ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

1. ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า (electric oven)
2. โถดูดความชื้น (desiccator)
3. ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (moisture can)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไปฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักอีกครั้ง
2. ทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้งชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง
4. อบซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

2. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (ดัดแปลงมาจาก AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
3. ปิเปตขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
4. บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร

5. ชุดย่อยโปรตีน ประกอบด้วย เตาย่อย (heater) และเครื่องจับไอกรด (scrubber)
6. ชุดกลั่นโปรตีน Kjeltech system distilling unit รุ่น Model 2000 ของบริษัทTecator จำกัด

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยา ซึ่งเป็นสารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_2$) และโปตัสเซียมซัลเฟต ($K_2 SO_4$) อัตราส่วน 1 : 9
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก)
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก)
5. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (โดยน้ำหนัก) เตรียมโดยตวงกรดเกลือเข้มข้นปริมาตร 9 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ เติมน้ำกลั่นลงไปจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ได้เป็นสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จากนั้นหาความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายกรดเกลือ โดยชั่งโซเดียมเทตราบอเรต (Borax : $Na_2B_2O_7.10H_2O$) ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.4 กรัม (สำหรับความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล) ใส่ลงในฟลาส์ก (erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด แล้วไตเตรตกับสารละลายกรดเกลือที่ต้องการหาความเข้มข้นมาตรฐาน สีของสาระลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงที่จุดยุติ คำนวณความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายกรดเกลือที่ได้

คำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ (นอร์มัล)} = \frac{\text{น้ำหนักของโซเดียมเทตราบอเรต (กรัม)}}{\text{ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรต (มล.)} \times 0.1907}$$

(กรัมสมมูลของโซเดียมเทตราบอเรต = 190.72)

6. อินดิเคเตอร์ผสมระหว่างเมทิลเรด เมทิลีนบลู และโบรโมครีซอลกรีน
   6.1 ชั่งเมทิลเรด 0.125 กรัม และเมทิลีนบูล 0.082 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
   6.2 ชั่งโบรโมครีซอลกรีน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
   6.3 ผสมสารละลายจากข้อ 6.1 และ 6.2 ในอัตราส่วน 5 : 1

วิธีวิเคราะห์

ขั้นตอนการย่อย

1. ชั่งน้ำหนัก (ของแข็ง) ให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.5-1.0 กรัม (ตัวอย่างของเหลวใช้ปริมาตร 1-10 มิลลิลิตร) ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนที่ตัวอย่าง
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร
4. วางหลอดย่อยในเตาย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบ ขวดใส่ด่างที่มีสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500-600 มิลลิลิตร และเครื่องจับไอกรดให้เรียบร้อย
5. เปิดเครื่องจับไอกรดและเตาย่อย แล้วตั้งอุณหภูมิที่ 350 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ย่อยจนได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นลง

ขั้นตอนกลั่น

1. เปิดสวิทช์ชุดกลั่นโปรตีนและน้ำหล่อน้ำเย็น
2. กลั่นล้างเครื่องด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง
3. นำขวดย่อยโปรตีนต่อเข้ากับชุดกลั่นโปรตีน เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
4. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีการเติมกรดบอริกร้อยละ 4 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และอินดิเคเตอร์ไปรองรับของเหลวที่จะกลั่นออกมา โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลาย
5. กลั่นโดยใช้เวลาประมาณ 4 นาที
6. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(a-b) \times N \times 1.4007}{W}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(a-b) \times N \times 1.4007 \times F}{W}$$

โดยที่ a = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

b = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรตกับ blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ (นอร์มัล)

W = น้ำหนักหรือปริมาตรของตัวอย่างเริ่มต้น (กรัมหรือมิลลิลิตร)

F = เฟกเตอร์ที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณโปรตีนสำหรับอาหารชนิดต่างๆ (แฟกเตอร์ที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณโปรตีนสำหรับผลิตภัณฑ์จากปลาเท่ากับ 6.25)

3. ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด (AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น (desicator)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลง แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่าอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. เผาซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณคาร์บอนให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-2 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปเผาในตู้ควันจนควันหมด แล้วจึงนำเข้าเตาเผา ตั้งอุณหภูมิเตาเผาไว้ที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส แล้วทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้ (เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา})\ (\text{กรัม}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)}}$$

$$\text{ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้}}{1.8}$$

4. ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)

สารเคมี

1. กรดผสม $HNO_3/HClO_4$ เตรียมโดยผสม HNO_3 1,250 มิลลิลิตร $HClO_4$ 250 มิลลิลิตร และ NH_4VO_3 0.06 กรัม (ละลาย NH_4VO_3 0.06 กรัม ในน้ำ deionized ประมาณ 5-10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนละลายหมด ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วผสมลงในกรด)

2. สารละลาย vanodomolybdate เตรียมโดย
   2.1 ละลาย ammonium molybdate 40 กรัม ในน้ำ deionized ที่อุ่นแล้ว 400 มิลลิลิตร
   2.2 ละลาย ammonium meta-anadate 2 กรัม ในน้ำ deionized ที่ต้มเดือด 300 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนละลายหมด วางให้อุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วเติมกรดไนตริกเข้มข้น 160 มิลลิลิตร
   2.3 ผสมสารในข้อ 2.1 และ 2.2 เข้าด้วยกัน แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา เมื่อต้องการใช้แต่ละครั้งนำมาเจือจางด้วยน้ำ deionized 4 เท่า
3. สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยละลาย KH_2PO_4 (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง) 3.48 กรัม ด้วยน้ำ deionized ในขวดปรับปริมาตร ค่อยๆเติมกรดไนตริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำ deionized
4. สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตรใน $HClO_4$ ร้อยละ 4 เตรียมโดยปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 1,000 มิลลิลิตรต่อกรัม 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร เติม $HClO_4$ ร้อยละ 20 ลงไป 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำ deionized

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 0.5 –2 กรัม ลงขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมกรดผสม $HNO_3/HClO_4$ 15 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆให้เข้ากัน ปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยกรวยแก้ว จากนั้นย่อยบน hot plate ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนควันน้ำตาลหมด แล้วเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเรื่อยๆจนเกิดควันสีขาว ทำการย่อยต่อไปจนได้สารละลายใส
3. วางทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรองลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้น้ำ deionized ล้างตัวอย่างปุ๋ยบนกระดาษกรองจนได้ปริมาตรเกือบ 250 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน
4. ปิเปตสารละลาย vanodomolybdate 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมลงไป เขย่าให้เข้ากัน
5. วางทิ้งไว้ 20 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความคลื่น 420 นาโนเมตร

6. เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในสารละลายมาตรฐาน โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงเป็นแกนตั้ง

การคำนวณ

ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) = (X-B) x 250/ (1,000 x น้ำหนักตัวอย่าง) x 2.291 x mof

X = ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในสารละลายตัวอย่างเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน(มก./ลิตร)

B = ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสใน blank เปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน (มก./ลิตร)

mof (moisture correction factor) = (100 + ความจุความชื้นในดิน)/100

5. ปริมาณโปตัสเซียมทั้งหมด (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)

สารเคมี

1. กรดผสม เตรียมเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด
2. กรดผสม 20% เตรียมโดยผสม 563 มิลลิลิตรในน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 2 ลิตร ด้วยน้ำ deionized
3. สารละลายโปตัสเซียมมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 มิลลิลิตรต่อลิตร เตรียมโดยละลาย KCl (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง) 1.9067 กรัม ด้วยน้ำ deionized ในขวดปรับปริมาตร แล้วค่อยๆเติมกรดไนตริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำ deionized
4. สารละลายโปตัสเซียมมาตรฐานความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ใน $HClO_4$ 4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยปิเปตสารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมความเข้มข้น 1000 มิลลิลิตรต่อกรัม 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร เติม $HClO_4$ 20 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ deionized

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างปุ๋ย 0.5-1 กรัม ลงขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมกรดผสม HNO_3/$HClO_4$ 15 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆให้เข้ากัน ปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยกรวยแก้ว จากนั้นย่อยบน hot plate ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนควันน้ำตาลหมด แล้วเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเรื่อยๆจนเกิดควันสีขาว ทำการย่อยต่อไปจนได้สารละลายใส
3. วางทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกรองผ่านกระดาษกรองลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้น้ำ deionized ล้างตัวอย่างปุ๋ยหมักบนกระดาษกรองจนได้ปริมาตรเกือบ 250 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4. นำไปวัดค่าการปลดปล่อยแสงด้วยเครื่อง Flame Photometer
5. ทำ blank เช่นเดียวกับข้อ 2-4
6. เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการปลดปล่อยแสงกับความเข้มข้นของโปตัสเซียมในสารละลายมาตรฐาน โดยให้ค่าการปลดปล่อยแสงเป็นแกนตั้ง

การคำนวณ

ปริมาณโปตัสเซียมทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) = (X-B) x 250/ (1,000 x น้ำหนักตัวอย่าง) x 2.291 x mof

X = ความเข้มข้นของโปตัสเซียมในสารละลายตัวอย่างเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน (มก./ลิตร)

B = ความเข้มข้นของโปตัสเซียมใน blank เปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน (มก./ลิตร)

mof (moisture correction factor) = (100 + ความจุความชื้นในดิน)/100

6. การหาน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Noparatnaraporn *et al*., 1986)

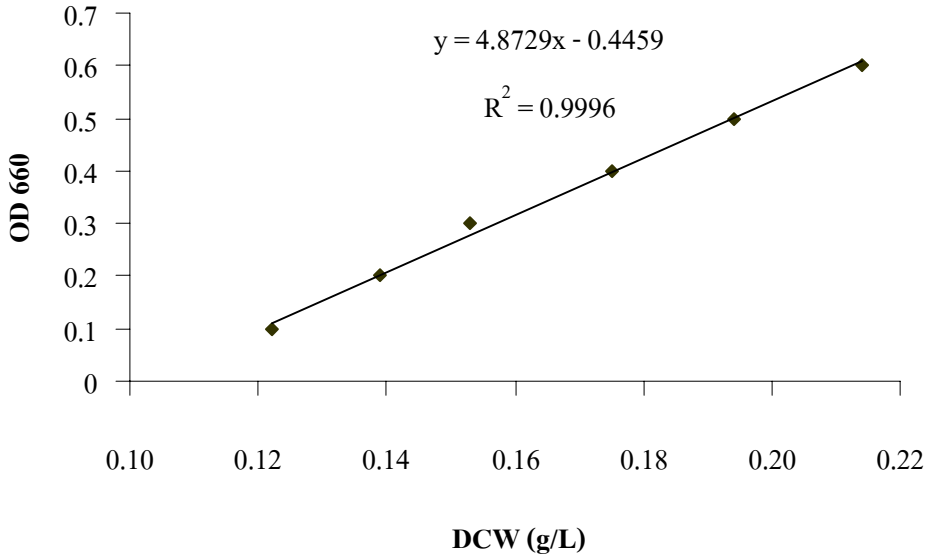
วัสดุอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อ
2. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง
5. เครื่องเหวี่ยง
6. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

วิธีการวิเคราะห์

1. นำหลอดเซนตริฟิวส์อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น เมื่อเย็นเท่าอุณหภูมิห้องนำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียดทำซ้ำจนนน้ำหนักคงที่
2. เลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในอาหารที่ใช้ทดลองจนเซลล์เจริญสูงสุด นำเซลล์เจือจางด้วยน้ำกลั่น วัดค่าความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าความขุ่นเท่ากับ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 , 0.5 และ 0.6 ส่วน blank เตรียมโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนเดียวกับตัวอย่าง
3. น้ำเซลล์ที่ระดับความขุ่นต่างๆ ปริมาณ 100 มิลลิลิตร เหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง
4. นำหลอดเซนตริฟิวส์อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง
5. นำหลอดเซนตริฟิวส์ใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียด ทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่

6. บันทึกค่าความขุ่นกับน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ (กรัมต่อลิตร) และเขียนกราฟของค่าที่ได้เพื่อใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณน้ำหนักแห้ง



ภาพที่ 15 กราฟมาตรฐานของน้ำหนักเซลล์แห้งในการเลี้ยงเชื้อ *Rhodobacter capsulatus* SS3 ในอาหารกลูตาเมต-มาเลต + 3% เกลือ ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสง (3,000 ลักซ์) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

Fig. 15 Standard curve of dry cell weight from *Rhodobacter capsulatus* SS3 cultivated in glutamate-malate + 3% NaCl under microaerobic-light (3 klux) condition at 37 ^{o}C

7. การหาปริมาณการผลิต ALA ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

การเตรียมกราฟมาตรฐาน ALA (Sasaki *et al* ., 1987)

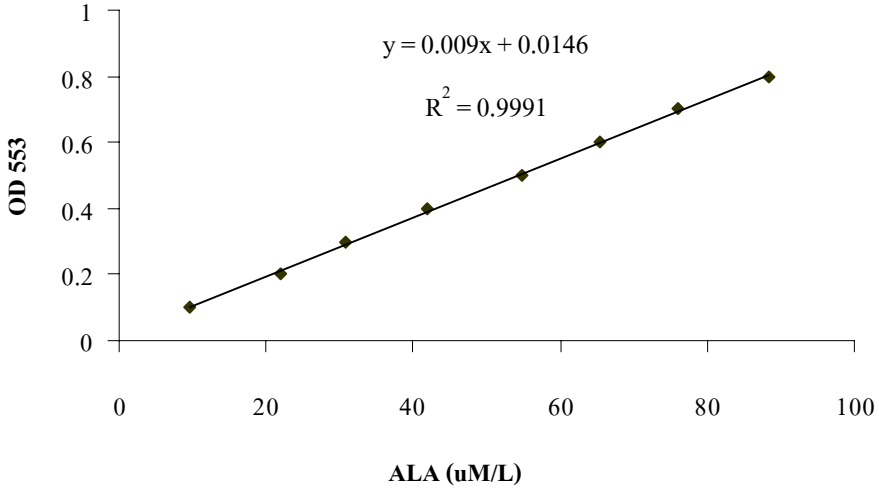
สารเคมี

1. Acetate buffer 1 M (pH 7.4)
2. Acetylacetone
3. *p*-dimetyl-aminobenzaldehyde (DMAB)
4. Glacial acetic acid
5. 70% perchloric acid

วิธีการวิเคราะห์

1. นำสารละลาย ALA มาตรฐานที่เจือจางอย่างเหมาะสม
2. ดูดสารละลายมาตรฐาน 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม acetate buffer (pH 7.4) 2 มิลลิลิตร

3. เติมอะซีทิลอะซิโตน 0.05 มิลลิลิตร
4. นำส่วนผสมทั้งหมดไปต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว
5. เติม modified Enrlish's reagent 3.5มิลลิลิตร
6. ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 553 นาโนเมตร
7. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ ALA กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 553 นาโนเมตร



ภาพที่ 16 กราฟมาตราฐานของ ALA

Fig. 16 Starndard curve of ALA

8. อาหารเลี้ยงเชื้อ GM medium (Lascells *et al*., 1978) ประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร)

Sodium-L-glutamate	3.8
DL-malic acid	2.7
KH_2PO_4	0.5
K_2HPO_4	0.5
$(NH_4)_2SO_4$	0.8
$MgSO_4.7H_2O$	0.2
$CaCl_2.2\ H_2O$	0.053
$MnSO_4.5H_2O$	0.0012
Nicotinic acid	0.001
Thiamine-HCl	0.001
Biotin	0.001

ปรับพีเอชเป็น 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มัล กรณีที่เป็นอาหารแข็ง เติมผงวุ้น 15 เปอร์เซ็นต์ นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

วิธีการเตรียม Stock solution

1. Thiamine-HCl (เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร)
   ชั่ง Thiamine-HCl 1 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เติมแอลกอฮอล์เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ จนปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร
2. Para- animobenzoic acid (เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร)
   ชั่ง Para- animobenzoic acid 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร
3. Nicotinic acid (เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร)
   ชั่ง Nicotinic acid 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร
4. Biotin (เข้มข้น 0.015 มิลลิกรัมต่อลิตร)
   ชั่ง Biotin 10 มิลลิกรัม กรัมละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เติมแอลกอฮอล์เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ จนปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

การเผยแพร่ผลงานจากวิทยานิพนธ์

1. Panupong Bangrak, Wiriya Dungsuwan, Masao Ukita and Poonsuk Prasertsan. 2548. Production of Compost from Palm Oil Mill Wastes. Paper presented at BioThailand 2005 conference, 2-5 November 2005. Bangkok, Thailand.
2. ภาณุพงศ์ บางรักษ์ วิริยะ ดวงสุวรรณ Masao Ukita และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์. 2548. การผลิตปุ๋ยหมักจากวัสดุเศษเหลือโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. ในงาน มอ. วิชาการ ประจำปี 2548 ระหว่างวันที่ 17-20 สิงหาคม 2548 ณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
3. ภาณุพงศ์ บางรักษ์ วิริยะ ดวงสุวรรณ Masao Ukita และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ์. 2548. การผลิตปุ๋ยหมักจากวัสดุเศษเหลือโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. ในการสัมมนาวิชาการ เรื่อง ปาล์มน้ำมัน : เส้นทางสู่ความสำเร็จของเกษตรกร. จัดโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ระหว่างวันที่ 8-9 กันยายน 2548 ณ มารีไทม์ ปาร์ค แอนด์ สปา รีสอร์ท จังหวัดกระบี่

4. สาธิตการผลิตปุ๋ยหมักจากวัสดุเศษเหลือของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม แสดงโปสเตอร์ และแจกหัวเชื้อ พด.1 (อภินันทนาการจากกรมพัฒนาที่ดิน จังหวัดสงขลา)ให้แก่ผู้สนใจทั่วไปในการจัดนิทรรศการผลงานวิจัยด้านอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม ของสถานวิจัยผลิตภัณฑ์และเทคโนโลยีน้ำมันปาล์ม (POPTEC) ในงาน มอ. วิชาการ ประจำปี 2548 ระหว่างวันที่ 17-20 สิงหาคม 2548 ณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

5. แสดงโปสเตอร์กระบวนการผลิตปุ๋ยหมักจากวัสดุเศษเหลือโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พร้อมแจกหัวเชื้อ พด. 1 (อภินันทนาการจากกรมพัฒนาที่ดิน จังหวัดสงขลา) ในการสัมมนาวิชาการ เรื่อง ปาล์มน้ำมัน : เส้นทางสู่ความสำเร็จของเกษตรกร. จัดโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ระหว่างวันที่ 8-9 กันยายน 2548 ณ มารีไทม์ ปาร์ค แอนด์ สปา รีสอร์ท จังหวัดกระบี่