# โครงการ
# การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

**ชื่อโครงการ** ผลของแหล่งกำเนิดแสงและความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodopseudomonas palustris* AS85

**ชื่อนิสิต** นางสาวมนัสชนก โคตรพันธ์ รหัสประจำตัว 5932346723

**ภาควิชา** จุลชีววิทยา

**ปีการศึกษา** 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**โครงการ**

# การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

**ชื่อโครงการ** ผลของแหล่งกำเนิดแสงและความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodopseudomonas palustris* AS85

**ชื่อนิสิต** นางสาวมนัสชนก โคตรพันธ์ **เลขประจำตัว** 5932346723

**ภาควิชา** จุลชีววิทยา

**ปีการศึกษา** 2562

**คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

**ชื่อโครงการ** ผลของแหล่งกำเนิดแสงและความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodopseudomonas palustris* AS85

**โดย** นางสาวมนัสชนก โคตรพันธ์ รหัสประจำตัวนิสิต 5932346723

**อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ** ผศ.ดร.กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์

**ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

---

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2312499 โครงงานวิทยาศาสตร์

..... หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)

คณะกรรมการสอบโครงงาน

..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปาหนัน เริงสำราญ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชีวานันท์ เดชอุปการณ์ ศิริสมบูรณ์)

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

เรื่อง

# ผลของแหล่งกำเนิดแสงและความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodopseudomonas palustris* AS85


อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์

นิสิตในโครงการ

นางสาวมนัสชนก โคตรพันธ์ รหัสประจำตัวนิสิต 593 23467 23


โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของ

การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

**ชื่อโครงการ** ผลของแหล่งกำเนิดแสงและความเข้มแสงต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodopseudomonas palustris* AS85

**ชื่อนิสิต** นางสาวมนัสชนก โคตรพันธ์

รหัสประจำตัวนิสิต 5932346723

**อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ** ผศ.ดร.กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์

**ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

## บทคัดย่อ

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถัน (Purple non-sulfur bacteria; PNSB) เป็นแบคทีเรียที่มีเมตาบอลิซึมที่หลากหลาย ในภาวะโฟโตเฮเทอโรโทรป PNSB สามารถเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีเพื่อการเจริญได้ การเพาะเลี้ยง PNSB ในห้องปฏิบัติการนิยมใช้หลอดไส้เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งในปัจจุบันหลอดไส้ได้ถูกห้ามผลิตและหาซื้อได้ยากในหลายประเทศรวมถึงประเทศไทยด้วย เนื่องจากความไม่มีประสิทธิภาพเชิงพลังงาน ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความสามารถของหลอดคอมแพกต์ฟลูออเรสเซนต์และหลอดไส้ ในการเป็นแหล่งพลังงานแสงเพื่อการเจริญของ *Rhodopseudomonas palustris* สายพันธุ์ AS85 โดยเพาะเลี้ยงภายใต้ภาวะโฟโตเฮเทอโรโทรป ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB ที่ความเข้มแสง 2000 lux เก็บตัวอย่างเพื่อหาแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และน้ำหนักเซลล์แห้ง ผลการทดลองแสดงการเจริญสูงสุดของ AS85 เมื่อเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดไส้เป็นเวลา 3 วัน โดยให้ค่า $OD_{660}$ สูงสุดอยู่ที่ 2.241±0.04 ในขณะที่หลอดคอมแพกต์ฟลูออเรสเซนต์ชนิดวอร์มไวท์และเดย์ไลท์ทำให้เกิดการเจริญของ AS85 ที่ช้ากว่า และพบว่าแหล่งกำเนิดแสงที่ต่างกันไม่ทำให้ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ทั้งหมดต่อเซลล์ต่างกัน แต่ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์ต่างกัน แหล่งกำเนิดแสงที่ทำให้เกิดการผลิตแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์สูงสุด คือ หลอดคอมแพกต์ฟลูออเรสเซนต์ชนิดวอร์มไวท์ สรุปได้ว่าหลอดไส้ยังเหมาะสมที่สุดสำหรับการเลี้ยง *R. palustris* AS85 แบบโฟโตเฮเทอโรโทรป

**Project** Effect of light source and light intensity on growth and pigments production of photosynthetic bacteria *Rhodopseudomonas palustris* AS85

**Student** Ms. Manutchanok Kottapun

ID no. 5932346723

**Project advisor** Kobchai Pattaragulwanit, Dr.rer.nat.

**Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University**

## Abstract

Purple non-sulfur bacteria (PNSB) are bacteria that exhibit an extremely versatile metabolism. Under Photoheterotrophic growth PNSB convert light to chemical energy for growth. Culturing PNSB in laboratory, incandescent lamp has been traditionally used as light source. Nowadays, this kind of light bulb was banned for production and less available in many countries including Thailand because of their energy-inefficiency. Therefore, the objective of this study was to compare the capability of compact fluorescent lamp and incandescent lamp as light sources for growth of *Rhodopseudomonas palustris* AS85. PNSB have been photoheterotrophic cultured in RCVB medium under light intensity of 2000 lux. Samples were collected for bacteriochlorophyll and carotenoid as well as dry weight estimation. The results revealed that the highest growth of AS85 could be found after 3-day illumination under an incandescent lamp as shown by OD660 of 2.241±0.04 whereas the compact fluorescent lamps, warm white and day light, induced slower growth of AS85. The different light source did not change the total bacteriochlorophyll per cells. Total carotenoid per cells was found higher after phototrophic growth under compact fluorescent lamps, warm white. We concluded that incandescent lamps are still most suitable for photoheterotrophic cultivation of *R. palustris* AS85.

# กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษาในเรื่องต่าง ๆ และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย อีกทั้งยังคอยดูแลเอาใจใส่ และเป็นกำลังใจในหลาย ๆ เรื่อง รวมทั้งยังช่วยแก้ไขตรวจทานโครงการฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ผู้วิจัยกราบขอบพระคุณในความเมตตากรุณาของอาจารย์เป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

กราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำต่าง ๆ และให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบโครงการฉบับนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในเรื่องต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อโครงการฉบับนี้

ขอขอบคุณพี่ ๆ สมาชิกห้องวิจัย 1704/13 ทุกคนและพี่ ๆ สมาชิกชั้น 17 ทุกคน ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และความช่วยเหลือในเรื่องต่าง ๆ รวมทั้งยังให้กำลังใจในการทำโครงการนี้เสมอมา

ขอขอบคุณเพื่อน-พี่-น้อง ภาคจุลชีววิทยา ที่ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้ตลอดการทำโครงการฉบับนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และสมาชิกในครอบครัวทุกคน ที่ให้โอกาส ให้การสนับสนุน รับฟังปัญหา และช่วยเหลือผู้วิจัยในทุก ๆ ด้าน ตลอดจนเป็นกำลังใจที่สำคัญแก่ผู้วิจัยเสมอมา

ด้วยความเคารพอย่างสูง

มนัสชนก โคตรพันธ์

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ข |
| กิตติกรรมประกาศ | ค |
| สารบัญ | ง |
| สารบัญรูปภาพ | จ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| บทที่ 2 อุปกรณ์ สารเคมี | 16 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง | 19 |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง | 22 |
| บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง | 30 |
| เอกสารอ้างอิง | 34 |
| ภาคผนวก ก | 39 |
| ภาคผนวก ข | 41 |
| ภาคผนวก ค | 42 |
| ภาคผนวก ง | 45 |

**สารบัญรูปภาพ**

หน้า

รูปที่ 1.1 ลักษณะของหลอดไส้ (Incandescent light bulb)
รูปที่ 1.2 ลักษณะของหลอดฮาโลเจน (Halogen lamp)
รูปที่ 1.3 ปฏิกิริยาของไส้หลอดทังสเตน
รูปที่ 1.4 ลักษณะของหลอดฟลูออเรสเซนต์
รูปที่ 1.5 แบลลัสต์ (Ballast)
รูปที่ 1.6 โทนสีของแสงเมื่อแบ่งตามอุณหภูมิของสี
รูปที่ 1.7 ลักษณะของหลอดคอมแพกต์ฟลูออเรสเซนต์
รูปที่ 1.8 ภาพขยายของไดโอดที่อยู่ภายในหลอด LED
รูปที่ 4.1 *R. palustris* AS85 ในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะโฟโตเฮเทอโรโทป
รูปที่ 4.2 *R. palustris* AS85 ในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะคีโมเฮเทอโรโทป
รูปที่ 4.3 ลักษณะโคโลนีของ *R. palustris* AS85 เมื่อเพาะลี้ยงในภาวะคีโมเฮเทอโรโทป บนอาหารแข็ง NA
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรกับเวลา ของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ
รูปที่ 4.5 ลักษณะเซลล์แขวนลอยของ *R. palustris* AS85 ในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะ Photoheterotroph โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกัน
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 770 นาโนเมตรกับเวลา ของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ
รูปที่ 4.7 ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ทั้งหมดต่อเซลล์ ($OD_{770}/OD_{660}$) ของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ
รูปที่ 4.8 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม) ของเชื้อ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ
รูปที่ 4.9 ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์ ($OD_{480}/OD_{660}$) ของเชื้อ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ

หน้า

รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ของปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์ของ *R. palustris* AS85 จากการเลี้ยงภายใต้แหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกัน 3 ชนิด เป็นเวลา 3 4 และ 5 วัน

รูป ค-1 กราฟแสดงช่วงการดูดกลืนแสงของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ในภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดหลอดไฟชนิดต่าง เป็นเวลา 3 วัน

รูป ค-2 กราฟแสดงช่วงการดูดกลืนแสงของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ในภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดหลอดไฟชนิดต่าง เป็นเวลา 4 วัน

รูป ค-3 กราฟแสดงช่วงการดูดกลืนแสงของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ในภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดหลอดไฟชนิดต่าง เป็นเวลา 5 วัน

# บทที่ 1

# บทนำ

## แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria; PSB) เป็นสิ่งมีชีวิตในกลุ่มโปรคาริโอต (Prokaryotes) ที่มีความสามารถในการสังเคราะห์แสงหรือใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานได้ มีเมตาบอลิซึมหลากหลาย เช่น ออโตโทรป (autotrophy) เฮเทอโรโทรป (heterotrophy) และ มิกซ์โซโทรป (mixotrophy) ทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถปรับตัวอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมที่หลากหลาย พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ทั้งในนาข้าว ทะเลสาบ แม่น้ำ มหาสมุทร กากตะกอนน้ำเสีย และในดิน (Lu และคณะ, 2019) รวมถึงสภาวะแวดล้อมที่รุนแรง เช่น อุณหภูมิต่ำ ความเข้มข้นเกลือสูง และ อุณหภูมิสูง เป็นต้น (Yang และคณะ, 2018) แบคทีเรียสังเคราะห์แสงไม่มีความเป็นพิษและมีสารชีวภาพที่มีประโยชน์มากมายที่สามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ย วัตถุดิบอาหารสัตว์ และส่วนผสมที่ใช้งานได้ในอุตสาหกรรมทั้งอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และการแพทย์ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงมีรงควัตถุในการดูดกลืนแสง คือ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ (bacteriochlorophyll) ชนิด a b c และ d และแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน (Lu และคณะ, 2019) และสามารถเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีได้ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์มีความคล้ายคลึงเชิงโครงสร้างกับคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) มาก แต่สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ยาวกว่าคลอโรฟิลล์ (Talaiekhozani และคณะ, 2017)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามความสามารถในการผลิตออกซิเจนเป็นผลิตภัณฑ์เมื่อเกิดกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนี้ (Qi และคณะ, 2018)

### Oxygenic photosynthetic bacteria

คือกลุ่มของแบคทีเรียที่มีกระบวนการสังเคราะห์แสงคล้ายกับสิ่งมีชีวิตกลุ่มยูคาริโอต (Eukaryotes) หรือพืชชั้นสูง มีน้ำเป็นตัวให้อิเล็กตรอน และใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยมีออกซิเจนเป็นผลิตภัณฑ์ แบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)

### Anoxygenic photosynthetic bacteria

คือกลุ่มของแบคทีเรียที่ไม่สามารถใช้น้ำเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงไม่สามารถผลิตออกซิเจนเป็นผลิตภัณฑ์ได้ แต่สามารถใช้สารประกอบซัลไฟด์ ไฮโดรเจน หรือสารอินทรีย์อื่นเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในการสังเคราะห์ด้วยแสง พบทั่วไปในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น ดิน มหาสมุทร ทะเลสาบ และแม่น้ำ (Hanada, 2016) สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามความแตกต่างของรงควัตถุหรือ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ คือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดง (purple bacteria) มีแบคเทอริ-

โอคลอโรฟิลล์ชนิด a และ b แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียว (green bacteria) มีแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ชนิด c และ d (Qi และคณะ, 2018)

**แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดง (photosynthetic purple bacteria)**

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดง (photosynthetic purple bacteria; PPB) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ชนิด a และ b และผลิตแคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นจำนวนมาก ทำให้เซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้มีลักษณะเป็นสีม่วงแดง หรือสีเหลืองจนถึงน้ำตาล ขึ้นอยู่กับปริมาณรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง (photosynthetic pigment) ที่ผลิตขึ้น (Thiel และคณะ, 2018) แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงไม่สามารถใช้อิเล็กตรอนจากน้ำได้ เพื่อการสังเคราะห์แสงจึงต้องออกซิไดซ์สารอินทรีย์หรือสารประกอบซัลเฟอร์อนินทรีย์จากสิ่งแวดล้อม จากความสามารถในการสะสมกำมะถัน สามารถแบ่งแบคทีเรียสีม่วงแดงออกเป็น 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดสะสมกำมะถัน (purple sulfur bacteria; PSB) ได้แก่ แฟมิลี่ *Chromatiaceae* และแฟมิลี่ *Ectothiorhodospira* เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ต้องการสารประกอบซัลเฟอร์อนินทรีย์เป็นตัวให้อิเล็กตรอน เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ($H_2S$) หรือ ซัลไฟต์ ($SO_3^{2-}$) เป็นต้น และแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถัน (purple non-sulfur bacteria; PNSB) ได้แก่ แฟมิลี่ *Rhodospirillaceae* เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่ต้องการสารประกอบซัลเฟอร์อนินทรีย์ แต่จะใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น มาเลต หรือ ซักซิเนต เป็นตัวให้อิเล็กตรอน (Lancaster, 2018)

**แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียว (photosynthetic green bacteria)**

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียว (photosynthetic green bacteria; PGB) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีโครงสร้างพิเศษ คือ คลอโรโซม (chlorosome) ที่ประกอบด้วยแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ c d และ e เป็นจำนวนมากซึ่งใช้ในการเก็บเกี่ยวแสงในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Thweatt และคณะ, 2019) มีลักษณะโคโลนีสีเขียวจนถึงน้ำตาล ขึ้นอยู่กับปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์แต่ละชนิดภายใน คลอโรโซม (Thiel และคณะ, 2018) แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียวแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียวชนิดสะสมกำมะถัน (green sulfur bacteria) ได้แก่ แฟมิลี่ Chlorobiaceae (Lu และคณะ, 2019) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น (obligate anaerobe) ต้องมีแสง ใช้ $S^{2-}$ $H_2$ หรือ $Fe^{2+}$ เป็นตัวให้อิเล็กตรอน และใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน มีประโยชน์มากมายในการใช้บำบัดน้ำเสีย (Talaiekhozani และคณะ, 2017) และแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีเขียวชนิดไม่สะสมกำมะถัน (green non-sulfur bacteria หรือ Gliding filamentous green sulfur bacteria, GFB) ได้แก่ แฟมิลี่ *Chloroflexaceae* เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งแบบโฟโตออโตโทรป (photoautotrophy), โฟโต-เฮเทอโรโทรป (photoheterotrophy) และ แบบมิกซ์โซโทรป (mixotrophy) ไม่ต้องการสารประกอบซัลเฟอร์อนินทรีย์ แต่จะใช้สารประกอบอินทรีย์ กรดไขมันขนาดเล็ก กรดแอมโมเนีย และเอทานอลเป็นตัวให้อิเล็กตรอน (Lu และคณะ, 2019)

**แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถัน (purple non-sulfur bacteria, PNSB)**

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถัน (purple non-sulfur bacteria; PNSB) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเป็นรูปท่อน (rod shape) โคโลนีมีสีแดงจนถึงน้ำตาล มีแคโรทีนอยด์ (carotenoids) และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ (bacteriochlorophyll) เป็นรงควัตถุในการดูดกลืนแสงในกระบวนการสังเคราะห์แสงที่ผ่านระบบแสงเพียงหนึ่งระบบเพื่อผลิตพลังงานและสังเคราะห์ ATP สามารถเจริญได้ในหลายสภาวะทั้งแบบโฟโตเฮเทอโรโทรป (photoheterotroph) ที่เจริญในภาวะมีแสงและมีสารอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นตัวให้อิเล็กตรอนและแหล่งคาร์บอน แบบโฟโตออโตโทรป (photoautotroph) ที่เจริญในภาวะมีแสงและคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน แบบคีโมเฮเทอโรโทรป (chemoheterotroph) ที่เจริญในภาวะไม่มีแสงแต่มีอากาศและมีสารอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้บางสปีชีส์ยังสามารถเจริญแบบ โฟโตลิโธออโตโทรป (photolithoautotroph) คือเจริญในภาวะที่มีแสง ใช้ $S^{2-}$ $H_2$ หรือ $Fe^{2+}$ เป็นตัวให้อิเล็กตรอนและใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้อีกด้วย แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถันสามารถใช้สารประกอบอินทรีย์ที่หลากหลาย เช่น ไพรูเวต อะซีเตท กรดอินทรีย์ กรดอะมิโน แอลกอฮอลล์ และคาร์โบไฮเดรต บางสปีชีส์สามารถใช้สารประกอบอินทรีย์ที่มีคาร์บอน 1 อะตอม เช่น เมทานอล และ ฟอร์เมต และสารประกอบอะโรมาติก เช่น เบนโซเอต ซินนาเมต ฟีนิลอะซีเตท และฟีนอล เป็นแหล่งคาร์บอนได้ จากความสามารถอยู่รอดและเจริญได้ในหลายสภาวะ ทำให้สามารถพบแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถันได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในแหล่งน้ำต่าง ๆ ดินตะกอน แหล่งน้ำเสียรวมถึงบ่อบำบัดน้ำเสีย โดยในสภาวะที่มีอากาศแต่ไม่มีแสงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถันสามารถใช้ออกซิเจนเป็นแหล่งพลังงานในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ เพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวล ขณะที่ในสภาวะไม่มีอากาศแต่มีแสงและสารอินทรีย์แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถันจะเกิดการหมักแบบใช้แสงซึ่งได้ผลิตภัณฑ์เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแก๊สไฮโดรเจน (Reungsang และคณะ, 2018) ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงที่สะอาดและสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้และเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางว่าเป็นเชื้อเพลิงทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิล (Saleem และคณะ, 2018)

**ประโยชน์ของแบคทีเรียในกลุ่ม PNSB**

**ด้านการแพทย์**

แบคทีเรียในกลุ่ม PNSB มีความสามารถในการสังเคราะห์โคเอนไซม์คิวเทน (coenzyme Q10, CoQ10) ซึ่งเป็นยูบิควิโนน (Ubiquinone) ชนิดหนึ่งซึ่งมีบทบาทในการพัฒนาการเผาผลาญพลังงานของเซลล์และการกำจัดอนุมูลอิสระ CoQ10 ถูกใช้อย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์ยา อาหารเสริม เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมการดูแลสุขภาพ (Zhi และคณะ, 2019) และมีประสิทธิภาพเชิงสุขภาพหลายอย่าง เช่น การรักษาภาวะหัวใจล้มเหลว ช่วยรักษาเนื้องอก เสริมภูมิคุ้มกันและบรรเทาความเหนื่อยล้า เป็นต้น (Cao และคณะ, 2020) นอกจากนี้ยังพบว่า CoQ10 ที่ผลิตได้จากกลุ่มของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงนั้นมีความเข้มข้นสูงกว่าใน *Escherichia coli* พืช และเนื้อเยื่อสัตว์ อีกด้วย (Zhi และคณะ, 2019)

**ด้านอุตสาหกรรมและพลังงาน**

แบคทีเรียในกลุ่ม PNSB มีความสามารถในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยกระบวนการหมักแบบใช้แสง (Photofermentation) คือ การใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานและสารประกอบอินทรีย์ที่หลากหลายเป็นตัวให้อิเล็กตรอน โดยมีเอนไซม์หลักในการทำงาน คือ ไนโตรจีเนส (nitrogenase) ที่สามารถผลิตแก๊สไฮโดรเจนเป็นผลพลอยได้เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีไนโตรเจนจำกัด และไม่มีอากาศ (anaerobic condition) ซึ่งแก๊สไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานที่สะอาดที่คาดว่าจะมีบทบาทสำคัญในอนาคตเพื่อใช้เป็นพลังงานทางเลือกแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลได้ (Morsy และคณะ, 2019) ในปัจจุบันการผลิตแก๊สไฮโดรเจนสำหรับการใช้งานในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่มาจากการใช้กระบวนการเร่งปฏิกิริยาความร้อน (Thermo-catalytic) และการแปรสภาพเป็นแก๊ส (Gasification process) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้ต้นทุนสูง (Luongo และคณะ, 2017) การใช้กระบวนการทางชีวภาพเป็นการผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่ประหยัดเนื่องจากสามารถใช้ขยะอินทรีย์ที่มีราคาถูกในกระบวนการหมักได้ (Morsy และคณะ, 2019) เช่น จากการศึกษาของ Mirza และคณะ (2019) พบว่า *Rhodobacter capsulatus*-PK ที่คัดแยกได้จากนาข้าวมีความสามารถในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากชานอ้อย ซึ่งสามารถผลิตไฮโดรเจนได้สูงถึง 513 ml $H_2$/l (Mirza และคณะ, 2019) และ Sagir และคณะ (2017) ศึกษาการผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยใช้น้ำตาลซูโครสและกากน้ำตาลจากผักกาดฝรั่ง (sugar beet molasses) โดยทำการศึกษา PNSB ที่แตกต่างกัน 4 สายพันธุ์ พบว่า *Rhodopseudomonas palustris* DSM127 สามารถผลิตแก๊สไฮโดรเจนได้สูงที่สุด ที่ 19 mol $H_2$/mol ซูโครส (Sagir และคณะ, 2017)

นอกจากแก๊สไฮโดรเจนแล้ว PNSB ยังสามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้ โดยการรับพลังงานจากแสงแล้วเก็บสะสมพลังงานรูปของพอลิฟอสเฟต (polyphosphate) ไว้ในเซลล์ เมื่อแหล่งคาร์บอนและพลังงานหมดไปจึงนำพอลิฟอสเฟตออกมาใช้ซึ่งการเผาผลาญพอลิฟอสเฟตทำให้เกิดการปลดปล่อยอิเล็กตรอนและผลิตเป็นกระแสไฟฟ้าได้ในระบบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ (Microbial fuel cell, MFC) จากการศึกษาของ Lai และคณะ (2017) พบว่า *Rhodopseudomonas palustris* G11 สามารถผลิตกระแสไฟฟ้าสูงสุด ประมาณ 0.03 V ในระบบเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพที่มีการให้แสง (photo-microbial fuel cell, PMFC) (Lai และคณะ, 2017)

นอกจากนี้รงควัตถุที่ PNSB ผลิตได้ทั้งแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์กำลังเป็นที่ต้องการของอุตสาหกรรมในปัจจุบัน เนื่องจากรงควัตถุทั้งสองนั้นสามารถใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อาหาร ยา และเครื่องสำอางเป็นต้น ตัวอย่างเช่น แคโรทีนอยด์ถูกใช้เป็นสีสำหรับเติมแต่งอาหารและเครื่องสำอาง (food coloring agent) และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ที่มีแนวโน้มจะถูกใช้เป็นสารเร่งปฏิกิริยาความไวของแสง (Photosensitizer) ในการรักษาแบบโฟโตไดนามิค (Photodynamic therapy) (Wang และคณะ, 2017)

**ด้านการเกษตร**

ในการเลี้ยงสัตว์ แบคทีเรียในกลุ่ม PNSB สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์หรือโปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein, SCP) เพื่อเพิ่มสารอาหารให้กับสัตว์ที่จะนำมาบริโภคได้ เช่น กุ้ง ปลา และไก่ เนื่องจาก PNSB มีคุณค่าทางโภชนาการสูงทั้งโปรตีน รงควัตถุ และวิตามินต่าง ๆ และไม่เป็นพิษต่อเจ้าบ้าน นอกจากนี้ สมบัติของ PNSB ที่สามารถเจริญได้ในหลายสภาวะและเจริญเร็วกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น ราและสาหร่าย จึงเหมาะแก่การนำมาใช้ในการผลิตชีวมวลเพื่อนำมาใช้เป็น SCP ซึ่งเป็นการผลิตที่ต้นทุนต่ำ (Chumpol และคณะ, 2018) และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาเรื่องสถานะปัจจุบันของการผลิต SCP จากแบคทีเรียกลุ่ม PNSB โดย Garimella และคณะ (2017) พบว่า PNSB สามารถทนความเป็นพิษได้สูงและมีองค์ประกอบเป็นโปรตีนรวมสูงถึง 70-72 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความสามารถในการผลิต SCP ของ PNSB เชิงลึก พบว่า *Rhodopseudomonas palustris* ให้ผลดีที่สุดในแง่ของการผลิต SCP นอกจากนี้การฟื้นฟูทางชีวภาพโดยเฉพาะการบำบัดน้ำเสียโดยใช้แบคทีเรียกลุ่ม PNSB ทำให้มีการผลิตผลพลอยได้ และกากตะกอนซึ่งเป็นของเสียจากระบบบำบัดที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ (Garimella และคณะ, 2017) ตัวอย่างเช่น การนำ *Rhodopseudomonas palustris* JCM 14675 มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนสารไซฮาโลฟอบ-บิวทิล (Cyhalofop-butyl) ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชชนิดหนึ่งที่มีการเติมน้ำเสียจากกระบวนการแปรรูปถั่วเหลือง พบว่าในระยะเวลา 5 วันสามารถกำจัดไซฮาโลฟอบ-บิวทิล ได้ 100% และสามารถผลิต SCP ได้ 780 ± 43 mg/g , แคโรทีนอยด์ 5.8 ± 0.18 mg/g และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ 11 ± 0.9 mg/mg (เมื่อมีไซฮาโลฟอบ-บิวทิล 4000 mg/L) (Wu และคณะ, 2019)

ในการเพาะปลูกพืช PNSB ได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจากสามารถผลิตและสะสมสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth-promoting substances, PGPSs) เช่น indole-3-acetic acid (IAA) เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและกระบวนการต่าง ๆ ในวัฏจักรพืช เช่น การแบ่งเซลล์ (cell division), การขยายขนาดของเซลล์ (cell extension) และการเปลี่ยนไปทำหน้าที่พิเศษ (cell specialization) เป็นต้น ซึ่ง IAA มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นรากพืชในการดูดซึมแร่ธาตุต่าง ๆ ทำให้พืชเจริญเติบโตได้ไวขึ้น อีกทั้งยังทำให้พืชสามารถปรับตัวและทนต่อความเครียดจากความเค็มและโลหะหนักได้อีกด้วย นอกจาก IAA แล้ว PNSB ยังสามารถผลิต 5-aminolevulinic acid (ALA) ซึ่งเป็นสารที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Sakarika และคณะ, 2020) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์และเหนี่ยวนำเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเมื่ออยู่ใต้สภาวะความเครียด เช่น catalase, glutathione และ reductase เป็นต้น (Sakpirom และคณะ, 2017) โดย ALA ที่ความเข้มข้นต่ำจะช่วยสนับสนุนการเจริญและเพิ่มผลผลิตของพืชได้ นอกจากการผลิตสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตแล้วผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก PNSB ยังทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์มากขึ้นและพืชสามารถทนต่อความเครียดที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต (biotic stress) และไม่มีชีวิต (abiotic stress) หรือป้องกันโรคในพืชได้ (Sakarika และคณะ, 2020)

**ด้านสิ่งแวดล้อม**

จากความสามารถของ PNSB ในการปรับรูปแบบการเผาผลาญและการใช้แหล่งคาร์บอนได้หลากหลาย การเจริญทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจนและแสง รวมถึงความสามารถในการทนทานและลดความเป็นพิษของโลหะหนักและสารพิษต่าง ๆ ทำให้แบคทีเรียในกลุ่ม PNSB ถูกนำมาใช้งานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพมากมาย เช่น การบำบัดน้ำเสีย การบำบัดทางชีวภาพ และการผลิตแก๊สชีวภาพ เป็นต้น (Saleem และคณะ, 2019) ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1960 PNSB ถูกใช้ในการบำบัดน้ำเสียมากมาย ทั้งน้ำเสียจากครัวเรือน น้ำเสียจากถั่วเหลือง น้ำเสียจากโรงงานมะกอก น้ำเสียจากการหมักแป้ง น้ำเสียชุมชนและน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเป็นต้น PNSB เป็นที่น่าสนใจในการนำมาใช้บำบัดน้ำเสียเนื่องจากมีศักยภาพทางด้านเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อมจากการผลิตชีวมวลและสารที่มีมูลค่าพร้อมกับการกำจัดมลพิษในน้ำเสียอย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การบำบัดน้ำเสียที่มีกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acid wastewater) ในถังหมักแบบใช้แสง (photobioreactor) โดยใช้ *Rhodopseudomonas palustris* ACCC10649 ในการบำบัด พบว่าสามารถลด COD (chemical oxygen demand) ได้ถึง 87.5 เปอร์เซ็นต์ (จากเดิม 3,350 mg/L) พร้อมกับการผลิตชีวมวลและแคโรทีนอยด์ได้ถึง 2719.3 mg/L and 3.91 mg/g ชีวมวล ตามลำดับ (Lui และคณะ, 2016) นอกจากนี้ PNSB ที่มีความสามารถในการทนต่อโลหะหนักยังถูกนำมาใช้ในการฟื้นฟูพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนโลหะหนักต่าง ๆ ด้วย เช่น *Rhodospirillaceae* sp. Q3C สามารถกำจัดสารหนู (Arsenic) ซึ่งเป็นสารที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ทั้งพืช สัตว์ แบคทีเรีย และมนุษย์ได้ถึง 76.67 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ในภาวะที่ไม่มีอากาศ (anaerobic conditions) พร้อมกับการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ถึง 5.6 mg/g ชีวมวล นอกจากนี้ยังพบว่า *Rhodospirillaceae* sp. Q3C สามารถผลิตแก๊สไฮโดรเจนได้อีกด้วย ดังนั้นการบำบัดทางชีวภาพพร้อมกับการผลิตแก๊สชีวภาพอย่างไฮโดรเจนจึงสามารถทำพร้อมกันได้เมื่อปรับสภาวะให้เหมาะสม (Saleem และคณะ, 2019)

***Rhodopseudomonas palustris***

จากข้อมูลประโยชน์ของแบคทีเรียในกลุ่ม PNSB ข้างต้นทำให้เห็นว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถหลายด้าน ซึ่งแต่ละชนิดหรือสายพันธุ์ก็จะมีสมบัติและความสามารถที่แตกต่างกันออกไป *Rhodopseudomonas palustris* เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม PNSB ชนิดหนึ่ง เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเป็นรูปแท่ง เคลื่อนที่ได้ สามารถคัดแยกได้จากสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ทั้งจากบ่อน้ำเสียจากการเลี้ยงสัตว์ กากตะกอน ตะกอนดินใต้น้ำ ใบไม้ที่มีความชื้น ดิน และฟางข้าว เป็นต้น สาเหตุที่ทำให้พบ *Rhodopseudomonas palustris* ได้ในสิ่งแวดล้อมที่หลากหลายเนื่องจาก *Rhodopseudomonas palustris* มีความสามารถในการเผาผลาญพลังงานได้ถึง 4 รูปแบบ ได้แก่ โฟโตเฮเทอโรโทรป (photoheterotroph) โฟโตออโตโทรป (photoautotroph) คีโมเฮเทอโรโทรป (chemoheterotroph) และโฟโตลิโธออโตโทรป (photolithoautotroph) *Rhodopseudomonas palustris* จึงถูกนำมาศึกษาและใช้งานทั้งด้านการเกษตร การผลิตแก๊สไฮโดรเจน การผลิตไฟฟ้า และการกำจัดการปนเปื้อนของสารประกอบอะโรมาติกต่าง ๆ เป็นต้น (Cao และคณะ, 2020)

***Rhodopseudomonas palustris* สายพันธุ์ AS85**

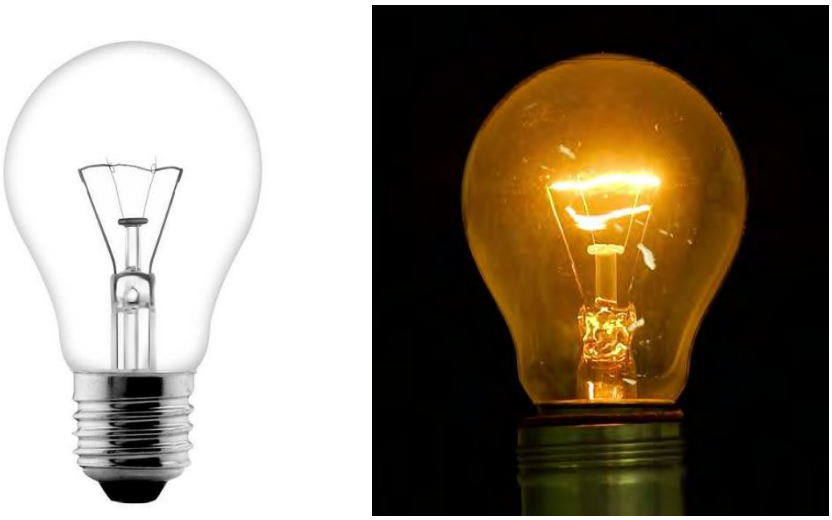
แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงชนิดไม่สะสมกำมะถัน *Rhodopseudomonas palustris* สายพันธุ์ AS85 ที่คัดแยกได้จากแอคทิเวเทดสลัดจ์ มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ติดสีแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งสั้นและสามารถเคลื่อนที่ได้ ลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนีในภาวะ photoheterotroph บนอาหารแข็ง RCVB คือ กลมนูน ขอบเรียบ สีแดงเข้ม และภาวะ chemoheterotroph บนอาหารแข็ง RCVB มีลักษณะโคโลนี กลมนูน ขอบเรียบ สีขาว ตรงกลางมีสีออกส้ม ซึ่งสายพันธุ์ AS85 เป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสงชนิดแรกที่มีรายงานการย่อยสลาย 1% ดีเซลได้และให้ผลการบำบัดดีเซลในน้ำจืดได้มากถึง 80% ในเวลา 14 วัน จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนดีเซลได้ (ชื่นสุมน บุญเจริญ, 2559)

การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง จำเป็นต้องใช้แหล่งกำเนิดแสงซึ่งโดยทั่วไปจะเป็นหลอดไฟ ในปัจจุบันหลอดไฟที่ใช้มีอยู่หลายชนิดซึ่งแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติทางแสงและทางไฟฟ้าต่างกัน หลอดไฟที่นิยมใช้ มี 5 ชนิด โดยเรียงลำดับตามวิวัฒนาการของหลอดไฟ ได้แก่ หลอดไส้ หลอดฮาโลเจน หลอดฟลูออเรส-เซนต์ หลอดคอมแพกต์ฟลูออเรสเซนต์ และหลอด LED (บริษัท บุญถาวรเซรามิค จำกัด, 2562)

**1. หลอดไส้ (Incandescent light bulb)**

หลอดไส้เป็นหลอดไฟที่มีประวัติการใช้งานมาอย่างยาวนาน (Lowes และคณะ, 2017) มีลักษณะดังรูปที่ 1.1 ให้แสงสว่างโดยการหมุนเวียนกระแสไฟฟ้าผ่านลวดโลหะหรือไส้หลอดที่อยู่ภายในหลอดแก้ว ทำให้ไส้หลอดเกิดความร้อนจนกระทั่งมีอุณหภูมิสูงและเปล่งแสงออกมา (Roys, 2017) การเปล่งแสงของหลอดไส้จะให้สเปกตรัมที่เหมือนกับแสงในธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง (continuous natural light-style spectrum) โดยมีการปล่อยแสงสีฟ้าน้อย แสงที่ได้จึงเป็นโทนสีเหลืองส้มซึ่งใกล้เคียงกับแสงที่เกิดจากธรรมชาติมากที่สุด หลอดไส้จึงนับเป็นหลอดไฟที่มีปลอดภัยในเชิงสุขภาพ เช่น มีความปลอดภัยต่อสายตามนุษย์และการสร้างเม็ดสีเมลานิน เป็นต้น (Jou และคณะ, 2017) นอกจากนี้หลอดไส้ยังไม่ต้องอาศัยอุปกรณ์ควบคุมภายนอก มีราคาถูก ค่าบำรุงรักษาต่ำ และทำงานได้ดีเท่ากันทั้งในไฟฟ้ากระแสสลับและกระแสตรง หลอดไส้จึงถูกใช้อย่างกว้างขวางในครัวเรือนและในอาคารพาณิชย์ ตลอดจนไฟฟ้าแบบพกพา เช่น ไฟตั้งโต๊ะ ไฟหน้ารถยนต์ และไฟฉาย รวมถึงไฟฟ้าสำหรับตกแต่งและโฆษณา และนอกจากแสงที่เปล่งออกมายังปล่อยความร้อนจากไส้หลอด ทำให้ผิวของหลอดไส้มีความร้อนสูงและบริเวณรอบ ๆ นั้นมีอุณหภูมิสูงขึ้น ความร้อนที่ได้จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ เช่น เครื่องฟักไข่ กล่องฟักไข่สำหรับสัตว์ปีก ไฟความร้อนสำหรับสวนจำลองสภาพแวดล้อม (vivarium) ของสัตว์เลื้อยคลาน และการให้ความร้อนอินฟราเรดในกระบวนการให้ความร้อนและอบแห้งในอุตสาหกรรมเป็นต้น (วิกิพีเดีย, 2561) แต่ความร้อนที่เกิดขึ้นเป็นสาเหตุให้หลอดไฟชนิดนี้มีประสิทธิภาพต่ำ เนื่องจากสูญเสียพลังงานไฟฟ้ากว่า 95% ไปเป็นพลังงานความร้อน นอกจากทำให้สิ้นเปลืองไฟฟ้ายังมีอายุการใช้งานสั้นอีกด้วย (Lowes และคณะ, 2017) ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2007 หลายประเทศเริ่มมีการห้ามใช้หรือขายหลอด

ไส้และเสนอให้ใช้หลอดประหยัดไฟอื่น ๆ แทน (Jou และคณะ, 2017) เช่น ในสหภาพยุโรปเริ่มเลิกใช้หลอดไส้เมื่อปี ค.ศ. 2009 และห้ามการขายหลอดไส้สำหรับใช้ในที่อยู่อาศัยเมื่อปี ค.ศ. 2012 โดยเหตุผลหลักคือ เพื่ออนุรักษ์พลังงาน ลดการปล่อยก๊าซคาร์บอน และให้ผู้บริโภคตระหนักถึงผลประโยชน์ทางเศรษฐกิจจากการลงทุนใช้หลอดไฟที่ประหยัดพลังงาน (Perino และคณะ, 2016)



รูปที่ 1.1 : ลักษณะของหลอดไส้ (Incandescent light bulb)

(https://www.alibaba.com/product-detail/China-factory-price-incandescent-clear-light_60792086632.html

, https://www.shutterstock.com/video/clip-13619726-incandescent-light-bulb-glowing-on-dark-background)

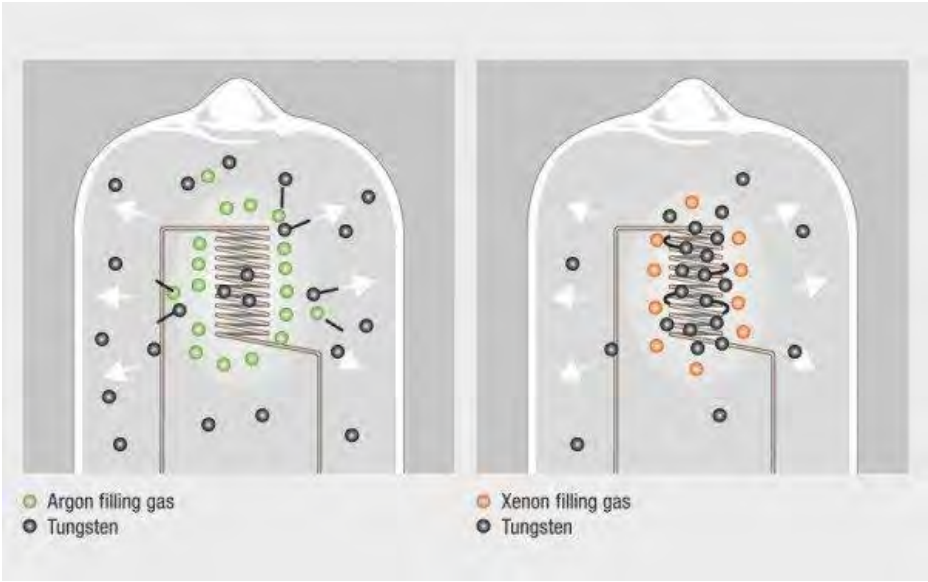
**2. หลอดฮาโลเจน (Halogen lamp)**

หลอดฮาโลเจน หรือ หลอดทังสเตนฮาโลเจน (Tungsten Halogen lamp) มีลักษณะดังรูปที่ 1.2 เป็นหลอดไฟที่ถูกพัฒนามาจากหลอดไส้ที่มีไส้หลอดเป็นทังสเตนและหลักการทำงานที่เกิดจากความร้อนเช่นเดียวกัน แต่แตกต่างกันที่หลอดฮาโลเจนจะมีการบรรจุแก๊สฮาโลเจน เช่น ไอโอดีนหรือโบรมีนเป็นก๊าซเฉื่อย (inert gas) แทนก๊าซเฉื่อยเดิมที่ใช้ในหลอดไส้ เช่น อาร์กอน ซึ่งแก๊สฮาโลเจนที่เติมเข้าไปทำให้ไส้หลอดทนความร้อนได้สูงขึ้น แสงที่ได้จึงสว่างมากกว่าและสามารถปรับขนาดของหลอดให้เล็กลงกว่าหลอดไส้ได้ (Osigbemeh และคณะ, 2017) นอกจากนี้แก๊สฮาโลเจนยังทำปฏิกิริยากับทังสเตนที่ระเหิดออกมาจากไส้หลอดทำให้ทังสเตนที่ระเหิดออกมากลับไปอยู่ที่ไส้หลอด หรือที่เรียกว่า วงจรฮาโลเจน (Halogen cycle) ดังรูปที่ 1.3 ทำให้ไส้หลอดเกิดการคงสภาพ มีอายุการใช้งานที่ยาวนานขึ้นและไม่ทำเกิดรอยดำบริเวณด้านในของหลอดจากทังสเตนที่ระเหิดออกมา หลอดฮาโลเจนจึงเป็นหลอดไฟที่มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าหลอดไส้ (Levin

และคณะ, 2017) รูปทรงของหลอดฮาโลเจนมีหลายแบบขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้งาน เหมาะกับการส่องสว่างในห้อง เช่น ใช้ในตู้โชว์ รูปภาพ รูปปั้น หรือในโรงแรม เป็นต้น (Perfect Family Club, 2559)

รูปที่ 1.2 : ลักษณะของหลอดฮาโลเจน (Halogen lamp)

(https://www.lightcollection.nl/nl/osram-halopin-33-watt-g9.html, https://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B9%84%E0%B8%9F%E0%B8%A5%E0%B9%8C:Halogen_lamp_operating.jpg)

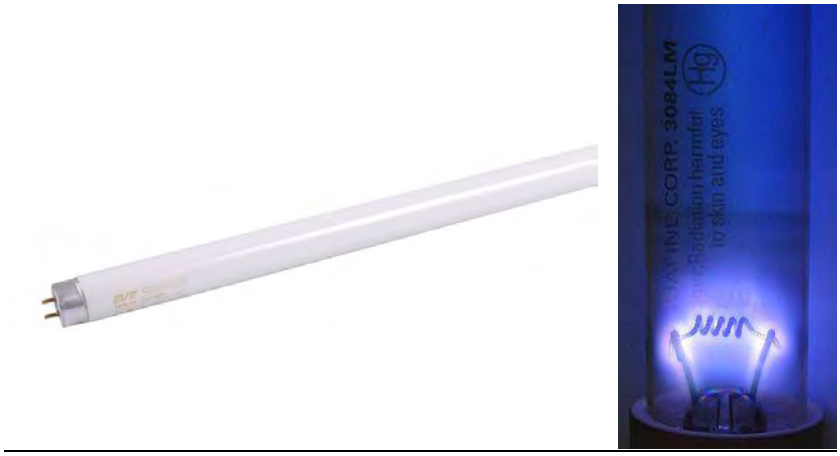



รูปที่ 1.3 : ปฏิกิริยาของไส้หลอดทังสเตนที่ระเหิดและก๊าซเฉื่อยภายในหลอดไส้ (ซ้าย) และหลอดฮาโลเจน (ขวา)

(https://theearthproject.com/halogen-light-bulbs/)

### 3. หลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent lamp)

หลอดฟลูออเรสเซนต์ หรือ หลอดเรืองแสง (Neon lamp) เป็นหลอดไฟที่ถูกพัฒนาขึ้นมาและใช้แทนหลอดไส้เนื่องจากปัญหาทางด้านพลังงาน หลอดฟลูออเรสเซนต์เป็นหลอดไฟที่มีการบรรจุไอปรอทความดันต่ำไว้ เมื่อกระแสไฟฟ้าไหลผ่านหลอด จะกระตุ้นให้อนุภาคปรอทปล่อยรังสีอัลตร้าไวโอเลตที่มีความยาวคลื่นสั้นกว่าแสงที่ตามองเห็นออกมา เมื่อรังสีนี้กระทบกับสารเรืองแสงที่ฉาบไว้ด้านในตัวหลอด สารเรืองแสงจะเปล่งแสงสว่างออกมา (Roys, 2017) โดยสเปกตรัมแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์เป็นแบบไม่ต่อเนื่อง หรือแบบเส้น (Discontinuous spectrum or Line spectrum) และแสงสีที่ได้จะแตกต่างกันขึ้นกับสารเรืองแสงที่ฉาบไว้ด้านในหลอด หลอดฟลูออเรสเซนต์มีราคาที่สูงกว่าหลอดไส้เนื่องจากต้องมีตัวควบคุมกระแสไฟฟ้าผ่านหลอด หรือ แบลลัสต์ (Ballast) ดังรูปที่ 1.5 แต่หลอดฟลูออเรสเซนต์สามารถใช้งานได้ยาวนานกว่าและใช้พลังงานน้อยกว่าหลอดไส้ ดังนั้นในการประหยัดพลังงานและเงิน หลอดฟลูออเรสเซนต์จึงเป็นทางเลือกที่ดีกว่าหลอดไส้ อย่างไรก็ตามหลอดฟลูออเรสเซนต์ยังมีผลเสียที่ต้องคำนึงถึง คือ สารปรอทซึ่งเป็นพิษรุนแรงต่อมนุษย์และสัตว์ ที่อยู่ภายในหลอดฟลูออเรสเซนต์จึงเป็นอันตรายหากหลอดฟลูออเรสเซนต์แตกและเป็นปัญหาในขั้นตอนการกำจัด (Freidman, 2019)




รูปที่ 1.4 : ลักษณะของหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent lamp) (ซ้าย), ไส้หลอดฆ่าเชื้อ หรือหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ไม่มีการฉาบสารเรืองแสง (ขวา)

(https://www.baanandbeyond.com/en/60152498.html, https://en.wikipedia.org/wiki/Fluorescent_lamp)

รูปที่ 1.5 : แบลลัสต์ (Ballast)
(https://shopee.co.th/220-240V-AC-36W-Wide-Voltage-T8-Electronic-Ballast-Fluorescent-Lamp-Ballasts-i.52762729.1999564598)

**4. หลอดคอมแพกต์ฟลูออเรสเซนต์ (compact fluorescent lamps, CFLs)**

หลอดคอมแพกต์ฟลูออเรสเซนต์ หรือหลอดตะเกียบ เป็นหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์รูปแบบหนึ่งที่เป็นที่นิยมอย่างมาก ถูกออกแบบมาเพื่อแทนที่หลอดไส้ มีลักษณะของหลอดที่โค้งหรือพับเพื่อให้พอดีกับพื้นที่ของหลอดไส้และแบลลัสต์ที่ฐานหลอด โดยยังคงมีหลักการการทำงานและข้อจำกัดเช่นเดียวกับหลอดฟลูออเรส-เซนต์จึงเป็นที่นิยมใช้ตามอาคารบ้านเรือนและอาคารสำนักงานต่าง ๆ เพราะมีลักษณะคล้ายหลอดไส้ (Marsh, 2015) แต่ประหยัดไฟมากกว่าถึง 80 เปอร์เซ็นต์ อายุการใช้งานยาวนานกว่า 6-12 เท่า (Pawlak, 2017) ไม่ทำให้เกิดความร้อน และแสงที่ปล่อยออกมายังเป็นแสงที่ถนอมสายตา ซึ่งในปัจจุบันหลอดคอมแพกต์ ฟลูออเรสเซนต์ได้มีการพัฒนาโทนสีของแสงที่ปล่อยออกมาที่หลากหลายขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและสถานการณ์ของการใช้งาน มักแบ่งตามอุณหภูมิของสี (color temperature) เป็น 3 โทนสีดังนี้

4.1. วอร์มไวท์ (Warm White) อุณหภูมิของสีอยู่ในช่วง 2,500-3,300 เคลวิน แสงไฟที่ได้จะเป็นโทนสีอุ่นหรือสีออกโทนส้ม ให้ความนุ่มนวล อบอุ่น ผ่อนคลาย และ โรแมนติก จึงมักติดตั้งในห้องนอนหรือห้องนั่งเล่นที่ต้องการความผ่อนคลาย หรือประดับในโรงแรมเพื่อเพิ่มความมีมิติให้กับที่พักเป็นต้น

4.2. คูลไวท์ (Cool White) อุณหภูมิของสีอยู่ในช่วง 3,500-4,000 เคลวิน เป็นแสงไฟที่มีการผสมผสานระหว่างโทนสีส้มและโทนสีขาว จึงทำให้มีทั้งความอบอุ่นของแสงโทนส้มและความสว่างของแสงโทนขาวฟ้าที่สมดุลกัน แสงที่ได้จึงเป็นแสงสีขาวนวลตาให้ความรู้สึกทั้งผ่อนคลายและสบายตาในเวลาเดียวกันจึงประยุกต์ใช้ได้กับทุกห้องและทุกบริเวณทั้งภายในและภายนอก

4.3. เดย์ไลท์ (Day light) อุณหภูมิของสีอยู่ในช่วง 6,000-6,500 เคลวิน แสงไฟจะเป็นโทนสีขาวอมฟ้าช่วยให้มองเห็นสิ่งต่าง ๆ ได้ชัดเจน ให้ความรู้สึกสดใส กระฉับกระเฉง จึงมักนำมาใช้งานในห้องทำงาน ห้องสำนักงาน หรือห้องครัว (Lee, 2017)

รูปที่ 1.6 : โทนสีของแสงเมื่อแบ่งตามอุณหภูมิของสี

(https://bit.ly/2KmGF9P)

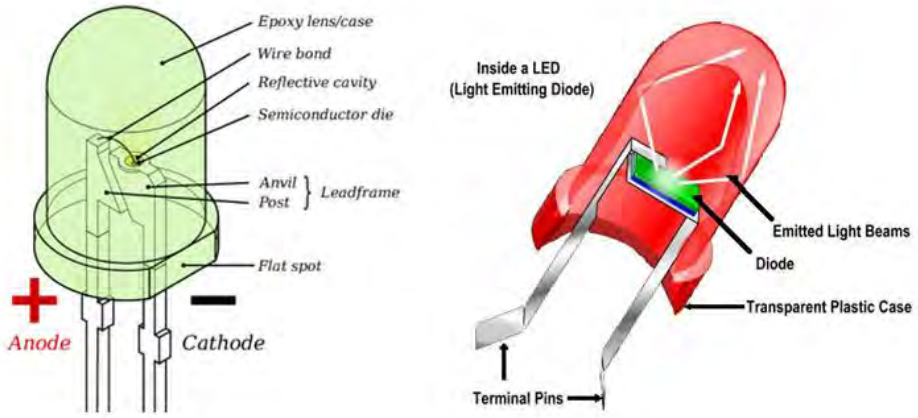
รูปที่ 1.7 : ลักษณะของหลอดคอมแพกต์ฟลูออเรสเซนต์ (compact fluorescent lamps, CFLs)

(https://www.indiamart.com/proddetail/cfl-light-19459031712.html)

**5. หลอด LED (light emitting diode)**

หลอด LED หรือ ไดโอดเปล่งแสง จัดเป็น solid-state lighting ชนิดหนึ่งที่ใช้สารกึ่งตัวนำ (semiconductor diode) ในการเปลี่ยนกระแสไฟฟ้าไปเป็นแสง โดยไดโอด (diode) จะทำมาจากสารกึ่งตัวนำ หรือผลึกของสารกึ่งตัวนำที่ต่อกันได้ทางขั้วไฟฟ้าทั้ง 2 ขั้ว ดังรูปที่ 1.8 ทำหน้าที่ออกแบบและควบคุมทิศทางการไหลของประจุไฟฟ้าโดยยอมให้กระแสไฟฟ้าไหลในทิศทางเดียว เมื่อทำการไบอัสตรง (Forward bias) หรือ การจ่ายแรงดันให้แก่สารกึ่งตัวนำจนแรงดันสูงกว่าแรงดันต้านกลับจะทำให้อิเล็กตรอนมีพลังงานสูงพอที่จะข้ามมายังฝั่งตรงข้ามได้ ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าไหลและการปล่อยแสงออกมา ซึ่งแสงจะมีหลายสีขึ้นกับสารตัวนำที่ใช้ (วีทิต, 2560) หลอด LED ถูกพัฒนาขึ้นมาจากเทคโนโลยียุคใหม่เพื่อใช้แทนหลอดไส้และหลอดฟลูออเรสเซนต์เนื่องจากใช้พลังงานที่น้อยกว่า อายุการใช้งานนานกว่า ให้สีของแสงที่ต้องการโดยไม่ต้องใช้ฟิลเตอร์สี ทนต่อแรงกระแทก มีขนาดเล็ก มีการเปิดปิดของแสงที่รวดเร็ว อีกทั้งแสงไฟจากหลอด LED ยังปลอดภัยไม่มีรังสี UV แลสารปรอทที่เป็นอันตราย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากมีการปล่อยก๊าซคาร์บอนที่ลดลงมากกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Roys, 2017)

นอกจากนี้แสงของหลอด LED มีความหลากหลายเช่นกัน โดยมักแบ่งตามอุณหภูมิสีเช่นเดียวกับหลอดฟลูออเรสเซนต์ นอกจากข้อดีที่กล่าวมาแล้ว ข้อเสียของหลอดไฟ LED ก็สามารถพบได้เช่นกัน นั่นคือเรื่องราคาที่ค่อนสูงกว่าหลอดไฟชนิดอื่น ๆ เนื่องจากคุณสมบัติและข้อดีต่าง ๆ ทำให้หลอดไฟ LED เมื่อเทียบกับหลอดไฟชนิดอื่น ๆ แล้วมักจะมีราคาที่สูงกว่า แต่เมื่อเทียบกับอายุการใช้งาน ความทนทาน และความประหยัดของหลอดไฟ LED จึงพบว่าหลอด LED เป็นหลอดไฟที่มีความคุ้มค่ากับราคาอย่างมากมาก (บริษัท บุญถาวรเซรามิค จำกัด, 2562)




รูปที่ 1.8 : ภาพขยายของไดโอดที่อยู่ภายในหลอด LED

(https://bit.ly/3cF0YeR)

**ผลของปัจจัยแสงต่อการเจริญของแบคทีเรียกลุ่ม PNSB**

แสงนับเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับแบคทีเรียกลุ่ม PNSB เมื่อมีการเจริญในสภาวะโฟโตเฮเทอโรโทรปและโฟโตออโตโทรป เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่ม PNSB สามารถใช้พลังงานแสงในการสังเคราะห์อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate: ATP) หรือสารที่ให้พลังงานแก่เซลล์ได้โดยอาศัยการทำงานของรงควัตถุ ได้แก่ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ที่เรียงตัวอยู่ในแอนเทนนา คอมเพล็กซ์ (antenna complexes หรือ Light-Harvesting complexes) ที่มีลักษณะเป็นแผงรับพลังงาน ประกอบด้วย 2 คอมเพล็กซ์ คือ ระบบแสงหนึ่ง (Light-Harvesting complexes: LH1) และระบบแสงสอง (Light-Harvesting complexes: LH2) ที่ทำงานร่วมกัน (Qi และคณะ, 2017) Muzziotti และคณะ (2017) ศึกษาการปรับตัวของ *Rhodopseudomonas palustris* ต่อแสงที่มีความเข้มแสงสูง พบว่าในสภาวะความเข้มแสงต่ำ (250 μmol photon $m^{-2}s^{-1}$) เซลล์มีการผลิตแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ค่อนข้างสูงเพื่อรับพลังงานแสงที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพแต่มีการผลิตแคโรทีนอยด์ที่ลดลงเพื่อลดขนาดของแอนเทนนาคอมเพล็กซ์ให้รับแสงได้น้อยลงเพื่อป้องกันการถูกทำลายของรงควัตถุ แต่เมื่อได้รับความเข้มแสงสูง (1,500 μmol photon $m^{-2}s^{-1}$) จะทำให้เกิดการทำลายของรงควัตถุโดยเฉพาะแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์แต่ยังคงพบแคโรทีนอยด์ปริมาณหนึ่ง เนื่องจากแคโรทีนอยด์มีส่วนช่วยในการปกป้องเซลล์จากการทำลายของแสงได้ (Muzziotti และคณะ, 2017) Zhou และคณะ (2014) ศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการผลิตชีวมวล แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ ควบคู่กับการบำบัดน้ำเสีย โดยใช้เชื้อ *Rhodopseudomonas* sp. พบว่าความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการผลิตชีวมวลอยู่ที่ 2000 lux ซึ่งให้ชีวมวลสูงสุดที่ 2,645 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่า COD ลดลง 94.7% หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง สำหรับการสะสมรงควัตถุทั้งสองชนิด พบว่าแคโรทีนอยด์จะถูกสะสมมากเมื่อความเข้มแสงมาก (8000 lux) ในขณะที่สารแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์จะถูกสะสมสูงสุดที่ความเข้มแสงต่ำ (1000 lux) (Zhou และคณะ, 2014) นอกจากความเข้มแสงแล้ว ชนิดของแหล่งกำเนิดแสงก็ส่งผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกลุ่ม PNSB เช่นกัน จากการศึกษาของ Zhou และคณะ (2015) ศึกษาผลของชนิดหลอดไฟฟ้าที่ใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงต่อการเจริญและผลิตรงควัตถุของ *Rhodopseudomonas* sp. โดยชนิดของหลอดไฟที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้แก่ หลอดไฟ LED ทั้งหมด 4 สี คือ สีแดง, สีเหลือง, สีน้ำเงิน และสีขาว ซึ่งปล่อยสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่นที่ต่างกัน คือ 650 นาโนเมตร, 595 นาโนเมตร, 470 นาโนเมตร และ 400-700 นาโนเมตรตามลำดับ และหลอดไส้ ซึ่งปล่อยสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่นที่ 400-700 นาโนเมตร พบว่า การให้แสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกันมีผลทำให้เชื้อมีการเจริญและผลิตรงควัตถุที่แตกต่างกัน โดยเชื้อสามารถผลิตชีวมวลสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยหลอดไฟ LED สีแดง อยู่ที่ 2,580 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าการเลี้ยงด้วยหลอดไส้ซึ่งเป็นหลอดไฟที่นิยมใช้ในการเลี้ยงเชื้อกลุ่มนี้ เนื่องจากหลอดไฟ LED สีแดง มีอัตราการผลิตสาร ATP ที่สูงกว่าการเลี้ยงด้วยหลอดไส้ จึงส่งผลให้เชื้อมีการเจริญที่ดีกว่า ในส่วนของการสะสมรงควัตถุ พบว่า การเลี้ยงด้วยหลอดไฟ LED มีการผลิตแบคเทอริโอ-

คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์สูงกว่าหลอดไส้ โดยแสงที่ทำให้มีการผลิตและสะสมแคโรทีนอยด์สูงสุดคือหลอดไฟ LED สีเหลือง รองลงมา คือ หลอดไฟ LED สีขาว, สีน้ำเงิน, สีแดง และหลอดไส้ ตามลำดับ ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Kuo และคณะ (2012) ที่พบว่า การใช้หลอดไฟ LED ทุกชนิดไม่ได้ทำให้มีการผลิตแคโรทีนอยด์สูงกว่าการใช้หลอดไส้ โดยพบว่าการใช้หลอดไฟ LED สีขาว สีแดง และสีเหลือง มีการผลิตแคโรทีนอยด์ต่ำกว่าหลอดไส้ (Kuo และคณะ, 2012) จากผลการศึกษาทั้งสองนี้อาจกล่าวได้ว่า สายพันธุ์ของเชื้อและปัจจัยในการเลี้ยงอื่น ๆ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ต่างกัน ทำให้ผลของแสงต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุของเชื้อแตกต่างกันออกไปด้วย นอกจากนี้การศึกษาของ Zhou และคณะ (2015) ยังพบว่าหลอดไฟทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองมีการผลิตแคโรทีนอยด์มากกว่าแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เนื่องจากแสงที่ใช้ในการทดลองมีการปล่อยสเปกตรัมอยู่ในช่วง 400-700 นาโนเมตรซึ่งเหมาะสมกับช่วงการดูดกลืนแสงของแคโรทีนอยด์ (450-550 นาโนเมตร) มากกว่าแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ (715-1050 นาโนเมตร) จึงทำให้แคโรทีนอยด์ถูกผลิตและสะสมในปริมาณที่มากกว่า (Zhou และคณะ, 2015)

เนื่องจากปัจจุบันหลอดไส้ซึ่งเป็นหลอดไฟที่นิยมนำมาใช้เลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงเริ่มมีการผลิตลดน้อยลงทำให้หาซื้อได้ยาก และการใช้หลอดไส้นั้นสิ้นเปลืองพลังงาน อีกทั้งยังมีการห้ามใช้หรือขายหลอดไส้ในหลาย ๆ ประเทศดังที่กล่าวข้างต้น ซึ่งปัจจุบันได้มีการพัฒนาหลอดไฟชนิดใหม่ๆที่มีอายุการใช้งานที่ยาวนานและใช้ไฟน้อยกว่า แต่ให้ความสว่างเทียบเท่ากับหลอดไส้ งานวิจัยนี้จึงสนใจนำมาศึกษาเพื่อดูประสิทธิภาพของหลอดไฟแต่ละชนิดที่ส่งผลต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุต่าง ๆ ของ PNSB ได้แก่ หลอดไส้ (Incandescent lamp), หลอดตะเกียบ (Compact U-Type) ชนิดแสงขาว (Daylight White) และแสงเหลือง (Warm White), หลอด LED ชนิดแสงขาว (Daylight White), แสงเหลืองปนขาว (Cool White) และแสงเหลือง (Warm White) เพื่อหาชนิดของแหล่งกำเนิดแสงทดแทนหลอดไส้ที่เหมาะสมต่อการเจริญของ PNSB โดยศึกษาใน *Rhodopseudomonas palustris* AS85 ที่ได้มาจากการวิจัยก่อนหน้านี้ซึ่งคัดแยกได้จากแอกทิเวเทดสลัดจ์และมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ รวมทั้งหาความเข้มของแสงที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญและผลิตรงควัตถุชนิดแคโรทีนอยด์และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์

**วัตถุประสงค์ของงานวิจัย**

เพื่อศึกษาแหล่งกำเนิดแสงและความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถัน *Rhodopseudomonas palustris* สายพันธุ์ AS85

# บทที่ 2

# อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์และวิธีดำเนินการทดลอง

## อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. กระบอกตวง (Cylinder) ของบริษัท PYREX, USA
2. ขวดลูกชมพู่ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask) ของบริษัท PYREX, USA
3. เข็มฉีดยาพลาสติกขนาด 20 มิลลิลิตร ของบริษัท Nissho Nipro, Japan
4. คิวเวตต์ควอตซ์ (Quartz cuvette) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ของบริษัท Fisher Scientific, USA
5. เครื่องชั่งหยาบ (Laboratory balance) รุ่น PG6002-S ของบริษัท Mettler Toledo, Switzerland
6. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical balance) รุ่น AG285 ของบริษัท Mettler Toledo, Switzerland
7. เครื่องวัดความเข้มแสง (Digital lux meter) รุ่น LX 801 ของบริษัท Nicety, China
8. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น S20 SevenEasy ของบริษัท Mettler Toledo, Switzerland
9. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Visible Spectrophotometer) รุ่น Genesys 30 และรุ่น 20 Genesys ของบริษัท Thermo Scientific, USA
10. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ (Superspeed table-top centrifuge)
11. เครื่องปั่นผสม (Vortex mixer) รุ่น G-560E ของบริษัท Scientific Industries, USA
12. เครื่องเขย่าชนิดหมุนรอบ (Orbital shaker) รุ่น innova2300 ของบริษัท New Brunswick Scientific, USA
13. จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish) ของบริษัท Greiner Bio-One, Thailand
14. ชุดกรองสำเร็จรูปชนิดเซลลูโลสอะซีเทตขนาดช่อง 0.2 ไมโครเมตร ของบริษัท Sartorius Biolab Product, Germany
15. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ของบริษัท Memmert, Germany
16. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow cabinet) รุ่น LV1250 ของบริษัท Official Equipment Manufacturing, Thailand
17. ตู้อบแห้ง (Oven) ของบริษัท Contherm Scientific, New Zealand
18. ตู้แช่เยือกแข็ง (Deep freezer) อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ของบริษัท Sanyo Electric, Japan
19. ตู้อบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) รุ่น ES-315 ของบริษัท Tomy Kogyo Co., Ltd., Japan และรุ่น HV-25 ของบริษัท HIRAYAMA, Japan
20. ถุงมือยาง (Examination gloves) ของบริษัท Sri Trang Gloves, Thailand

21. ทิปไมโครปิเปต (Pipette Tips) ขนาด 200, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร ของบริษัท Hycon plastic
22. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer) ของบริษัท New Brunswick Scientific, USA
23. บีกเกอร์ (Beaker) ของบริษัท PYREX, USA
24. หลอดแก้วฝาเกลียว ขนาด 20 มิลลิลิตร ของบริษัท BioMerieux, France
25. ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 100 200 1000 และ 5000 ไมโครลิตร ของบริษัท Gilson, France
26. หลอดเก็บเชื้อแช่แข็ง (Cryotube) ของบริษัท Nalgene Nunc International, Denmark
27. หลอดทดลอง (test tube) ขนาด 16x150 มิลลิเมตร ของบริษัท Pyrex, USA
28. หลอดเอพเพนดอร์ฟ (Eppendorf tube) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ของบริษัท AXYGEN, USA
29. หลอดไฟชนิดไส้ร้อน (Incandescent light bulb) 60 วัตต์ ของบริษัท Signify Philippines, Philippines
30. หลอดไฟ LED 7 วัตต์ รุ่น LED A60 E27 โทนแสง Warm White, Cool White และ Daylight ของบริษัท EVE Lighting, Thailand
31. หลอดประหยัดไฟ U-Type (Compact fluorescent lamp) 11 วัตต์ โทนแสง Warm White และ Daylight ของบริษัท Lamptan Lighting, Thailand

**เคมีภัณฑ์**

1. กรดมาลิก (DL-Malic acid) ของบริษัท Merck, Germany
2. แมกนีเซียมซัลเฟสเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ของบริษัท Merck, Germany
3. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($K_2HPO_4$) ของบริษัท Merck, Germany
4. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) ของบริษัท AJEX Chemicals, Australia
5. แอมโมเนียมคลอไรด์ ($NH_4Cl$) ของบริษัท Merck, Germany
6. สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) ของบริษัท Difco Laboratories, USA
7. กรดบอริก ($H_3BO_3$) ของบริษัท AJEX Chemicals, Australia
8. ไดโซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) ของบริษัท Sigma, USA
9. ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) ของบริษัท Sigma, USA
10. แมงกานีส (II) ซัลเฟตเตตระไฮเดรต ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) ของบริษัท M.B. Laboratories, England
11. คอปเปอร์ (II) ไนเตรตไตรไฮเดรต ($Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$) ของบริษัท Sigma, USA
12. เฟอรัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) ของบริษัท Sigma, USA

13. เอทิลีนไดอะมีนเตตราอะซีติก (Ethylene diamine tetraacetic acid; EDTA) ของบริษัท Sigma, USA
14. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) ของบริษัท Merck, Germany
15. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของบริษัท Merck, Germany
16. ผงวุ้น (agar) ของบริษัท Difco Laboratories, USA
17. เมทานอล ($CH_3OH$) บริษัท Merck, Germany
18. เอทานอล (absolute ethanol) Merck, Germany
19. อะซีโตน (acetone) Merck, Germany
20. ผงอาหารเลี้ยงเชื้อ NB (Nutrient Broth) ของบริษัท Merck, Germany

# บทที่ 3

# วิธีดำเนินการทดลอง

## 3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

แบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาในงานวิจัยนี้ คือ *Rhodopseudomonas palustris* AS85 จากคลังแบคทีเรียของภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คัดแยกได้จากแอกทิเวเทดสลัดจ์ (ชื่นสุมน บุญเจริญ, 2559)

## 3.2 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

### 3.2.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อในภาวะคีโมเฮเทอโรโทรป (Chemoheterotroph)

นำ *Rhodopseudomonas palustris* AS85 มาขีดบนเพลตอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ภาวะคีโมเฮเทอโรโทป (Chemoheterotroph) คือ มีอากาศแต่ไม่มีแสง เป็นระยะเวลา 3-7 วัน จากนั้นจึงนำโคโลนีเดี่ยวไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NB 50 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ก่อนถ่ายเชื้อไปเลี้ยงในอาหารเหลว NB ผสมกับ minimum RCVB ในอัตราส่วน 1:1 และบ่มที่สภาวะเช่นเดียวกับที่กล่าวข้างต้น เพื่อให้เชื้อได้ปรับตัวก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารที่ใช้ในการทดลอง คือ อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB ที่มีกรดมาลิกเป็นแหล่งคาร์บอน ถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว RCVB ทุก 7 วัน

### 3.2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อในภาวะโฟโตเฮเทอโรโทรป (Photoheterotroph)

นำ *Rhodopseudomonas palustris* AS85 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB จากข้อ 3.2.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วฝาเกลียว ขนาด 20 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB อยู่ 18 มิลลิลิตร จากนั้นเติมอาหารจนเต็มหลอดหรือให้มีพื้นที่ของอากาศเหลือน้อยที่สุดเพื่อให้เป็นสภาวะไร้อากาศ (Anaerobe) ปิดฝาเกลียวให้สนิท จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อภายใต้แสงจากหลอดไส้ (Philips) ที่ความเข้มแสง 2000 Lux อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-7 วัน เขย่าด้วยการกลับหลอดไม่ให้เซลล์ตกตะกอนทุก 24 ชั่วโมง เชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีแดงม่วง จากนั้นจึงถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว RCVB และเลี้ยงในสภาวะนี้อย่างน้อย 3 ครั้งก่อนนำไปทดสอบต่อไป

## 3.3 สภาวะของแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างรงควัตถุ

### 3.3.1 ชนิดของแหล่งกำเนิดแสงที่เหมาะสม

ชนิดแหล่งกำเนิดแสงที่นำมาทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ หลอดไส้ (Incandescent lamp; IL) 60 วัตต์ หลอดตะเกียบหรือหลอดประหยัดไฟ U-Type (Compact fluorescent lamp) 11 วัตต์ ชนิด

โทนแสงขาว (Daylight; CFD) และแสงเหลือง (Warm White; CFW) หลอด LED 7 วัตต์ ชนิดโทนแสงขาว (Daylight; LD) แสงเหลืองปนขาว (Cool White; LC) และแสงเหลือง (Warm White; LW) โดยนำ *Rhodopseudomonas palustris* AS85 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB จากข้อ 3.2.2 ที่ปรับความเข้มข้นเริ่มต้น $OD_{660}$ = 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงในภาวะ photoheterotroph ในหลอดแก้วฝาเกลียว ขนาด 20 มิลลิลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB และแหล่งกำเนิดแสงแต่ละชนิดที่ความเข้มแสง 2000 Lux จากการวัดด้วยเครื่องวัดความเข้มแสง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวันที่ 3 4 และ 5 (ทำ 3 ซ้ำ) วิเคราะห์การเจริญโดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (Dry cell weight) ความเข้มข้นของเซลล์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ($OD_{660}$) และวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุ ได้แก่ แคโรทีนอยด์ และ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ โดยการสกัดแล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร โดยจะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร สำหรับการวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ และที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร สำหรับการวัดปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์

**3.3.1.1 การวิเคราะห์การเจริญโดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง**

นำตัวอย่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำเฉพาะส่วนตะกอนเซลล์มาเติมน้ำปลอดเชื้อ (sterile water) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนที่เป็นตะกอนเซลล์ไปอบในตู้อบ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำมาชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม 4 ตำแหน่งทุกวันจนน้ำหนักที่ได้คงที่แล้วจึงคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งในหน่วยกรัมต่อลิตร (Soon และคณะ, 2014)

**3.3.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุ**

นำตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อที่เก็บมาปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเอพเพนดอร์ฟ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำเฉพาะส่วนตะกอนเซลล์มาเติมน้ำปลอดเชื้อปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นสกัดรงควัตถุโดยเติมอะซีโตนและเมธิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 7:2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 10 วินาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนน้ำใส (supernatant) ที่มีรงควัตถุอยู่

มาวัดช่วงค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร (Soon และคณะ, 2014) สำหรับการวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ และที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร สำหรับการวัดปริมาณแบคเทอริโอ-คลอโรฟิลล์ (Pollich และคณะ, 1995) โดยมีวิธีการคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์ และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ดังนี้

- ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักเซลล์แห้ง) = $\frac{D.V.f(\frac{10}{2,500})}{\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม)}}$

เมื่อ D คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร
V คือ ปริมาตรทั้งหมดของตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)
F คือ dilution factor ของตัวอย่าง (หากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร มากกว่า 0.8) (Soon และคณะ, 2014)

- ความสัมพันธ์ของปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ทั้งหมดต่อเซลล์ = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร ($OD_{770}$)/ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ($OD_{660}$) (Pollich และคณะ, 1995)

**3.3.2 ความเข้มแสงที่เหมาะสม**

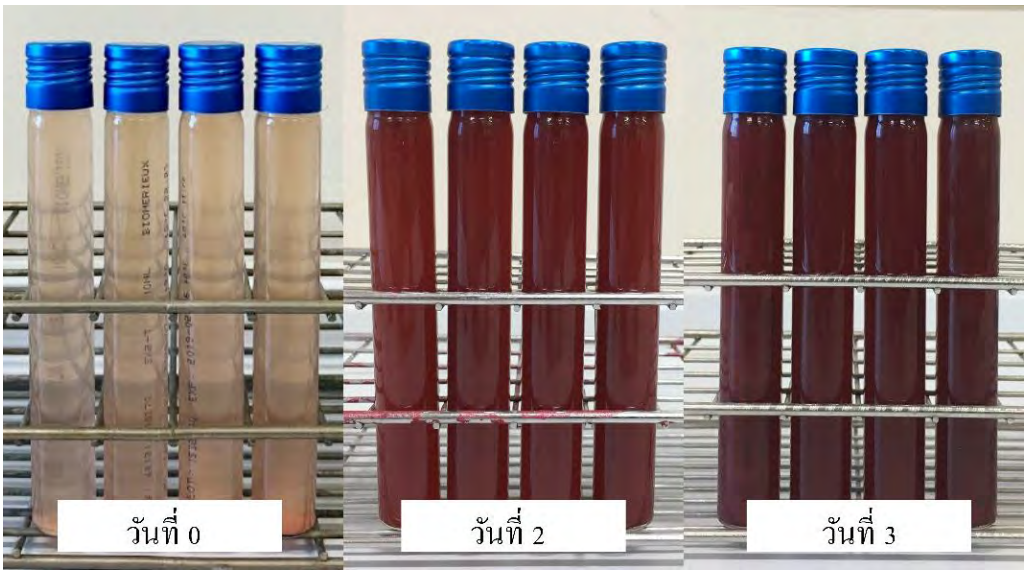
นำแหล่งกำเนิดแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างรงควัตถุมากที่สุด มาแปรผันความเข้มแสงในการเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน ได้แก่ 1,000 2,000 3,000 และ 5,000 Lux เพาะเลี้ยงในภาวะ photoheterotroph อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวันที่ 3 4 และ 5 (ทำ 3 ซ้ำ) วิเคราะห์การเจริญโดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (Dry cell weight) ความเข้มข้นของเซลล์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ($OD_{660}$) และวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุ ได้แก่ แคโรทีนอยด์ และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เช่นเดียวกันกับข้อ 3.3.1

# บทที่ 4

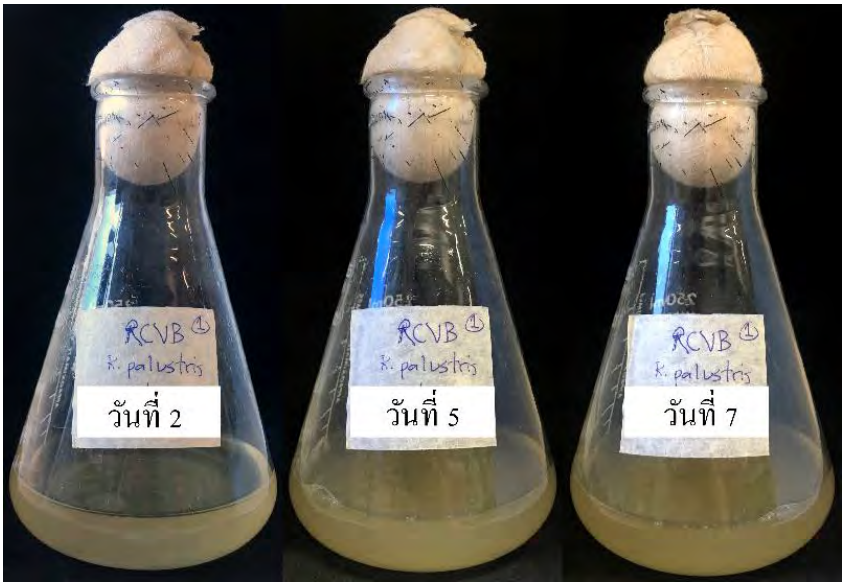
# ผลการทดลอง

## 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของ *R. palustris* AS85

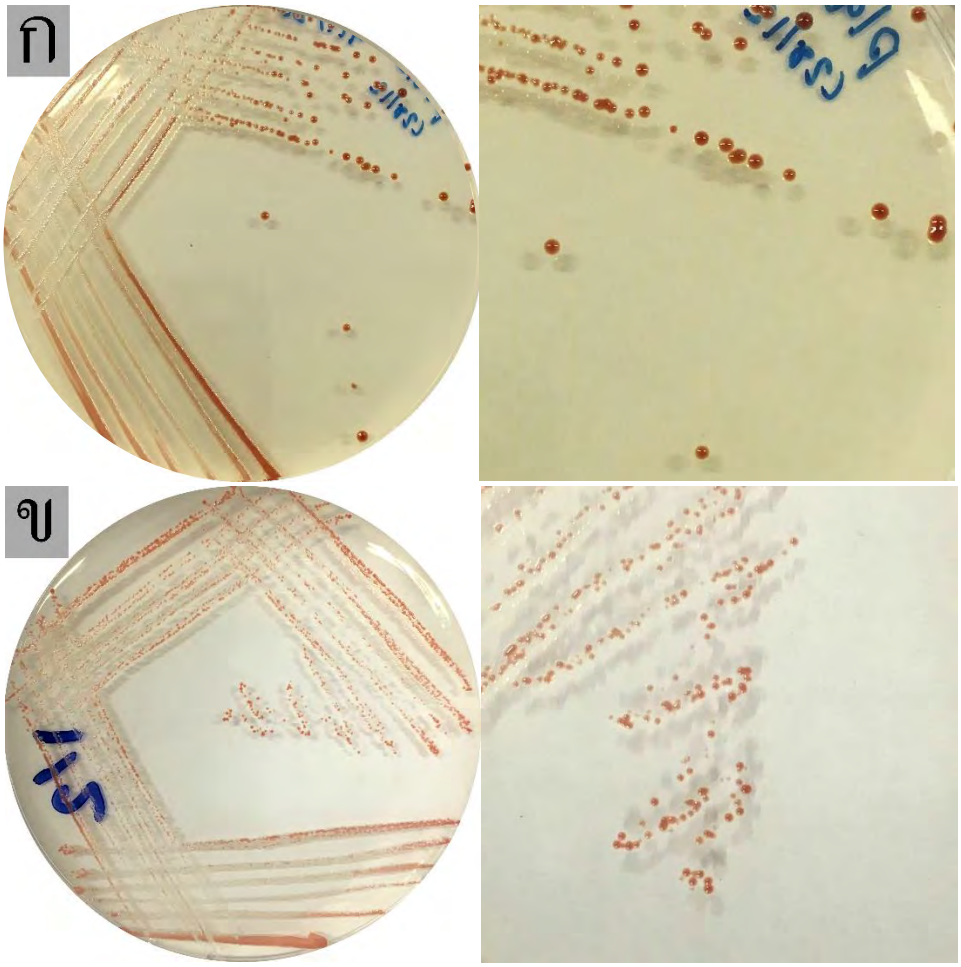
เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ *R. palustris* AS85 ในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะโฟโตเฮเทอโรโทรป (Photoheterotroph) คือ มีแสง ไม่มีอากาศ พบว่ามีลักษณะเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว RCVB เป็นสีแดงถึงแดงม่วง ซึ่งสีจะเข้มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเช่นกัน ดังรูปที่ 4.1 และเมื่อเลี้ยงนานขึ้นเซลล์จะตกตะกอนที่ก้นหลอด เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะคีโมเฮเทอโรโทรป (Chemoheterotroph) คือ มีอากาศ ไม่มีแสง บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที พบว่ามีลักษณะเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว RCVB เป็นสีเหลืองอ่อน โดยสีและความขุ่นจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง ดังรูปที่ 4.2 เมื่อนำมาขีดบนเพลตอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA บ่มที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ภาวะคีโมเฮเทอโรโทรป เป็นเวลา 3 วัน พบโคโลนีมีลักษณะกลมนูน ขอบเรียบ สีแดง ดังรูปที่ 4.3(ก) เมื่อถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว RCVB และเลี้ยงในสภาวะ Chemoheterotroph เรื่อย ๆ พบว่า โคโลนีมีสีแดงอ่อนลง และมีขอบสีขาวเล็กน้อย เมื่อถ่ายเชื้อทั้งหมด 5 รอบ ดังรูปที่ 4.3(ข)




**รูปที่ 4.1** *R. palustris* AS85 ในอาหารเหลว RCVB
ภายใต้ภาวะโฟโตเฮเทอโรโทรป (Photoheterotroph)



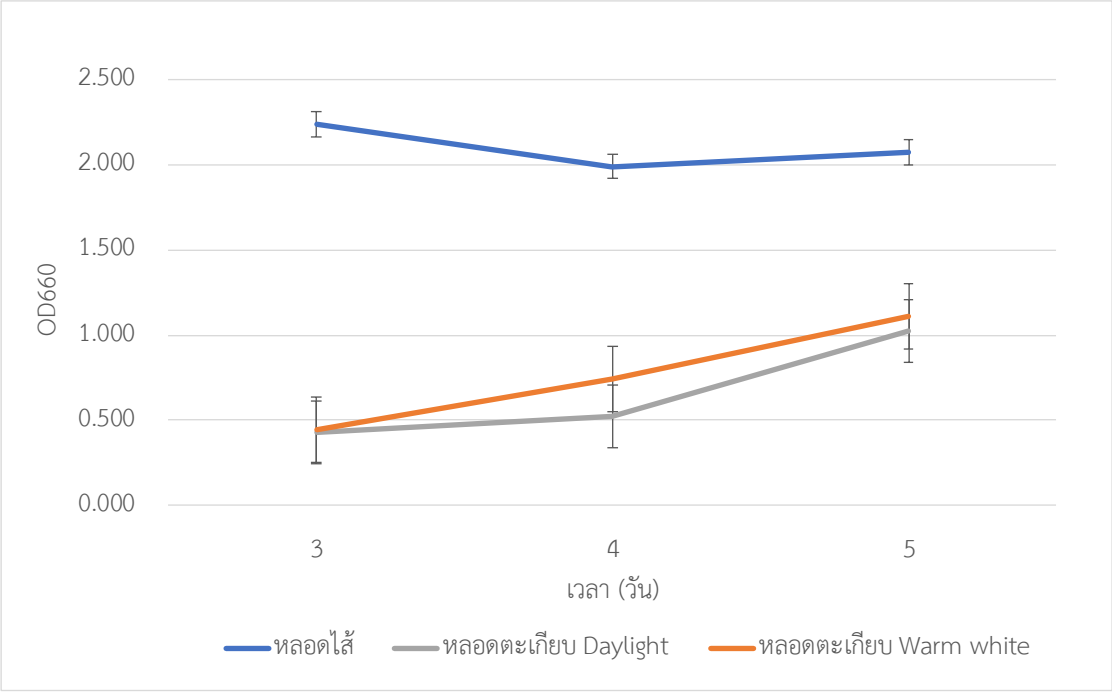

**รูปที่ 4.2** *R. palustris* AS85 ในอาหารเหลว RCVB
ภายใต้ภาวะคีโมเฮเทอโรโทรป (Chemoheterotroph)



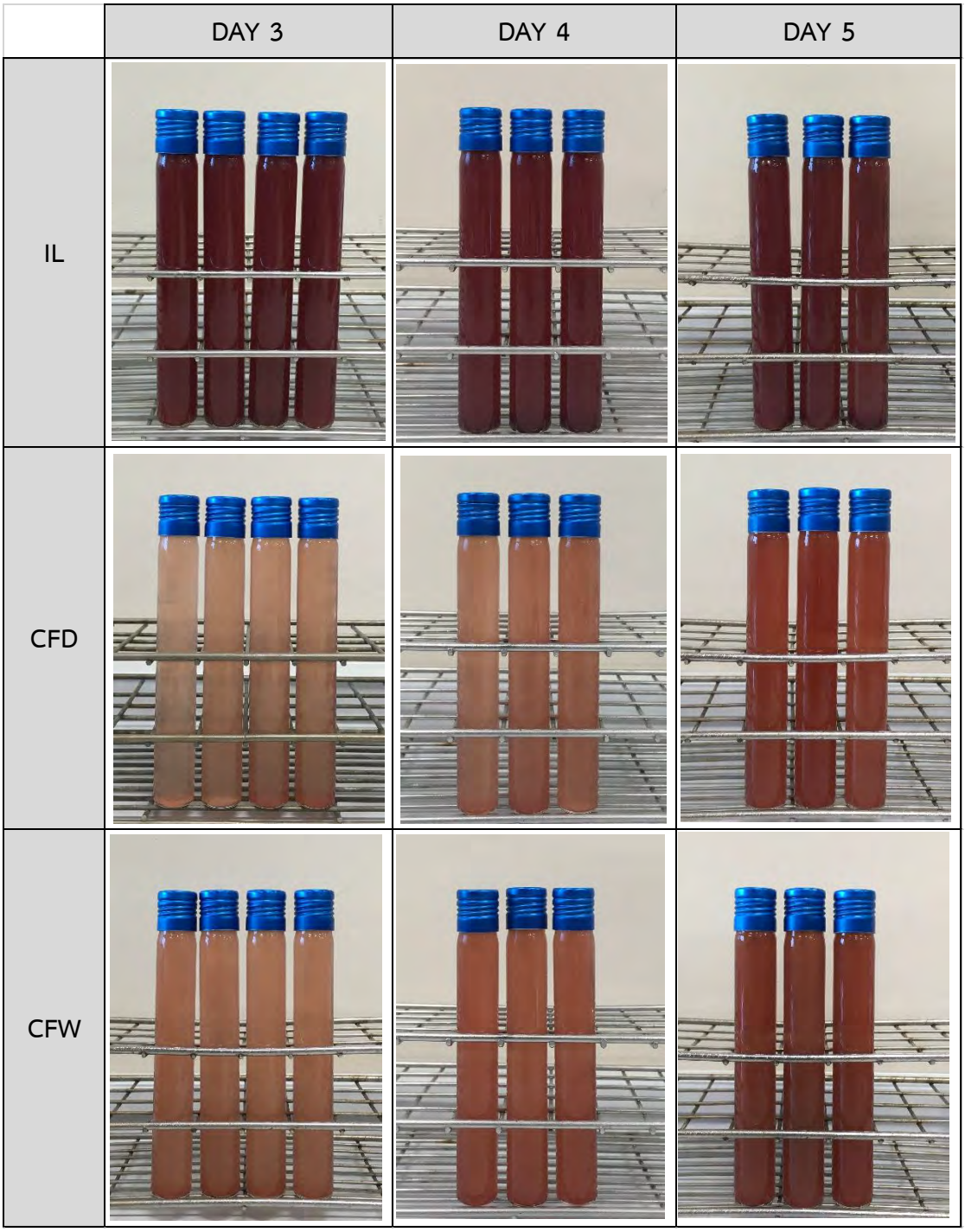

**รูปที่ 4.3** ลักษณะโคโลนีของ *R. palustris* AS85 เมื่อเพาะลี้ยงในภาวะคีโมเฮเทอโรโทรป บนอาหารแข็ง NA
รอบแรก (ก) และรอบที่ 5 (ข)

**4.2 ผลของชนิดแหล่งกำเนิดแสงต่อการเจริญของ *R. palustris* AS85**

จากการทดลองนำ *R. palustris* AS85 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB มาเพาะเลี้ยงในหลอดแก้วฝาเกลียว ขนาด 20 มิลลิลิตร ในภาวะ Photoheterotroph โดยให้แหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ หลอดไส้ (Incandescent lamp; IL) 60 วัตต์ และหลอดตะเกียบหรือหลอดประหยัดไฟ U-Type (Compact fluorescent lamp) 11 วัตต์ ชนิดโทนแสงขาว (Daylight; CFD) และแสงเหลือง (Warm White; CFW) เก็บตัวอย่างเพื่อวัดผลการเจริญด้วยการวัดค่าความขุ่นหรือความเข้มข้นของเซลล์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ($OD_{660}$) ในวันที่ 3 4 และ 5 พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดไส้ เชื้อมีการเจริญสูงสุด โดยมีค่า $OD_{660}$ เท่ากับ 2.241±0.04 1.991±0.09 และ 2.075±0.04 ในวันที่ 3 4 และ 5 ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเชื้อภายใต้แสงจากหลอดตะเกียบ ทั้ง Daylight และ Warm white เชื้อมีแนวโน้มการเจริญที่สูงขึ้น ดังรูปที่ 4.4 โดยในหลอดตะเกียบ Daylight วัดค่า $OD_{660}$ ได้เท่ากับ 0.431±0.05 0.521±0.07 และ 1.025±0.12 ในวันที่ 3 4 และ 5 ตามลำดับ ในหลอดตะเกียบ Warm white วัดค่า $OD_{660}$ ได้เท่ากับ 0.442±0.06 0.741±0.06 และ 1.206±0.09 ในวันที่ 3 4 และ 5 ตามลำดับ ซึ่งค่า $OD_{660}$ ที่ได้ สอดคล้องกับลักษณะเซลล์แขวนลอยและความเข้มของสีอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังรูปที่ 4.5



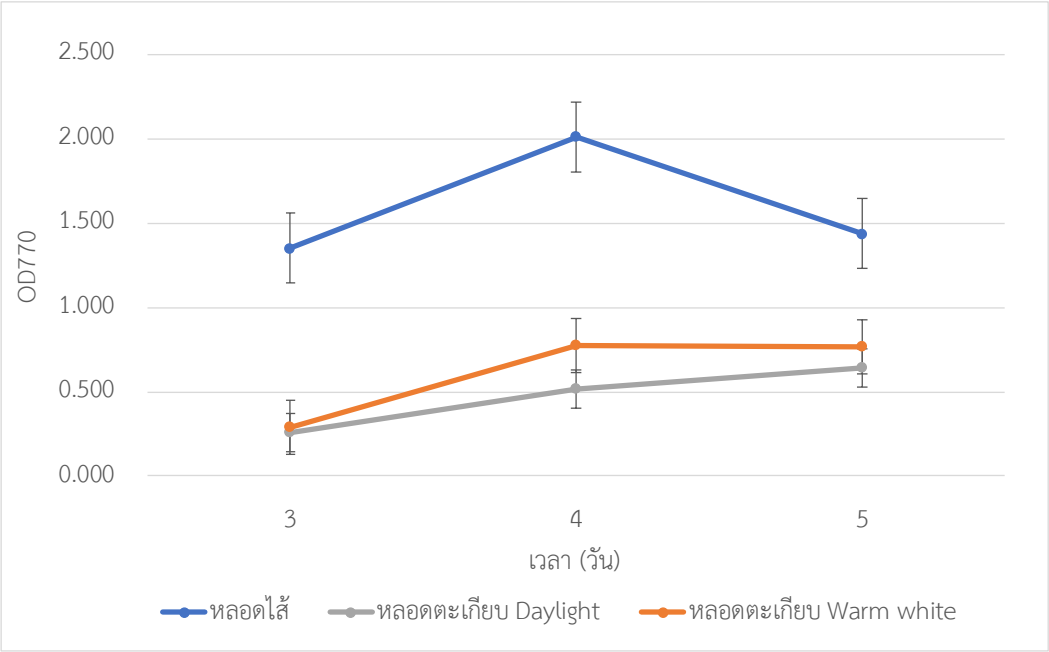

**รูปที่ 4.4** กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรกับเวลา ของเชื้อ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ



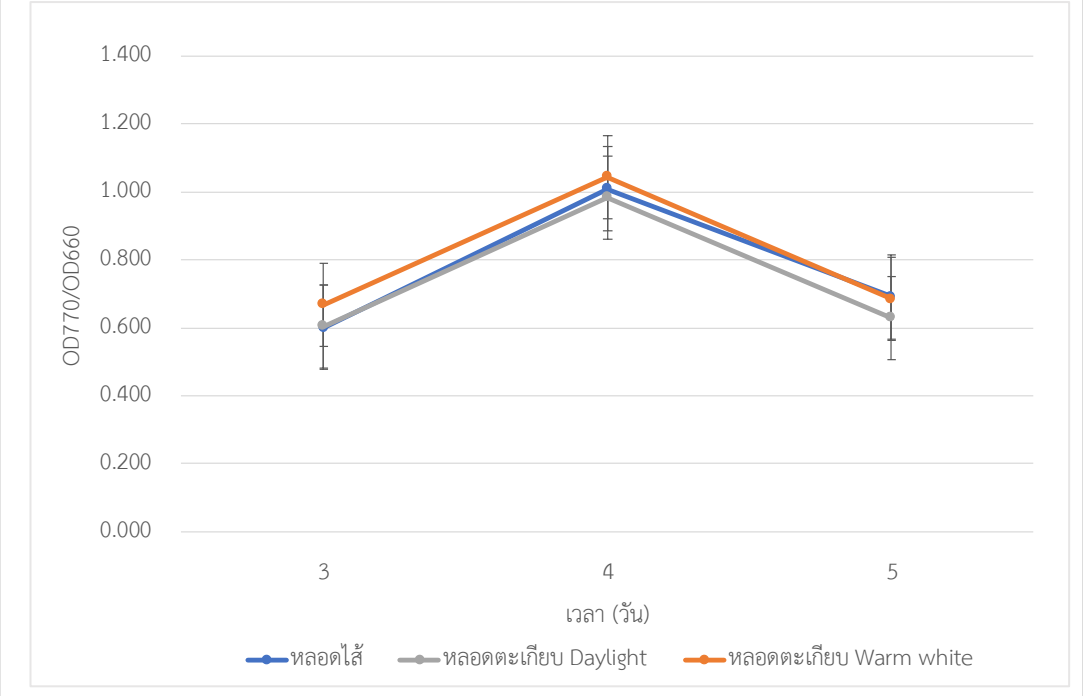

**รูปที่ 4.5** ลักษณะเซลล์แขวนลอยของ *R. palustris* AS85 ในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะ Photoheterotroph โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกัน คือ หลอดไส้ (IL) หลอดตะเกียบ Daylight (CFD) และ หลอดตะเกียบ Warm white (CFW) เป็นเวลา 3 4 และ 5 วัน

**4.3 ผลของชนิดแหล่งกำเนิดแสงต่อการผลิตรงควัตถุของ *R. palustris* AS85**

จากการทดลองเลี้ยง *R. palustris* AS85 ในภาวะ photoheterotroph โดยให้แหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ดังข้อ 4.2 เมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุที่ผลิต ได้แก่ แคโรทีนอยด์ และ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ โดยการสกัดแล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตร ได้ผลดังรูปที่ 4.6 เมื่อนำมาศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ทั้งหมดต่อเซลล์ ตามสูตรที่แสดงในข้อ 3.3.1.2 โดยคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 770 นาโนเมตรต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ($OD_{770}/OD_{660}$) พบว่า การเพาะเลี้ยงเชื้อภายใต้หลอดไฟทั้งสามชนิดมีปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ทั้งหมดต่อเซลล์ไม่แตกต่างกัน มีการผลิตแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นสูงสุดที่วันที่ 4 แล้วจึงลดลง ซึ่งการใช้แสงหลอดตะเกียบ Warm white ให้ค่า $OD_{770}/OD_{660}$ สูงสุดเท่ากับ 1.044±0.08 ดังรูปที่ 4.7

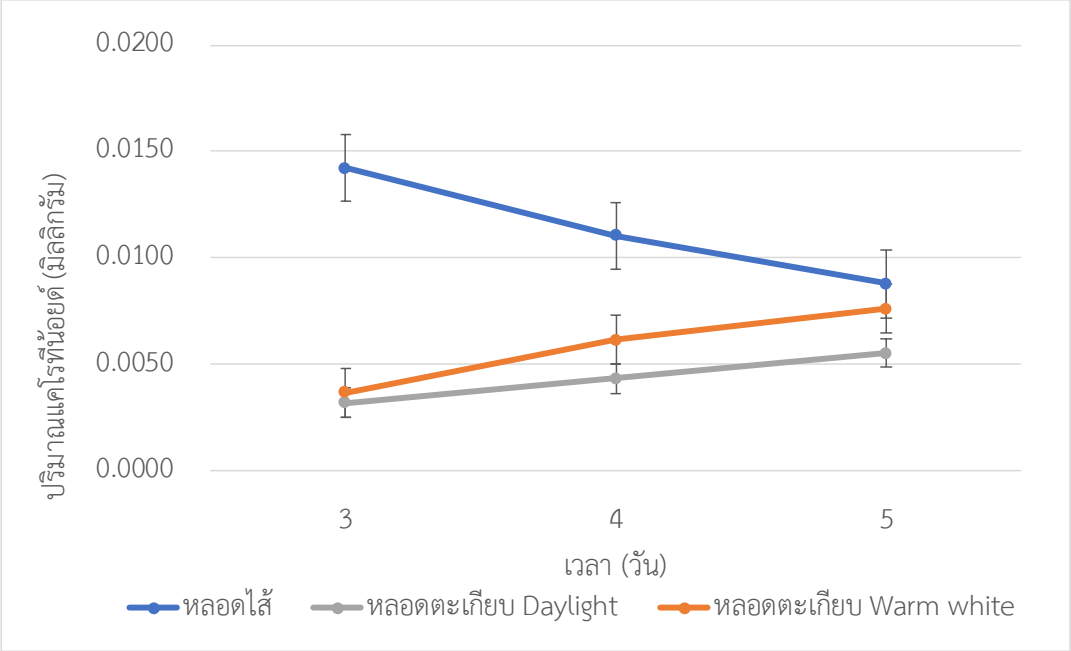



**รูปที่ 4.6** กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 770 นาโนเมตรกับเวลา ของเชื้อ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ

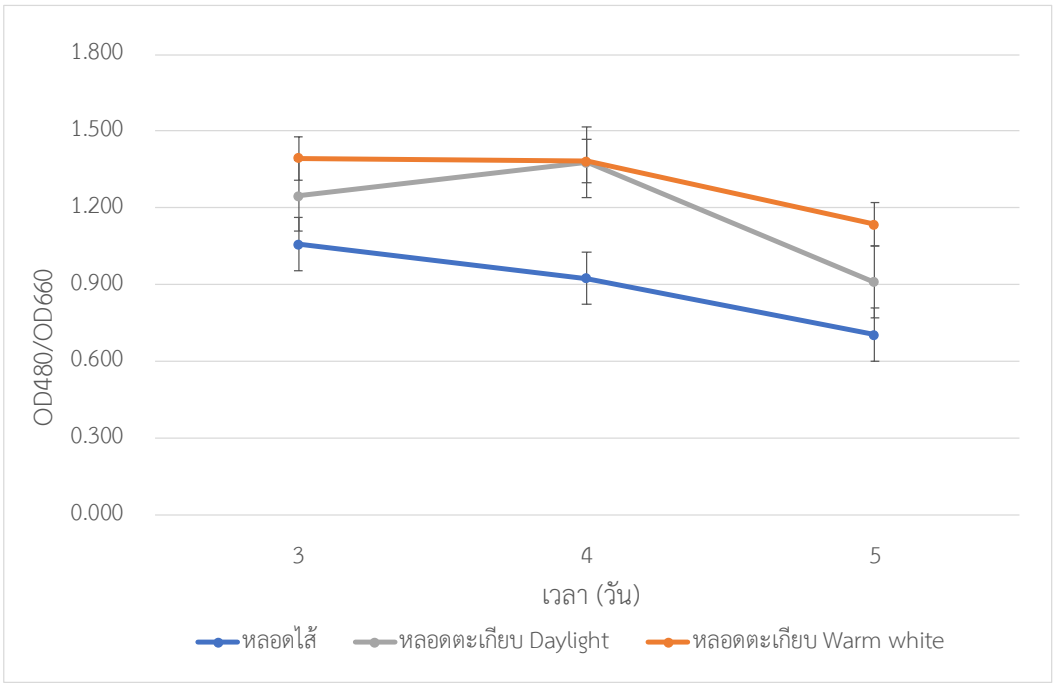



**รูปที่ 4.7** ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ทั้งหมดต่อเซลล์ ($OD_{770}/OD_{660}$) ของเชื้อ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ

ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่คำนวณได้จากสูตรตามที่แสดงในข้อ 3.3.1.2 โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร ได้ผลดังรูปที่ 4.8 เมื่อนำมาศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์ โดยคำนวณจาก ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตรต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ($OD_{480}/OD_{660}$) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดตะเกียบทั้ง 2 ชนิด เชื้อมีการผลิตแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์สูงกว่าการเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดไส้ และพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์มีการลดลงหลังจากวันที่ 4 ดังรูปที่ 4.9

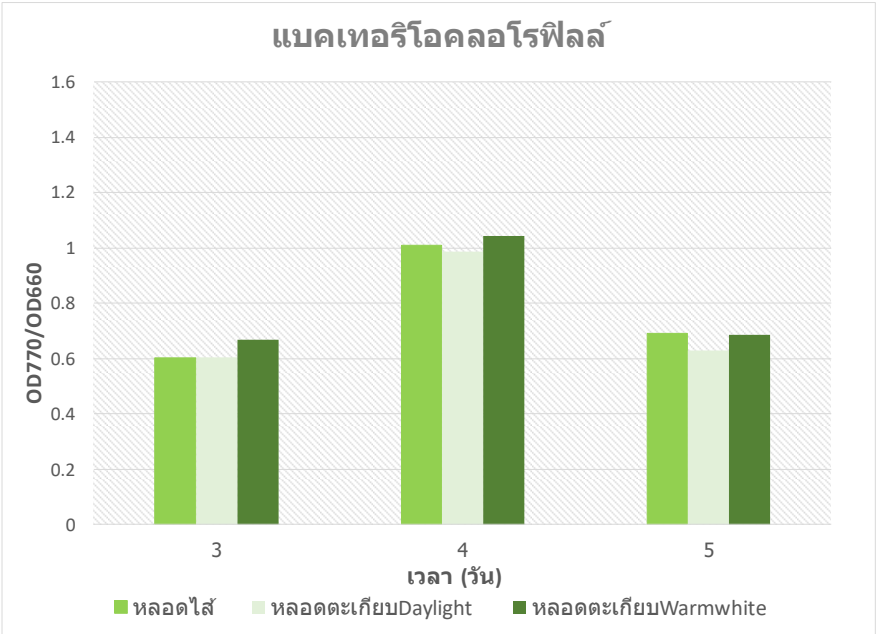


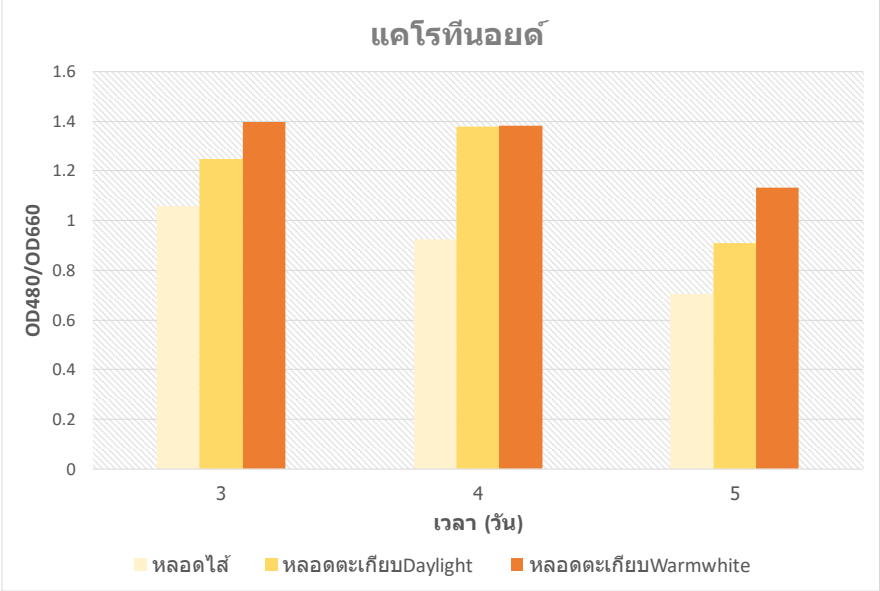

**รูปที่ 4.8** ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม) ของเชื้อ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ




**รูปที่ 4.9** ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์ ($OD_{770}/OD_{660}$) ของเชื้อ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ภายใต้ภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ

เมื่อนำผลการผลิตแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์จากหลอดไฟทั้ง 3 ชนิด มาเปรียบเทียบกัน พบว่า เชื้อมีการผลิตแคโรทีนอยด์มากกว่าแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ในแหล่งกำเนิดแสงทั้ง 3 ชนิด ดังรูปที่ 4.10




**รูปที่ 4.10** ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์ ของ *R. palustris* AS85 จากการเลี้ยงภายใต้แหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกัน 3 ชนิด เป็นเวลา 3 4 และ 5 วัน

# บทที่ 5

## สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของ *R. palustris* AS85 พบว่า เชื้อสามารถเจริญและผลิตรงควัตุได้เมื่อเลี้ยงในภาวะ Photoheterotroph ดังเห็นได้จากลักษณะอาหารเหลว RCVB ที่มีสีแดง โดยสีและความขุ่นจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง เมื่อเลี้ยงในภาวะ Chemoheterotroph พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB เชื้อสามารถเจริญได้และไม่มีการผลิตรงควัตุ แต่เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA พบว่าเชื้อกลับมีการผลิตรงควัตถุสังเกตจากลักษณะโคโลนีที่มีสีส้มแดง ซึ่งปกติแล้วหากเลี้ยงในภาวะ Chemoheterotroph เชื้อจะไม่ผลิตรงควัตถุ โคโลนีจะมีสีเหลืองคล้าย *Escherichia coli* แต่เนื่องจาก *Rhodopseudomonas palustris* AS85 จากคลังเชื้อที่ถูกเก็บโดยการเลี้ยงแบบใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน (Photoheterotroph) เปลี่ยนมาเป็นแบบให้ออกซิเจน (Chemoheterotroph) โคโลนีของเชื้อจึงมีรงควัตถุเดิมที่ยังสลายไปไม่หมด ทำให้โคโลนียังคงมีสีแดง อีกทั้งการเลี้ยงบนเพลตอาหารแข็งทำให้มีออกซิเจนจำกัดกว่าการเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการเขย่า ทำให้เชื้อมีการผลิตรงควัตถุออกมา หากเลี้ยงเชื้อและถ่ายเชื้อต่อไปเรื่อย ๆ จะทำให้โคโลนีมีสีอ่อนลง และเกิดการปรับตัวจนมีลักษณะดังเดิมได้

เนื่องจากผลการทดลองครั้งนี้เป็นผลจากการทดลองขั้นต้น (Pre-experiment) เพื่อทดสอบวิธีและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง จึงเลือกช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างเป็นวันที่ 3 4 และ 5 ที่คาดว่าจะสามารถวัดรงควัตถุต่าง ๆ ได้ โดยไม่ได้ทำการติดตามการเจริญตั้งแต่เริ่มต้นและหลังจากวันที่ 5 เป็นต้นไป จึงทำให้ไม่สามารถสรุปการเจริญของเชื้อ *R. palustris* AS85 เมื่อเลี้ยงในภาวะ Photoheterotroph ภายใต้แหล่งกำเนิดแสงทั้งสามชนิดได้ ดังนั้นหากเริ่มทำการทดลองการศึกษาการเจริญของ *R. palustris* AS85 ภายใต้แหล่งกำเนิดแสงต่าง ๆ จริง ผู้วิจัยจะทำการทดลองดังนี้

1. นำ *Rhodopseudomonas palustris* AS85 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB จากการเตรียมดังข้อ 3.2.2 ที่ปรับความเข้มข้นเริ่มต้น $OD_{660}$ = 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดแก้วฝาเกลียวที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB 19 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ($OD_{660}$) เริ่มต้น ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในภาวะ photoheterotroph โดยให้แหล่งกำเนิดแสงแต่ละชนิดที่ความเข้มแสง 2000 Lux
2. เก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 7 วัน วิเคราะห์การเจริญโดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (Dry cell weight) ความเข้มข้นของเซลล์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ($OD_{660}$) และนับจำนวนเซลล์โดยวิธี Total Plate Count
3. ทำกราฟแสดงการเจริญ (Growth curve) โดยนำน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร และปริมาณเชื้อ เทียบกับเวลา

จากการทดลองที่คาดว่าจะทำข้างต้น ผู้วิจัยคาดว่าผลการทดลองที่ได้จะแสดงการเจริญของเชื้อโดยเชื้อที่เลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดไส้จะเจริญเร็วกว่าและเข้าสู่ log phase ก่อนเชื้อที่เลี้ยงภายใต้หลอดตะเกียบ เนื่องจากหลอดไส้มีการปล่อยสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่นที่ 400-700 นาโนเมตร (Zhou และคณะ, 2015) ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นที่ค่อนข้างกว้าง และเป็นหลอดไฟที่อาศัยการทำงานจากการทำให้ไส้หลอดเกิดความร้อนจนเปล่งแสงออกมา หลอดไส้จึงมีการปล่อยความร้อนออกมาด้วย ซึ่งทำให้บริเวณที่เลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิสูงขึ้นอยู่ที่ 28±5 องศาเซลเซียส จึงทำให้เชื้อมีการเจริญที่เร็วกว่าการใช้หลอดไฟอีก 2 ชนิด ที่มีอุณหภูมิบริเวณที่เลี้ยงเชื้ออยู่ที่ 23±5 องศาเซลเซียส โดยสังเกตได้จากผลการทดลองขั้นต้นที่สีของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองมีสีแดงเข้มตั้งแต่วันที่ 3 และการที่เชื้อมีการเจริญค่อนข้างคงที่ในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 5 นั้นอาจเกิดจากการเจริญที่เร็วทำให้เชื้อเข้าสู่ช่วง stationary phase ก่อนเชื้อที่เลี้ยงภายใต้หลอดไฟอีก 2 ชนิด ที่เชื้อมีการเจริญที่สูงขึ้นแสดงถึงการเจริญของเชื้อที่กำลังจะเข้าสู่ช่วง log phase ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า ที่พบว่าภายใต้ภาวะการเลี้ยงด้วยหลอดไส้ *R. palustris* มีระยะ lag phase ที่สั้นกว่าและเจริญเร็วกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Hu และคณะ, 2018)

จากการศึกษาการผลิตรงควัตุของ *R. palustris* AS85 เมื่อเลี้ยงในภาวะ Photoheterotroph โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกัน 3 ชนิด เมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณรงควัตุที่ผลิต ได้แก่ แคโรทีนอยด์ และ แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ โดยการสกัดแล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้มาหาความสัมพันธ์ของการผลิตแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์ เนื่องจากไม่มีผลการทดลองการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง จึงไม่สามารถคำนวณปริมาณรงควัตุในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งได้ จึงนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับค่าความขุ่น ($OD_{660}$) เพื่อดูแนวโน้มของการผลิตรงควัตุแต่ละชนิดต่อจำนวนเซลล์แทน จากการทดลองพบว่า แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นรงควัตถุหลักในการรับพลังงานแสงที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสง เมื่อเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดไฟทั้งสามชนิด ที่ความเข้มแสงที่เท่ากัน มีการผลิตแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ทั้งหมดต่อเซลล์ที่ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่แคโรทีนอยด์เมื่อเลี้ยงภายใต้หลอดตะเกียบทั้งสองชนิดมีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์สูงกว่าการเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดไส้ เนื่องจากแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีหน้าที่หลักในการช่วยรับพลังงานจากแสงในช่วงความยาวคลื่นที่แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ไม่สามารถดูดซับได้ ดังนั้นการเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดตะเกียบจึงแสดงถึงประสิทธิภาพของแสงที่ไม่ดีพอ ทำให้ต้องมีการผลิตแคโรทีนอยด์ออกมาช่วยในการดูดซับพลังงานจากแสงปริมาณมาก อย่างไรก็ตามหากทำการทดลองจริงที่มีการเก็บตัวอย่างและวัดผลตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงวันที่ 7 จะทำให้เห็นแนวโน้มการผลิตรงควัตถุต่าง ๆ ที่ชัดเจนยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อมีการผลิตแคโรทีนอยด์สูงกว่าแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์จากการเลี้ยงภายใต้หลอดไฟที่ใช้ในการทดลองทั้ง 3 ชนิด เช่นเดียวกันกับการทดลองของ Zhou และคณะ (2015) เนื่องจากแสงจากหลอดไส้และหลอดตะเกียบที่ใช้ในการทดลองมีการปล่อยสเปกตรัมอยู่ในช่วง 400-700 นาโนเมตรซึ่งเหมาะสมกับช่วงการดูดกลืนแสงของแคโรทีนอยด์ (450-550

นาโนเมตร) มากกว่าแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ (715-1050 นาโนเมตร) จึงทำให้แคโรทีนอยด์ถูกผลิตและสะสมในปริมาณที่มากกว่า

จากผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodopseudomonas palustris* AS85 โดยใช้แสงจากหลอดไส้ ยังคงเป็นหลอดไฟที่ให้ประสิทธิภาพในการเจริญของเชื้อดีที่สุด ดังเห็นได้จากลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสีแดงเข้มตั้งแต่วันที่ 3 ซึ่งสัมพันธ์กับค่า $OD_{660}$ ที่มีค่าสูงสุดเมื่อเทียบกับหลอดตะเกียบทั้งสองชนิด อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ยังไม่ได้ทดลองการใช้หลอด LED ซึ่งเป็นหลอดไฟที่มีประสิทธิภาพด้านการประหยัดไฟสูงสุดซึ่งประหยัดค่าไฟสูงถึง 120 เท่าเมื่อเทียบกับหลอดไส้ (ภาคผนวก ง) หากทดลองเลี้ยง *R. palustris* AS85 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB ภายใต้แสงจากหลอด LED เพิ่มเติมจะทำให้ทราบว่า หลอด LED มีประสิทธิภาพในการนำมาเลี้ยง *R. palustris* AS85 แทนหลอดไส้หรือไม่ โดยผู้วิจัยคาดว่าหลอด LED สามารถนำมาเลี้ยง *R. palustris* AS85 ได้ และมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าหลอดตะเกียบ จากการศึกษาของ Lee และคณะ (2011) ที่พบว่า *Rhodobacter sphaeroides* มีอัตราการเจริญและความเข้มข้นเซลล์สูงสุดเมื่อเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED สีน้ำเงิน รองลงมาคือ หลอด LED สีเขียว ขาว แดง และหลอดฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งหลอด LED สีน้ำเงินทำให้เชื้อมีอัตราการเจริญสูงกว่าการเลี้ยงภายใต้หลอดฟลูออเรสเซนต์ถึง 2 เท่า และผู้วิจัยคาดว่าหลอด LED จะมีประสิทธิภาพในการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodopseudomonas palustris* AS85 ได้ต่ำกว่าหลอดไส้ แม้ว่าจะมีหลายงานวิจัยที่ศึกษาปัจจัยของแสงต่อเชื้อกลุ่มนี้และให้ผลการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าหลอด LED มีประสิทธิภาพที่ดีต่อการนำมาเลี้ยงแบคทีเรียในกลุ่ม PNSB เช่น จากการศึกษาของ Zhou และคณะ (2015) พบว่า *Rhodopseudomonas* sp. สามารถผลิตชีวมวลสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยหลอดไส้และหลอด LED สีแดง แต่การใช้หลอดไส้มีการผลิตรงควัตถุต่ำการใช้หลอดไฟ LED สีเหลือง น้ำเงิน ขาว และแดง Kuo และคณะ (2012) พบว่า *Rhodopseudomonas palustris* สามารถเจริญได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงภายใต้หลอดไส้และหลอดไฟ LED สีน้ำเงิน เนื่องจากหลอด LED จากงานวิจัยที่กล่าวข้างต้น เป็นหลอด LED ที่มีการปล่อยช่วงสเปกตรัมที่จำเพาะและแคบ ทำให้สามารถเลือกช่วงความยาวคลื่นที่เหมาะกับเชื้อนั้น ๆ ได้ แต่หลอด LED ที่จะนำมาใช้ในการทดลองจริงนั้นเป็นหลอด LED ชนิดโทนแสงขาว (Daylight; LD) แสงเหลืองปนขาว (Cool White; LC) และแสงเหลือง (Warm White; LW) คล้ายกับหลอดตะเกียบที่ใช้ในการทดลองขั้นต้น ซึ่งมีการปล่อยสเปกตรัมที่ค่อนข้างกว้างจึงคาดว่าน่าจะทำให้เชื้อเจริญได้ต่ำกว่าหลอดไส้ อย่างไรก็ตามสายพันธุ์ของเชื้อและปัจจัยในการเลี้ยงอื่น ๆ เช่น ความเข้มแสง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกัน ทำให้ผลของแสงต่อการเจริญและการผลิตรงควัตถุของเชื้อแตกต่างกันออกไปด้วย (Zhou และคณะ, 2015)

นอกจากนี้หากทดลองศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเจริญและผลิตรงควัตถุของ *R. palustris* AS85 ต่อ ผู้วิจัยคาดว่าการเลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่ 2000 lux น่าจะให้ผลการเจริญและการผลิตชีวมวลสูงที่สุด เนื่องจากความเข้มแสงที่สูงนั้นจะส่งผลให้เชื้อมีการเจริญลดลง แสงที่มีความเข้มสูงจะไปเพิ่มความเครียดและ

เกิดอนุมูลอิสระทำลายรงควัตุและเซลล์ได้ ส่วนความเข้มแสงที่ต่ำไปนั้นจะทำให้เชื้อได้รับพลังงานจากแสงน้อย การเจริญและผลิตชีวมวลจึงน่าจะน้อยด้วย และจากการศึกษาประสิทธิภาพในการเปลี่ยนพลังงานแสงไปเป็นชีวมวลโดย Zhou และคณะ (2014) พบว่า ที่ความเข้มแสง 2000 lux *Rhodopseudomonas* sp. สามารถผลิตชีวมวล พลังงาน (ATP) และลดค่า COD ในน้ำเสียได้สูงสุด และผู้วิจัยคาดว่าที่ความเข้มแสง 5000 lux ซึ่งเป็นความเข้มแสงสูงสุดที่จะทดลองนั้น น่าจะให้ผลการผลิตรงควัตุทั้ง แบคเทอริโอคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์สูงสุด เนื่องจากมีงานวิจัยของ Muzziotti และคณะ (2017) ที่พบว่า *Rhodopseudomonas palustris* มีกลยุทธ์ในการปรับตัวต่อแสงที่ความเข้มสูง โดยที่ความเข้มแสงสูงเชื้อจะมีการผลิตแคโรทีนอยด์ซึ่งมีส่วนช่วยในการปกป้องเซลล์จากการทำลายของแสงได้ และการศึกษาของ Zhou และคณะ (2014) ที่พบว่าที่ความเข้มแสงยิ่งต่ำ (ต่ำกว่า 2000 lux) และยิ่งสูง (สูงกว่า 2000 lux) จะทำให้เกิดการกระตุ้นเชื้อในการผลิตแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์สำหรับการเจริญ ในขณะที่การผลิตแคโรทีนอยด์จะถูกกระตุ้นให้มีการผลิตมากขึ้นเมื่อได้รับความเข้มแสงที่สูงขึ้น เนื่องจาก แคโรทีนอยด์จะทำหน้าที่ในการป้องกันเซลล์จากการทำลายของแสงที่ความเข้มสูง

**สรุปผลการทดลอง**

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของแหล่งกำเนิดแสงที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ หลอดไส้ (Incandescent lamp) 60 วัตต์ และหลอดตะเกียบหรือหลอดประหยัดไฟ U-Type (Compact fluorescent lamp) 11 วัตต์ ชนิดโทนแสงขาว (Daylight) และแสงเหลือง (Warm White) ต่อการเจริญและการสร้างรงควัตุในแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วงแดงชนิดไม่สะสมกำมะถัน *Rhodopseudomonas palustris* AS85 ที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ การใช้หลอดไส้ทำให้เชื้อมีการเจริญสูงและเร็วสุดสุด รองลงมา คือ หลอดตะเกียบชนิดโทนแสงสีเหลือง และแสงสีขาว ตามลำดับ ซึ่งการใช้หลอดไฟทั้งสามชนิดทำให้ได้ปริมาณแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ทั้งหมดต่อเซลล์ที่ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อเซลล์จากการเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดตะเกียบทั้งสองชนิดสูงกว่าการใช้หลอดไส้ ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพของแสงต่อการเจริญของเชื้อที่ต่ำกว่า ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าหลอดไส้ยังคงเป็นแหล่งกำเนิดแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงมากกว่าหลอดตะเกียบ

**ข้อเสนอแนะ**

1. เนื่องจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodopseudomonas palustris* สายพันธุ์ AS85 ได้เก็บรักษาไว้ที่ตู้แช่เยือกแข็งอุณหภูมิ -80 องศาสเซลเซียส ดังนั้น ควรนำเชื้อมาเลี้ยงจนเชื้อมีการปรับตัวและมีลักษณะดังเดิมก่อนเริ่มการทดลอง
2. เมื่อเลี้ยงเชื้อภายใต้ภาวะ Photoheterotroph ควรเขย่าเชื้อทุกวัน เนื่องจากเชื้อจะตกตะกอนและติดอยู่บริเวณก้นหลอด ทำให้เมื่อนำมาทดสอบผลอาจคลาดเคลื่อนได้

# เอกสารอ้างอิง

## ภาษาไทย

การไฟฟ้านครหลวง, 2561. วิธีคำนวณค่าไฟฟ้า [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.mea.or.th/content/detail/3293/3317/3926

ชื่นสุมน บุญเจริญ, 2559. แบคทีเรียม่วงแดงสังเคราะห์แสงที่ไม่สะสมกำมะถันจากแอกทิเวเทดสลัดจ์เพื่อการย่อยสลายดีเซล วิทยานิพนธ์. ภาคจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บริษัท ไชยเจริญเทค จำกัด, 2560. แสง ระดับความเข้มของแสง และปริมาณแสงที่น่าสนใจ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.chi.co.th/article/article-970/

บริษัท บุญถาวรเซรามิค จำกัด, 2562. หลอดไฟ รู้จักชนิดของหลอดไฟ เลือกซื้อหลอดไฟเองง่ายๆ[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.boonthavorn.com/home-decoration-tips/lighting/lighting-selection

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2561. หลอดไส้ร้อนแบบธรรมดา [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/หลอดไส้ร้อนแบบธรรมดา

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2563. ไดโอด [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/ไดโอด

วีทิต วรรณเลิศลักษณ์, 2560. สารกึ่งตัวนำ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://bit.ly/3brPs6v

Lee, O. (2017, March 27). การเลือกสีหลอดไฟให้เหมาะกับการใช้งานภายในบ้าน [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.wemall.com/blog/4099/light

Perfect Family Club, 2559. มารู้จักหลอดไฟในบ้าน ก่อนเลือกซื้อกันเถอะ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://pf.co.th/pffamilyclub/news/perfect-tips-มารู้จักหลอดไฟในบ้าน/

**ภาษาอังกฤษ**

Cao, K., Zhi, R., Zhang, G. (2020). Photosynthetic bacteria wastewater treatment with the production of valueadded products: A review. *Bioresource Technology, 299*, 122648.

Chumpol, S., Kantachote, D., Nitoda, T., Kanzaki, H. (2018). Administration of purple nonsulfur bacterial as single cell protein by mixing with shrimp feed to enhance growth, immune response and survival in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultivation. *Aquaculture, 489*, 85-95

Freidman, A. (2019, March 18). Incandescent vs. fluorescent light spectrum [online]. From: https://www.hunker.com/13412740/incandescent-vs-fluorescent-light-spectrum

Garimella, S., Kudle, K.R., Kasoju, A., Merugu, R. (2017). Current status on single cell protein (SCP) production from photosynthetic purple non sulphur bacteria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences, 10*(2), 915-922.

Hanada, S. (2016). Anoxygenic photosynthesis a photochemical reaction that does not contribute to oxygen reproduction. *Microbes and Environment, 31*, 1, 1-3.

Hu, C., Choy, S., Giannis, A. (2018). Evaluation of lighting systems, carbon sources, and bacteria cultures on photofermentative hydrogen production. *Applied Biochemistry and Biotechnology, 185*, 257-269.

Jou, J.H., Yu, H.H., Tung, F.C., Chiang, C.H., He, K., Wei, M.K. (2017). A replacement for incandescent bulbs: high-efficiency blue-hazard free organic light-emitting diodes. *Journal of Materials Chemistry C, 5*, 176-182.

Kuo, F.S., Chien, Y.H., Chen, C.J. (2012). Effects of light sources on growth and carotenoid ontent of photosynthetic bacteria *Rhodopseudomonas palustris*. *Bioresource Technology, 113*, 315–318.

Lai, Y.C., Liang, C.M., Hsu, S.C., Hsieh, P.H., Hung, C.H. (2017). Polyphosphate metabolism by purple non-sulfur bacteria and its possible application on photo-microbial fuel cell. *Journal of Bioscience and Bioengineering, 123*(6), 722-730.

Lancaster, C.R.D. (2013) Purple bacteria: photosynthetic reaction centers. In: *The Encyclopedia of Biological Chemistry*, Vol. 3 (Lennarz, W.J., Lane, M.D., eds.), Elsevier, Waltham, MA, p. 700-707.

Lee, H.J., Park, J.Y., Han, C.H., Chang, S.T., Kim, Y.H., Min, J. (2011). Blue led and succinic acid enhance the growth of *Rhodobacter sphaeroides*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27*, 189-192.

Levin, R.E., Blose, R., Comtols, R. (2017). Modified spectrum incandescent lamp. *United States Patent, 9*,607,812.

Liu, S., Zhang, G., Zhang, J., Li, X., Li, J. (2016). Performance, carotenoids yield and microbial population dynamics in a photobioreactor system treating acidic wastewater: Effect of hydraulic retention time (HRT) and organic loading rate (OLR). *Bioresource Technology, 200*, 245-252.

Lowes, T., Tarsa, E.J., Heikman, S., Keller, B., Reiherzer, J., Benjamin, H. (2017). Led package with multiple element light source and encapsulant having planar surfaces. *United States Patent, 9*,818,919.

Lu, H., Zhang, G., Zheng, Z., Meng, F., Du, T., He, S. (2019). Bio-conversion of photosynthetic bacteria from non-toxic wastewater to realize wastewater treatment and bioresource recovery. *Bioresource Technology, 278*, 383–399.

Luongo, V., Ghimire, A., Frunzo, L., Fabbricino, M., d'Antonio, G., Pirozzi, F., Esposito, G. (2017). Photofermentative production of hydrogen and poly-b-hydroxybutyrate from dark fermentation products. *Bioresource Technology, 228*, 171-175.

Marsh, S. (2015, Jul 15). What is the difference between a CFL and a fluorescent lamp? [online]. From: https://www.quora.com/What-is-the-difference-between-a-CFL-and-a-fluorescent-lamp

Mirza, S.S., Qazi, J.I., Liang, Y., Chen, S. (2019). Growth characteristics and photofermentative biohydrogen production potential of purple non sulfur bacteria from sugar cane bagasse. *Fuel, 255*, 115805.

Morsy, F.M., Elbahloul, Y., Elbadry, M. (2019). Photoheterotrophic growth of purple non-sulfur bacteria on tris acetate phosphate yeast extract (TAPY) medium and its hydrogen productivity in light under nitrogen deprivation. *International Journal of Hydrogen Energy, 44*, 9282-9290.

Muzziotti, D., Adessi, A., Faraloni, C., Torzillo, G. (2017). Acclimation strategy of *Rhodopseudomonas palustris* to high light irradiance. *Microbiology Research, 197*, 49-55.

Osigbemeh, M., Onuu, M., Asaolu, O. (2017). Design and development of an improved traffic light control system using hybrid lighting system. *Journal of Traffic and Transportation Engineering, 4*(1), 88-95.

Pawlak, A., Zalesinska M. (2017). Comparative study of light sources for household. *Management Systems in Production Engineering, 1*(25), 35-41.

Perino, G., Pioch, T. (2016). Banning incandescent light bulbs in the shadow of the EU Emissions Trading Scheme. *Climate Policy, 17*(5), 678-686.

Pollich, M., Klug, G. (1995). Identification and sequence analysis of genes involved in late steps of cobalamin (vitamin B12) synthesis in *Rhodobacter capsulatus*. Journal *of Bacterioology, 177(15),* 4481-4487.

Qi, X., Ren, Y., Tian, E., Wang, X. (2017). The exploration of monochromatic near-infrared led improved anoxygenic photosynthetic bacteria *Rhodopseudomonas* sp. for wastewater treatment. *Bioresource Technology, 241*, 620-626.

Qi, X., Ren, Y., Liang, p., Wang, X. (2018). New insights in photosynthetic microbial fuel cell using anoxygenic phototrophic bacteria. *Bioresource Technology, 258*, 310–317.

Reungsang, A., Zhong, N., Yang, Y., Sittijunda, S., Xia, A., Liao, Q. Hydrogen from photo fermentation. In: Qiang Liao Q, Chang JS, Herrmann C, Xia A. Bioreactors for microbial biomass and energy conversion. 1st ed. Singapore: Springers; 2018. p. 221-318.

Roys, C.A. (2017). Method and assembly for replacing incandescent lights. *United States Patent Application Publication, 9*,607,812.

Sagir, E., Ozgur, E., Gunduz, U., Eroglu, I., Yucel, M. (2017). Single-stage photofermentative biohydrogen production from sugar beet molasses by different purple non-sulfur bacteria. *Bioprocess* and *Biosystems Engineering*, 40, 1589–1601.

Sakarika, M., Spanoghe, J., Sui, Y., Wambacq, E., Grunert, O., Haesaert, G., Spiller, M., Nlaemnick, S.E. (2020). Purple non-sulphur bacteria and plant production: benefits for fertilization, stress resistance and the environment. *Microbial Biotechnology*, 1-13.

Sakpirom, J., Kantachote, D., Nunkaew, T., Khan, E. (2017). Characterizations of purple non-sulfur bacteria isolated from paddy fields, and identification of strains with potential for plant growth-promotion, greenhouse gas mitigation and heavy metal bioremediation. *Research in Microbiology, 168*, 266-275.

Saleem, H., UI Ain Kokab, Q., Rehman, Y. (2019). Arsenic respiration and detoxification by purple non-sulphur bacteria under anaerobic conditions. *Comptes Rendus Biologies*, *342*(3-4), 101-107.

Soon, T.K., AI-Azad, S.J., Ransangan, J. (2014). Isolation and characterization of purple non-sulfur bacteria, afifella marina, producing large amount of carotenoids from mangrove microhabitats. *Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(8),* 1034-1043.

Talaiekhozani, A., Rezania, S. (2017). Application of photosynthetic bacteria for removal of heavy metals, macropollutants and dye from wastewater. *Journal of Water Process Engineering, 19,* 312-321.

Thiel, V., Tank, M., Bryant, D.A. (2018). Diversity of chlorophototrophic bacteria revealed in the omics era. *Annual Review of Plant Biology, 69*, 21-49.

Thweatt, J.L., Canniffe, D.P., Bryant, D.A. (2019). Chapter two - Biosynthesis of chlorophylls and bacteriochlorophylls in green bacteria**.** *Advances in Botanical Research, 90,* 35-89.

Van de Ven, A.P. (2017). Varable correlated color temperature luminary constructs. *United States Patent, 9*,642,208.

Wang, H., Yang, A., Zhang, G., Ma, B., Meng, F., Peng, M., Wang, H. (2017). Enhancement of carotenoid and bacteriochlorophyll by high salinity stress in photosynthetic bacteria**.** *International Biodeterioration and Biodegradation, 121*, 91-96.

Wikipedia contributors. (2020, April 19). Fluorescent lamp. In *Wikipedia, The Free Encyclopedia*. Retrieved, April 28, 2020,
From: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Fluorescent_lamp&oldid

Wu, P., Chen, Z., Zhang, Y., Wang, Y., Zhu, F., Cao, B., Wu, Y., Li, N. (2019). *Rhodopseudomonas palustris* wastewater treatment: cyhalofop-butyl removal, biochemicals production and mathematical model establishment. *Bioresource Technology, 282*, 390-397.

Yang, A., Zhang, G., Meng, F., Zhang, P., Chen, Y. (2018). Membrane concentrate treatment by photosynthetic bacteria: feasibility and tolerance mechanism analysis. *Bioresource Technology, 253*, 378–381.

Zhi, R., Yang, A., Zhang, G., Zhu, Y., Meng, F., Li, X. (2019). Effects of light-dark cycles on photosynthetic bacteria wastewater treatment and valuable substances production. *Bioresource Technology, 274*, 496-501

Zhou, Q., Zhang, P., Zhang, G. (2014). Biomass and carotenoid production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of light intensity. *Bioresource Technology, 171*, 330-335.

Zhou, Q., Zhang, P., Zhang, G. (2015). Biomass and carotenoid production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of light source. *Bioresource Technology, 179*, 505-509.

# ภาคผนวก ก

## สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

### 1. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว RCVB

| | |
|---|---|
| กรดมาลิก (DL-Malic acid) | 4.00 กรัม |
| แมกนิเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) | 0.20 กรัม |
| ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($K_2HPO_4$) | 0.75 กรัม |
| โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) | 0.85 กรัม |
| แอมโมเนียมคลอไรด์ ($NH_4Cl$) | 1.00 กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) | 4 กรัม |
| กรดบอริก ($H_3BO_3$) | 2.80 มิลลิกรัม |
| ไดโซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) | 0.75 มิลลิกรัม |
| ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) | 0.24 มิลลิกรัม |
| แมงกานีส (II) ซัลเฟตเตตระไฮเดรต ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) | 2.10 มิลลิกรัม |
| คอปเปอร์ (II) ไนเตรตไตรไฮเดรต ($Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$) | 0.04 มิลลิกรัม |
| เฟอรัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) | 11.80 มิลลิกรัม |
| เอทิลีนไดอะมีนเตตราอะซีติก ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$; EDTA) | 2.00 มิลลิกรัม |
| แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) | 0.75 มิลลิกรัม |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**2. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Nutrient Broth (NB)**

| | |
|---|---|
| น้ำตาลกลูโคส (D-glucose) | 1.0 กรัม |
| เปปโทน (Peptone) | 15.0 กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) | 6.0 กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) | 3.0 กรัม |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.5 ± 0.2 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**3. อาหารแข็ง NA**

| | |
|---|---|
| เปปโทน (Peptone) | 5.0 กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) | 5.0 กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) | 1.5 กรัม |
| Agar | 15.0 กรัม |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.4 ± 0.2 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

# ภาคผนวก ข

## วิธีการเตรียมสารเคมี

1. **สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล**

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร

2. **สารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มัล**

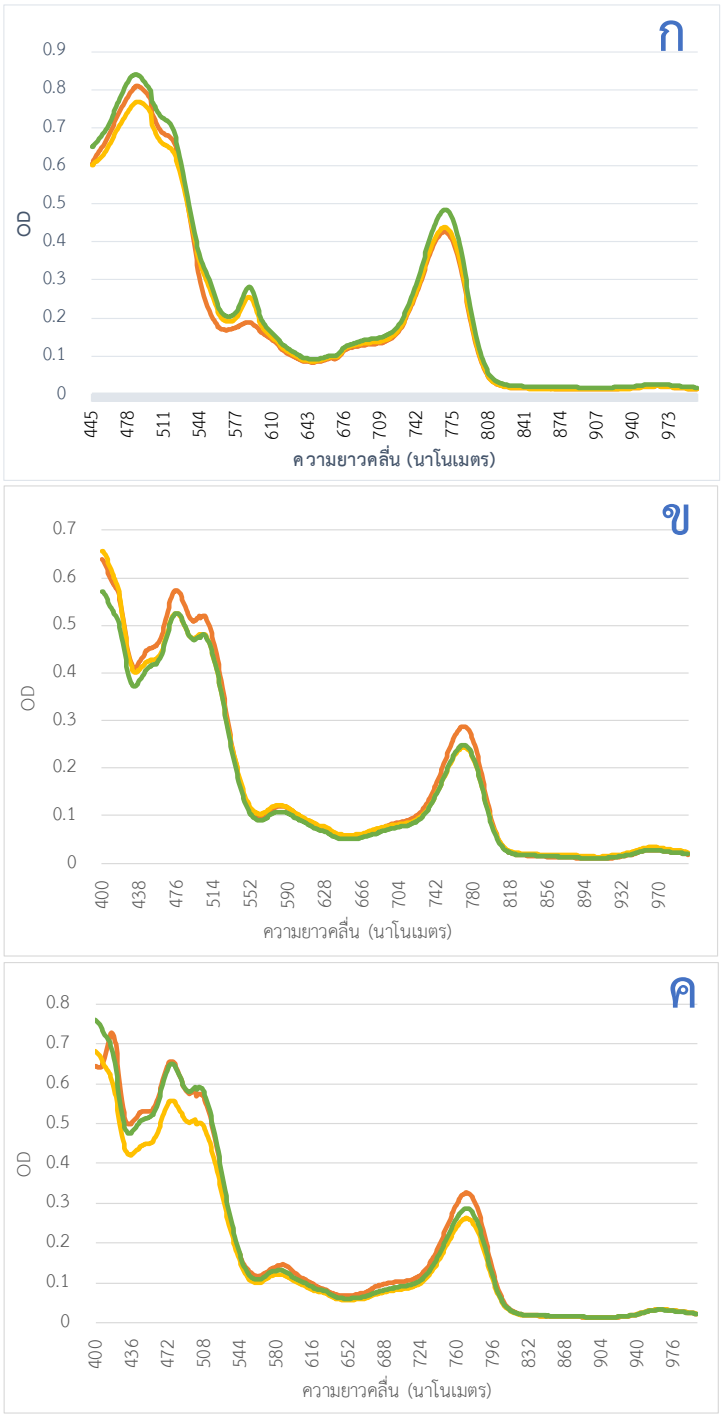
ตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 12 นอรัล ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร (ทำในตู้ดูดควัน)

3. **เอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์**

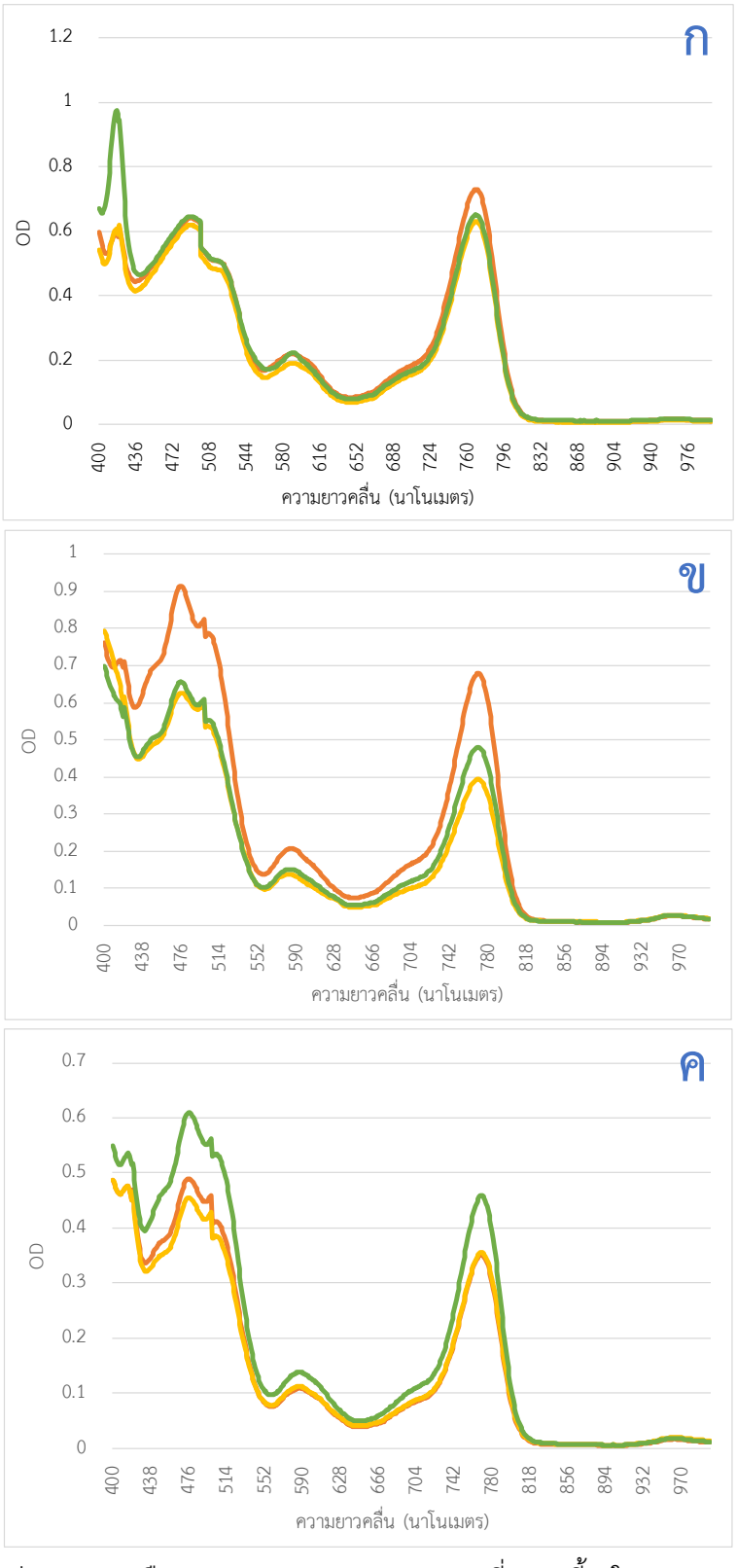
ละลายเอทานอลความเข้มข้น 99 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 700 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาตร 300 มิลลิลิตร

## ภาคผนวก ค

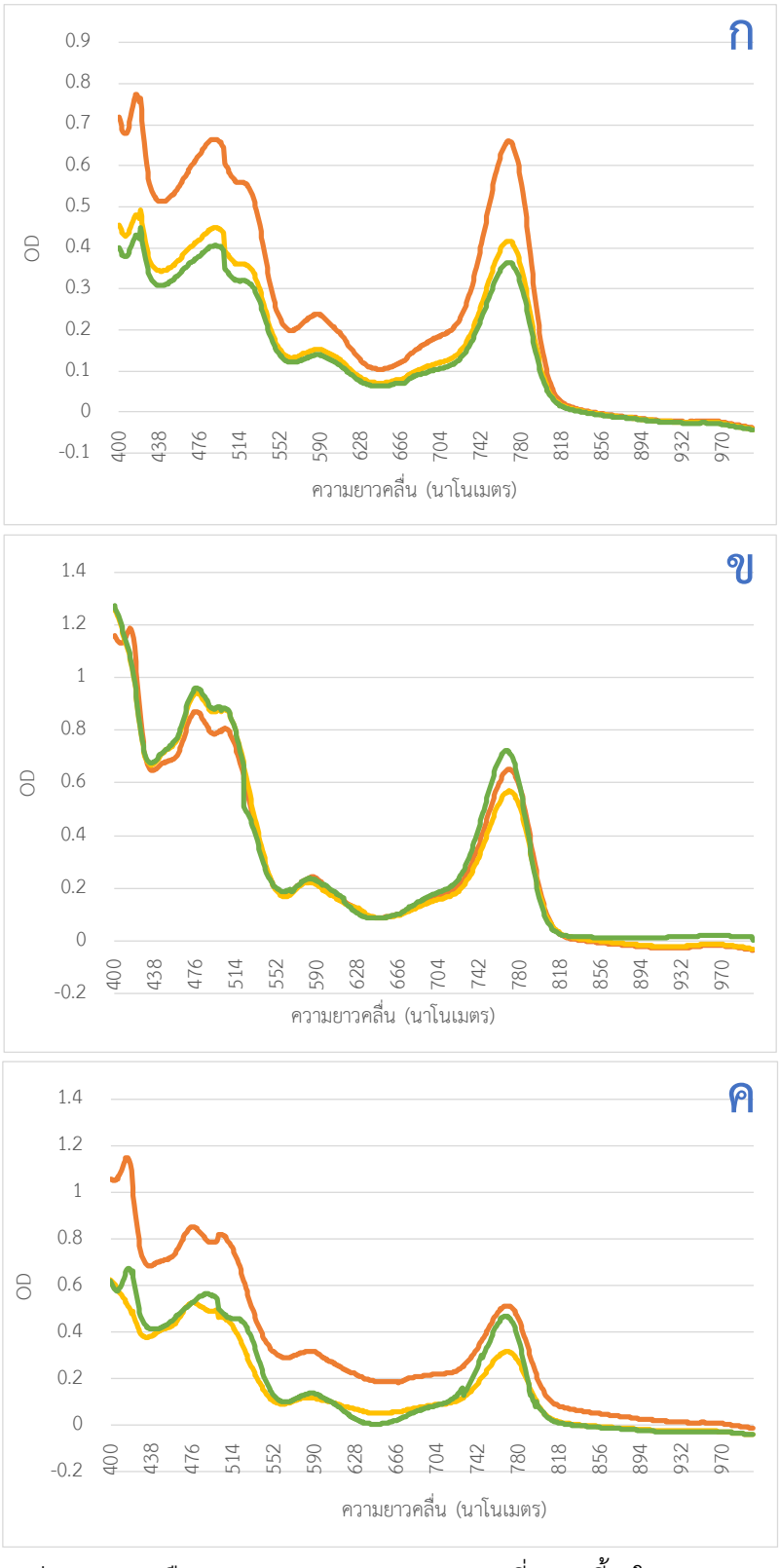
กราฟจากการวัดค่าการดูกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 400-1000 นาโนเมตร ภายใต้หลอดไฟชนิดต่าง ๆ




รูป ค-1 กราฟแสดงช่วงการดูดกลืนแสงของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ในภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดหลอดไส้ (ก) หลอดตะเกียบ Daylight (ข) และหลอดตะเกียบ Warm white (ค) เป็นเวลา 3 วัน




รูป ค-2 กราฟแสดงช่วงการดูดกลืนแสงของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ในภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดหลอดไส้ (ก) หลอดตะเกียบ Daylight (ข) และหลอดตะเกียบ Warm white (ค) เป็นเวลา 4 วัน




รูป ค-3 กราฟแสดงช่วงการดูดกลืนแสงของ *R. palustris* AS85 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว RCVB ในภาวะ Photoheterotroph ภายใต้หลอดหลอดไส้ (ก) หลอดตะเกียบ Daylight (ข) และหลอดตะเกียบ Warm white (ค) เป็นเวลา 5 วัน

# ภาคผนวก ง

## การคำนวณค่าไฟ

สามารถคำนวณได้จากการนำจำนวนหน่วยต่อวันที่ใช้ (ยูนิต) คูณกับราคาไฟฟ้าต่อหน่วย ซึ่งจำนวนหน่วยต่อวันที่ใช้สามารถคำนวณได้จากสมการ ดังนี้

จำนวนหน่วยต่อวัน (ยูนิต) = (กำลังไฟ (วัตต์) x จำนวนเครื่องใช้ไฟฟ้า / 1000) x จำนวนชั่วโมงที่ใช้ใน 1 วัน

ในการเลี้ยงเชื้อโดยใช้หลอดไส้ (Incandescent lamp) กำลังไฟ 60 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ต่อพื้นที่ประมาณ 30 x 30 ตารางเซนติเมตร จะใช้จำนวนหน่วยต่อวันเท่ากับ (60x1/1000)x 24 = 1.44 ยูนิต หรือเดือนละ 30 x 1.44 = 43.2 ยูนิต

ในการเลี้ยงเชื้อโดยใช้หลอดตะเกียบหรือหลอดประหยัดไฟ U-Type (Compact fluorescent lamp) กำลังไฟ 11 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ต่อพื้นที่ประมาณ 30 x 30 ตารางเซนติเมตร จะใช้จำนวนหน่วยต่อวันเท่ากับ (11x1/1000)x 24 = 0.264 ยูนิต หรือเดือนละ 30 x 0.264 = 7.92 ยูนิต

ในการเลี้ยงเชื้อโดยใช้หลอด LED กำลังไฟ 7 วัตต์ จำนวน 1 หลอด ต่อพื้นที่ประมาณ 30 x 30 ตารางเซนติเมตร จะใช้จำนวนหน่วยต่อวันเท่ากับ (7x1/1000)x 24 = 0.168 ยูนิต หรือเดือนละ 30 x 0.264 = 5.04 ยูนิต

เมื่อทราบจำนวนยูนิตแล้วสามารถคำนวณค่าไฟฟ้าได้โดยเปรียบเทียบกับอัตราค่าไฟฟ้าได้ดังนี้

ประเภท1.1 การใช้ไฟฟ้าไม่เกิน 150 หน่วยต่อเดือน (ข้อมูลจากการไฟฟ้านครหลวง) (อาทิมา, 2559)

| จำนวนหน่วย | ราคาต่อหน่วย (บาท) |
|---|---|
| 5 หน่วย (หน่วยที่ 1-5 ) | 0.00 |
| 10 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 6-15 ) | 1.3576 |
| 10 หน่วยต่อไป (หน่วยที่16-25 ) | 1.5445 |
| 10 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 26-35 ) | 1.7968 |
| 65 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 36-100) | 2.1800 |
| 50 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 101-150) | 2.2734 |
| 250 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 151-400) | 2.7781 |
| เกินกว่า 400 หน่วย (หน่วยที่ 401 เป็นต้นไป ) | 2.9780 |

ดังนั้น การใช้หลอดไส้ 60 วัตต์ 1 หลอด ใช้ไฟ 43.2 ยูนิต จะต้องจ่ายค่าไฟต่อเดือนเท่ากับ หน่วยที่ 1-15 (10x1.3576) + หน่วยที่ 16-25 (10x1.5445) + หน่วยที่ 26-35 (10x1.7968) + หน่วยที่ 36-43.2 (8.2x2.1800) = 64.865 บาท

การใช้หลอดตะเกียบ 11 วัตต์ 1 หลอด ใช้ไฟ 7.92 ยูนิต จะต้องจ่ายค่าไฟต่อเดือนเท่ากับ หน่วยที่ 1-7.92 (2.92x1.3576) = 3.96 บาท

การใช้หลอด LED 7 วัตต์ 1 หลอด ใช้ไฟ 5.04 ยูนิต จะต้องจ่ายค่าไฟต่อเดือนเท่ากับ หน่วยที่ 1-5.04 (0.4x1.3576) = 0.54 บาท

ใน 1 เดือน การใช้หลอดไส้ 1 หลอด ใช้ค่าไฟเทียบเท่ากับการใช้หลอดตะเกียบ 16 หลอด และหลอด LED 120 หลอด