บทสรุปผู้บริหาร

ปัญหาสำคัญของประเทศไทย และโลกปัจจุบัน อันหนึ่งคือปัญหาด้านพลังงาน พลังงานส่วนใหญ่ในโลกปัจจุบันเป็นพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล อันได้แก่น น้ำมันปิโตเลียม และก๊าซธรรมชาติ เป็นต้น ซึ่งพลังงานดังกล่าวนอกจากก่อมลพิษกับสิ่งแวดล้อมแล้ว ยังนับวันจะหมดไปจากโลก ซึ่งทำให้มีราคาแพงขึ้นเรื่อยๆ ปัจจุบันจึงมีความพยายามที่จะหาพลังงานทดแทนที่มีราคาถูกกว่า สามารถผลิตขึ้นทดแทนได้ และไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษ ดังเห็นได้จากประเทศไทยมีนโยบายการวิจัย ในการสนับสนุนให้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาพลังงานทดแทน และให้ระดับความสำคัญไว้ในอันดับต้นๆ เพราะประเทศไทยใช้งบประมาณจำนวนมากในการซื้อเชื้อเพลิงจากต่างประเทศ

พลังงานทางเลือกต่างๆ ที่มีการศึกษาเช่น พลังงานเชื้อเพลิงแอลกอฮอล์ หรือ พลังงานจากไบโอดีเซล ซึ่งกำลังมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในประเทศไทย แต่พลังงานดังกล่าว เป็นเพียงพลังงานที่จะนำมาใช้ร่วมกับน้ำมันปิโตเลียม หรือพยายามใช้ทดแทนให้มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม พลังงานดังกล่าวยังไม่สามารถทดแทนเชื้อเพลิงจากฟอสซิลได้ทั้งหมด การพัฒนาเชื้อเพลิงดังกล่าวจึงยังจัดเป็นการพัฒนาในเชิงรับ การพัฒนาพลังงานทดแทนในเชิงรุกน่าจะเป็นการพัฒนาเชื้อเพลิงที่สามารถทดแทนพลังงานรูปแบบเก่าได้เกือบทั้งหมด เป็นพลังงานที่จะสามารถใช้ได้อย่างยั่งยืนในอนาคต หรืออาจเรียกว่าพลังงานสำหรับอนาคตก็ได้

ดังนั้น การศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทน ที่เป็นพลังงานสะอาด แหล่งใหม่ที่มีศักยภาพในการพัฒนาในอนาคตอันใกล้นี้ อีกทั้งยังเป็นการทำให้ผลผลิตทางการเกษตร ที่มีราคาต่ำ ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือมันสำปะหลัง หรือ ของเสียจากการผลิตแป้งมันสำปะหลัง มาใช้ให้เกิดประโยชน์ และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้ผลผลิตดังกล่าวอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่ม purple non-sulfur ศักยภาพสูงที่คัดเลือกได้ผลิตไฮโดรเจน เพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน

ขอบเขตของโครงการวิจัย

คัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตไฮโดรเจน และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจน

รายงานการศึกษาการผลิต ไฮโดรเจน จากจุลินทรีย์ หลายชนิด เช่น phototrophic green and purple bacteria, cyanobacteria, algae และ fermentative bacteria บางชนิด และที่สำคัญได้แก่ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงชนิด purple non-sulfur ซึ่งมีรายงานการใช้แบคทีเรียดังกล่าว หลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ *Rhodospirillum rubrum, Rhodomicrobium vannielii*, *Rhodopseudomonas capsulata*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodopseudomonas sphaeroides* หรือ *Rhodobacter sphaeroides*,

Rhodopseudomonas gelatinosa และ *Rhodocyclus gelatinosus* หรือที่ปัจจุบันเปลี่ยนเป็น *Rubrivivax gelatinosus* เป็นต้น (Ormerod, 1961, Buranakarl, 1998, Mahakhan, 2003, 2005, Hongoh, 2003, Lee, 2002, Koku, 2002, 2003)

Mahakhan และคณะ (2003) รายงานการคัดเลือก แบคทีเรียสังเคราะห์แสง 226 สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย พบ 13 สายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายแป้งดิบจากมันสำปะหลังได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ย่อยแป้งดิบและแป้งสุกแล้วคัดเลือกได้ 3 สายพันธุ์ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวสูงกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ ได้แก่ สายพันธุ์ที่มีรหัส SB24, SB52, SB55 นอกจากนี้พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังสุกเป็นแหล่งคาร์บอน SB24 และ SB55 สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งดิบได้ดีกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแป้งดิบของมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน ในการศึกษาเอนไซม์ย่อยแป้งดิบและการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ทำได้ง่ายกว่าในอาหารแป้งสุก อีกทั้ง SB55 ตกตะกอนเมื่อเพาะเลี้ยงไป 4 วัน ดังนั้น จึงเลือกสายพันธุ์ SB24 เพื่อศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์และผลิตภัณฑ์จากการย่อยแป้งดิบต่อไป รายงานนี้ได้แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมี รวมทั้งลำดับเบสของ 16S rDNA ของ SB24 และทำ phylogenetic analysis ด้วย พบว่าแบคทีเรีย SB24 เป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่ม non-sulfur purple ชนิด *Rubrivivax gelatinosus*

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. คัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งในธรรมชาติ

คัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งในธรรมชาติ โดยวิธี enrichment technique โดย เติมตัวอย่าง น้ำ ดิน โคลน หรือซากพืช ที่เก็บบริเวณ บ่อน้ำธรรมชาติ หรือน้ำทิ้ง ที่มีความสะอาด และแสงส่องถึง 1 กรัม ลงใน อาหาร G5 medium broth 9 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน โดยดูดอากาศออกด้วยปั๊มดูดอากาศ และเติมไนโตรเจนแก๊สแทนที่ และให้แสง 10 klux อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน สังเกตอาหารเปลี่ยนสีเป็นสีแดงเนื่องจากมีแบคทีเรียสังเคราะห์แสงเจริญ การทำให้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงบริสุทธิ์ โดย เขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารข้างต้นลงบนอาหารแข็งในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ G5 medium โดยวิธี cross streak technique และบ่มในสภาวะเดียวกับข้างต้น สังเกตโคโลนีของเชื้อที่เจริญเป็นสีแดง แยกเก็บโคโลนีเดียวของเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงลงใน หลอดอาหารแข็ง G5 medium บ่มในสภาวะเดิมจนเชื้อเจริญ และเก็บไว้เพื่อศึกษาการสร้างก๊าซไฮโดรเจนต่อไป

2. ศึกษา เปรียบเทียบ ความสามารถในการผลิตไฮโดรเจน

ศึกษา เปรียบเทียบ ความสามารถในการผลิตไฮโดรเจน ศึกษาความสามารถในการผลิตไฮโดรเจนจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่แยกได้ในข้อ 1 โดย เขี่ยเชื้อจากข้อ 1 ในหลอดอาหาร Ormerod's medium ชนิดเหลว ซึ่งเป็นอาหารที่เหมาะสำหรับการผลิตไฮโดรเจน บ่มในสภาพข้างต้น นาน 2-3 วัน เป็นการทำให้เชื้อ active เขี่ยเชื้อจากข้างต้นลงในหลอดอาหาร Omerod's medium ที่มีการต่อท่อดักก๊าซเพื่อวัดและวิเคราะห์ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้น เพื่อใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ได้เพื่อใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนของจุลินทรีย์ดังกล่าวต่อไป

ผลการศึกษาวิจัย

สามารถคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจากแหล่งธรรมชาติ โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง ดิน, โคลนและน้ำ จาก จังหวัดนครราชสีมา, ขอนแก่น, ชัยภูมิ, สกลนครและมุกดาหาร จำนวน 65 ตัวอย่าง เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ โดยวิธี enrichment ใน Winogradsky column และในอาหารเหลว G5 ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน โดยการให้แสงที่มีความเข้มแสง 10,000 lux ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน แยกเชื้อจากตัวอย่างที่เกิดสีม่วง, น้ำตาลหรือแดง ทั้งใน Winogradsky column และในอาหารเหลว G5 โดย streak ลงในอาหาร Ormerod's agar ที่ใช้ malic acid เป็นแหล่งคาร์บอนและ glutamic acid เป็นแหล่งไนโตรเจน บ่มใน Desicator cabinet ภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจน เลือกโคโลนีสีม่วง, น้ำตาลหรือแดง ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี cross streak plate แยกเชื้อได้ทั้งหมดจำนวน 50 ไอโซเลท เมื่อทดสอบความสามารถในการผลิตก๊าซ มีเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจำนวน 39 ไอโซเลทที่สามารถผลิตก๊าซได้ คัดเลือก 14 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการผลิตก๊าซสูงมาทำการวัดการผลิตก๊าซอย่างละเอียดภายในระยะเวลา 20 วัน พบว่ามี 3 ไอโซเลทคือ sp 2/1-3, SK 1-6, HK 2- 3 มีความสามารถในการผลิตก๊าซสูงสุดเท่ากับ 4750 µl, 3000 µl, 5600 µl ในหลอดทดสอบปริมาตรต่างๆ เลือกไอโซเลทที่ผลิตก๊าซได้สูงที่สุดคือ HK 2-3 เพื่อขยายขนาดเลี้ยงเป็นปริมาตร 250 มิลลิลิตร พบว่าไอโซเลท HK 2-3 ผลิตก๊าซได้ 4000 µl เมื่อวัดการเจริญโดยหาน้ำหนักแห้งได้เท่ากับ 0.750 กรัมต่อลิตร pH เท่ากับ 7.40