

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ <i>Rhodospseudomonas sphaeroides</i> 3701
หน่วยกิตของวิทยานิพนธ์	12 หน่วย
โดย	นางสาวพุทธชาติ แพนสมบุญ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. ดร. มารศรี เรืองจิตชัชวาลย์ อาจารย์นิรมล ศทาวัชรกุล
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2541

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *Rhodospseudomonas sphaeroides* 3701 ซึ่งเป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่แยกจากถังหมักก๊าซชีวภาพ โดยศึกษาถึงชนิดของกรดอินทรีย์ แหล่งไนโตรเจน และน้ำหมักจากเปลือกสับปะรดในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน สภาวะที่ใช้ในการผลิต คือ สภาวะไร้อากาศมีแสง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

R. sphaeroides 3701 สามารถใช้กรดอะซิติก กรดแลกติก กรดบิวทิริก หรือกรดโพรพิโอนิก เพื่อการเจริญเติบโตและการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ปริมาณของก๊าซไฮโดรเจนที่ได้ ขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นตั้งต้นของกรดอินทรีย์ จากการทดลองกับกรดบิวทิริก พบว่าเมื่อความเข้มข้นตั้งต้นของกรด บิวทิริคลดลงจาก 48 mM เป็น 10 และ 20 mM ได้ก๊าซไฮโดรเจนต่อ mmole ของสับสเตรทที่ถูกใช้เพิ่มจาก 68 ml/mmole กรดบิวทิริก เป็น 125 และ 123 ml/mmole กรดบิวทิริกตามลำดับ และทำให้ประสิทธิภาพการเกิดก๊าซไฮโดรเจนเมื่อเทียบกับสมการทางเคมีเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 30 เป็นร้อยละ 55

เมื่อใช้กรดอินทรีย์แต่ละชนิดความเข้มข้น 50 mM เป็นสับสเตรท พบว่าได้ปริมาณของก๊าซไฮโดรเจนเป็น 85, 78, 68 และ 60 ml/mmole ของกรดแลกติก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทิริก และกรดอะซิติกตามลำดับ เมื่อทดลองผสมกรดแลกติก 70 mM กับกรดอะซิติก 50 mM ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่ *R. sphaeroides* 3701 ใช้เป็นสับสเตรทได้ดี พบว่าได้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนต่อ mmole ของกรดอินทรีย์ที่ถูกใช้เท่ากับ 76 ml/mmole เทียบกับ 60 ml/mmole กรดอะซิติก เมื่อใช้กรดอะซิติก 50 mM เป็นสับสเตรท หรือ 59 ml/mmole ของกรดแลกติก เมื่อใช้กรดแลกติก 70 mM เป็นสับสเตรท

การมีแหล่งไนโตรเจนอยู่ทำให้จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น จากการเปรียบเทียบระหว่างการใส่แอมโมเนียมซัลเฟต และโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า *R. sphaeroides* 3701 ใช้แหล่งไนโตรเจนทั้ง 2 ชนิดเพื่อการเจริญเติบโตได้ แต่การมีแอมโมเนียมซัลเฟตอยู่ยับยั้งการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โมโนโซเดียมกลูตาเมตนอกจากใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนแล้ว ยังถูกใช้เป็นสับสเตรทในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน และช่วยกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ในโครจีเนส โดยพบว่าการรีดิวส์อะเซทิลีน ถ้ามีโมโนโซเดียมกลูตาเมตอยู่พบกิจกรรมของเอ็นไซม์ในโครจีเนสได้เร็วกว่าเมื่อไม่มีโมโนโซเดียมกลูตาเมต จากการที่แอมโมเนียมซัลเฟตยับยั้งการผลิตก๊าซไฮโดรเจนเมื่อนำ *R. sphaeroides* 3701 ที่เลี้ยงในแอมโมเนียมซัลเฟตมาใช้ผลิตก๊าซไฮโดรเจนในที่ที่มีแหล่งไนโตรเจนอื่นหรือไม่ พบว่าผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ช้ากว่าการใช้ *R. sphaeroides* 3701 ที่นำมาจากแหล่งไนโตรเจนอื่นหรือไม่

เมื่อกรดอินทรีย์ถูกใช้หมด การเกิดก๊าซไฮโดรเจนหยุด เมื่อเติมกรดอินทรีย์ลงไปเพิ่ม การเกิดก๊าซไฮโดรเจนดำเนินต่อไปได้ จากการผลิตก๊าซไฮโดรเจนแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่าถ้ามีการเติมกรดแลคติกลงไปทุก ๆ 7 วัน โดยไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงไป การเกิดก๊าซไฮโดรเจนลดน้อยลง โดยได้ปริมาณก๊าซในอาทิตย์ที่ 1, 2 และ 3 เป็น 2068, 1210 และ 925 ml ตามลำดับ และการเจริญเติบโตของเซลล์ลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากการขาดไนโตรเจน

การเพิ่มความเข้มแสงจาก 10,000 เป็น 19,000 ลักซ์ ทำให้การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงขึ้น โดยเฉพาะเมื่อใช้กรดบิวทิริกเป็นสับสเตรท โดยได้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนต่อ mmole สับสเตรทเป็น 44 และ 108 ml/mmol กรดบิวทิริก ที่ความเข้มแสง 10,000 และ 19,000 ลักซ์ตามลำดับ ความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเกิดก๊าซไฮโดรเจนเมื่อใช้กรดแลคติกเป็นสับสเตรท ความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้นที่เหมาะสมคือ 1.11 mg dry weight/ml เมื่อใช้ความเข้มข้นตั้งต้นของเซลล์เพิ่มขึ้น พบว่าปริมาณกรดอินทรีย์ที่ถูกใช้เท่ากันแต่ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นลดลง

น้ำบีบเปลือกและแกนสับปะรดที่ผ่านการหมักแบบไร้อากาศ ประกอบไปด้วยกรดแลคติก กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ และน้ำตาล เมื่อนำมาใช้เลี้ยง *R. sphaeroides* 3701 ในสภาวะไร้อากาศมีแสง พบว่ากรดอะซิติกและกรดแลคติกถูกใช้ได้ดีและเปลี่ยนเป็นก๊าซไฮโดรเจน การปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำหมักและองค์ประกอบของน้ำหมักที่แตกต่างกันไปในแต่ละชุด มีผลต่อการเกิดก๊าซไฮโดรเจน ในการทดลองที่ดีที่สุดพบว่าในขณะที่มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนเมื่อกรดแลคติกที่มีอยู่ในช่วงแรกถูกใช้หมด และมีการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติก ทำให้กรดแลคติกถูกใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ต่อไป

คำสำคัญ (Keywords) : การผลิตก๊าซไฮโดรเจน / แบคทีเรียสังเคราะห์แสง /

Rhodospirillum rubrum / น้ำบีบเปลือกและแกนสับปะรด