

บทที่ 4

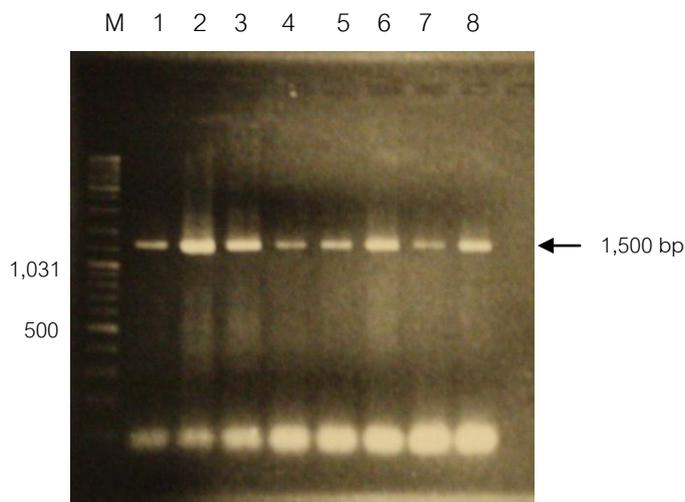
ผลการวิจัย

ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการคัดเลือกแบคทีเรีย Methanotroph สายพันธุ์ของประเทศไทยที่มีความสามารถในการผลิตเมทานอล และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย Methanotroph ในปฏิกิริยาการผลิตเมทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต้นแบบ โดยศึกษาผลของปัจจัยต่างๆเหล่านี้ ในการทำปฏิกิริยา ได้แก่ สัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของ CH_4 , CO_2 , O_2 และ N_2 การเติมไอออนโลหะ ความเข้มข้นของเกลือ อุณหภูมิที่เหมาะสมและคุณสมบัติเมทานอลที่ได้

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้เริ่มทำการศึกษาดังตั้งแต่วันที่ 25 พฤษภาคม 2555 ถึงวันที่ 30 ธันวาคม 2555 ซึ่งมีรายละเอียดของผลการศึกษาดังต่อไปนี้

4.1 การคัดเลือกแบคทีเรีย Methanotroph จากดินหลุมฝังกลบขยะ

ทำการแยกแบคทีเรีย Methanotroph จากดินหลุมฝังกลบขยะ บริเวณพื้นที่กำจัดขยะมูลฝอย ตำบลคลองขวาง อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี โดยนำตัวอย่างดินมาแยกเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Nitrate Mineral Salt (NMS) ที่บรรจุก๊าซมีเทนบริสุทธิ์ ร้อยละ 99.9 แล้วนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินหลุมฝังกลบขยะทั้งหมด มาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วน Conserved regions ของ 16S rRNA ด้วยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ แล้วนำ PCR product มาทำให้บริสุทธิ์ก่อนนำไปวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยวิธี Sequencing เพื่อจัดจำแนกแบคทีเรีย Methanotroph ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วน 16S rRNA ของแบคทีเรีย ด้วยวิธี PCR ได้ PCR product ขนาด 1,500 bp แสดงในภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 แสดงผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วน 16S rRNA ด้วยวิธี PCR ได้ PCR product ขนาด 1,500 bp เลน M 1- kb DNA ladder; เลน 1-8 PCR product ขนาด 1,500 bp จากดีเอ็นเอของแบคทีเรียดิน

4.2 การจัดจำแนกแบคทีเรีย *Methanotroph* โดยการเปรียบเทียบลำดับเบส

ผลการเปรียบเทียบลำดับเบส 16S rRNA ยีนของเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างดินจำนวน 120 ตัวอย่าง กับลำดับเบสอื่นๆ ในฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI โดยใช้โปรแกรม BLAST พบว่า ลำดับเบสของเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างดิน รหัสตัวอย่าง NT85 มีความคล้ายคลึงกับลำดับเบส 16S rRNA ยีนของ *Methylosinus trichosporium* OB3b strain OB3b (NCIMB 11131) โดยมีเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง (% homology) เท่ากับ 99% และเมื่อนำลำดับเบส 16S rRNA ของเชื้อจากตัวอย่างดิน รหัสตัวอย่าง NT85 มาเปรียบเทียบด้วย (alignment) ลำดับเบส 16S rRNA ของ *Methylosinus trichosporium* OB3b strain OB3b โดยใช้โปรแกรม BioEdit (v.7.0.5) พบว่ามีลำดับเบสเหมือนกัน 100% จากผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียที่แยกได้คือ *Methylosinus trichosporium* ซึ่งเป็นแบคทีเรียเมทาโนโทรฟ Type II เมื่อนำลำดับเบส 16S rRNA ยีนของ *Methylosinus* spp. strain NT 85 ที่แยกได้ไปรายงานเพื่อจัดเก็บในฐานข้อมูล GenBank ได้รับ GenBank accession number KC353469

ภาพที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบลำดับเบส 16S rRNA ยีนของเชื้อจากตัวอย่างดิน รหัสตัวอย่าง NT85 และ *Methylosinus trichosporium* OB3b strain OB3b โดยใช้โปรแกรม BioEdit

Alignment: Untitled

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          10          20          30          40          50          60
Methylosinus trichosporium OB3 -----AAC GAACGCTGGC GGCAGGCTTA ACACATGCAA GTCGAACGGG CGCAGCGATG
Methylosinus spp. strain NT85 GGCTCAGAAC GAACGCTGGC GGCAGGCTTA ACACATGCAA GTCGAACGGG CGCAGCGATG
Clustal Consensus          ***  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          70          80          90          100         110         120
Methylosinus trichosporium OB3 CGTCAGTGGC AGACGGGTGA GTAACGCGTG GGAACGTACC TTTCGGTTCG GAATAACTCA
Methylosinus spp. strain NT85 CGTCAGTGGC AGACGGGTGA GTAACGCGTG GGAACGTACC TTTCGGTTCG GAATAACTCA
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          130         140         150         160         170         180
Methylosinus trichosporium OB3 GGGAAACTTG AGCTAATACC GGATACGCCC TTAGGGGGAA AGATTTATTG CCGAAAGATC
Methylosinus spp. strain NT85 GGGAAACTTG AGCTAATACC GGATACGCCC TTAGGGGGAA AGATTTATTG CCGAAAGATC
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          190         200         210         220         230         240
Methylosinus trichosporium OB3 GGCCCGCGTC CGATTAGCTA GTTGGTGAGG TAAAGGCTCA CCAAGGCGAC GATCGGTAGC
Methylosinus spp. strain NT85 GGCCCGCGTC CGATTAGCTA GTTGGTGAGG TAAAGGCTCA CCAAGGCGAC GATCGGTAGC
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          250         260         270         280         290         300
Methylosinus trichosporium OB3 TGGTCTGAGA GGATGATCAG CCACACTGGG ACTGAGACAC GGCCAGACT CCTACGGGAG
Methylosinus spp. strain NT85 TGGTCTGAGA GGATGATCAG CCACACTGGG ACTGAGACAC GGCCAGACT CCTACGGGAG
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          310         320         330         340         350         360
Methylosinus trichosporium OB3 GCAGCAGTGG GGAATATTGG ACAATGGGCG CAAGCCTGAT CCAGCCATGC CGCGTGAGTG
Methylosinus spp. strain NT85 GCAGCAGTGG GGAATATTGG ACAATGGGCG CAAGCCTGAT CCAGCCATGC CGCGTGAGTG
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          370         380         390         400         410         420
Methylosinus trichosporium OB3 ATGAAGGCC TAGGGTTGTA AAGCTCTTTC GCCAGGGACG ATAATGACGG TACCTGGATA
Methylosinus spp. strain NT85 ATGAAGGCC TAGGGTTGTA AAGCTCTTTC GCCAGGGACG ATAATGACGG TACCTGGATA
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          430         440         450         460         470         480
Methylosinus trichosporium OB3 AGAAGCCCGC GCTAACTTCG TGCCAGCAGC CGCGGTAATA CGAAGGGGGC TAGCGTTGTT
Methylosinus spp. strain NT85 AGAAGCCCGC GCTAACTTCG TGCCAGCAGC CGCGGTAATA CGAAGGGGGC TAGCGTTGTT
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          490         500         510         520         530         540
Methylosinus trichosporium OB3 CGGAATCACT GGGCGTAAAG CGCACGTAGG CGGATTGTTA AGTCAGGGGT GAAATCCCGA
Methylosinus spp. strain NT85 CGGAATCACT GGGCGTAAAG CGCACGTAGG CGGATTTTTA AGTCAGGGGT GAAATCCCGA
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
          550         560         570         580         590         600
Methylosinus trichosporium OB3 GGCTCAACCT CGGAAGTGGC TTTGATACTG GCGATCTAGA GTCCGGGAGA GGTGAGTGGG
Methylosinus spp. strain NT85 GGCTCAACCT CGGAAGTGGC TTTGATACTG GCGATCTAGA GTCCGGGAGA GGTGAGTGGG
Clustal Consensus          *****  *****  *****  *****  *****  *****

```

ภาพที่ 4.2 การเปรียบเทียบลำดับเบส 16S rRNA ยีนของเชื้อจากตัวอย่างดิน รหัสตัวอย่าง NT85 และ *Methylosinus trichosporium* OB3b strain OB3b โดยใช้โปรแกรม BioEdit เครื่องหมายดอกจัน (*) แสดงถึงลำดับเบสที่เหมือนกัน

Alignment: Untitled

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      610      620      630      640      650      660
Methylosinus trichosporium OB3 ACTGCGAGTG TAGAGGTGAA ATTCGTAGAT ATTCGCAAGA ACACCCAGTGG CGAAGGCCGGC
Methylosinus spp. strain NT85 ACTGCGAGTG TAGAGGTGAA ATTCGTAGAT ATTCGCAAGA ACACCCAGTGG CGAAGGCCGGC
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      670      680      690      700      710      720
Methylosinus trichosporium OB3 TCACTGGCCC GGAACTGACG CTGAGGTGCG AAAGCGTGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC
Methylosinus spp. strain NT85 TCACTGGCCC GGAACTGACG CTGAGGTGCG AAAGCGTGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      730      740      750      760      770      780
Methylosinus trichosporium OB3 CCTGGTAGTC CACGCCGTAA ACGATGGATG CTAGCCGTTG GGGAGCTTGC TCTTCAGTGG
Methylosinus spp. strain NT85 CCTGGTAGTC CACGCCGTAA ACGATGGATG CTAGCCGTTG GGGAGCTTGC TCTTCAGTGG
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      790      800      810      820      830      840
Methylosinus trichosporium OB3 CGCAGCTAAC GCTTTAAGCA TCCCGCCTGG GGAGTACGGT CGCAAGATTA AAACCTCAAAG
Methylosinus spp. strain NT85 CGCAGCTAAC GCTTTAAGCA TCCCGCCTGG GGAGTACGGT CGCAAGATTA AAACCTCAAAG
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      850      860      870      880      890      900
Methylosinus trichosporium OB3 GAATTGACGG GGGCCCGCAC AAGCGGTGGA GCATGTGGTT TAATTCGAAG CAACGCGCAG
Methylosinus spp. strain NT85 GAATTGACGG GGGCCCGCAC AAGCGGTGGA GCATGTGGTT TAATTCGAAG CAACGCGCAG
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      910      920      930      940      950      960
Methylosinus trichosporium OB3 AACCTTACCA GCTTTTGACA TGTCCGGTAT GGTGCTCAGA GATGACTTCC TTCCCGCAAG
Methylosinus spp. strain NT85 AACCTTACCA GCTTTTGACA TGTCCGGTAT GGTGCTCAGA GATGACTTCC TTCCCGCAAG
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      970      980      990      1000      1010      1020
Methylosinus trichosporium OB3 GGGCCGGAAC ACAGGTGCTG CATGGCTGTC GTCAGCTCGT GTCGTGAGAT GTTGGGTAA
Methylosinus spp. strain NT85 GGGCCGGAAC ACAGGTGCTG CATGGCTGTC GTCAGCTCGT GTCGTGAGAT GTTGGGTAA
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1030      1040      1050      1060      1070      1080
Methylosinus trichosporium OB3 GTCCCGCAAC GAGCGCAACC CTCGCCCTTA GTTGCCATCA TTCAGTTGGG CACTCTAGGG
Methylosinus spp. strain NT85 GTCCCGCAAC GAGCGCAACC CTCGCCCTTA GTTGCCATCA TTCAGTTGGG CACTCTAGGG
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1090      1100      1110      1120      1130      1140
Methylosinus trichosporium OB3 GGACTGCCGG TGATAAGCCG CGAGGAAGGT GGGGATGACG TCAAGTCTCT ATGGCCCTTA
Methylosinus spp. strain NT85 GGACTGCCGG TGATAAGCCG CGAGGAAGGT GGGGATGACG TCAAGTCTCT ATGGCCCTTA
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1150      1160      1170      1180      1190      1200
Methylosinus trichosporium OB3 CAGGCTGGGC TACACACGTG CTACAATGGC GGTGACAATG GGAAGCGAAG GGGTGACCCG
Methylosinus spp. strain NT85 CAGGCTGGGC TACACACGTG CTACAATGGC GGTGACAATG GGAAGCGAAG GGGTGACCCG
Clustal Consensus *****

```

ภาพที่ 4.2 การเปรียบเทียบลำดับเบส 16S rRNA ยีนของเชื้อจากตัวอย่างดิน รหัสตัวอย่าง NT85 และ *Methylosinus trichosporium* OB3b strain OB3b โดยใช้โปรแกรม BioEdit เครื่องหมายดอกจัน (*) แสดงถึงลำดับเบสที่เหมือนกัน (ต่อ)

Alignment: Untitled

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1210      1220      1230      1240      1250      1260
Methylosinus trichosporium OB3 GAGCAAATCT CCAAAGCCG TCTCAGTTCG GATTGCACTC TGCAACTCGA GTGCATGAAG
Methylosinus spp. strain NT85 GAGCAAATCT CCAAAGCCG TCTCAGTTCG GATTGCACTC TGCAACTCGA GTGCATGAAG
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1270      1280      1290      1300      1310      1320
Methylosinus trichosporium OB3 GTGGAATCGC TAGTAATCGC AGATCAGCAC GCTGCGGTGA ATACGTTCCC GGGCCTTGTA
Methylosinus spp. strain NT85 GTGGAATCGC TAGTAATCGC AGATCAGCAC GCTGCGGTGA ATACGTTCCC GGGCCTTGTA
Clustal Consensus *****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1330      1340      1350      1360      1370      1380
Methylosinus trichosporium OB3 CACACCGCCC GTCACCCAT GGGAGTTGGC TTTACCCGAA GCGGTTTCGC TAACCGCAAG
Methylosinus spp. strain NT85 CACACCGCCC GTCACCCAT GGGAGTTGGC TTTACCCGAA GCGGTTTCGC TAACCGCAAG
Clustal Consensus *****

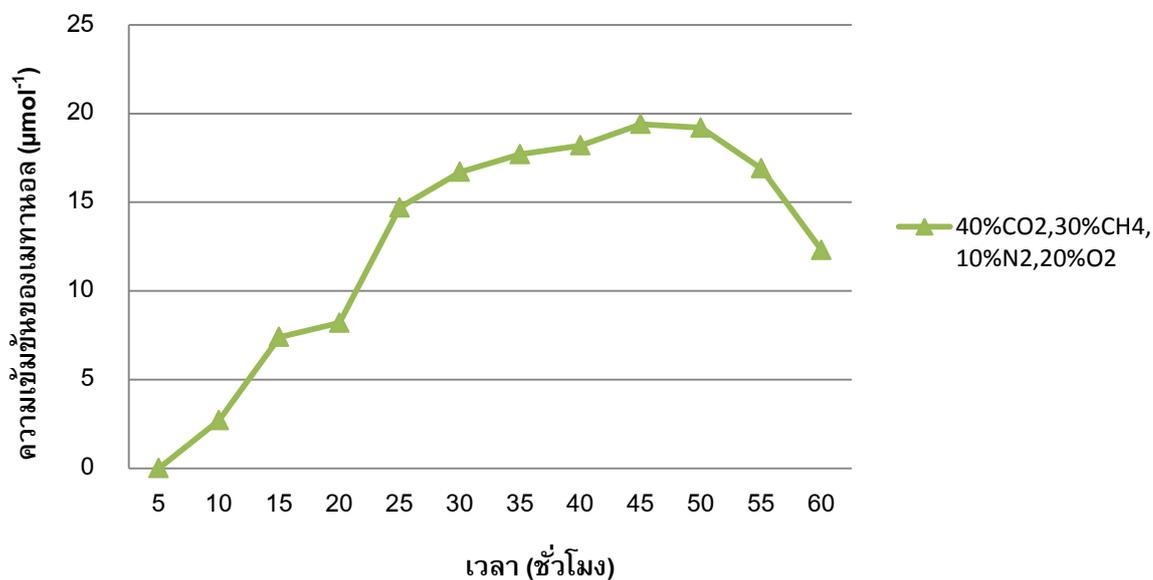
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      1390      1400      1410
Methylosinus trichosporium OB3 GAGGCAGAC ACCACGGTAG GGTACGCGAC TGGGGTG
Methylosinus spp. strain NT85 GAGGCAGAC ACCACGGTAG GGTACGCGA- -----
Clustal Consensus *****

```

ภาพที่ 4.2 การเปรียบเทียบลำดับเบส 16S rRNA ยีนของเชื้อจากตัวอย่างดิน รหัสตัวอย่าง NT85 และ *Methylosinus trichosporium* OB3b strain OB3b โดยใช้โปรแกรม BioEdit เครื่องหมายดอกจัน (*) แสดงถึงลำดับเบสที่เหมือนกัน (ต่อ)

4.3 การศึกษาความสามารถในการผลิตเมทานอลของ *Methylosinus trichosporium* strain NT85

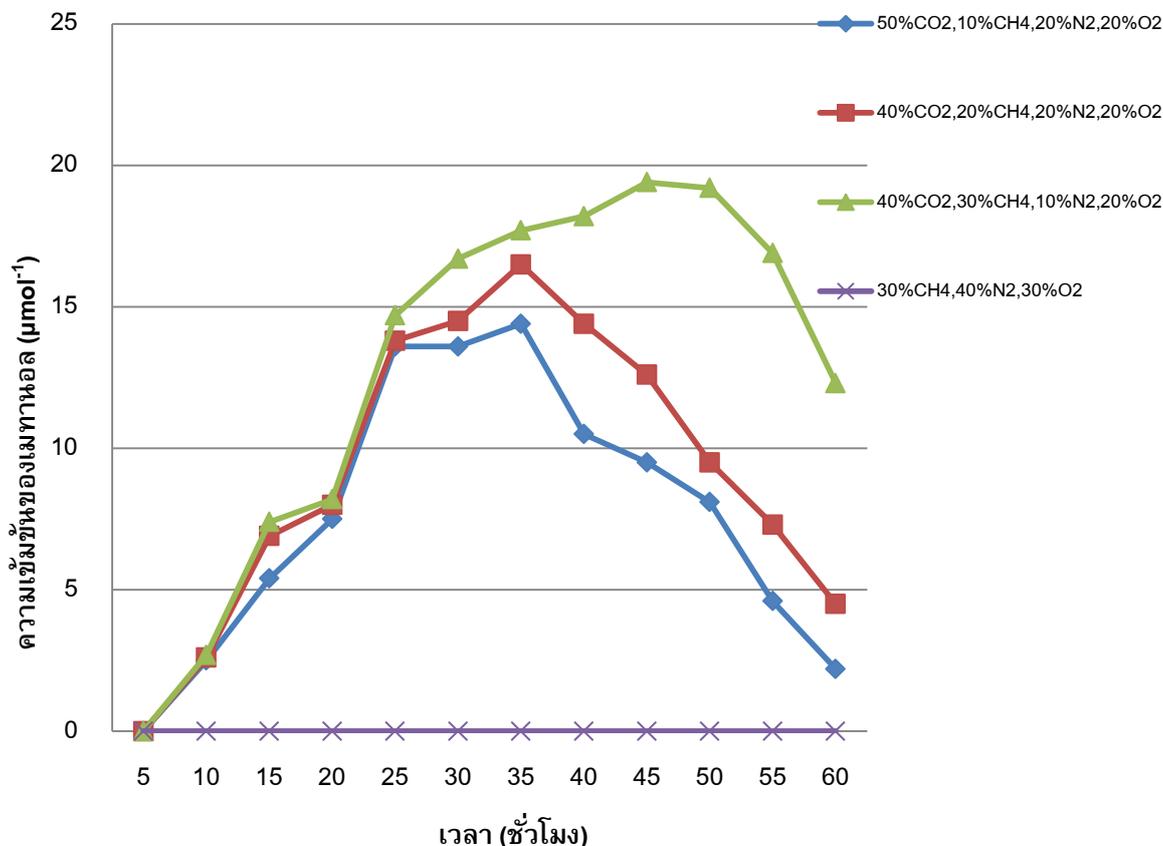
ศึกษาความสามารถในการผลิตเมทานอลของแบคทีเรีย Methanotroph สายพันธุ์ที่แยกได้ในการศึกษารั้งนี้ ตามวิธีของ Lee *et al.* (2004) และ Xin *et al.* (2004) โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ของ *Methylosinus trichosporium* strain NT85 ที่ความเข้มข้น 0.6 กรัมต่อลิตร เลี้ยงเชื้อในอาหาร NMS และให้ก๊าซมีเทนบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 ในปริมาณร้อยละ 20 และให้ปริมาณก๊าซ CO₂, O₂ และ N₂ ร้อยละ 40, 20 และ 20 ตามลำดับ โดยเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 เดือน ผลการตรวจวัดปริมาณเมทานอลด้วยเครื่อง GC พบว่า แบคทีเรียเริ่มผลิตเมทานอลหลังจากเลี้ยงเชื้อได้ 4 วัน และปริมาณเมทานอลสูงสุดที่ 19.4 μmol⁻¹ ซึ่งตรวจวัดได้ในชั่วโมงที่ 45 ของการเลี้ยงเชื้อ ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 ปริมาณเมทานอลที่ผลิตโดย *Methylosinus trichosporium* strain NT85 ซึ่งตรวจวัดได้ในช่วงเวลาต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีก๊าซมีเทนบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 ในปริมาณร้อยละ 20 ที่อุณหภูมิห้อง

4.4 การศึกษาสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของปริมาณก๊าซ CH₄, CO₂, O₂ และ N₂ ที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทานอลของ *Methylosinus trichosporium* strain NT85

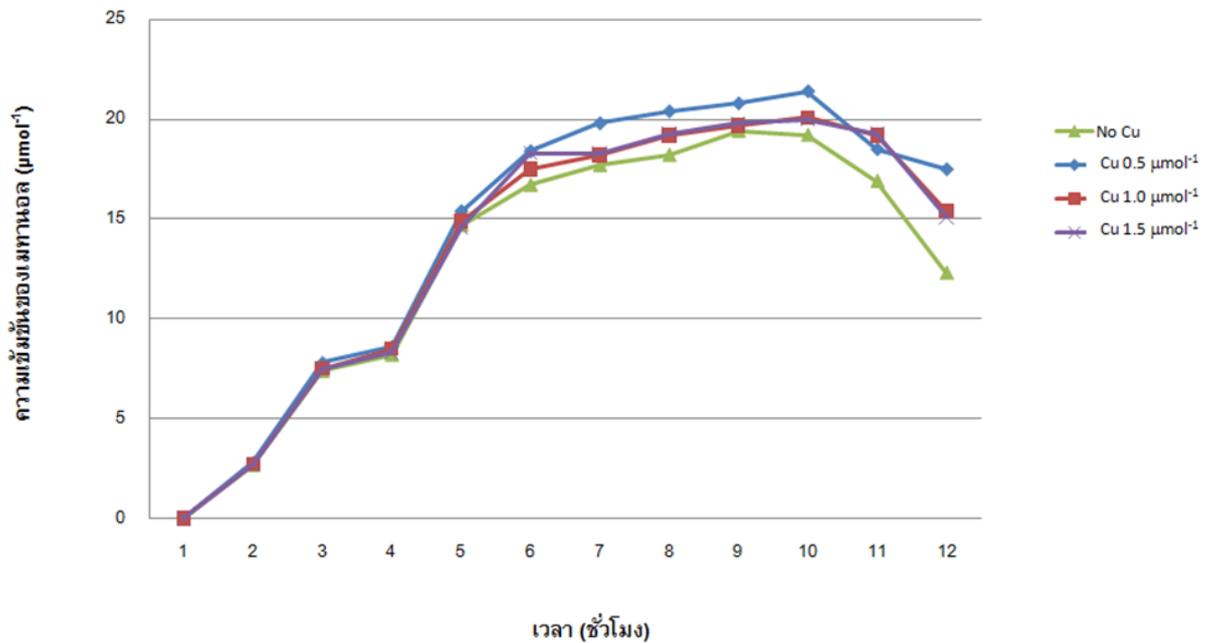
ศึกษาเปรียบเทียบสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ที่เหมาะสมของปริมาณก๊าซ CH₄, CO₂, O₂ และ N₂ ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เพื่อหาสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทานอล จากการศึกษาพบว่าสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของปริมาณก๊าซที่ให้ปริมาณเมทานอลสูงสุดที่ 19.4 µmol⁻¹ ได้แก่ 40% CO₂, 30% CH₄, 10% N₂, 20% O₂ ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ปริมาณเมทานอลที่ผลิตโดย *Methylosinus trichosporium* strain NT85 ซึ่งตรวจวัดได้ในช่วงเวลาต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของปริมาณก๊าซ CH₄, CO₂, O₂ และ N ที่แตกต่างกัน

4.5 การศึกษาปริมาณไอออนโลหะที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทานอลของ *Methylosinus trichosporium* strain NT85

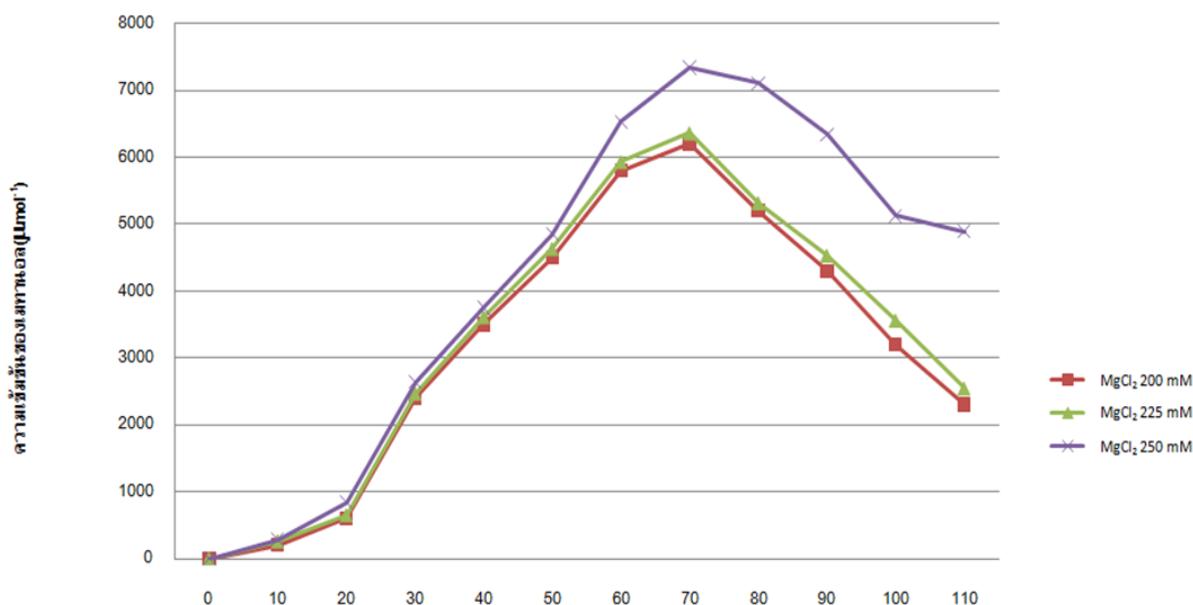
ไอออนโลหะที่ศึกษาได้แก่ คอปเปอร์ โดยศึกษาปริมาณคอปเปอร์ที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทานอล โดยในการศึกษานี้ จะใช้สัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของปริมาณก๊าซ CH₄, CO₂, O₂ และ N₂ ที่ให้ปริมาณเมทานอลสูงสุดในการเลี้ยงเชื้อในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ จากการศึกษาข้างต้นได้แก่ 40% CO₂, 30% CH₄, 10% N₂, 20% O₂ และความเข้มข้นของคอปเปอร์ที่ใช้ในการกระตุ้น ได้แก่ 0.5, 1, 1.5 µM ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า สภาวะที่มีความเข้มข้นของคอปเปอร์ 0.5 µM ให้การผลิตเมทานอลสูงสุดที่ 21.4 µmol⁻¹ และสภาวะที่ไม่มีกระตุ้นด้วยคอปเปอร์ให้การผลิตเมทานอลต่ำสุด ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 ปริมาณเมทานอลที่ผลิตโดย *Methylosinus trichosporium* strain NT85 ซึ่งตรวจวัดได้ในช่วงเวลาต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีการกระตุ้นด้วยคอปเปอร์

4.6 การศึกษาความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทานอลของ *Methylosinus trichosporium* strain NT85

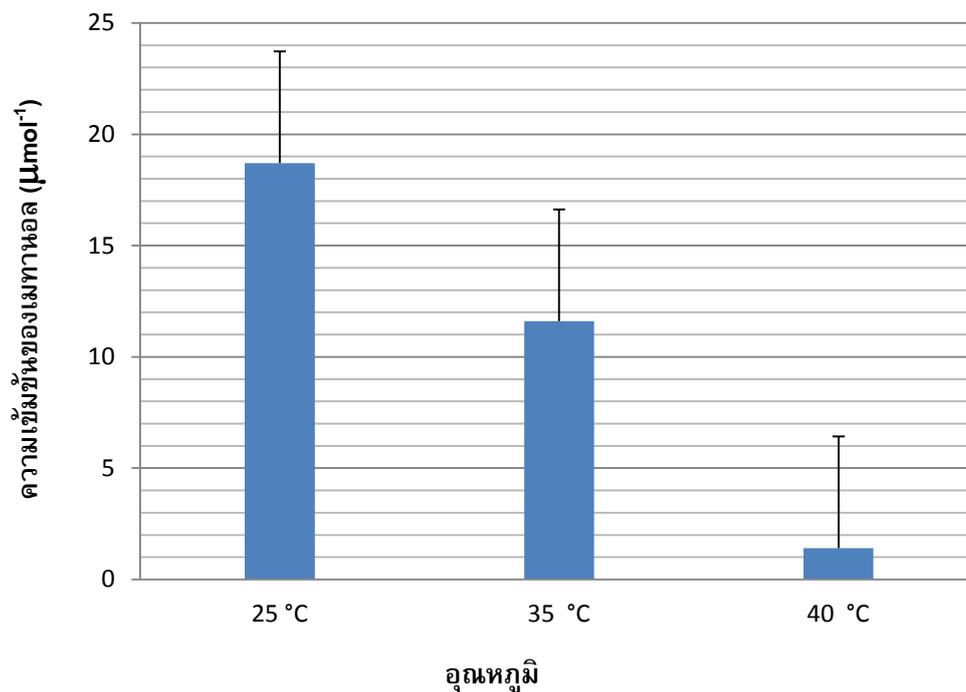
ศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นของเกลือ $MgCl_2$ ที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทานอล โดยให้ความเข้มข้นของ $MgCl_2$ ที่ 200, 225 และ 250 mM ตามลำดับ และความเข้มข้นของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น 0.6 กรัมต่อลิตร ในสภาวะที่มีก๊าซผสม 40% CO_2 , 30% CH_4 , 10% N_2 , 20% O_2 จากการศึกษพบว่า ในสภาวะที่มี $MgCl_2$ 250 mM ให้การผลิตเมทานอลสูงสุดที่ $7,345 \mu mol^{-1}$ ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.6 ส่วนในสภาวะที่มีความเข้มข้นของ $MgCl_2$ ที่ 200 mM และ 225 mM ให้การผลิตเมทานอลในปริมาณที่ลดลงตามลำดับ



ภาพที่ 4.6 ปริมาณเมทานอลที่ผลิตโดย *Methylosinus trichosporium* strain NT85 ซึ่งตรวจวัดได้ในช่วงเวลาต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีการสารยับยั้ง MgCl₂

4.7 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทานอลของ *Methylosinus trichosporium* strain NT85

ศึกษาเปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเมทานอล โดยเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 40 °C ตามลำดับ จากการศึกษพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อที่ให้การผลิตเมทานอลสูงสุดที่ 19.4 µmol⁻¹ ได้แก่ อุณหภูมิ 25 °C ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.7 ส่วนเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35 และ 40 °C ให้การผลิตเมทานอลในปริมาณที่ต่ำกว่าการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 °C



ภาพที่ 4.7 ปริมาณเมทานอลที่ผลิตโดย *Methylosinus trichosporium* strain NT85 ซึ่งตรวจวัดได้ในช่วงเวลาต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 40 °C ตามลำดับ

4.8 การศึกษาสมบัติของเมทานอล

วิเคราะห์คุณสมบัติของเมทานอลที่ได้ โดยนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านกระบวนการหมักมา กลั่นด้วยเครื่องกลั่นแบบลำดับส่วน และนำเมทานอลที่กลั่นได้ ณ เวลาที่มีความเข้มข้นของเมทานอลสูงสุดมาศึกษาคุณสมบัติ โดยหาค่าจุดเดือด ความหนาแน่น และความหนืด พบว่าเมทานอลที่กลั่นมีคุณสมบัติต่างๆ ได้แก่ จุดเดือดที่ 64.5 °C ความหนาแน่นเท่ากับ 0.8 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และความหนืด 0.9 เซ็นติพอยด์