

การเกิดแก๊สชีวภาพโดยใช้เชื้อผสมของอะซิโตเจนและเมทานोजีน  
แยกจากกากตะกอนของโรงงานอุตสาหกรรมนม



นางสาว นัสตรา เขมวุดานนท์

ศูนย์วิทยพัทยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


พ.ศ. 2537

ISBN 974-584-959-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

T13163019

Biomethanation by Mixed Cultures of Acetogens and Methanogens  
isolated from Sludges of Dairy Industry.



Miss Pastra Kemavuthanon

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1994

ISBN 974-584-959-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเกิดแก๊สชีวภาพโดยใช้เชื้อผสมของอะซิโตเจนและเมธาโนเจน  
แยกจากกากตะกอนของโรงงานอุตสาหกรรมนม  
โดย นางสาว นัสตรา เขมมาพัฒนา  
ภาควิชา จุลชีววิทยา  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งนิพนธ์



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

.....  
..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประภคิต์สิน สีहनนท์)

.....  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งนิพนธ์)

.....  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....  
..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร. สุเมธ ชวเดช)



## พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

พัลลตรา เขมวุดานนท์ : การเกิดแก๊สชีวภาพโดยใช้เชื้อผล่มของอะซิโตเจนและเมธาโนเจน แยกจากกากตะกอนของ โรงงานอุตสาหกรรมนม (BIOMETHANATION BY MIXED CULTURES OF ACETOGENS AND METHANOGENS ISOLATED FROM SLUDGES OF DAIRY INDUSTRY) อ.ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์, 112 หน้า.  
ISBN 974-584-959-6

ทำการแยกอะซิโตเจนซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่คัดเลือกโดยการเจริญบนอาหารที่มีกรดโพธิโธนิค หรือกรดแลคติก และนำไปผสมกับเมธาโนเจนซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่คัดเลือกโดยการเจริญบนอาหารที่มี เมธานอลหรือ  $H_2:CO_2$  (80:20) เพื่อศึกษาถึงการผลิตแก๊สมีเทนในระดับหลอดทดลอง พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สมีเทนของ เชื้อผล่มอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดโพธิโธนิคและเมธาโนเจนที่แยก โดยใช้เมธานอล หรือ  $H_2:CO_2$  (80:20) หลังจากบ่มเป็นเวลา 6 สัปดาห์ คือใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีความเข้มข้นกรดแลคติก 5 mM มีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุน และเติมตัวกระตุ้นกระบวนการเกิดแก๊ส มีเทนคือ  $H_2:CO_2$  (80:20) ในสัปดาห์ที่สี่ของการเลี้ยงเชื้อ โดยใช้อัตราส่วนของอะซิโตเจนและ เมธาโนเจน 1:1 ที่  $37^\circ C$  โดยได้ปริมาณแก๊สมีเทนเท่ากับ  $2.00 \times 10^5$  nmole สิ่งที่น่าสนใจคือ เมื่อ ใช้เชื้อผล่มของอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติก และเมธาโนเจนที่แยกโดยใช้เมธานอลหรือ  $H_2:CO_2$  (80:20) จะเกิดแก๊สมีเทนเท่ากับ  $2.97 \times 10^5$  nmole เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีความเข้มข้น กรดแลคติก 10 mM มีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและเติมตัวกระตุ้นกระบวนการเกิดแก๊สมีเทนคือ  $H_2:CO_2$  (80:20) ในสัปดาห์ที่สี่ของการเลี้ยงเชื้อ โดยใช้อัตราส่วนของอะซิโตเจนและเมธาโนเจน 1:1 ที่  $37^\circ C$  พบว่าในภาวะทั้งสองมีค่าความเป็นกรดต่างสุดท้ายของน้ำเลี้ยงเชื้อ 6.65 และ 6.74 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมในช่วงการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนและให้แก๊สมีเทนใน ปริมาณที่สูง

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา.....  
สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....  
ปีการศึกษา.....๕๕๓๗.....

ลายมือชื่อนิสิต.....พัลลตรา เขมวุดานนท์.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....-.....

## C426062 : MAJOR : INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: BIOMETHANATION / METHANE / ACETOGENS / METHANOGENS

PASTRA KEMAVUTHANON : BIOMETHANATION BY MIXED CULTURES OF ACETOGENS AND METHANOGENS ISOLATED FROM SLUDGES OF DAIRY INDUSTRY.

THESIS ADVISOR : ASSIS. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D. 112 pp.

ISBN 974-584-959-6

Mixed cultures from sludges of dairy industry including, Acetogens, a bacterial group using propionic acid or lactic acid as a selective substrate; and, Methanogens, using methanol or  $H_2:CO_2$  (80:20) as selective substrate were isolated. After six week-incubation of mixed cultures of Acetogens and Methanogens at a ratio of 1:1 at  $37^\circ C$  high quantity of methane production of  $2.0 \times 10^5$  nmole was obtained. This optimal production was from Acetogens isolated by using propionic acid and Methanogens by using methanol or  $H_2:CO_2$  (80:20) as selective substrate cultivated in a medium containing 5 mM lactic acid with sand as a carrier matrix and subsequent addition of  $H_2:CO_2$  (80:20) in the second week of cultivation. Interestingly, the highest quantity of methane production of  $2.97 \times 10^5$  nmole was observed with the mixed cultures at a ratio of 1:1 of Acetogens isolated by using lactic acid and Methanogens by using methanol or  $H_2:CO_2$  (80:20) in the medium containing 10 mM lactic acid using sand as a carrier matrix with subsequent addition of  $H_2:CO_2$  (80:20) in the second week of cultivation and at the same time. It was observed that final pH of both conditions are consecutively 6.65 and 6.74 which are optimal for Methanogens growth.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา.....

สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....

ปีการศึกษา.....๖๕๓๗.....

ลายมือชื่อนิสิต.....พีศธร งามานนท์.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....Sirirat Rengpipat.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....-.....



### กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งนิพนธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนได้กรุณาปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากขึ้น ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประภคิต์สิน สีहनนท์ ที่ได้กรุณาปรับเป็นประธานกรรมการสอบ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ และอาจารย์ ดร.สุเมธ ชวเดช ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการในการสอบ รวมทั้งให้คำแนะนำต่างๆ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ PROF. DR. HIDEKI HARADA, DEPARTMENT OF CIVIL & ENVIRONMENT, NAGAOKA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, NIIGATA, JAPAN ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อภาคตะกอนรวมถึงเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สนพจน์ พัฒนะศรี และคุณวิทยา เอ็งโสภาสนันท์ แห่งภาควิชาวิศวกรรมเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คุณสนธิ พณิชจารสิทธิ์ แห่งศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาเอื้อเฟื้อให้ใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี ในการวัดปริมาณแก๊สมีเทน

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ในภาควิชาจุลชีววิทยา ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบริษัท ไทยวา จำกัด ที่ให้ทุนอุดหนุนการทำวิจัยบางส่วน โดยผ่าน ผศ.ดร.ศิริรัตน์ เร่งนิพนธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณแม่ และขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัวของข้าพเจ้า ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ กำลังใจ และคำแนะนำที่ดีตลอดมา



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ช
สารบัญรูป .....	ฐ
สัญลักษณ์และคำย่อ .....	ณ
บทที่	
1. บทนำ .....	1
2. วารสารปริทัศน์ .....	9
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย .....	21
4. ผลการทดลองและวิจารณ์ .....	39
5. สรุปผลการทดลอง .....	82
เอกสารอ้างอิง .....	84
ภาคผนวก .....	90
ประวัติผู้เขียน .....	112

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
1.1	ข้อบ่งชี้ของแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนที่ใช้ในการสร้างแก๊สมีเทน . . . . .	2
1.2	การจำแนกเมธาโนเจนเป็นorder โดยอาศัยสมบัติทางรูปร่างและการใช้ ข้อบ่งชี้ . . . . .	5
2.1	ปริมาณพลังงานที่ใช้ในแต่ละปีโดยประชากรโลก . . . . .	9
2.2	การนำแก๊สมีเทนไปใช้ในกิจกรรมชนิดต่างๆ . . . . .	10
2.3	ประสิทธิภาพในการลดค่าบี. โอ. ดี. ของน้ำเสียที่เกิดจากการหมักโดยกระบวนการ บำบัดแบบต่างๆ . . . . .	11
2.4	เปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียในกากตะกอนและกากตะกอนที่ได้รับการปรับปรุง แล้ว . . . . .	14
2.5	ค่าบี. โอ. ดี. ของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ . . . . .	16
2.6	ของเหลือทิ้งประเภทเซลลูโลสที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตแก๊สมีเทน . . . . .	17
2.7	เปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดอะมิโนในน้ำเสียและในกากตะกอนที่ผ่าน กระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ . . . . .	18
2.8	ค่าความร้อนของแก๊สเชื้อเพลิงต่างๆ . . . . .	20
4.1	ปริมาณที่นับได้โดยเฉลี่ยของเชื้อผสมตามธรรมชาติในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการ เติมข้อบ่งชี้ชนิดต่างๆและบ่มไว้ที่37°C . . . . .	44
4.2	ปริมาณแก๊สมีเทนที่ผลิตโดยเชื้อผสมตามธรรมชาติในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการ เติมข้อบ่งชี้ในน้ำเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้น20mMและบ่มไว้ที่37°C . . . . .	48
4.3	แสดงชนิดและลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากการใช้ข้อบ่งชี้ชนิดต่างๆ ..	55
4.4	แสดงค่าความเป็นกรดต่างสุดท้ายโดยเฉลี่ยของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ใช้เลี้ยง อะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติกและเมธาโนเจนที่แยกโดยใช้เมทานอลใน อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรดแลคติกให้น้ำเลี้ยงเชื้อความเข้มข้นต่างๆ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิต่างๆเป็นเวลา42วัน . . . . .	60



สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่

- 4.5 แสดงค่าความเป็นกรดต่างสุดท้ายโดยเฉลี่ยของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ใช้เลี้ยง  
อะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดโพรฟิโอนิกและเมธานोजენที่แยกโดยใช้เมธานอลใน  
อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรดโพรฟิโอนิกให้ได้น้ำเลี้ยงเชื้อความเข้มข้น  
ต่างๆและบ่มไว้ที่อุณหภูมิต่างๆเป็นเวลา42วัน ..... 61
- 4.6 แสดงค่าความเป็นกรดต่างโดยเฉลี่ยของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติม  
ซัลเฟตชนิดต่างๆเมื่อเลี้ยงเชื้อผสมของอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติกหรือ  
กรดโพรฟิโอนิกและ เมธานोजენที่แยกโดยใช้เมธานอลโดยมีการเติมทรายเป็นตัว  
ค้ำจุนและบ่มไว้ที่อุณหภูมิ37°Cเป็นเวลา42วัน ..... 65
- 4.7 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดโพรฟิโอนิก  
และ เมธานोजენที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรด  
แลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย5mMและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่  
37°Cเป็นเวลา42วัน ..... 67
- 4.8 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดโพรฟิโอนิก  
และ เมธานोजენที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรด  
แลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย5mM และมีการเติมเมธานอลในวันที่14ของการ  
เลี้ยงเชื้อและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่37°Cเป็นเวลา42วัน .. 67
- 4.9 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดโพรฟิโอนิก  
และ เมธานोजენที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรด  
แลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย5mMและมีการเติม  $H_2 : CO_2$  (80:20) ในวันที่14ของ  
การเลี้ยงเชื้อและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่37°Cเป็นเวลา42วัน ..  
..... 68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่

- 4.10 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติก และเมทานोजенที่แยกโดยใช้เมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรดแลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 5mM และมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่ 37°C เป็นเวลา 42 วัน ..... 70
- 4.11 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติก และเมทานोजенที่แยกโดยใช้เมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรดแลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 5mM และมีการเติมเมทานอลในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่ 37°C เป็นเวลา 42 วัน .... 70
- 4.12 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติก และเมทานोजенที่แยกโดยใช้เมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรดแลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 5mM และมีการเติม H<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> (80:20) ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่ 37°C เป็นเวลา 42 วัน ..... 71
- 4.13 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดโพर्फิออนิก และเมทานोजенที่แยกโดยใช้เมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรดแลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 10mM และมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่ 37°C เป็นเวลา 42 วัน ..... 73
- 4.14 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดโพर्फิออนิก และเมทานोजенที่แยกโดยใช้เมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรดแลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 10mM และมีการเติมเมทานอลในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่ 37°C เป็นเวลา 42 วัน .... 73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่

- 4.15 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดโพธิ์อินค และเมธาโนเจนที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรด แลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย10mMและมีการเติมH<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> (80:20) ในวันที่14 ของการเลี้ยงเชื้อและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่37°Cเป็นเวลา42วัน ..... 74
- 4.16 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติก และเมธาโนเจนที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรด แลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย10mMและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่ 37°Cเป็นเวลา42วัน ..... 76
- 4.17 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติก และเมธาโนเจนที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรด แลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย10mM และมีการเติมเมธานอลในวันที่14ของการ เลี้ยงเชื้อและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่37°Cเป็นเวลา42วัน .... 76
- 4.18 ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมระหว่างอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติก และเมธาโนเจนที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมกรด แลคติกให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย10mM และมีการเติมH<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> (80:20) ในวันที่ 14ของการเลี้ยงเชื้อและมีการเติมทรายเป็นตัวค้ำจุนและบ่มไว้ที่37°Cเป็นเวลา 42วัน ..... 77

สารบัญรูป

รูปที่		
1.1	วัฏจักรคาร์บอนในธรรมชาติ .....	4
1.2	การย่อยสลายสารเชิงซ้อนโดยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรีย 3 กลุ่ม .....	6
2.1	ระบบกำจัดน้ำจากสาขางของโรงงานสุราแสงโสม จังหวัดนครปฐม .....	12
2.2	ประโยชน์ของผลพลอยได้ที่เกิดจากการใช้ระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ .....	19
3.1	อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำหลอดเลี้ยงเชื้อแบบไร้อากาศ .....	23
3.2	ลักษณะภายในของท่อทองแดงสำหรับชุดแก๊สออกซิเจนซึ่งใช้ในกระบวนการทำหลอดเลี้ยงเชื้อแบบไร้อากาศ .....	24
3.3	ลักษณะภายนอกของท่อทองแดงสำหรับชุดแก๊สออกซิเจนซึ่งใช้ในกระบวนการทำหลอดเลี้ยงเชื้อแบบไร้อากาศ .....	24
3.4	เครื่องเคลือบวันเข้ากับผิวด้านในหลอดทดลองของอังกฤษ .....	25
3.5	อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ .....	26
3.6	ลักษณะภาชนะก่อนที่ได้รับจากโรงงานอุตสาหกรรมนม .....	29
3.7	แสดงการเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งโดยวิธีของอังกฤษ .....	30
3.8	การเติมซัสเพนเดรตไฮโดรเจนคาร์บอนไดออกไซด์ (80:20) .....	31
3.9	การเก็บตัวอย่างแก๊สมีเทนจากหลอดเลี้ยงเชื้อโดยใช้หลอดฉีดยาเก็บความดัน .....	32
3.10	การเก็บโคไลนจากอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว .....	34
3.11	ขวดเก็บเชื้อบริสุทธิ์ .....	36
4.1	ลักษณะภายนอกของภาชนะก่อนเมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนกำลังขยาย 350 เท่า .....	40
4.2	ผิวของภาชนะก่อนเมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนกำลังขยาย 3,500 เท่า .....	41
4.3	ผิวของภาชนะก่อนเมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนกำลังขยาย 10,000 เท่า .....	41

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่

- 4.4 ภาพตัดขวางของกากตะกอนโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบผ่านตลอดกำลังขยาย 7,000 เท่า..... 43
- 4.5 ภาพตัดขวางของกากตะกอนโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบผ่านตลอดกำลังขยาย 14,000 เท่า ..... 43
- 4.6 เปรียบเทียบปริมาณที่นับได้ของเชื้อผสมตามธรรมชาติในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมซบสเตรตชนิดต่างๆและบ่มไว้ที่ 37°C ..... 45
- 4.7 เปรียบเทียบปริมาณแก๊สมีเทนของเชื้อผสมตามธรรมชาติในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการเติมซบสเตรตชนิดต่างๆและบ่มไว้ที่ 37°C ..... 49
- 4.8 ลักษณะโคโลนีของเชื้ออะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติก ..... 56
- 4.9 ลักษณะโคโลนีของเชื้ออะซิโตเจนเมื่อสัมผัสอากาศ ..... 56
- 4.10 ลักษณะโคโลนีของเชื้อเมธานोजินที่แยกโดยใช้เมธานอลหรือ  $H_2 : CO_2$  (80:20) ..... 57
- 4.11 ลักษณะการเรืองแสงของเชื้อเมธานोजินเมื่อฉายไฟกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดฟลูออเรสเซนซ์กำลังขยาย 1,000 เท่า ..... 57
- 4.12 เปรียบเทียบปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมของอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดไพรูวิกและเมธานोजินที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีความเข้มข้นกรดแลคติก 5mM และแปรผันการเติมซบสเตรตชนิดอื่น ..... 69
- 4.13 เปรียบเทียบปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมของอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติกและเมธานोजินที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีความเข้มข้นกรดแลคติก 5mM และแปรผันการเติมซบสเตรตชนิดอื่น ..... 72
- 4.14 เปรียบเทียบปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมของอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดไพรูวิกและเมธานोजินที่แยกโดยใช้เมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีความเข้มข้นกรดแลคติก 10mM และแปรผันการเติมซบสเตรตชนิดอื่น ..... 75

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่

- 4.15 เปรียบเทียบปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดจากเชื้อผสมของอะซิโตเจนที่แยกโดยใช้กรดแลคติกและเมทานอเจนที่แยกโดยใช้เมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีความเข้มข้นกรดแลคติก 10mM และแปรผันการเติมซัลเฟตชนิดอื่น ..... 78



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญลักษณ์และคำย่อ

%	=	เปอร์เซ็นต์
°C	=	องศาเซลเซียส
Kg	=	กิโลกรัม
mg	=	มิลลิกรัม
mM	=	มิลลิโมลาร์
KJ	=	กิโลจูล
MJ	=	เมกกะจูล
ft <sup>3</sup>	=	ลูกบาศก์ฟุต
Hr	=	ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย