วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทำการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ชอบอุณหภูมิสูงด้วยอาหาร G_5 ซึ่งเป็นอาหารที่มีแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรียครบถ้วน จะพบว่าแบคทีเรียทุกชนิดที่เจริญในสภาพไร้ออกซิเจนได้ สามารถเจริญใน G_5 ได้ แต่จุลินทรีย์ที่มีสีเขียวและผลิตกาซขณะเจริญ อาจจะไม่ใช่แบคทีเรียสังเคราะห์ใน Family Rhodospirillaceae เพราะโดยมากแบคทีเรียใน Family นี้จะมีโคโลนีสีแดง น้ำตาล ส้ม ชมพู เหลืองส้ม เขียวน้ำตาล และไม่สามารถผลิตกาซไฮโดรเจนขณะเจริญในอาหารที่มีเกลือแอมโมเนียมอยู่ด้วย (Okuda et al. 1960; Hillmer and Gest. 1977, Kim et al. 1980) ดังนั้น จึงเลือกเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างที่ 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11 และ 12 ไปทำการทดลองต่อ แต่เชื้อที่แยกได้นี้ยังไม่บริสุทธิ์ ซึ่งสังเกตจากมีตะกอนสีดำในหลอดของเชื้อหมายเลข 1 และ 3 ตะกอนสีดำอาจจะเป็นสารประกอบซัลเฟอร์ ซึ่งเกิดจากขบวนการเมตาโบลิซึม ซึ่งแสดงว่ามีจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เจริญปะปนในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงต้องนำเชื้อที่แยกได้ไปทำให้บริสุทธิ์เสียก่อนที่จะเก็บเป็น stock culture

เมื่อทำการ subculture ใน Basal medium (N-free malate medium) พบว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้บางตัวอย่างเปลี่ยนสีโคโลนีไปจากเดิม เช่น ในตัวอย่างที่ 6 เปลี่ยนสีจากแดงเป็นชมพู เชื้อที่แยกได้หมายเลข 7 เปลี่ยนจากสีส้มเป็นสีน้ำตาลอมแดง และ เชื้อหมายเลข 9 เปลี่ยนสีจากน้ำตาลเป็นสีแดง การเปลี่ยนสีของโคโลนีอาจจะเกิดจากการขาดแร่ธาตุบางชนิด ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์สารที่ให้สีต่าง ๆ ซึ่งเดิมเชื้อที่แยกได้นี้เคยเจริญในอาหาร G_5 ซึ่งมีสารต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเมตาโบลิซึมครบถ้วน เมื่อนำมาเลี้ยงใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

N-free malate medium ซึ่งมีแร่ธาตุในปริมาณที่น้อยกว่า จึงทำให้อาจเกิดการขาดแคลนแร่ธาตุที่จะใช้สังเคราะห์สารต่าง ๆ ในเซลล์ได้

เชื้อที่ทำให้บริสุทธิ์ใน Basal medium agar ภายใต้สภาพบรรยากาศของไนโตรเจน แบคทีเรียที่จะเจริญได้ในสภาพแบบนี้จะต้องสามารถตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศได้ สังเคราะห์แสงและเจริญในสภาพอุณหภูมิสูงด้วย จุลินทรีย์อื่นที่ไม่มีคุณสมบัติดังกล่าวจะไม่สามารถเจริญได้ ดังนั้น จึงมีแต่แบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ชอบอุณหภูมิสูงเท่านั้นที่เจริญในสภาพดังกล่าวได้ เชื้อหมายเลข 6 ไม่สามารถเจริญในสภาพดังกล่าวได้ แม้ว่าจะได้ทำการทดลองถึง 3 ครั้งก็ตาม ซึ่งแสดงว่าเชื้อนี้อาจจะมีคุณสมบัติอย่างใดอย่างหนึ่งด้อยเกินไป เช่น nitrogenase activity ต่ำมาก การตรึงไนโตรเจนจึงเกิดขึ้นน้อยมาก หรือไม่สามารถทนอุณหภูมิสูงใน dessicator ได้ ทั้งนี้เนื่องจาก dessicator ทำด้วยแก้วที่มีความหนามาก จึงจุความร้อนมาก อุณหภูมิใน dessicator จึงสูงกว่าใน environmental chamber คือ มีอุณหภูมิประมาณ 48 °ซ ดังนั้น เชื้อที่เจริญในสภาพแวดล้อมนี้ได้จะมีเฉพาะแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ชอบอุณหภูมิสูงเท่านั้น เชื้อที่แยกได้ในขั้นนี้จัดว่าเป็นการทำเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วสามารถเก็บไว้เป็น stock culture ได้

ในการวัดอัตราการเจริญของเชื้อใน malate-glutamate medium ซึ่งมี malate เป็นแหล่งคาร์บอน glutamate เป็นแหล่งไนโตรเจน มีแร่ธาตุและวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญอย่างพอเพียง เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเชื้อที่แยกได้กับ Rp. sphaeroides (B_5) แล้วพบว่าเชื้อที่แยกได้ 8 เชื้อ มีอัตราการเจริญสูงกว่า B_5 อีก 2 เชื้อ มีอัตราการเจริญต่ำกว่า B_5 ทั้งนี้ เพราะว่า B_5 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 °ซ (Kim et al. 1980) ส่วนเชื้อที่มีอัตราการเจริญต่ำกว่า B_5 นั้น อาจเป็นเพราะเชื้อยังไม่สามารถปรับตัวในการเจริญใน malate-glutamate medium ต้องเลี้ยงเชื้อตั้งต้นในอาหารดังกล่าวอย่างน้อย 10 รุ่นก่อน จึงสามารถปรับตัวได้ (Hillmer and Gest, 1977)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวัดอัตราการผลิตกาซไฮโดรเจนเปรียบเทียบกับ B_5 พบว่าเชื้อที่แยกได้ 8 เชื้อ มีอัตราการผลิตกาซไฮโดรเจนสูงกว่า B_5 ทั้งนี้ เนื่องจาก B_5 จะผลิตกาซไฮโดรเจนได้ดีที่อุณหภูมิ 40 °ซ (Kim et al. 1980) จากกราฟที่ 3 และ 4 จะพบว่า ในวันที่ 5 ของการทดลอง เชื้อที่แยกได้หมายเลข 3, 5.2 และ 12 มีอัตราการผลิตกาซไฮโดรเจนสูงสุด แต่วันที่ 6 ของการทดลองปริมาณกาซจะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสามารถใช้ H_2 ในขบวนการเมตาโบลิซึมได้ โดยอาศัย hydrogenase (Hillmer and Gest, 1977; Kim et al. 1980) จึงทำให้ปริมาณกาซลดลง จากการทดลองนี้จะพบว่าเชื้อที่มีอัตราการเจริญต่ำไม่จำเป็นต้องผลิตกาซไฮโดรเจนได้น้อยด้วย จะเห็นได้จากเชื้อหมายเลข 11 มีอัตราการเจริญต่ำกว่า B_5 แต่ผลิตกาซไฮโดรเจนได้มากกว่า B_5 เพราะการเจริญของเชื้อขึ้นอยู่กับระบบเอนไซม์หลายชนิดที่หน้าที่ในขบวนการเมตาโบลิซึม ถ้าเอนไซม์ตัวใดตัวหนึ่งทำงานบกพร่องไปจะส่งผลให้อัตราการเจริญเปลี่ยนแปลงไป สำหรับการผลิตกาซไฮโดรเจนนั้นอาศัย nitrogenase (Hillmer and Gest. 1977, Kim et al. 1980) เอนไซม์นี้ทำหน้าที่ผลิตกาซไฮโดรเจนในขณะที่ไม่ถูกยับยั้ง ดังนั้น อัตราการเจริญจึงไม่เกี่ยวข้องกับอัตราการผลิตกาซไฮโดรเจน

จากผลการทดสอบความสามารถในการใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน การใช้ sulfide และ thiosulfate เป็น electron donor ความต้องการสารช่วยการเจริญ การเจริญในที่มืด การย้อมสีกรัม และการย่อยสลายเจลาตินก็ประเมินได้ว่า เชื้อหมายเลข 2, 3, 8, 9, 11 และ 12 เป็น Rp. gelatinosa เชื้อหมายเลข 12 ไม่ได้ทดสอบการย่อยสลายเจลาตินแต่มีลักษณะสำคัญตรงตามข้อสรุปของ Clayton and Sistrom (1978) ทั้งนี้ เพราะเซลล์มีลักษณะเป็นรูปแท่ง, ติดสีกรัมลบ, สีโคโลนีเป็นสีเหลือง, ชมพู, น้ำตาล ใช้ citrate, glucose, mannose, malate, manitol

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

.pyruvate เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ต้องการ thiamine และ biotin (Clayton and Sistorm, 1978) เชื้อหมายเลข 5.2 และ 7 เป็น Rp. sulfidophila เพราะเซลล์มีลักษณะเป็นรูปแท่ง ติดสีกรัมลบ, สีโคโลนี เป็นสีน้ำตาล เหลือง แดง ใช้ citrate, glucose, mannose malate, pyruvate, sulfide และ thiosulfate ได้ ต้องการ biotin, nicotinic acid, thiamine และ P-aminobenzoic (Clayton and Sistorm, 1978) เชื้อหมายเลข 5.1 เป็น Rp. palustris เพราะเซลล์มีลักษณะเป็นรูปแท่ง ติดสีกรัมลบ, สีโคโลนีเป็นสีน้ำตาล-แดง ใช้ pyruvate, malate sulfide, thiosulfate ได้ ไม่สามารถใช้ citrate, glucose, sorbitol manitol ต้องการ P-aminobenzoic acid และ biotin (Clayton and Sistorm, 1978) เชื้อหมายเลข 1 เป็น Rp. capsulata เพราะเซลล์มีลักษณะเป็นรูปแท่ง, ติดสีกรัม, โคโลนีสีเหลือง น้ำตาล ใช้ pyruvate, malate glucose, mannose ไม่สามารถใช้ glutamate tartarate, citrate manitol ต้องการ thiamine, biotin และ nicotinic acid (Clayton and Sistorm, 1978)

แต่การวินิจฉัยนี้อาจจะมีข้อบกพร่องบางประการคือ

1. ลักษณะสำคัญคือ การติดของแฟลเจลล่านั้นมองไม่เห็นชัด เพราะเมื่อทำการย้อมแล้วเห็นไม่ชัด
2. เซลล์มีขนาดเล็ก วัดขนาด และดูรูปร่างไม่ชัดเจน
3. เชื้อบางเชื้อขาดการทดสอบคุณสมบัติที่สำคัญไป
4. การใช้แสงเพื่อควบคุมอุณหภูมิทำได้ยาก เพราะขาดอุปกรณ์บางอย่าง เช่น heater

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข้อเสนอแนะในการทดลอง

1. การวัดการผลิตกาซไฮโดรเจน โดยใช้ Syringe technique ลูกสูบและกระบอกสูบจะต้องพอดีกัน
2. ควรอัดกาซที่ทราบปริมาตรแน่นอนเข้าไปในไซริงค์ เพื่อจะทราบปริมาตรของกาซในไซริงค์ที่ลดลง เนื่องจากความดันซึ่งเกิดจากน้ำหนักของก้านสูบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved