

บทที่ 4

การเตรียมอัลจิเนทร่วมกับไคโตซานในการตรึงเซลล์จุลสาหร่ายระดับอนุภาคนาโน เพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

4.1 ความเป็นมาหลักการและเหตุผล

พลังงานก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen, H_2) ได้รับการคาดการณ์และยอมรับว่าจะแหล่งพลังงานทดแทนที่สำคัญอย่างมากในอนาคต (ธรรมบุญ ศรีทะวงศ์, 2550) เนื่องจากเป็นพลังงานสะอาดเมื่อใช้กับเซลล์เชื้อเพลิง (Fuel cell) แล้วจะไม่ปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา (Dutta et al, 2005; Zhang et al, 2006; Tian et al, 2009) ดังนั้นจึงไม่ส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจก (Ginkel et al, 2001) อีกทั้งการเผาไหม้ยังมีประสิทธิภาพสูง (Wang et al, 2009; Tian et al, 2009) ไม่ก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศ (Madamwar et al, 2000) โดยจะมีเพียงไอน้ำเป็นผลพลอยได้เท่านั้น ซึ่งแตกต่างจากเชื้อเพลิงอื่นๆ ที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลพลอยได้ จากผลพลอยได้ตรงนี้เองที่ช่วยลดการเกิดภาวะโลกร้อนหรือ ปรากฏการณ์เรือนกระจก (Greenhouse Effect) ดังนั้นพลังงานก๊าซไฮโดรเจนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนพลังงานดั้งเดิมได้ และอาจกล่าวได้ว่าพลังงานก๊าซไฮโดรเจนเป็นพลังงานในอนาคตอย่างแท้จริง

ในส่วนการเลือกใช้จุลสาหร่ายในการผลิตไฮโดรเจนนั้นเนื่องจากจุลสาหร่ายมีความพิเศษที่แตกต่างจากพืชเชื้อเพลิงทั่วไป คือ ความรวดเร็วในระบบสังเคราะห์ด้วยแสง (กระทรวงพลังงาน, 2550) จุลสาหร่ายสามารถนำเอาพลังงานจากแสงอาทิตย์มาใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงได้อย่างรวดเร็วกว่าพืชทดแทนอื่นๆ (กระทรวงพลังงาน, 2550) จึงไม่ต้องใช้ค่าใช้จ่ายในการให้อาหารและการเลี้ยงดูมาก มีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนสูง (อาภารัตน์, 2551) สามารถเพาะเลี้ยงได้เป็นจำนวนมากโดยไม่ยุ่งยาก (กระทรวงพลังงาน, 2550) ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงไม่เปลืองและไม่มีผลกระทบต่อการใช้พื้นที่ปลูกพืชการเกษตรอื่นๆโดยสามารถนำพื้นที่ที่เสื่อมโทรมมาดัดแปลงเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ได้ (กระทรวงพลังงาน, 2550) อีกทั้งยังให้ผลพลอยได้มูลค่าสูง เช่น ผลพลอยได้ที่ใช้เป็นปุ๋ย อาหารสัตว์ สารปฏิชีวนะ เครื่องสำอาง หรือแม้แต่ใช้เป็นยารักษาโรค (อาภารัตน์, 2008) จึงกล่าวได้ว่าจุลสาหร่ายเป็นพืชที่ใช้ผลิตก๊าซไฮโดรเจนประสิทธิภาพสูง โดยได้มีการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากจุลสาหร่ายกันอย่างกว้างขวางในต่างประเทศโดยเริ่มตั้งแต่ ในปี ค.ศ.1939 เป็นต้นมา (Gaffron, 1939, 1944)

โดยจากการวิจัยเบื้องต้นของทีมผู้วิจัยคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ได้ทำการศึกษาค้นคว้าจุลสาหร่ายซึ่งเป็นจุลสาหร่ายทะเล 8 สายพันธุ์ และได้ 2 สายพันธุ์เด่นที่มีอัตราการผลิตแก๊สไฮโดรเจนสูงที่สุด คือ Amphora และ Anacystis ซึ่งพบว่าสภาวะที่เหมาะสมของจุลสาหร่าย Amphora คือ จะต้องเลี้ยงในอาหารเดิม แล้วนำมาปรับความเป็นกรด-เบสเป็น 8 และนำไปส่องแสงที่มีความเข้มของแสง 2085 ลักซ์ ซึ่งจะมีปริมาณก๊าซไฮโดรเจนสูงถึง 225.3 มิลลิลิตรของไฮโดรเจนต่อลิตร ที่สำคัญยังพบว่าอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงที่สุดถึง 1.151 มิลลิลิตรของไฮโดรเจนต่อกรัมของจุลสาหร่ายต่อชั่วโมง และมีอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนเฉลี่ย 0.386 มิลลิลิตรของไฮโดรเจนต่อกรัมของจุลสาหร่ายต่อชั่วโมง (Jangiam et. al., 2010) ส่วนสภาวะที่เหมาะสมของจุลสาหร่าย Anacystis คือ จะต้องทำการเลี้ยงจุล

สาหร่ายในอาหารที่ไม่มีกำมะถัน แล้วนำมาปรับความเป็นกรด-เบสเป็น 9 หลังจากนั้นก็นำไปส่องแสงที่ความเข้มของแสง 2085 ลักซ์ ซึ่งมีปริมาณก๊าซไฮโดรเจนสูงถึง 978.3 มิลลิลิตรของไฮโดรเจนต่อลิตร อัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุดและเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 3.566 และ 2.108 มิลลิลิตรของไฮโดรเจนต่อกรัมของจุลสาหร่ายต่อชั่วโมง จากงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากจุลสาหร่ายทะเลสรุปได้ว่า การเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะมีการเลี้ยงอยู่ 2 ขั้นตอนใหญ่ ขั้นแรกจะเป็นการเลี้ยงให้จุลสาหร่ายเจริญเติบโต ขั้นต่อมาจะเป็นการเก็บก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นโดยจะต้องเลี้ยงขั้นนี้ที่สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนและในจุลสาหร่าย *Anacystis* จะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีกำมะถัน (Jangiam et al., 2010)

แต่เนื่องจากการที่จะให้ได้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตเพิ่มมากขึ้น จำเป็นจะต้องปรับเปลี่ยนระหว่างสารอาหารที่ใช้ในกระบวนการเจริญเติบโต และสารอาหารที่ทำให้กระบวนการที่ผลิตแก๊สไฮโดรเจนเพิ่มมากขึ้นขั้นตอนดังกล่าวทำให้เกิดปัญหาความยุ่งยากในการเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่าย และอาจเกิดการปนเปื้อนได้อย่างง่ายดาย มีหลายงานวิจัยที่ได้ใช้เทคนิคการตรึงเซลล์มาใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและพบว่าได้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าแบบไม่ได้ตรึงเซลล์ (K.S. Patel et al., 2010; Y.-Z. Wang et al., 2010; J.J. Hahn et al., 2007) แต่วัตถุที่นิยมใช้ในการตรึงเซลล์ คืออัลจิเนทเนื่องจากจากการเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายจะต้องเลี้ยงแบบเติมอากาศไปด้วย ทำให้อัลจิเนทที่ตรึงเซลล์ไปแล้วมีลักษณะที่เปื่อย และแหลกสลายไปในที่สุด ทางทีมวิจัยเห็นว่าถ้าหากปรับปรุงความสามารถของวัสดุตรึงเซลล์ให้มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น โดยใช้วัสดุราคาถูกและหาง่ายตามท้องตลาดซึ่งได้แก่ไคโตซาน ก็จะยืดอายุของจุลสาหร่ายให้สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้หลายรอบ เนื่องจากมีความแข็งแรงทนทานมากกว่าวัสดุอัลจิเนท และในการตรึงเซลล์เมื่อขนาดของเม็ดจุลสาหร่ายมีขนาดเล็กจะทำให้การดูดซึมแร่ธาตุสารอาหาร ตลอดจนก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตเพิ่มขึ้น (Xie G.J. et al, 2011) แต่ในการทำให้เซลล์ที่ตรึงแล้วมีขนาดเล็กจะทำให้ยากเนื่องจากอัลจิเนทไม่แข็งแรง และจะทำให้อัลจิเนทสูญเสียไปอย่างรวดเร็ว โดยแนวคิดของทีมวิจัยคือการเคลือบเม็ดอัลจิเนทด้วยไคโตซาน เนื่องจากไคโตซานเป็นมิตรกับเซลล์แบคทีเรีย จึงไม่มีปัญหากับจุลสาหร่าย และการถ่ายเทสารอาหารเข้าออกได้ดี (M.N.V. Ravi Kumar., 2000) โดยในรายละเอียดของโครงการวิจัยนี้จะทำการศึกษาหาขนาดของเม็ดอัลจิเนท ขนาดเม็ดไคโตซาน และขนาดของเม็ดอัลจิเนทที่ผสมกับไคโตซานที่อัตราส่วนต่างๆ ว่าขนาดใดของสารตัวใดเหมาะสมสำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนมากที่สุด รวมถึงวิเคราะห์ถึงความหนาแน่นของเซลล์ต่อปริมาตรของวัสดุตรึงที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยดูเรื่องของปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น, ผลกระทบของ pH ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณก๊าซในแต่ละวัสดุ, ผลกระทบของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณก๊าซ, ปริมาณสารอาหารที่จุลสาหร่ายใช้, การรอดชีวิตของจุลสาหร่ายเมื่อทำการตรึงแต่ละชนิด, ทดสอบความแข็งแรงของวัสดุโดยในงานวิจัยนี้จะทำให้ทราบได้ว่าวัสดุอัลจิเนทและไคโตซานขนาดเท่าใดและสัดส่วนเท่าใดที่มีความเหมาะสมสำหรับการที่จะนำวัสดุเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ

4.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสัดส่วนระหว่างเม็ดอัลจิเนทและไคโตซานที่เหมาะสมในการที่จะนำมาเป็นวัสดุตรึงเซลล์จุลสาหร่ายเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน
2. เพื่อศึกษาขนาดของเม็ดอัลจิเนท ไคโตซาน และเม็ดอัลจิเนทที่ผสมกับไคโตซาน ที่เหมาะสมในการที่จะนำมาเป็นวัสดุตรึงเซลล์จุลสาหร่ายเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

3. เพื่อศึกษาความหนาแน่นของเซลล์ต่อปริมาตรของวัสดุตั้งที่เหมาะสมในการที่จะนำมาเป็นวัสดุตั้งเซลล์จุลสาหร่ายเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

4. เพื่อทราบเหตุผลต่างๆของการเลือกใช้วัสดุในการตั้งเซลล์ดีกว่าไม่ตั้ง เช่น ผลกระทบต่อปัจจัยต่างๆ เพื่อสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการเลือกหาและทำวิจัยในอนาคต

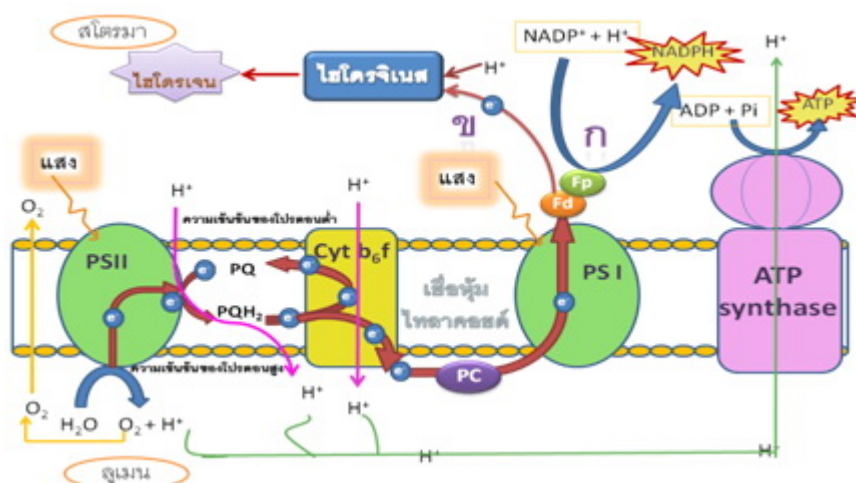
4.3 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

4.3.1 กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจนของจุลสาหร่ายชนิดต่างๆ

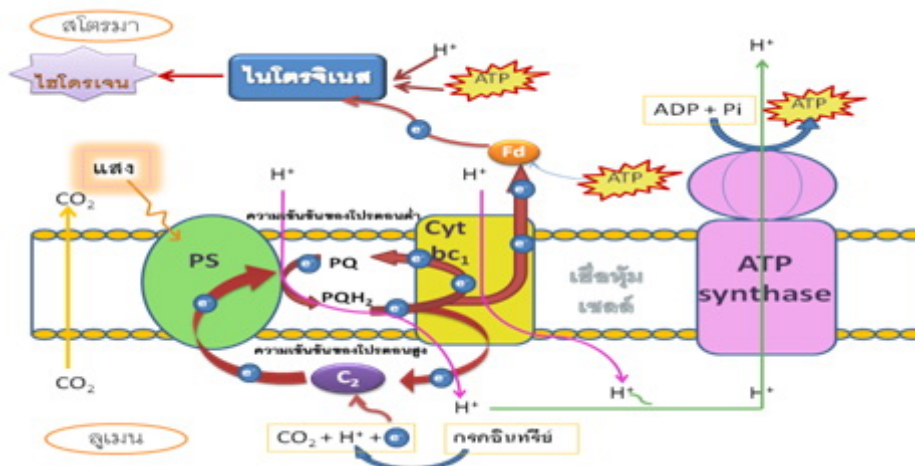
แก๊สไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นได้จากจุลสาหร่าย ได้มาจากการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของจุลสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ โฟโตออโตโทรฟิค (Photoautotrophic) เป็นพวกที่สามารถสร้างอาหารเองได้โดยการสังเคราะห์ด้วยแสง และใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้างอาหาร เช่น ไชยาโนแบคทีเรียที่มีการสังเคราะห์ด้วยแสงคล้ายพืชชั้นสูง จุลสาหร่ายสีเขียว จุลสาหร่ายสีแดง จุลสาหร่ายสีน้ำตาล เป็นต้น (Bryant and Frigaard, 2006) และอีกกลุ่มเป็นพวกโฟโตเฮเทอโรโทรฟิค (Photoheterotrophic) (Asimov, 1968) เป็นพวกที่สร้างอาหารเองจากสารอินทรีย์ไม่ได้ จึงต้องมีการบริโภคนสารอินทรีย์เข้าสู่เซลล์ โดยใช้คาร์บอนจากสารประกอบคาร์บอนเป็นสารประกอบอินทรีย์ ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียสีม่วง (purple bacteria), green sulfur bacteria และ Heliobacteria (Madigan and Ormerod, 1995) เป็นต้น

1. การผลิตแก๊สไฮโดรเจนของจุลสาหร่ายโฟโตออโตโทรฟิค

การสังเคราะห์ด้วยแสงของจุลสาหร่ายจะเริ่มการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ระบบแสง 2 (PS II) (ดังรูปที่ 4.1) (Akkerman et al, 2002) โดยจะได้รับพลังงานแสง เพื่อกระตุ้นให้อิเล็กตรอนในศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาของระบบแสง 2 หลุดออกไป และยังทำให้น้ำเกิดการแตกตัวได้เป็น ออกซิเจน อิเล็กตรอน และโปรตอน อิเล็กตรอนที่ได้จากน้ำจะเข้าไปแทนที่อิเล็กตรอนที่หลุดออกมาจากระบบแสง 2 และจะทำการส่งผ่านอิเล็กตรอนที่หลุดออกมาไปยัง พลาสโตควิโนน (Plastoquinone : PQH₂) ส่งต่อไปยังไซโตโครม b₆f (Cyt b₆f) และไหลวนกลับมาที่พลาสโตควิโนน (Plastoquinone : PQ)

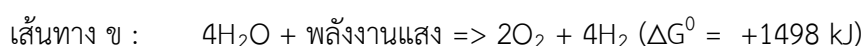


รูปที่ 4.1 การสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่ายโฟโตออโตโทรฟิค



รูปที่ 4.2 การสังเคราะห์แสงของโฟโตเฮเทอโรโทรฟิก

ในขณะเดียวกันโปรตอนก็จะวิ่งลงมาจากพลาสโตควิโน (Plastoquinone: PQH₂) พร้อมกับอิเล็กตรอน โปรตอนจะวิ่งจากสโตรมาซึ่งมีความเข้มข้นของโปรตอนต่ำ (Low H⁺) ไปยังลูเมนที่มีความเข้มข้นของโปรตอนสูงกว่า (High H⁺) ส่วนอิเล็กตรอนก็กลับมาในไฮโดรเจน b₆f และเคลื่อนตัวต่อไปโดยมีพลาสโตไซยานิน (Plastocyanin: PC) มารับไปยังระบบแสง 1 (PS I) ในการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนนี้ได้สูญเสียพลังงานเป็นอย่างมาก เพื่อใช้ในการปั๊มโปรตอนจากสโตรมาเข้าสู่ลูเมน จึงต้องมีการกระตุ้นพลังงานด้วยแสงใหม่อีกครั้งในระบบแสง 1 การทำงานของระบบแสง 1 จะคล้ายกับระบบแสง 2 คือเมื่อได้รับพลังงานจากแสงแล้วก็จะทำให้อิเล็กตรอนในศูนย์กลางการเกิดปฏิกิริยาของระบบแสง 1 หลุดออกมาไปยังสโตรมา และอิเล็กตรอนที่วิ่งมาจากระบบแสง 2 ก็จะมาแทนที่อิเล็กตรอนที่หลุดไป หลังจากนั้นอิเล็กตรอนที่หลุดออกมาจะเคลื่อนที่ไปยังเฟอร์รีดอกซิน (Ferredoxin: Fd) แล้วรีดิวซ์ NADP⁺ ให้กลายเป็น NADPH โดยเอนไซม์เฟอร์รีดอกซินเอ็นเอดีพีรีดักเตส (Ferredoxin-NADP reductase: Fp) โปรตอนที่อยู่ในลูเมนจะค่อย ๆ เคลื่อนขึ้นไปใน ATP synthase และได้ ATP ออกมา ซึ่งเส้นทาง ก จะเกิดขึ้นตามสภาวะปกติ โดยใช้ออกซิเจนในการสังเคราะห์ด้วยแสงเฟอร์รีดอกซิน (Ferredoxin : Fd) จะทำการขนส่งอิเล็กตรอนไปยังส่วนประกอบเคมี NADP⁺ จะได้ NADPH ออกมา NADPH ที่ได้จะทำปฏิกิริยากับ ATP และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ได้เป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะนำไปใช้เป็นอาหารและเก็บสะสมต่อไป ส่วนเส้นทาง จะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะพิเศษ เช่น สภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจน, ความดันของแก๊สไฮโดรเจนต่ำมาก ๆ เป็นต้น อิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านเฟอร์รีดอกซิน (Fd) และเข้าทำปฏิกิริยากับโปรตอน โดยมีเอนไซม์ไฮโดรจีเนสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและไม่ต้องใช้ ATP ในการทำปฏิกิริยา จะได้แก๊สไฮโดรเจนออกมา กลไกนี้ต้องคำนึงถึงเอนไซม์ไฮโดรจีเนสซึ่งมีความไวมากต่อแก๊สออกซิเจน จากที่กล่าวมานี้จะได้สมการดังนี้



2. การผลิตแก๊สไฮโดรเจนของโฟโตเฮเทอโรโทรฟิก

กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของโฟโตเฮเทอโรโทรฟิก (รูปที่ 4.2) (Akkerman et al, 2002) จะประกอบด้วยระบบแสง 1 (photo-system one (PS)) เพียงอย่างเดียว ซึ่งกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจะอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ โดยที่ระบบแสง 1 (PS) จะได้รับพลังงานจากแสงอาทิตย์และพลังงานจากกรดอินทรีย์ (ตัวอย่าง คือ อะซิเตต) หรือไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) ในการแยกน้ำ ซึ่งจะเกิดขึ้นภายใต้

สภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจนจะได้อิเล็กตรอน โปรตอน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ อิเล็กตรอนที่ได้ ออกมานี้จะถูกปั๊มให้เคลื่อนที่ผ่าน C_2 ไปยังระบบแสง 1 พลังงานจากแสงจะทำให้อิเล็กตรอนในศูนย์กลาง การเกิดของระบบแสง 1 หลุดออกมาและเคลื่อนที่ไปยังพลาสโตควิโนน (Plastoquinone : PQH₂) ต่อไป ยังไซโตโครม bc₁ (Cyt bc₁) และไหลวนกลับมาที่พลาสโตควิโนน (Plastoquinone : PQ) ไปยังพลาสโตควิโนน (PQH₂) และเข้าสู่ไซโตโครม bc₁ เหมือนเดิมในขณะเดียวกันโปรตอนเคลื่อนที่ผ่าน พลาสโตควิโนน (PQH₂) เช่นกัน โดยที่โปรตอนจะวิ่งลงมาจากสโตรมาซึ่งมีความเข้มข้นของโปรตอนต่ำ (Low H⁺) ไปยังลูเมนที่มีความเข้มข้นของโปรตอนสูงกว่า (High H⁺) และโปรตอนที่อยู่ในลูเมนจะเข้าสู่ ATP synthase โดยการปั๊มโปรตอนจากลูเมน (ความเข้มข้นของโปรตอนสูง (High H⁺)) ไปยังสโตรมา (ความเข้มข้นของโปรตอนต่ำ (Low H⁺)) และสร้าง ATP ขึ้นมา ส่วนอิเล็กตรอนที่อยู่ในไซโตโครม bc₁ จะถูก แยกออกเป็น 2 สาย มีหนึ่งสายที่วิ่งกลับเข้าไปใน C_2 และดำเนินการเหมือนขั้นตอนที่กล่าวมาในช่วงแรก ส่วนอีกหนึ่งสายจะวิ่งขึ้นไปยังเฟอร์ริดอกซิน (Fd) โดยใช้ ATP ที่ได้จากการทำงานของ ATP synthase มา เป็นพลังงานในการขับเคลื่อนอิเล็กตรอนไปยังเฟอร์ริดอกซิน (Fd) ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนและโปรตอนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแก๊สไฮโดรเจน โดยอาศัยเอนไซม์ไนโตรจิเนส พลังงาน ATP และอิเล็กตรอนที่ได้รับมาจากเฟอร์ริดอกซิน (Fd) ซึ่งขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นเมื่อไม่มีโมเลกุลของไนโตรเจน โดยปกติแล้วเอนไซม์ไนโตรจิเนสมีความไวต่อแก๊สออกซิเจน แต่ในกระบวนการนี้ไม่มีปัญหาเพราะกระบวนการนี้เกิดขึ้นในสภาวะไม่มีออกซิเจน (anoxygenic photosynthesis) ซึ่งจะไม่ผลิตออกซิเจนออกมา (Madigan, 1995)

ลักษณะเฉพาะทั้งข้อดีและข้อเสียของ Photoautotrophic และ photoheterotrophic ในกระบวนการผลิตไฮโดรเจน สรุปดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ข้อดีและข้อเสียของ photoautotrophic และ photoheterotrophic ในกระบวนการผลิตไฮโดรเจน

ปฏิกิริยา	Photoautotrophic		Photoheterotrophic
	Direct biophotolysis	Indirect biophotolysis	
1. เอนไซม์	Hydrogenase	Hydrogenase	Nitrogenase
2. ความต้องการ ATP ของเอนไซม์	ไม่ใช่	ไม่ใช่	ใช่
3. O ₂ เป็นตัวยับยั้ง	ใช่	ใช่	ใช่
4. O ₂ เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาการผลิตไฮโดรเจน	ใช่	ไม่ใช่	ไม่ใช่
5. สารตั้งต้น	น้ำ	น้ำ	สารอินทรีย์, กรดอินทรีย์ เช่น อะซิเตด
6. มี CO ₂ เป็นผลิตภัณฑ์	ไม่ใช่	ไม่ใช่	ใช่ (จากสารอินทรีย์)
7. ผลิตภัณฑ์ที่เป็นก๊าซ	H ₂ + O ₂	H ₂ + O ₂	H ₂ + CO ₂

หมายเหตุ : Indirect biophotolysis เป็นเซลล์ที่ได้รับอาหารปริมาณมากๆ

4.3.2 การตรึงเซลล์ด้วยวัสดุชนิดต่างๆ

การตรึงเซลล์ (immobilized) แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ แบบไม่เกิดปฏิกิริยา (passive) และเกิดปฏิกิริยา (active)(I. Moreno-Garrido, 2008) ซึ่งแบบไม่เกิดปฏิกิริยานั้นจะใช้วัสดุในการตรึงเช่น โยวบบเป็นวัสดุในการตรึงสาหร่าย *Chlorella sorokiniana* เพื่อกำจัดนิเกิล (II) จากสารละลาย (Akhtar et al, 2004) และการใช้ Polyvinyl and polyurethane ในการตรึงสาหร่าย *Scenedesmus odliguus* เพื่อกำจัดไนเตรตจากน้ำ (Urrutia et al, 1995) ส่วนแบบเกิดปฏิกิริยานั้นแบ่งได้เป็นพวก flocculant agents, chemical attachment และ gel entrapment(I. Moreno-Garrido, 2008) ได้กล่าวไว้ว่าการยึดจับเซลล์นั้นเป็นเทคนิคที่นิยมใช้อย่างกว้างขวางสำหรับวิธีการตรึงเซลล์ ซึ่งวิธีได้ทำตามกันมาโดยวัสดุที่ใช้ได้แก่ โพลีเมอร์ที่สังเคราะห์ (acrylamid, photocrosslinkable resins, polyurethanes) โปรตีน (gelatin, collagen หรือ ไข่ขาว) หรือธรรมชาติของโพลีแซคคาไรด์ (agars, carrageenans หรือ alginates) (I. Moreno-Garrido, 2008)ในการศึกษาการตรึงเซลล์แบคทีเรีย *E. cloacae* IT-BT 08 บนวัสดุธรรมชาติประเภท Lignocellulosic agrosresidues ได้แก่ ฟางข้าว ชานอ้อย และ กาบมะพร้าว พบว่าเมื่อตรึงเซลล์บนกากมะพร้าว ได้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุด ถึง 62 mmol/L h ซึ่งมากกว่าการตรึงบนชานอ้อยและฟางข้าว (N. Kumar และคณะ, 2001) และจากการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนของแบคทีเรีย *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53 โดยการตรึงเซลล์ (Immobilized) พบว่ามี 3 ปัจจัยที่สำคัญในการผลิตไฮโดรเจน คือ ขนาดของอนุภาคพบว่าขนาดที่เหมาะสมมีขนาด 2x2 mm เพราะจะทำให้ได้รับแสงเพียงพอและอัตราการซึมผ่านของอาหารดี อัตราส่วนของน้ำหนักรต่อปริมาตร พบว่าเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักรต่อปริมาตรที่ดีคือ 3% เพราะถ้าเกิดมากเกินไปจะไปขัดขวางการทะลุผ่านของแสงเข้าไปใน Photobioreactor และทำให้โปรตอนที่เกิดจาก Photo-fermentation ของแบคทีเรียลดลง ความเข้มข้นแสง โดยพบว่าความเข้มข้นแสงที่ 6000 ลักส์ มีความเหมาะสมที่สุดเนื่องจากถ้าความเข้มข้นแสงมากเกินไปจะทำให้โปรตอนไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้จึงทำให้ไฮโดรเจนลดลง (Xie G.J. et al, 2011)

ในการศึกษาเรื่องการตรึงเซลล์จุลสาหร่าย ได้มีการศึกษาการตรึงเซลล์จุลสาหร่ายที่มีชื่อว่า *Chlamydomonas reinhardtii* โดยนำมาตรึงกับอนุภาคของ solid support โดยนำสาหร่ายที่ตรึงมาเขย่าแบบต่อเนื่อง และเขย่าเป็นระยะ และไม่ทำการตรึงมาทำการเปรียบเทียบ พบว่าสาหร่ายที่ทำการตรึงและทำการเขย่าแบบต่อเนื่องจะผลิตไฮโดรเจนได้มากที่สุดถึง 0.209 ml H₂/ml suspension (J.J. Hahn et al., 2007) และได้มีศึกษาลักษณะเฉพาะในการผลิตไฮโดรเจนของ *Rhodopseudomonas palusris* CQK 01โดยการตรึงเซลล์โดยพบว่าปัจจัยที่จะทำให้ผลิตไฮโดรเจนได้ดีคือที่ความเข้มข้นแสง 6000 lux ความเข้มข้นของสารตั้งต้น 60 mmol/L อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและค่า pH ของอาหารเท่ากับ 7 จะสามารถทำให้ผลิตไฮโดรเจนได้ 2.61 mmol/L/h (Y.-Z. Wang et al., 2010)

การเกิดไคตินและไคโตซานเป็นลักษณะเส้นตรงเป็นการจับกันของโพลีเมอร์ 2 ชนิด คือ D-GlcN และ D-GlcNAc โดยมีการกระจายแบบสุ่มและไม่จับเข้าด้วยกันแต่จะเชื่อมต่อกับหมู่เบต้า(β) (K.V.H. Prashanth, R.N. Tharanathan, 2007) ไคโตซานเป็นวัสดุทางชีวภาพที่ไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในหลายด้านไม่ว่าจะเป็น ช่วยรักษาแผลและแผลที่เกิดจากการถูกไฟไหม้ ได้ เพราะสามารถต้านการเกิดของเชื้อราและแบคทีเรียได้และยังมีความสามารถซึมผ่านของออกซิเจนได้ดี นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆได้อีก อาทิเช่น ในด้านยา การเกษตร อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และอื่นๆอีกมากมาย (M.N.V.R. Kumar., 2000)

ตารางที่ 4.2 สรุปการตรึงเซลล์จุลินทรีย์โดยวิธีการและวัสดุแบบต่างๆ

เชื้อ	วัตถุประสงค์ในการตรึง	วัสดุที่ใช้	ผลที่ได้	เอกสารอ้างอิง
<i>Bacillus spp.(firmicutes)</i> <i>Bordetella avium</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> and <i>Proteus mirabilis</i> (<i>proteobacteria</i>)	ผลิตไฮโดรเจนโดยไม่ใช้แสง	Lingo-cellulosic ใบกล้วย, กาบมะพร้าว, groundnut shell หรือ peashell ถูกแพ็คในท่อ PVC	พบว่า Lingo-cellulosic ใบกล้วยและกาบมะพร้าวผลิตไฮโดรเจนได้ถึง 300-330 ml H ₂ /day	K.S. Patel S., J. Purohit H., C. Kalia V. (2010)
<i>E. cloacae</i> IT-BT 08	ผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยการตรึงเซลล์กับวัสดุธรรมชาติ	วัสดุธรรมชาติประเภท Lignocellulosic agroresidues ได้แก่ ฟางข้าว ชานอ้อย และ กาบมะพร้าว	พบว่าเมื่อตรึงเซลล์บนก้ามะพร้าว ได้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุด ถึง 62 mmol/L h ซึ่งมากกว่าการตรึงบนชานอ้อยและฟางข้าว	N. Kumar, D. Das, 2001
<i>Spirulina platensis</i> TISTR 8217	ดูดซับแคดเมียม	นำ Sodium silicate ผสมกับน้ำ DI หลังจากนั้นใส่ HCl นำมาบดและทำให้แห้งที่ 80 องศาเซลเซียสแล้วกรองด้วยตาข่ายเพื่อคัดเลือกขนาด		N. Rangsayatorn et al.,2004
เชื้อ	วัตถุประสงค์ในการตรึง	วัสดุที่ใช้	ผลที่ได้	เอกสารอ้างอิง

<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	ผลิตก๊าซไฮโดรเจน	สาหร่ายจะจับกับอนุภาคของ solid support	สาหร่ายที่ทำการตรึงและเขย่าคงที่จะทำให้สามารถผลิตไฮโดรเจนได้มากที่สุดถึง 0.209 ml H ₂ /ml suspension	J.J. Hahn et al., 2007
<i>Anabaena variabilis</i>	เพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน	นำเซลล์มาตรึงบนผ้าที่มีลักษณะขบ น้ำ(มีขี้) cuprammonium rayon hollw fibers	สามารถเพิ่มการผลิตไฮโดรเจนได้	S. A. Markov et al., 1995

ตารางที่ 4.3 สรุปงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลสาหร่ายเมื่อถูกตรึง

จุลินทรีย์ที่ใช้	อิทธิพล	ปัจจัย	ผลก่อนใส่	ผลหลังใส่	อ้างอิง
------------------	---------	--------	-----------	-----------	---------

<i>Scenedesmus intermedius</i>	Nitrogen มีผลต่อการ โต(immobilized)	Nitrogen	จากการเลี้ยงแบบปกติจะมีอัตราการโตโดยวัด จากปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมงพบว่ามีค่า 0.011	อัตราการโตโดยวัดจาก ปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมง จะลดลงเป็น 0.009	M.V. jiménez- Pérez et al., 2004
<i>Scenedesmus intermedius</i>	Phosphorus มีผลต่อ การโต(immobilized)	Phosphorus	จากการเลี้ยงแบบปกติจะมีอัตราการโตโดยวัด จากปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมงพบว่ามีค่า 0.011	อัตราการโตโดยวัดจาก ปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมง จะเพิ่มขึ้นเป็น 0.012	M.V. jiménez- Pérez et al., 2004
<i>Nannochloris</i> sp.	Nitrogen มีผลต่อการ โต(immobilized)	Nitrogen	จากการเลี้ยงแบบปกติจะมีอัตราการโตโดยวัด จากปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมงพบว่ามีค่า 0.018	อัตราการโตโดยวัดจาก ปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมง จะลดลงเป็น 0.006	M.V. jiménez- Pérez et al., 2004
<i>Nannochloris</i> sp.	Phosphorus มีผลต่อ การโต(immobilized)	Phosphorus	จากการเลี้ยงแบบปกติจะมีอัตราการโตโดยวัด จากปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมงพบว่ามีค่า 0.018	อัตราการโตโดยวัดจาก ปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อชั่วโมง จะลดลงเป็น 0.009	M.V. jiménez- Pérez et al., 2004