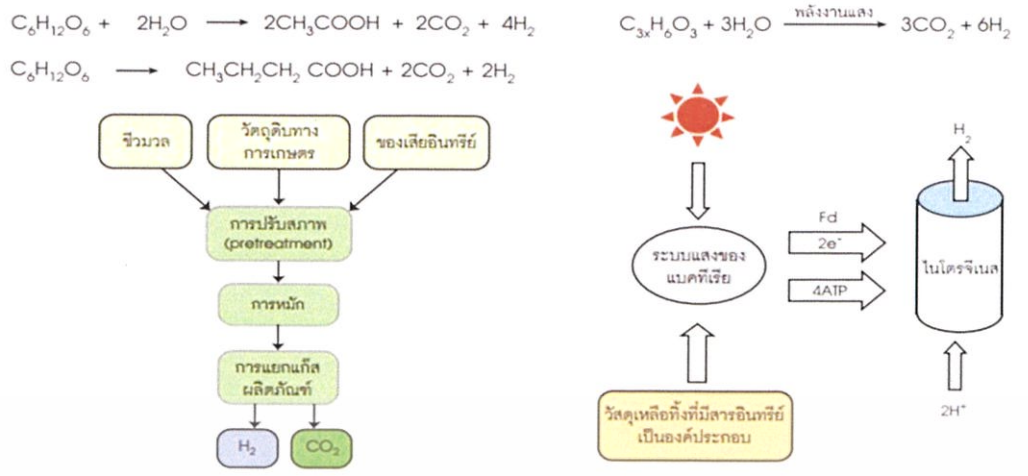
รูปที่ 2.14 การผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ

ที่มา: http://ienergyguru.com/2015/07/hydrogen-production/

2.8.1 การผลิตไฮโดรเจนด้วยการหมัก (Fermentation Hydrogen Production)

กระบวนการทางชีวเคมีที่สารอินทรีย์ย่อยสลายหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยอาศัยเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์เพื่อผลิตไฮโดรเจน จำแนกเป็น 2 แบบ ได้แก่ การหมักแบบไม่ใช้แสงและการหมักแบบใช้แสง การหมักแบบไม่ใช้แสงพบในแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศร่วมกับเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (Hydrogenase) ที่เปลี่ยนสารตั้งต้นจำพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น ของเสียอินทรีย์ (Organic Waste) หรือชีวมวล ให้เป็นแก๊สไฮโดรเจน และผลผลิตสารอินทรีย์ข้างเคียงอื่น เช่น กรดแอซีติก (Acetic Acid, $C_2H_4O_2$) กรดบิวทีริก (Butyric Acid, $C_4H_8O_2$) และคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon Dioxide, CO_2) ส่วนการหมักแบบใช้แสงพบในแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศแต่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ผ่านเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Nitrogenase) จากสารประกอบอินทรีย์จำพวกชีวมวล ได้แก๊สไฮโดรเจนและพลังงาน ข้อจำกัดหลักของการผลิตไฮโดรเจนโดยการหมักในการใช้งานเชิงอุตสาหกรรม ได้แก่ การขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



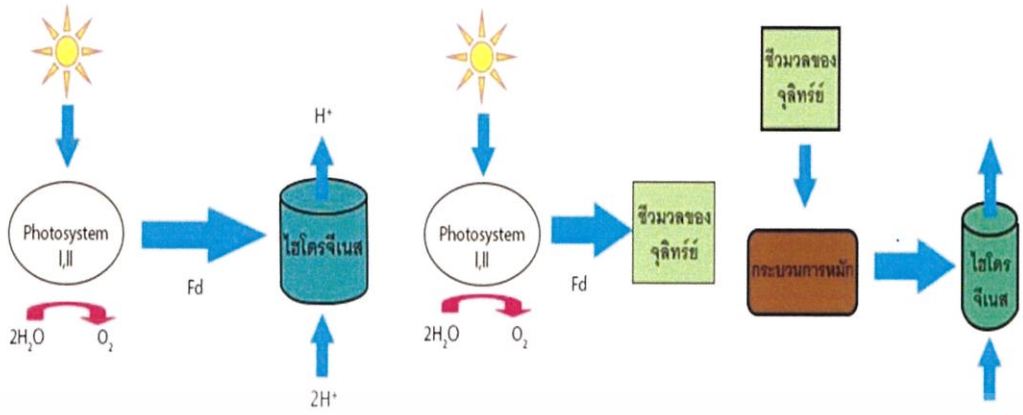
รูปที่ 2.15 กระบวนการหมัก

ที่มา: http://ienergyguru.com/2015/07/hydrogen-production/

2.8.2 การสังเคราะห์ด้วยแสง (Photosynthesis)

กระบวนการทางชีวเคมีที่สิ่งมีชีวิตสีเขียวเปลี่ยนรูปพลังงานแสงไปเป็นพลังงานเคมี โดยแสงถูกดูดจับไว้ และทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาระหว่างน้ำ และคาร์บอนไดออกไซด์ ได้คาร์โบไฮเดรต การสังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อผลิตไฮโดรเจนจำแนกได้เป็น 2 วิธีการ ได้แก่ การแยกสลายด้วยแสงทางตรง และการแยกสลายด้วยแสงทางอ้อม การแยกสลายด้วยแสงทางตรงพบมากในสาหร่ายสีเขียว (Green Algae) ที่แสงกระตุ้นโมเลกุลของน้ำให้แยกออกเป็นไฮโดรเจนไอออน แก๊สออกซิเจน และอิเล็กตรอน (Electron, e-) จากนั้น เอนไซม์ไฮโดรจีเนส (Hydrogenase) จะรวมไฮโดรเจนไอออนและอิเล็กตรอนได้แก๊สไฮโดรเจน ส่วนการแยกสลายด้วยแสงทางอ้อมพบมากในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue Green Algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) ที่ใช้ปฏิกิริยาสังเคราะห์ด้วยแสงร่วมกับการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อผลิตคาร์โบไฮเดรตซึ่งจะถูกนำไปผลิตแก๊สไฮโดรเจนต่อไป ข้อจำกัดหลักของการผลิตไฮโดรเจนผ่านการสังเคราะห์ด้วยแสงในการใช้งานเชิงอุตสาหกรรม ได้แก่ ค่าใช้จ่ายในการผลิตสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.16 กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

ที่มา: http://ienergyguru.com/2015/07/hydrogen-production/

2.8.3 หน่วยผลิตเชื้อเพลิงไฮโดรเจน (Hydrogen Fuel Processor)

หน่วยปฏิบัติการที่ใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงไฮโดรเจนจากถ่านหินหรือปิโตรเลียม เช่น แก๊สธรรมชาติ ประกอบด้วยปฏิกิริยาการรีฟอร์มด้วยไอน้ำ ได้แก๊สไฮโดรเจนและคาร์บอนมอนอกไซด์ ปฏิกิริยาวอเตอร์แก๊สชิฟต์ ระหว่างคาร์บอนมอนอกไซด์และไอน้ำได้ผลิตภัณฑ์เป็นแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบเลือกเกิดของคาร์บอนมอนอกไซด์ (preferential oxidation of CO) ระหว่างคาร์บอนมอนอกไซด์และออกซิเจนได้ผลิตภัณฑ์เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

การรีฟอร์มด้วยไอน้ำ: $C_nH_m + nH_2O \leftrightarrow (n + m/2) H_2 + nCO$

วอเตอร์แก๊สชิฟต์: $CO + H_2O \leftrightarrow H_2 + CO_2$

ออกซิเดชันแบบเลือกเกิดของคาร์บอนมอนอกไซด์: $CO + 1/2O_2 \leftrightarrow CO_2$

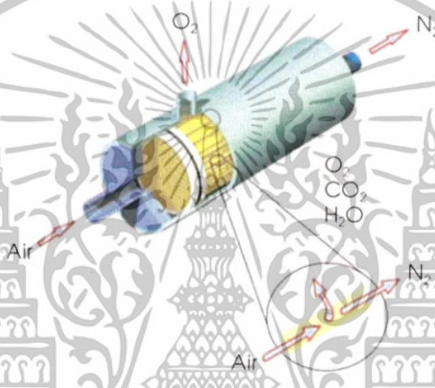
ได้ผลิตภัณฑ์ไฮโดรเจนที่ใช้สำหรับเซลล์เชื้อเพลิง ได้ เช่น เซลล์เชื้อเพลิงชนิดเมมเบรนแลกเปลี่ยนโปรตอน

2.8.4 การแยกด้วยเมมเบรน (Membrane Separation)

กระบวนการแยกแก๊สผสมด้วยเมมเบรนสังเคราะห์ เช่น การแยกแก๊สไนโตรเจนหรือแก๊สออกซิเจนออกจากอากาศ การแยกแก๊สไฮโดรเจนออกจากแก๊สผสมที่มีแก๊สไนโตรเจน และแก๊สมีเทน การนำกลับ (Recovery) แก๊สไฮโดรเจนจากผลิตภัณฑ์แก๊สผสมของโรงงานผลิตแอมโมเนีย การนำกลับแก๊สไฮโดรเจนจากกระบวนการกลั่นน้ำมัน (Oil Refinery Processes) การแยกแก๊สมีเทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกจากแก๊สชีวภาพ ปกติการแยกแก๊สด้วยเมมเบรนนิยมใช้เมมเบรนพอลิเมอร์ที่ไม่มีรูพรุน (Nonporous Polymer Membrane) โดยอาศัยหลักการสภาพละลายได้ (Solubility) และสภาพแพร่ (Diffusivity) ที่ต่างกันของแก๊สแต่ละชนิด ส่วนเมมเบรนที่มีรูพรุน (Porous Polymer Membrane) สามารถแยกแก๊สโดยอาศัยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุน (Pore Diameter) ที่เล็กกว่าวิถีเสรีเฉลี่ย (Mean Free Path) ของโมเลกุลแก๊สภายใต้ภาวะความดัน 100 กิโลปาสกาล และอุณหภูมิ 300 เคลวิน เส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุนอยู่ที่ประมาณ 50 นาโนเมตร ในบางกรณีสามารถใช้วัสดุอื่นที่ไม่ใช่พอลิเมอร์ เช่น เมมเบรนแพลเลเดียม (Palladium, Pd) ที่เลือกผ่านเฉพาะแก๊สไฮโดรเจน



รูปที่ 2.17 การแยกไนโตรเจน และออกซิเจนจากอากาศด้วยเมมเบรน
ที่มา: http://ienergyguru.com/2015/07/hydrogen-production/

2.9 เครื่อง GC (Gas Chromatogarph)

GC-MS เป็นเครื่องมือที่ประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของเครื่อง GC (Gaschromatography) ซึ่งเป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างให้ออกมาทีละองค์ประกอบก่อนที่จะเข้าสู่ detector และ อีกส่วนคือ เครื่อง MS (Mass spectrometry) ซึ่งจะทำหน้าที่เป็น detector ในการตรวจสอบดูว่า องค์ประกอบต่าง ๆ ที่ผ่านออกมาจากเครื่อง GC นั้น มีเลขมวล (mass number) เป็นเท่าไร เพื่อที่จะได้สามารถทำนายได้ว่าสารที่เราสนใจอยู่นั้นประกอบด้วยองค์ประกอบชนิดใดบ้าง และมีปริมาณเท่าไร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.1 คุณสมบัติของเครื่อง GC

GC เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการแยก องค์ประกอบต่างๆของสารที่เราสนใจซึ่งเทคนิคนี้เหมาะที่จะใช้กับสารที่มีคุณสมบัติพิเศษ คือ สามารถระเหยกลายเป็น gas ได้เมื่อถูกความร้อนและกลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่างๆ ในสารตัวอย่างจะอาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกัน องค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อ phase 2 phase คือ stationary phase และ mobile phase

องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง GC สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนคือ

1. Injector
2. Oven
3. Detector

Injector คือ ส่วนที่สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่อง และระเหยเป็น gas พร้อมกับถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนที่จะเข้าสู่ column อุณหภูมิที่เหมาะสมของ injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถระเหยได้แต่ต้องไม่ถูกทำให้สลายตัว (decompose)

Oven คือ ส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุ column เอาไว้ และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของ column ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับสารที่ถูกฉีด ซึ่งอุณหภูมิของ oven นั้นจะสามารถปรับเปลี่ยนได้ 2 แบบคือ isocratic temperature และ gradient temperature แล้วแต่ความต้องการของผู้วิเคราะห์ข้อดีของการทำ gradient temperature คือสามารถใช้กับสารตัวอย่างที่มีจุดเดือดกว้าง (wide boiling range) และยังช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์ลงได้อีกด้วย (analysis time)

Detector คือ ส่วนที่จะใช้สำหรับตรวจวัด องค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ดูว่าสารที่เราสนใจนั้นมีปริมาณอยู่เท่าไร ซึ่งความสามารถของการตรวจวัดนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของ detector ที่เลือกใช้ ชนิดของ detector ที่ใช้กับเครื่อง GC นั้นมีอยู่หลายอย่าง เช่น

Thermal Conductivity Detector
Flame Ionization Detector
Electron Capture Detector
Mass Spectrometry

2.9.2 คุณสมบัติของเครื่องMS

MS เป็น detector ที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างโดยอาศัยกลไก คือ โมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC นั้นจะถูก ionize ในสภาวะที่เป็นสุญญากาศ แล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (mass number) เทียบกับข้อมูลอ้างอิง แล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.3การทำงานของเครื่องGC-MS

เมื่อเตรียมตัวอย่างสารเสร็จเรียบร้อยก็นำมาฉีดเข้าทาง injector ของเครื่อง GC จากนั้นสารก็จะถูกแยกออกเป็นองค์ประกอบต่าง ๆ เมื่อผ่านเข้าสู่column ที่อยู่ใน oven แต่มีข้อกำหนดอยู่ว่า ตัวอย่างที่จะนำมาฉีดนั้นจะต้องเป็นสารละลายใสไม่มีตะกอน จากนั้นองค์ประกอบใดที่ถูกแยกออกมาจาก column ก่อนก็จะผ่านเข้าไปในส่วนของเครื่อง MS ซึ่งมีสภาวะเป็นสุญญากาศก่อน แล้วเข้าไปเจอกับ ion source ซึ่งจะทำหน้าที่ ionize โมเลกุลที่ผ่านเข้ามาให้กลายเป็นประจุจากนั้นประจุเหล่านี้ก็จะเดินทางผ่านเครื่องคัดเลือกและแยกแยะขนาดของประจุ (mass analyzer) ดูว่าประจุเหล่านั้นประกอบไปด้วยขนาดมวลเท่าใดบ้าง ก่อนที่จะเดินทางเข้าสู่เครื่องตรวจวัดปริมาณประจุ (detector) เพื่อตรวจหาปริมาณของประจุแล้วแปลผลออกมาเป็นปริมาณขององค์ประกอบแต่ละตัวที่มีอยู่ในสารตัวอย่างนั้น ๆ

2.9.4 ข้อดีของเครื่อง GC-MS

1. สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบทั่วไปและแบบเฉพาะเจาะจง
2. ให้ sensitivity ที่สูง
3. สามารถบ่งชี้ถึงชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างได้
4. สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและเชิง คุณภาพ

2.9.5 ข้อเสียของเครื่อง GC-MS

1. ราคาแพง
2. ค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาเครื่องสูง

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Graffron (1939) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนในสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus* sp. โดยพบว่าเมื่อเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus* sp. ในอาหารที่มีการเติมกลูโคส เซลล์สาหร่ายจะสามารถผลิตไฮโดรเจนได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายจะสร้างและสลายไฮโดรเจนเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มแสงและเมื่อเติมสารไดไนโตรฟีนอลไปยับยั้งการการผลิตไฮโดรเจนในที่มืด พบว่าเซลล์จะถูกกระตุ้นให้ผลิตไฮโดรเจนในสภาวะที่มีแสงได้เช่นกัน

Gaffron และ Rudin (2002) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนในสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus* sp. พบว่าในสภาวะไม่มีอากาศ เซลล์สามารถสร้างและสลายคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้แสงได้ และจะเกิดการแตกตัวอย่างอิสระของไฮโดรเจนอย่างช้าๆ ในที่มืดถ้าอากาศถูกแทนที่ด้วยก๊าซไนโตรเจน อัตราการเพิ่งขึ้นของไฮโดรเจนในการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีแสงมากกว่า 10 เท่า ของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะมืด และเมื่อเติมสารไดไนโตรฟีนอลจะยับยั้งการผลิตไฮโดรเจนในที่มืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ การเติมอาหาร เช่น กลูโคส จะทำให้สาหร่าย *Scenedesmus* sp.สามารถผลิตไฮโดรเจนได้อีกด้วย

Wunschiers และ Lindbland (2002) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว Scenedesmus obliquus โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายภายใต้สภาวะโฟโตโทรป ที่ อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มแสง 60 ไมโครไมลไอน์สไตน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที เพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นระยะเวลา 10-14 วัน หลังจากนั้น นำเซลล์มาชักนำให้อยู่ในสภาวะปราศจากออกซิเจน โดยการพ่นก๊าซอาร์กอน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเติมโซเดียมไดไทโอไนท์ จากนั้น นำสาหร่ายมาลง ถังหมักระบบปิดแบบกะ ถังหมักระบบเปิดแบบกะ และถังหมักแบบต่อเนื่อง จากการทดลองพบว่าเซลล์ที่ไม่ได้ถูกชักนำให้อยู่ในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจนและเติมโซเดียมไดไทโอไนต์ แขะให้แสงสว่างจะผลิตไฮโดรเจน 6.7 ไมโคโมลต่อชั่วโมง นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาผลของน้ำตาลกลูโคสต่อการผลิตไฮโดรเจน พบว่าเมื่อเติมน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 5 มิลลิโมลาร์ ในอาหารพบว่าสาหร่ายมีการผลิตไฮโดรเจนลดลง

Winkler และคณะ (2002) ศึกษากิจกรรมของเอมไซม์ไฮโดรจีเนสของสาหร่ายสีเขียว Chlamydomonas reinhardtii 137C(+),Scenedesmus obliquus 276-6 UTEX 393 และ Scenedesmus vucuolatus (Chlorella fusca) โดยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวในอาหาร TAP ภายใต้สภาวะเฮดโทโรโทรป ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่าง 150 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที และเก็บเกี่ยวเซลล์ในระยะที่มีการเจริญสูงสุด (Mid-exponential phase) นำสารละลายเซลล์ มาปั่นเหวี่ยงและล้างเซลล์ในอาหารที่ขาดซัลเฟอร์ (TAP-S) หลังจากนั้น ชักนำเซลล์ให้อยู่ในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจนโดยการฉีดอาร์กอน แล้วนำไปวัดก๊าซไฮโดรเจน พบว่าสาหร่ายสีเขียว C.reinhardtii , S.vucuolatus และ S.obliquus ผลิตไฮโดรเจนได้มากกว่าสาหร่ายสีเขียวชนิดอื่นโดยผลิตได้ 200 นาโนโมลไฮโดรเจนต่อไมโครกรัมคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมง

Fouchard และคณะ (2005) ศึกษาไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว C.reinhardtii ภายใต้ภาวะมิกไซโทรปและโฟโตออโตโทรป โดยพบว่าการขาดซัลเฟอร์จะไปยับยั้งการทำงานของระบบแสงที่สอง (PSII) และเมื่อเพาะเลี้ยง C.reinhardtii ในสภาวะที่ขาดซัลเฟอร์และมีการเติมสาร 3-(3,4-dichlorophenyl) 1-1 dimethyl urea (DCMU) ซึ่งจะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของระบบแสงที่สอง (PSII) สาหร่ายจะมีการผลิตไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น ในการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะมิกโซโทรปจะมีการเติมอะซีเตท แต่ในการเพาะเลี้ยงในสภาวะโฟโตออโตโทรปิกจะไม่มีการเติมอะซีเตท และเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะโฟโตออโตโทรปิกที่ไม่มีการเติม DCMU จะไม่มีการยับยั้งการทำงานของระบบแสงที่สองและจะไม่มีการผลิตไฮโดรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maneeruttanarungroj และคณะ (2010) รายงานว่า สาหร่ายสีเขียว Tetraspora sp. CU2551 มีการเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า(สั้นที่สุด) เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร TAP (Tris-acetate-phosphate) ภายใต้ความเข้มแสง 48-92 ไมโครไอร์สไตน์ต่อวินาที และอุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส นอกจากนั้นยังพบว่าการผลิตไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นเมื่อ pH เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 5.75 ถึง 9.30 อย่างไรก็ตามมีการผลิตไฮโดรเจนน้อยมาก pH เท่ากับ 5.25 และจากการเพิ่ม β- mercaptoethanol 0.5 มิลลิโลลาร์ในอาหาร TAP ที่ไม่มีไนโตรเจนและซัลเฟอร์ มีผลทำให้การผลิตไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ในทางตรงกันข้ามมีการผลิตไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อมีไนโตรเจนหรือซัลเฟอร์เพียงอย่างใดอย่างหนึ่งในอาหาร TAP การกระตุ้นการผลิตไฮโดรเจนด้วย β-mercaptoethanol 0.5 มิลลิโมลาร์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีทั้งไนโตรเจนและซัลเฟอร์เกิดขึ้นเมื่อเซลล์บ่มภายใต้สภาวะกความเข้มข้นแสงที่ต่ำกว่า 5 ไมโครไอน์สไตน์ต่อตารางเมตรต่อวินาที การผลิตไฮโดรเจนสูงสุดอยู่ที่ 17.3-61.7 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมง ซึ่งเป็นอัตราการผลิตที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายสีเขียวชนิดอื่นๆ

Tamburic และคณะ (2011)ศึกษาค่าพารามิเตอร์ในการเจริญและผลิตไฮโดรเจนของสาหร่าย C.reinhardtii พบว่าสามารถผลิตไฮโดรเจนภายใต้สภาวะไร้อากาศ และผลิตได้ดียิ่งขึ้นถ้าขาดซัลเฟอร์ โดยการผลิตไฮโดรเจนที่วัดได้จากถังหมักแบบ Stirred-tank batch reactor ในอาหารซัลเฟอร์ถูกนำไปใช้ใหม่โดยการปั่นเหวี่ยง (Centrifugation) และถังหมักแบบ Tubular flow reactor ในอาหารขาดซัลเฟอร์ ถูกนำไปใช้ใหม่โดยวิธีการเจือจาง (dilution) จากวิธีการปั่นเหวี่ยงในสภาวะขาดซัลเฟอร์ได้ผลรวมปริมาณของไฮโดรเจนที่ผลิตได้คือ 5.2 ±0.3 มิลลิลิตรต่อลิตรของอาหาร เมื่อเทียบกับวิธีการเจือจางได้ผลรวมปริมาณของไฮโดรเจนคือ 3.1±0.3 มิลลิลิตรต่อลิตรของอาหาร แสดงว่าวิธีการปั่นเหวี่ยงให้ปริมาณการผลิตไฮโดรเจนที่มากกว่าวิธีการเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

สาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551

3.2 สารเคมี

3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11 (Blue-Green medium) (ภาคผนวก ค-1)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-N (ภาคผนวก ค-2)
3. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-P (ภาคผนวก ค-3)
4. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-S (ภาคผนวก ค-4)
5. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-N-P (ภาคผนวก ค-5)
6. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-N-S (ภาคผนวก ค-6)
7. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-P-S (ภาคผนวก ค-7)
8. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BG11-N-P-S (ภาคผนวก ค-8)
9. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร TAP (Tris-Acetate Phosphate medium) (ภาคผนวก ง)

3.2.2 สารเคมีสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. กรดบอริก (H_3BO_3) เกรดวิเคราะห์ บริษัทLoba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย
2. กรดซิตริก (Citric Acid) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย
3. เกลเซียลอะซิติกแอซิด (Glacial Acetic Acid) GR Grade บริษัท Duksan Pure Chemical ประเทศเกาหลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

5. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2.2H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

6. โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($CoCl_2.6H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

7. ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4.7H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

8. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

9. โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

10.โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo ERBA Reagents SAS ประเทศฝรั่งเศส

11.ทริส-ไฮดรอกซีเมทิล-อะมิโนมีเทน (Tris(hydroxymethyl- aminomethane) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo ERBA Reagents SAS ประเทศฝรั่งเศส

12.ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

13. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

14. เฟอริกแอมโมเนียมซิเตรท (FeNH4 citrate) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

15. แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($MgCl_2.6H_2O$)

16. แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17. แมงกานีสคลอไรด์ไดไฮเดรต ($MnCl_2.2H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

18. วุ้น (Agar-Agar Bacto) เกรดวิเคราะห์ บริษัท S.D. Fine-Chem Limited ประเทศอินเดีย

19.เอทิลีนไดเอมีนเททระอะซิติกแอซิด (EDTA) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

20.แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

21.ไอร์ออนซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($FeSO_4.7H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Loba Chemie Pvt.Ltd ประเทศอินเดีย

3.2.3 ยาปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

แอมพิซิลลิน (Ampicillin Sodium Salt)

3.2.4 ก๊าซมาตรฐานและก๊าซที่ใช้ในการวิเคราะห์ไฮโดรเจน

1. ก๊าซมาตรฐานไฮโดรเจน 4 เปอร์เซ็นต์ในอาร์กอน

2. ก๊าซอาร์กอน (ความบริสุทธิ์ 99.999%)

3.3 อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Microscope) บริษัท Olympus รุ่น CH30 ประเทศญี่ปุ่น

2. คิวเวต

3. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ บริษัท SCHOTT ประเทศเยอรมันนี

4. เครื่องเขย่าแบบใช้แสง (Illumination Orbital Shaker)

5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Mettler Toledo

6. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) บริษัท JS Research INC ประเทศเกาหลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Thermo Centrifuge) ยี่ห้อ Thermo-Scientific รุ่น Heraeus-Megafuge 8R

8.เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Genesys 10S

9. จานเลี้ยงเชื้อแก้ว (Petri Dish)

10. ตะเกียงแอลกอฮอล์

11. ตู้ดูดควัน (Hood) บริษัท Flexlab รุ่น FH5-11-13/FB

12. เครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟ (Gas chromatograph)

13. ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาดต่างๆ บริษัท Mettler Toledo รุ่น Pipet-Lite XLS

14. เข็มฉีดยา (Syringe)

3.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.1 อาหารBlue-Green medium (BG11)

Blue-Green medium (BG11) เตรียมได้โดยทำการผสมสารเคมีตามสูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ BG11 เข้าด้วยกัน (ภาคผนวก ก) ซึ่งในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ จะทำการเตรียมได้ทั้ง 2 แบบ คือ อาหารเหลว (Liquid Media) และอาหารแข็ง (Agar Media)

3.4.1.1 ขั้นตอนการทำอาหารแข็ง (Agar Media)

ในขั้นตอนการเตรียม ต้องผสมผงวุ้น (Agar) ลงไป ถ้าหากว่ากลัวอาหารเลี้ยงเชื้อปนเปื้อน ควรใส่ยาปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียลงไปด้วย ทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้เทใส่ลงไปในจานเลี้ยงเชื้อ (Petri Dish) ในการเท ควรเทให้อาหารวุ้นที่ผิวหน้าของจานเลี้ยงเชื้อมีความสม่ำเสมอกัน จากนั้น รอเวลาให้อาหารวุ้นแห้งสนิทประมาณ 30 นาที ปฏิบัติการทดลองภายในตูปลอดเชื้อ (Laminar Flow Cabinet)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 อาหารTris Acetate Phosphate (TAP)

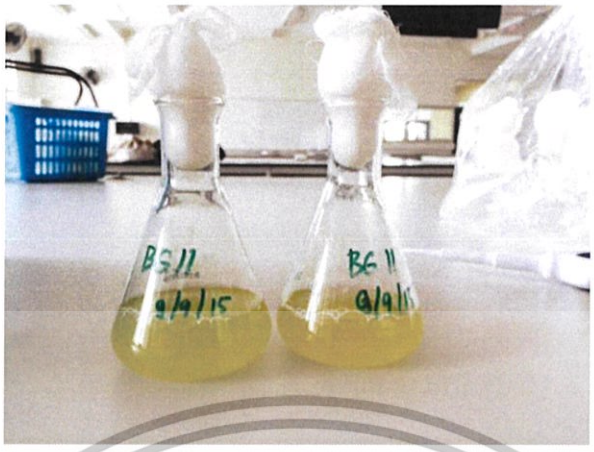
Tris Acetate Phosphate (TAP) เตรียมได้โดยทำการผสมสารเคมีตามสูตร ของอาหารเลี้ยงเชื้อ TAP เข้าด้วยกัน (ภาคผนวก ง)

3.5 วิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551 เพื่อทำเป็น starter จะเริ่มการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวบนอาหารแข็ง BG-11 ด้วยการนำ *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหารแข็ง TAP โดยใช้ลูปเลือกสาหร่ายเพียงโคโลนีเดี่ยว 1 โคโลนี ย้ายมายังอาหารแข็ง BG11 แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้น นำสาหร่ายจากอาหารแข็ง BG11 มาทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว BG11 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จำนวน 10 ฟลาสก์ นำเซลล์ไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน

รูปที่ 3.1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายบนอาหารแข็ง BG-11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารเหลว BG-11

3.6 วิธีการเตรียมสาหร่ายก่อนถ่ายเชื้อสาหร่ายลงในสูตรอาหารที่ต่างกัน

หลังจากที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG 11 ไปจำนวน 5 วัน นำสาหร่ายที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที และในแต่ละรอบของการปั่นเหวี่ยง เมื่อพบว่าสาหร่ายตกตะกอนลงไปอยู่ที่ก้นหลอดแล้ว เทส่วนใสทิ้ง แล้วเติมอาหารเหลว BG11-N-P-S ลงไป 40 มิลลิลิตร เพื่อทำการล้างเซลล์ กระจายเซลล์แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงใหม่ ทำการปั่นเหวี่ยงโดยวิธีนี้ 3 ครั้ง จะได้เซลล์สาหร่ายที่พร้อมนำไปถ่ายเชื้อลงในอาหารที่แตกต่างกัน

รูปที่ 3.3 ภาพก่อน-หลังการปั่นเหวี่ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 วิธีการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายในอาหารที่ต่างกัน

นำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงได้จาก 3.6 ไปถ่ายเชื้อลงในอาหารที่แตกต่างกัน 8 ชนิดคือ BG-11 (Normal) BG11-N (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจน) BG11-P (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัส) BG11-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากซัลเฟอร์) BG11-N-P (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) BG11-N-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและซัลเฟอร์) BG11-P-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์) BG11-N-P-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากทั้งไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์) โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวทั้ง 8 สูตร ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร สูตรละ 2 ฟลาสก์ ใส่สาหร่าย เริ่มที่ค่า Optical Density = 0.1 นำเซลล์ไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 23 วัน ทำการศึกษาการเจริญเติบโตโดยการวัดค่า Optical Density ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (จดค่าทุกวันเป็นเวลา 23 วัน จนกราฟที่ได้คงที่)

รูปที่ 3.4 สาหร่ายในอาหาร 8 สูตร สูตรละ 2 ฟลาสก์เพื่อนำไปวัดค่าการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8 วิธีการวัดค่าการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวทั้ง 8 ชนิด ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่สาหร่าย เริ่มที่ค่า Optical Density = 0.1 นำเซลล์ไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ ในทุกๆ 24 ชั่วโมง ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิตร ใส่ลงในคิวเวต ทำการศึกษาการเจริญเติบโตโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

3.9 วิธีการศึกษาผลของการขาดสารอาหารที่มีผลต่อรูปร่างเซลล์

เลี้ยงสาหร่ายในอาหารทั้ง 8 ชนิด ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร 8 ฟลาสก์ ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่สาหร่าย โดยให้ค่า Optical Density เริ่มต้น = 0.1 นำเซลล์ไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นนำไปส่องเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 x filter 10 20 40 และ 100 พร้อมเก็บบันทึกภาพ

3.10 วิธีการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียวโดยการแปรผันอายุเซลล์ใน BG11

เลี้ยงสาหร่ายในอาหาร BG-11 ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร 5 ฟลาสก์ แต่ละฟลาสก์ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่สาหร่าย ค่า Optical Density เริ่มต้น = 0.1 ทุกๆ 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 5 วัน เพื่อดูว่าอายุเซลล์สาหร่ายเท่าใดจะผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงที่สุด

รูปที่ 3.5 ขณะปิเปตเซลล์สาหร่ายและฟลาสก์ทั้ง 5 ฟลาสก์เพื่อทำ Vary วัน 5 วัน

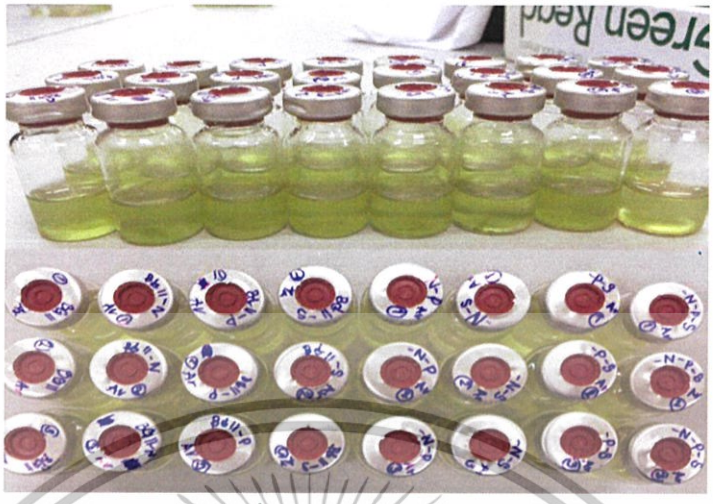
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.11 วิธีการวัดปริมาณการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียว

3.11.1 นำสาหร่ายใน 3.9 ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที 1 ครั้ง เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมอาหารเหลว BG11-N-P-S ลงไป 40 มิลลิลิตร เพื่อทำการล้างเซลล์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงใหม่ ทำการล้างเซลล์โดยวิธีนี้ 3 ครั้ง เทส่วนใสทิ้งจนเหลือปริมาตร 10 มิลลิตร แล้วนำไป adapt ลงอาหาร 8 สูตร ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร แต่ละฟลาสก์ใส่อาหารปริมาตร 40 มิลลิลิตร ค่า Optical Density = 0.03 นำเซลล์ไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปิเปตสารละลายเซลล์ 5 มิลลิลิตร ใส่ขวด Vial ขนาด 10 มิลลิลิตร ใส่สูตรละ 6 ขวด แบ่งเป็นพ่นอาร์กอน 3 ขวด ไม่พ่นอาร์กอน 3 ขวด แล้วปิดฝาขวด นำตัวอย่างไปพ่นด้วยอาร์กอนเป็นเวลา 3 นาที คว่ำขวดบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำก๊าซบริเวณส่วนบนของขวด (Head space) ไปวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ สภาวะที่ใช้วิเคราะห์ก๊าซไฮโดรเจนแสดงในตาราง 3.1

3.11.2 เลี้ยงเซลล์สาหร่ายในอาหาร TAP ค่า Optical Density เริ่มต้น = 0.03 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที 1 ครั้ง เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมอาหารเหลว BG11-N-P-S ลงไป 40 มิลลิลิตร เพื่อทำการล้างเซลล์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงใหม่ ทำการล้างเซลล์โดยวิธีนี้ 3 ครั้ง เทส่วนใสทิ้งจนเหลือปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิเปตเซลล์สาหร่าย adapt ลงอาหาร BG-11 ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีอาหารปริมาตร 40 มิลลิลิตรทั้ง 8 สูตร จากนั้นปิเปตสารละลายเซลล์ 5 มิลลิลิตร ใส่ขวด Vial ขนาด 10 มิลลิลิตร ใส่สูตรละ 6 ขวด แบ่งเป็นพ่นอาร์กอน 3 ขวด ไม่พ่นอาร์กอน 3 ขวด แล้วปิดฝาขวด นำตัวอย่างไปพ่นด้วยอาร์กอนเป็นเวลา 3 นาที คว่ำขวดบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำก๊าซบริเวณส่วนบนของขวด (Head space) ไปวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ แล้วนำค่าพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนมาคำนวณค่าการผลิตไฮโดรเจนที่ได้ตามวิธีในภาคผนวก จ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.6 สาหร่ายในอาหาร BG-11 8 สูตรที่ adapt มาจากอาหาร TAP รอเป่าอาร์กอน 24ขวด

รูปที่ 3.7 ขณะเป่าก๊าซอาร์กอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3.1 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

พารามิเตอร์	**สภาวะการเดินระบบ**
Column	Pack column 2 m; Molecular sieve 13X mesh 80/100
Detector	Thermal Conductivity Detector (TCD)
Temperature Program	Injector temperature : 120°C Column temperature : 50°C Detector temperature : 100°C
Carrier gas	Argon flow rate 20 mL/min (99.999%purity)

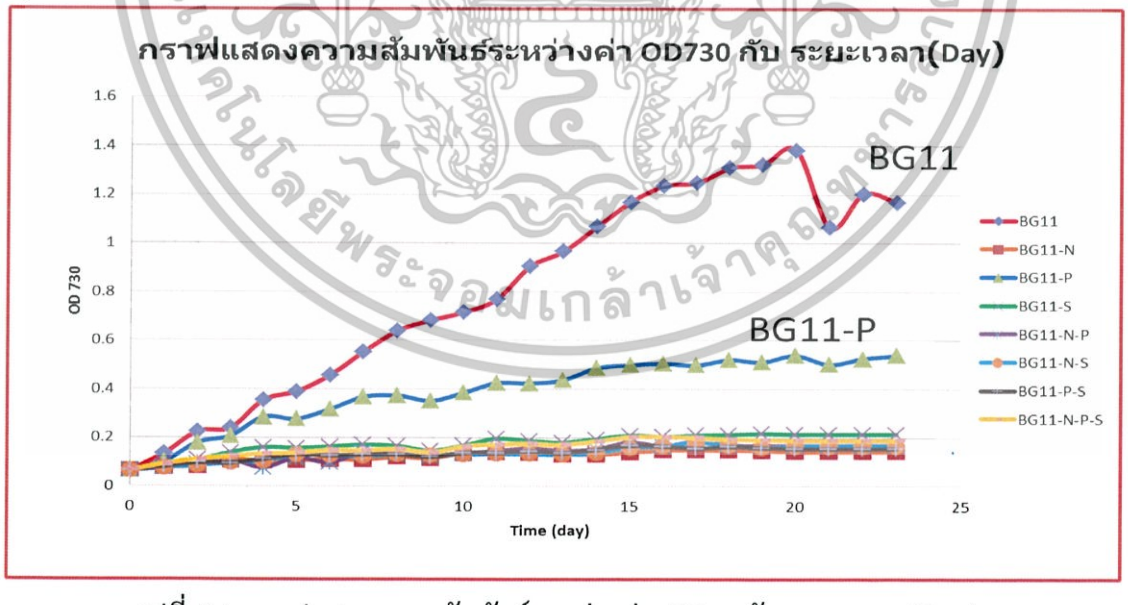
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหาร BG11 สูตรต่างๆ

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหารที่แตกต่างกัน 8 ชนิด คือ BG11 (Normal) BG11-N (อาหาร BG11 ที่ปราศจากไนโตรเจน) BG11-P (อาหาร BG11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัส) BG11-S (อาหาร BG11 ที่ปราศจากซัลเฟอร์) BG11-N-P (อาหาร BG11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) BG11-N-S (อาหาร BG11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและซัลเฟอร์) BG11-P-S (อาหาร BG11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์) BG11-N-P-S (อาหาร BG11 ที่ปราศจากทั้งไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์) โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวทั้ง 8 สูตร ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร สูตรละ 2 ฟลาสก์ ใส่สาหร่ายเริ่มที่ค่า Optical Density = 0.1 นำเซลล์ไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 23 วัน ทำการศึกษาการเจริญเติบโตโดยการวัดค่า Optical Density ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร พบว่าสาหร่ายสีเขียว *Tetraspora* sp. CU2551 สามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารทั้ง 2 ชนิด โดยพบว่าสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BG11 และรองลงมาเป็นอาหารเหลวสูตร BG11-N (รูปที่ 4.1)

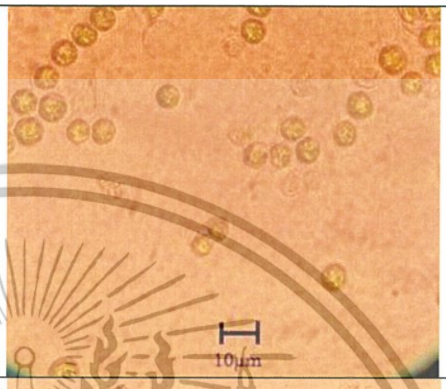
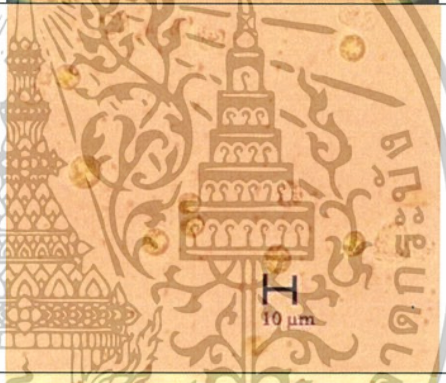
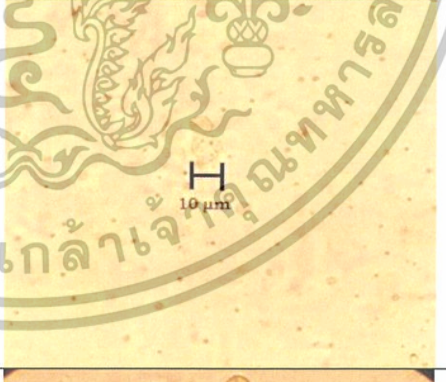
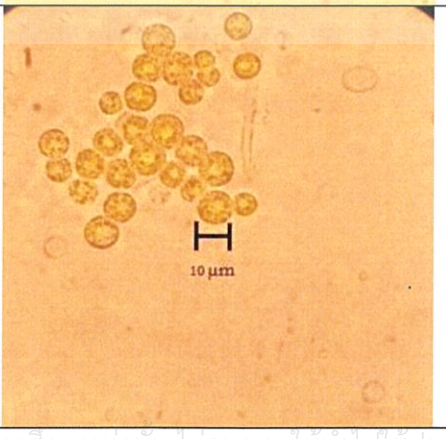


รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD_{730} กับระยะเวลา (Day)

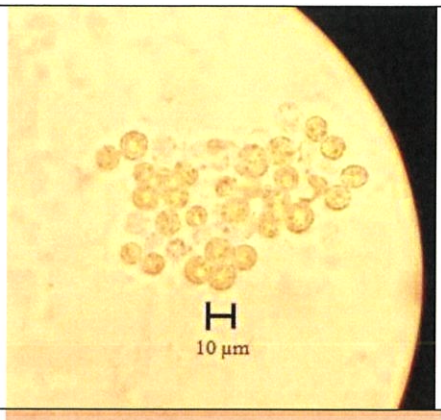
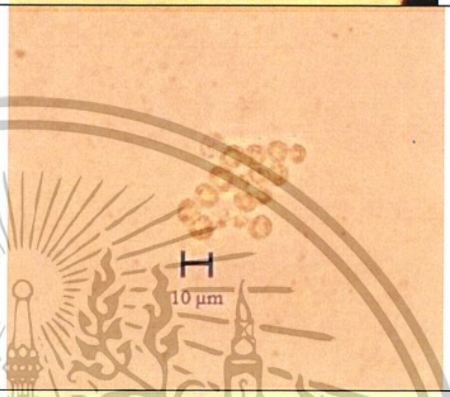
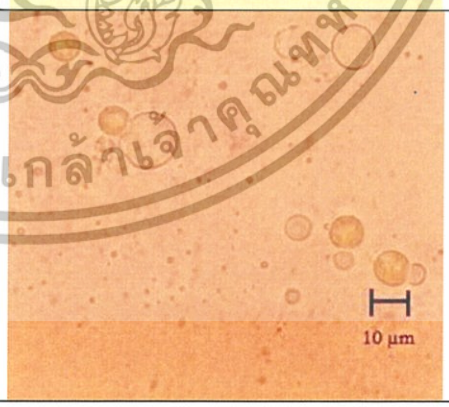
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของการขาดสารอาหารที่มีผลต่อรูปร่างเซลล์

ใช้วิธีส่องดูสัณฐานวิทยาของเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

สาหร่าย *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหาร	รูปภาพ
BG11	
BG11-N	
BG11-P	
BG11-S	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BG11-N-P	
BG11-N-S	
BG11-P-S	
BG11-N-P-S	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะเซลล์ของสาหร่าย tetraspora sp. CU 2551 สาหร่ายเมื่อได้รับแหล่งอาหารที่แตกต่างกันออกไป(8 สูตร) และลักษณะรูปพรรณสัณฐานของเซลล์จะมีลักษณะดังนี้

BG11

จากรูปจะเห็นได้ว่าเม็ดคลอโรพลาสต์มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ลักษณะสีเป็นสีเขียวชัดเจน

BG 11 เปรียบเทียบกับ BG 11-N

จากรูปจะเห็นได้ว่าเม็ดคลอโรพลาสต์จะมีจำนวนลดน้อยลง มีการกระจายตัวของเม็ดคลอโรพลาสต์ทั่วทั้งเซลล์และเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 เปรียบเทียบกับ BG 11-P

จากรูปจะเห็นได้ชัดเจนว่าคลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงมากอีกทั้งผนังเซลล์มีลักษณะบางลงและเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 เปรียบเทียบกับ BG 11-S

จากรูปจะเห็นได้ว่าคลอโรพลาสต์มีการเรียงตัวชิดกันใกล้กับขอบผนังเซลล์ ผนังเซลล์มีลักษณะหนาขึ้นและเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 เปรียบเทียบกับ BG 11 -NP

จากรูปจะเห็นได้ว่าคลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงสีของเซลล์มีสีส้มเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 เปรียบเทียบกับ BG 11 -NS

จากรูปจะเห็นได้ว่าคลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงและมีการกระจายตัวชิดติดขอบผนังเซลล์สีของเซลล์มีลักษณะเหลืองปนส้มเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 เปรียบเทียบกับ BG 11 -PS

จากรูปจะเห็นได้ว่าคลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงอย่างเห็นได้ชัดเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 เปรียบเทียบกับ BG 11 –NPS

จากรูปจะเห็นได้ว่าคลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงลักษณะของผนังเซลล์ค่อนข้างหนาโดยทั่วไปมีลักษณะแคระแกรนที่สุด

4.3 ผลการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายโดยการ Vary วันในBG11

4.3 ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่ายในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร เริ่มที่ค่า Optical Density = 0.1 นำเซลล์ไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ นำไปวัดปริมาณการผลิตไฮโดรเจนด้วยเครื่อง GD-TCD ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 4 วัน พบว่าไม่มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจน จึงทำการทดลองซ้ำอีกครั้งดังเดิม นำไปวัดปริมาณการผลิตไฮโดรเจนด้วยเครื่อง GD-TCD ทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 5วัน พบว่าไม่มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนอีกเช่นกัน จึงได้ทำการทดลองอื่นแทนจะกล่าวต่อไปใน 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายในวิธีเลี้ยงใน TAP แล้ว adapt ลงอาหาร BG11 ทั้ง 8 สูตร

เลี้ยงเซลล์สาหร่ายในอาหาร TAP ค่า Optical Density เริ่มต้น = 0.03 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นไปปั่นเหวี่ยงที่3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที 1 ครั้ง เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมอาหารเหลว BG11-N-P-S ลงไป 40 มิลลิลิตร เพื่อทำการล้างเซลล์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงใหม่ ทำการปั่นเหวี่ยงโดยวิธีนี้ 3 ครั้ง เทส่วนใสทิ้งจนเหลือปริมาตร 5 มิลลิตร ปิเปตเซลล์สาหร่าย adapt ลงอาหาร BG-11 ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีอาหารปริมาตร 40 มิลลิลิตรทั้ง 8 สูตร จากนั้นปิเปตสารละลายเซลล์ 5 มิลลิลิตร ใส่ขวด Vial ขนาด 10 มิลลิลิตร ใส่สูตรละ 6 ขวด แบ่งเป็นพ่นอาร์กอน 3 ขวด ไม่พ่นอาร์กอน 3 ขวด แล้วปิดฝาขวด นำตัวอย่างไปพ่นด้วยอาร์กอนเป็นเวลา 3 นาที คว่ำขวดบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และให้ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์เป็นเวลา 4, 18, 24 ชั่วโมง นำก๊าซบริเวณส่วนบนของขวด (Head space) ไปวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ พบว่า

4.4.1 บ่มสาหร่าย 4 ชั่วโมง ไม่พบการผลิตไฮโดรเจนขึ้นในอาหารทุกชนิด

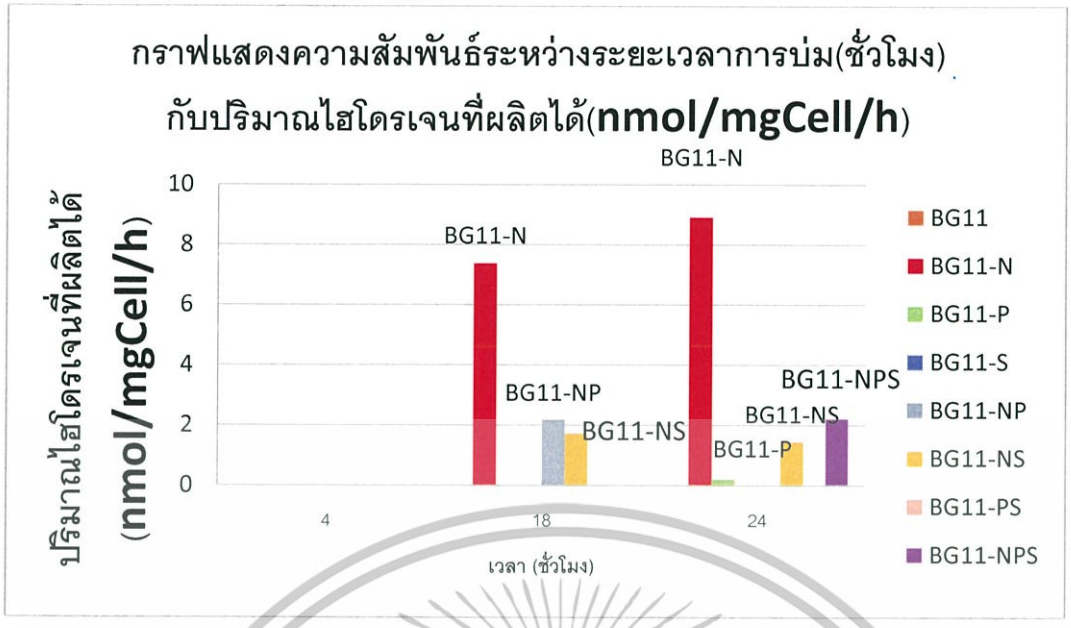
4.4.2 บ่มสาหร่าย 18 ชั่วโมง เกิดไฮโดรเจนขึ้น ในอาหาร 3 สูตรคือ BG11-N (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจน), BG11-N-P (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัส), BG11-N-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและซัลเฟอร์)

4.4.3 บ่มสาหร่าย 24 ชั่วโมง เกิดไฮโดรเจนขึ้น ในอาหาร 4 สูตรคือ BG11-N (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจน), BG11-P (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัส), BG11-N-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและซัลเฟอร์) BG11-N-P-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากทั้งไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์) ซึ่งจะแสดงผลในตาราง 4.1 และกราฟรูปที่ 4.2

ตาราง 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน

Media	mean	SD
Control(BG11)	0.00	0.00
BG11-N	8.92	0.00
BG11-P	0.20	0.00
BG11-N-P	2.17	0.00
BG11-N-S	1.73	0.00
BG11-N-P-S	2.21	2.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการบ่ม(ชั่วโมง)กับปริมาณไฮโดรเจนที่ผลิตได้ (nmol/mgCell/h)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

1. จากการทดลองการศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551

1.1 ในอาหาร Blue-Green medium (BG11) เป็นเวลา 23 วัน สรุปได้ว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตแบ่งเป็น 3 ระยะ คือระยะ Lag phase ในวันที่ 1-3 วัน ระยะ Log phase 4-15 วัน และระยะ Stationary phase ภายหลังวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยง

1.2 ในอาหาร BG11-P (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัส) เป็นเวลา 23 วัน สรุปได้ว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตแบ่งเป็น 3 ระยะ คือระยะ Lag phase ในวันที่ 1-3 วัน ระยะ Lag phase 4–13 วัน และระยะ Stationary phase ภายหลังวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง

2. จากการศึกษา cell morphology ของสาหร่ายสีเขียวพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551 ในอาหาร 8 สูตร คือ BG-11 (Normal) BG11-N (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจน) BG11-P (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัส) BG11-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากซัลเฟอร์) BG11-N-P(อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) BG11-N-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและซัลเฟอร์) BG11-P- S(อาหาร BG-11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์) BG11-N-P-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากทั้งไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์) พบว่าทุกอาหารมีผลต่อรูปร่างเซลล์ของสาหร่าย เริ่มจากอาหาร

BG11 เม็ดคลอโรพลาสต์มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ลักษณะสีเป็นสีเขียวชัดเจน

BG 11-N เม็ดคลอโรพลาสต์จะมีจำนวนลดน้อยลง มีการกระจายตัวของเม็ดคลอโรพลาสต์ทั่วทั้งเซลล์และเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11-P เห็นชัดเจนว่าคลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงมากอีกทั้งผนังเซลล์มีลักษณะบางลงและเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11-S คลอโรพลาสต์มีการเรียงตัวชิดกันใกล้กับขอบผนังเซลล์ ผนังเซลล์มีลักษณะหนาขึ้นและเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 –NP คลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงสีของเซลล์มีสีส้มเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 –NS คลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงและมีการกระจายตัวชิดติดขอบผนังเซลล์สีของเซลล์มีลักษณะเหลืองปนส้มเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 –PS คลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงอย่างเห็นได้ชัดเซลล์มีขนาดใหญ่กว่า BG 11

BG 11 –NPS คลอโรพลาสต์มีจำนวนลดลงลักษณะของผนังเซลล์ค่อนข้างหนาโดยทั่วไปมีลักษณะแคระแกรนที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. จากการศึกษาผลการเลี้ยงสาหร่ายในวันที่แตกต่างกันเพื่อดูอายุเซลล์ที่เหมาะสมแก่การผลิตไฮโดรเจน พบว่า

3.1 ทำการทดลองทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 4 วัน ไม่พบการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

3.2 ทำการทดลองครั้งที่ 2 ทุก 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 5 วัน ไม่พบการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

4. จากการศึกษาผลของเวลาบ่มต่อการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียวพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551 พบว่า

4.1 บ่มสาหร่าย 4 ชั่วโมง ไม่พบการผลิตก๊าซไฮโดรเจนขึ้นในอาหารทุกชนิด

4.2 บ่มสาหร่าย 18 และ 24 ชั่วโมง เกิดไฮโดรเจนขึ้น ในอาหาร 5 สูตรคือ BG11-N (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจน), BG11-P (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากฟอสฟอรัส), BG11-N-P (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัส), BG11-N-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากไนโตรเจนและซัลเฟอร์), BG11-N-P-S (อาหาร BG-11 ที่ปราศจากทั้งไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์)

5. จากการศึกษาอัตราการผลิตไฮโดรเจนของสาหร่ายสีเขียวพันธุ์ *Tetraspora* sp. CU2551 พบว่า

5.1 ขาดไนโตรเจน ในสาหร่ายสีเขียว *Tetraspora* sp. CU2551 ทำให้ผลิตเซลล์ไฮโดรเจนได้มากขึ้น 8.92 nmol/mgCell/h

5.2 ขาดฟอสฟอรัส ในสาหร่ายสีเขียว Tetraspora sp. CU2551 ทำให้ผลิตเซลล์ไฮโดรเจนได้มากขึ้น 0.20 nmol/mgCell/h

5.3 ขาดไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในสาหร่ายสีเขียว Tetraspora sp. CU2551 ทำให้ผลิตเซลล์ไฮโดรเจนได้มากขึ้น 2.17 nmol/mgCell/h

5.4 ขาดไนโตรเจนและซัลเฟอร์ ในสาหร่ายสีเขียว Tetraspora sp. CU2551 ทำให้ผลิตเซลล์ไฮโดรเจนได้มากขึ้น 1.73 nmol/mgCell/h

5.5 ขาดทั้งไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์ ในสาหร่ายสีเขียว Tetraspora sp. CU2551 ทำให้ผลิตเซลล์ไฮโดรเจนได้มากขึ้น 2.21 nmol/mgCell/h

สรุปว่า อาหารBG11 ที่ขาดแหล่งไนโตรเจนเหมาะสมที่จะนำมาใช้ผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากสาหร่ายสีเขียว *Tetraspora* sp. CU2551 เซลล์มีความสามารถในการผลิตไฮโดรเจนได้สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. (2557). **ไฮโดรเจน**. In กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, สารานุกรมพลังงานทดแทน .หน้า 47, 49, 54-56, 61, 66, 68-69, 74-75. กรุงเทพมหานคร, ประเทศไทย.

ดอยโตน. 2008. **คุณสมบัติของก๊าซไฮโดรเจน.** [Online]. Available : http://www.oknation.net/blog/pichetbiodiesel/2008/07/09/entry-2. (เข้าถึงเมื่อ 4 พ.ย. 2558)

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546. **สาหร่ายวิทยา**. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. **แพลงตอนพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 774-785.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. **คู่มือการเลี้ยงแพลงตอน.** พิมพ์ครั้งที่ 3. (ฉบับปรับปรุงครั้งที่1) กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 774-785.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. **วิทยาสาหร่าย.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. หน้า 197-301.

วีนา ชูโชติ. 2558. **สาหร่ายวิทยา.** กรุงเทพฯ: โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุรัตน์ติพร รัตนะ. 2554 **การผลิตไฮโดรเจนโดยสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว *Scenedesmus* sp. KMITL-01.** วิทยานิพนธ์. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Fouchard, S., Hemschemeier, A., Caruana, A., Pruvost, J., Legrand, J., Happe, T., Pltier, G. and Cournac, L. 2005. "Autotrophic and mixotrophic hydrogen photoproduction in sulfur-deprived Chiamydomanas cell." **Appl. Environ. Microbiol.** 10 : 6199-6205

Graffron, H. 1939. "Reduction of carbon dioxide with hydrogen in green plant." **Nature.** 143 : 204-205

Graffron, H. and Rubin, J. 1942. "Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae."**J. Gen. Physiol.**26 : 219-240.

Grobbelaar, J. U. 1995. "Influence of areal density on β-carotene production by Dunaliella salina." **J. Appl.Phycol.**7: 69-73.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maneeruttanarungroj, C., Lindblad, P. and Incharoensakdi, A. 2010. "A newly isolated green alga Tetraspora sp. CU2551, from Thailand with efficient hydrogen production." **Int. J. Hydrogen Energy.** 35 : 13193-13199

Shawna Williams. 2003. **แนวความคิดในการแยกโมเลกุลน้ำด้วยแสงอาทิตย์และสารกึ่งตัวนำเพื่อผลิตพลังงานไฮโดรเจน** [Online]. Available : http://www2.slac.stanford.edu/tip/2003/mar21/hydrogen.htm.

Tamburic, B., Fessehaye W. Zemichael, Geoffrey C. Maitland, Klaus Hellgard, K 2011." Parameter affecting the growth and hydrogen production of green algae Chlamydonas reinhardtii ". **Int. J. Hydrogen Energy.** 36 7872-7876.

Winkler, M., Hemschemerier, A., Gotor, C., Melis, A. and Happe, T. 2002. " [Fe]-hydrogenase In green algae : photo-fermentation and hydrogen evolution under sulfur deprivation." **Int. J. Hydrogen Energy.** 27 : 1431-1439.

Wunschiers, R. and Lindbland, P. 2002. " Hydrogen in education – a biological approach." **Int. J. Hydrogen Energy.** 27 : 1131-1140.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Blue-Green 11 Medium

ภาคผนวก ก-1 : อาหารเลี้ยงเชื้อ BG 11

	สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1.	กรดซิตริก (Citric Acid)	6.00	มิลลิกรัม
2.	แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	36.00	มิลลิกรัม
3.	โซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$)	1.5	กรัม
4.	ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	20.00	มิลลิกรัม
5.	ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไตรไฮเดรต ($K_2HPO_4.3H_2O$)	40.00	มิลลิกรัม
6.	เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric Ammonium Citrate)	6.00	มิลลิกรัม
7.	แมกนีเซียม-เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Mg-EDTA)	1.00	มิลลิกรัม
8.	แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$)	75.00	มิลลิกรัม
9.	Trace metal mix A5 + Co*	1	มิลลิลิตร
	ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

* Trace metal mix A5 + Co

	สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1.	กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86	กรัม
2.	คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$)	79.00	มิลลิกรัม
3.	โคบอลต์ไดไนเตรตเฮกซะไฮเดรต ($Co(NO_3)_2.6H_2O$)	49.00	มิลลิกรัม
4.	ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4.7H_2O$)	220.00	มิลลิกรัม
5.	โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	390.00	มิลลิกรัม
6.	แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	1.81	กรัม
	ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก-2 : อาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-N

สารเคมีที่ใช้

1.	กรดซิตริก (Citric Acid)	6.00	มิลลิกรัม
2.	แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	36.00	มิลลิกรัม
3.	โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	1.03	กรัม
4.	ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	20.00	มิลลิกรัม
5.	ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไตรไฮเดรต ($K_2HPO_4.3H_2O$)	40.00	มิลลิกรัม
6.	เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric Ammonium Citrate)	6.00	มิลลิกรัม
7.	แมกนีเซียม-เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Mg-EDTA)	1.00	มิลลิกรัม
8.	แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$)	75.00	มิลลิกรัม
9.	Trace metal mix A5 + Co*	1	มิลลิลิตร
	ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

* Trace metal mix A5 + Co

	สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1.	กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86	กรัม
2.	คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$)	79.00	มิลลิกรัม
3.	โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($CoCl_2.6H_2O$)	40.07	มิลลิกรัม
4.	ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4.7H_2O$)	220.00	มิลลิกรัม
5.	โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	390.00	มิลลิกรัม
6.	แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	1.81	กรัม
	ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก-3 : อาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-P

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดซิตริก (Citric Acid)	6.00	มิลลิกรัม
2. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	36.00	มิลลิกรัม
3. โซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$)	1.5	กรัม
4. ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	20.00	มิลลิกรัม
5. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	13.07	มิลลิกรัม
6. เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric Ammonium Citrate)	6.00	มิลลิกรัม
7. แมกนีเซียม-เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Mg-EDTA)	1.00	มิลลิกรัม
8. แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$)	75.00	มิลลิกรัม
9. Trace metal mix A5 + Co*	1	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

* Trace metal mix A5 + Co

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86	กรัม
2. คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$)	79.00	มิลลิกรัม
3. โคบอลต์ไดไนเตรตเฮกซะไฮเดรต ($Co(NO_3)_2.6H_2O$)	49.00	มิลลิกรัม
4. ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4.7H_2O$)	220.00	มิลลิกรัม
5. โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	390.00	มิลลิกรัม
6. แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	1.81	กรัม
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก-4 : อาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-S

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดซิตริก (Citric Acid)	6.00	มิลลิกรัม
2. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	36.00	มิลลิกรัม
3. โซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$)	1.5	กรัม
4. ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	20.00	มิลลิกรัม
5. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไตรไฮเดรต ($K_2HPO_4.3H_2O$)	40.00	มิลลิกรัม
6. เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric Ammonium Citrate)	6.00	มิลลิกรัม
7. แมกนีเซียม-เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Mg-EDTA)	1.00	มิลลิกรัม
8. แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($MnCl_2.6H_2O$)	61.90	มิลลิกรัม
9. Trace metal mix A5 + Co*	1	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

* Trace metal mix A5 + Co

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดบอริก (H3BO3)	2.86	กรัม
2. คอปเปอร์คลอไรด์ไดไฮเดรต ($CuCl_2.2H_2O$)	154.03	มิลลิกรัม
3. โคบอลต์ไดไนเตรตเฮกซะไฮเดรต ($Co(NO_3)_2.6H_2O$)	49.00	มิลลิกรัม
4. ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$)	104.41	มิลลิกรัม
5. โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	390.00	มิลลิกรัม
6. แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	1.81	กรัม
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก-5 : อาหารเลี้ยงเชื้อ BG11-N-P

	สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1.	กรดซิตริก (Citric Acid)	6.00	มิลลิกรัม
2.	แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	36.00	มิลลิกรัม
3.	โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	1.03	กรัม
4.	ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	20.00	มิลลิกรัม
5.	โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	13.07	มิลลิกรัม
6.	เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric Ammonium Citrate)	6.00	มิลลิกรัม
7.	แมกนีเซียม-เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Mg-EDTA)	1.00	มิลลิกรัม
8.	แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$)	75.00	มิลลิกรัม
9.	Trace metal mix A5 + Co *	1	มิลลิลิตร
	ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

* Trace metal mix A5 + Co

	สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1.	กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86	กรัม
2.	คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$)	79.00	มิลลิกรัม
3.	โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($CoCl_2.6H_2O$)	40.07	มิลลิกรัม
4.	ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4.7H_2O$)	220.00	มิลลิกรัม
5.	โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	390.00	มิลลิกรัม
6.	แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	1.81	กรัม
	ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก-6 : อาหารเลี้ยงเชื้อ BG 11-P-S

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดซิตริก (Citric Acid)	6.00	มิลลิกรัม
2. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	36.00	มิลลิกรัม
3. โซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$)	1.5	กรัม
4. ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	20.00	มิลลิกรัม
5. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	13.07	มิลลิกรัม
6. เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric Ammonium Citrate)	6.00	มิลลิกรัม
7. แมกนีเซียม-เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Mg-EDTA)	1.00	มิลลิกรัม
8. แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($MnCl_2.6H_2O$)	61.90	มิลลิกรัม
9. Trace metal mix A5 + Co*	1	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

* Trace metal mix A5 + Co

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86	กรัม
2. คอปเปอร์คลอไรด์ไดไฮเดรต ($CuCl_2.2H_2O$)	154.03	มิลลิกรัม
3. โคบอลต์ไดไนเตรตเฮกซะไฮเดรต ($Co(NO_3)_2.6H_2O$)	49.00	มิลลิกรัม
4. ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$)	104.41	มิลลิกรัม
5. โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	390.00	มิลลิกรัม
6. แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	1.81	กรัม
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก-7 : อาหารเลี้ยงเชื้อ BG 11-N-S

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดซิตริก (Citric Acid)	6.00	มิลลิกรัม
2. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	36.00	มิลลิกรัม
3. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	1.03	กรัม
4. ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	20.00	มิลลิกรัม
5. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไตรไฮเดรต ($K_2HPO_4.3H_2O$)	40.00	มิลลิกรัม
6. เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric Ammonium Citrate)	6.00	มิลลิกรัม
7. แมกนีเซียม-เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Mg-EDTA)	1.00	มิลลิกรัม
8. แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($MnCl_2.6H_2O$)	61.90	มิลลิกรัม
9. Trace metal mix A5 + Co*	1	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

* Trace metal mix A5 + Co

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดบอริก ($H3_BO_3$)	2.86	กรัม
2. คอปเปอร์คลอไรด์ไดไฮเดรต ($CuCl_2.2H_2O$)	154.03	มิลลิกรัม
3. โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($CoCl_2.6H_2O$)	40.07	มิลลิกรัม
4. ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$)	104.41	มิลลิกรัม
5. โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	390.00	มิลลิกรัม
6. แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	1.81	กรัม
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก-8 : อาหารเลี้ยงเชื้อ BG 11-N-P-S

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดซิตริก (Citric Acid)	6.00	มิลลิกรัม
2. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	36.00	มิลลิกรัม
3. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	1.03	กรัม
4. ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	20.00	มิลลิกรัม
5. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	13.07	มิลลิกรัม
6. เฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric Ammonium Citrate)	6.00	มิลลิกรัม
7. แมกนีเซียม-เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (Mg-EDTA)	1.00	มิลลิกรัม
8. แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($MnCl_2.6H_2O$)	61.90	มิลลิกรัม
9. Trace metal mix A5 + Co*	1	มิลลิลิตร
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

* Trace metal mix A5 + Co

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้	
1. กรดบอริก (H_3BO_3)	2.86	กรัม
2. คอปเปอร์คลอไรด์ไดไฮเดรต ($CuCl_2.2H_2O$)	154.03	มิลลิกรัม
3. โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($CoCl_2.6H_2O$)	40.07	มิลลิกรัม
4. ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$)	104.41	มิลลิกรัม
5. โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	390.00	มิลลิกรัม
6. แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	1.81	กรัม
ปรับปริมาตรน้ำ	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด

Tris Acetate Phosphate (TAP)

อาหารเลี้ยงเชื้อ Tris Acetate Phosphate (TAP)

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณที่ใช้
1. กรดบอริก (H_3BO_3)	0.0114 กรัม/ลิตร
2. เกลเซียลอะซิติกแอซิด (Glacial Acetic Acid)	1 มิลลิลิตร/ลิตร
3. คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$)	0.008 กรัม/ลิตร
4. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2.2H_2O$)	0.05 กรัม/ลิตร
5. โคบอลต์คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($CoCl_2.6H_2O$)	0.0085 กรัม/ลิตร
6. ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4.7H_2O$)	0.0272 กรัม/ลิตร
7. โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($NaMoO_4.2H_2O$)	0.0375 กรัม/ลิตร
8. ทริส-เบส (Tris-Base)	2.42 กรัม/ลิตร
9. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.1 กรัม/ลิตร
10. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.05 กรัม/ลิตร
11. แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.1 กรัม/ลิตร
12. แมงกานีสคลอไรด์เททระไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)	0.00675 กรัม/ลิตร
13. เอทิลีนไดเอมีนเททระอะซิติกแอซิด (EDTA)	0.05 กรัม/ลิตร
14. แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	0.4 กรัม/ลิตร
15. ไอร์ออนซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($FeSO_4.7H_2O$)	0.0056 กรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจน

1.นำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการทดลองมาหาค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนในหน่วยร้อยละจากกราฟมาตรฐาน

$$\frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างที่วัดได้จากเครื่อง } GC \times 4 \text{ เปอร์เซ็นต์ของก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐาน}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟมาตรฐานที่ได้จากเครื่อง } GC} = A\ \%$$

2. นำค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนในหน่วยร้อยละมาเปรียบเทียบเป็นปริมาณไฮโดรเจนในหน่วย มิลลิลิตร

$$\frac{8.4 \times \text{A}\ \%}{100\ \text{mL}} = \text{B mL}$$

3. นำปริมาณไฮโดรเจนในหน่วยมิลลิลิตรมาเปรียบเทียบเป็นปริมาณไฮโดรเจนในหน่วย มิลลิโมล โดยคิดจากที่ความดัน 1 บรรยากาศ ก๊าซไฮโดรเจนมีปริมาตร 22.4 มิลลิลิตร จะเทียบเท่ากับปริมาตรไฮโดรเจน 1 มิลลิโมล

$$\text{B mL} = \frac{\boldsymbol{B \times 1mmol}}{\boldsymbol{22.4\ mL}} = \text{C mmol}$$

4. หาน้ำหนักเซลล์แห้ง จากสมการ y= 1.7915x

โดยที่ y = ค่า OD_{730}

x = น้ำหนักเซลล์แห้ง หาได้จาก = $\frac{\boldsymbol{OD730}}{\boldsymbol{1.7915}}\ \boldsymbol{x\ 5ml} = \text{D mL}$

5. นำปริมาณไฮโดรเจนที่ได้มาหารจำนวนชั่วโมงจะได้จะได้ ปริมาณไฮโดรเจนต่อชั่วโมง

6. นำปริมาณไฮโดรเจนต่อชั่วโมงที่ได้มาหารปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งจะได้หน่วยเป็น ไมโครโมลไฮโดรเจนต่อมิลลิกรัมเซลล์แห้งต่อชั่วโมง อัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในหน่วย (nmol/mgCell/h) = C/D/h

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้