

รายงานการวิจัย

การเจริญเติบโตของ *Clostridium acetobutylicum*

โดยการใช้กลีเซอรอลเป็นการตั้งต้น

Glycerol Fermentation of *Clostridium acetobutylicum*



หนังสือเป็นสมบัติของท่าน
โปรดช่วยกันรักษา

www.lib.kmitl.ac.th

สำนักหอสมุดกลาง โทร. 02-329-8544-5

นางสาววรภัทร์ สวงนไชยไผ่วงศ์

ACH
๑๑๓๓ ก
๒๕๕๔

b. 12๗2506๗
i.

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 139605
วันเดือนปี 11 พ.ย. 2558

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยเรื่อง “การเจริญเติบโตของ *Clostridium acetobutylicum* โดยการใช้กลีเซอรอลเป็นการตั้งต้น” ฉบับนี้ จัดทำขึ้นเพื่อรายงานผลการวิจัยแก่ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้กรุณาให้เงินทุนอุดหนุนการวิจัย ในประเภทเงินงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ 2554 ทำให้เกิดทีมงานวิจัยอันประกอบด้วยคณาจารย์และนักศึกษาในสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และสามารถดำเนินงานวิจัยลุล่วงไปได้ นอกจากนี้ยังต้องขอขอบคุณ ผศ.ดร. นพพล เล็กสวัสดิ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจวิเคราะห์หาสารต่างๆ โดยใช้เครื่อง HPLC พร้อมทั้งวิเคราะห์ผลให้เกิดความถูกต้องยิ่งขึ้น อนึ่งหากมีข้อผิดพลาดประการใดในรายงานฉบับนี้ ทางคณะผู้วิจัยต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
หัวหน้าโครงการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ชื่อโครงการ	การเจริญเติบโตของ <i>Clostridium acetobutylicum</i> โดยการใช้กลีเซอรอล เป็นการตั้งต้น
Research title	Glycerol Fermentation of <i>Clostridium acetobutylicum</i>
แหล่งเงิน	เงินวิจัยงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ	2554 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 300,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย	1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2553 ถึง 30 กันยายน 2554
ชื่อหัวหน้าโครงการ	ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
หน่วยงาน	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ ทหารลาดกระบัง โทร. 087-698-5528 email: vorapats@hotmail.com
คำสำคัญ	บิวทานอล, กลีเซอรอล, <i>Clostridium acetobutylicum</i> , การหมักใน สภาวะไร้อากาศ

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาถึงการเจริญเติบโต การใช้สารตั้งต้น และการสร้างผลิตภัณฑ์ของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 โดยการนำกลีเซอรอลซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตไบโอดีเซล มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์อย่างเดี่ยว หรือผสมกับกลูโคสในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อการผลิตบิวทานอล ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ นอกจากเอาไปใช้เป็นตัวทำละลาย ยังสามารถใช้แทนดีเซลและคีโรซีน แล้วเอาไปทำเป็นสารรักษาอาหารสัตว์ สารฆ่าเชื้อ และสารตั้งต้นเพื่อผลิตสารคาร์บอน 4 ตัวในอุตสาหกรรมเคมี

ในขั้นแรก ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโต การใช้สารตั้งต้น และการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 โดยทำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC และสูตร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 20 และ 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อทำการเปรียบเทียบทั้งการเจริญและการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อที่เพาะเลี้ยงในฟลาस्कที่สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจนของแต่ละสูตรอาหาร โดยบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 144 ชั่วโมง พบว่าอาหารสูตร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ทำให้เชื้อมีการเจริญเติบโตสูงสุดได้ 7.12×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ที่ 60 ชั่วโมง ต่อด้วยการทดลองใช้อาหารสูตร GYCC ที่มีปริมาณกลีเซอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนเวลาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้เผยแพร่ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ที่แตกต่างกัน (20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร) เพื่อดูผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลิตภัณฑ์ของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* ที่เพาะเลี้ยงในฟลาस्कที่สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจนของแต่ละสูตรอาหาร โดยบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 216 ชั่วโมง พบว่า ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 1.52×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร และพบการผลิตบิวทานอล เมื่อใช้ความเข้มข้นกลีเซอรอลเป็น 30 กรัมต่อลิตร เชื้อสร้างบิวทานอลความเข้มข้นสูงสุด 0.222 กรัมต่อลิตร เมื่อบ่มเขื่อนาน 144 ชั่วโมง

จากนั้น ทำการศึกษาเพื่อดูการเจริญเติบโต การใช้สารอาหาร และการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ภายใต้สภาวะนิ่งไร้อากาศ โดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโต การใช้แหล่งคาร์บอน และการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรีย เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่ความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acetobutylicum* TISTR 1462 สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งมีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตเท่ากับ 5.33×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร จึงได้ทำการศึกษหาอัตราส่วนกลีเซอรอลต่อกลูโคส โดยรวมความเข้มข้น 2 สารตั้งต้นนี้ให้ได้ 20 กรัมต่อลิตร ในการศึกษาขั้นต่อไป

เมื่อเติมกลีเซอรอลและ/หรือกลูโคสเป็นอัตราส่วนที่แตกต่างกัน (1:0, 1:1, 1:2, 2:1 และ 0:1) ในอาหาร GYCC พบว่า เชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่เติมกลีเซอรอล 1 ส่วน และกลูโคส 2 ส่วน โดยมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ 1.14×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของกระบวนการหมัก สำหรับการเลือกใช้แหล่งคาร์บอน จะเลือกใช้กลูโคสก่อนการใส่กลีเซอรอล และจะเลือกใช้แหล่งคาร์บอนปริมาณลดน้อยลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ของกระบวนการหมักเป็นต้นไป ซึ่งการที่เชื้อใช้กลูโคส ส่งผลให้ค่าพีเอชในระบบลดต่ำลง และเข้าสู่สภาวะคงที่หลังกระบวนการหมักดำเนินไป 48 ชั่วโมง เมื่อนำน้ำหมักมาวิเคราะห์ พบสารผลิตภัณฑ์ได้แก่ เอทานอล 1,3-โพรเพนไดออล อะซิโตน และแลคเตท ซึ่งพบเอทานอลเป็นสารผลิตภัณฑ์หลักในอาหารที่มีกลูโคส โดยพบมากที่สุดเท่ากับ 10.941 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 96 จากสูตรอาหารที่เติมกลูโคสเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร และ 1,3-โพรเพนไดออลตรวจพบได้ในทุกชุดทดลอง แต่พบมากที่สุดในการที่มีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน เท่ากับ 8.263 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 192 ของกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

Research title Glycerol Fermentation of *Clostridium acetobutylicum*
Scholarships Thai Budget for Research
Fiscal Year 2010 Research budget 300,000 Baht
Research period One year from 1st October 2010 to 30th September 2011
Researcher Vorapat Sanguanchaipaiwong, Ph. D.
Office Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's
 Institute of Technology Tel. 087-698-5528 Email:
 vorapats@hotmail.com
Keywords butanol, glycerol, *Clostridium acetobutyricum*, anaerobic
 cultivation

ABSTRACT

The studies of cell growth, substrate utilization and product synthesis of *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 using glycerol were performed in this research. Glycerol is a by-product from the bio-diesel production. To investigate whether glycerol could be transformed to butanol, it was added into *Clostridium* medium as a whole carbon source or mixed with glucose in different ratios. Butanol can be employed in many different ways, such as bio-fuel, solvent, feed additives, microbicides, C4 precursor in several chemical industries.

Initially, to examine *C. acetobutylicum* growth, substrate consumption, and product manufacture, GYCC medium was compared with a medium from Andrade and Vasconcelos (2003) using glucose 20 and 50 g/L. The culture was anaerobically incubated at 30 °C for 144 hours. The maximum cell growth (7.12×10^7 CFU/mL) was obtained when adding 50 g/L glucose in GYCC medium at 60 hours of cultivation.

Following these results, GYCC medium was selected to investigate the optimal initial glycerol concentration (20, 30, 40 and 50 g/L) for the optimum *Clostridium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้เฉพาะเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุยอนุญาตให้ทำงใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

acetobutylicum growth and product synthesis. These anaerobic *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 were cultivated in 250-mL flasks at 30 °C for 216 hours. The addition of 40 g/L glycerol into GYCC medium without glucose presented the viable cell concentration of 1.52×10^8 CFU/mL. However, butanol was not found.

Consequently, to investigate the optimal initial glucose concentration in GYCC medium, the glucose concentrations of 10, 20, 30, 40 and 50 g/L were added to compare the optimum *C. acetobutylicum* growth and product synthesis. It was found that the maximum viable cell number (5.33×10^7 CFU/mL) resulting from the addition of 20 g/L glucose. The suitable ratios of glycerol and glucose analysis were carried on by utilizing total carbon source concentration of 20 g/L. After the addition of glycerol:glucose in the various ratios (1:0, 1:1, 1:2, 2:1 and 0:1), this *Clostridium* cell concentration was increased to 1.14×10^8 CFU/mL within 48 hours of cultivation when using the glycerol:glucose ratio of 1:2. From the time profile, *Clostridium acetobutylicum* employed all glucose before used glycerol. This bacterium utilized less carbon source after 48 hours and reached stationary phase at approximately same time. The pH was decreased. The products from these experiments were ethanol, 1,3-propanediol, acetone and lactate. However, the highest amount of ethanol was discovered when adding 40 g/L glucose into GYCC medium. The 1,3-propanediol was obtained from all experiments. The maximum 1,3-propanediol concentration (8.263 g/L) was observed in GYCC medium which added glycerol at 192 hours of fermentation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทคัดย่อภาษาไทย	II
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	IV
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	IX
สารบัญรูป	XV
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 บิวทานอล (Butanol)	5
2.1.1 ข้อมูลทั่วไป	5
2.1.2 ประวัติของบิวทานอล	6
2.1.3 ประโยชน์ของบิวทานอล	6
2.1.4 คุณสมบัติของบิวทานอล	6
2.1.5 กระบวนการผลิตบิวทานอล	10
2.2 กลูโคส (Glucose)	11
2.2.1 แหล่งที่มา	12
2.2.2 คุณสมบัติของกลูโคส	13
2.2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อการใช้กลูโคสในการผลิตบิวทานอล	14
2.3 กลีเซอรอล (Glycerol)	15
2.3.1 ประวัติของกลีเซอรอล	15
2.3.2 ประโยชน์ของกลีเซอรอล	16
2.3.3 คุณสมบัติของกลีเซอรอล	16
2.3.4 การสังเคราะห์กลีเซอรอล	18
2.3.5 เมทาบอลิซึมของกลีเซอรอล	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4 กระบวนการหมักอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอล	32
2.4.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก	32
2.4.2 กระบวนการทางชีวเคมีของการหมัก	34
2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก	34
2.5 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i>	38
2.5.1 อนุกรมวิธาน	38
2.5.2 สัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา	39
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตบิวทานอล	41
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	51
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	51
3.2 สารเคมี	51
3.3 อุปกรณ์	52
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ	52
3.4.1 อาหาร Reinforced Clostridial	52
3.4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ <i>Clostridium acetobutylicum</i> สูตรที่ 1	53
3.4.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ <i>Clostridium acetobutylicum</i> สูตรที่ 2	54
3.5 การเพาะเลี้ยงเชื้อ	54
3.5.1 การเตรียมหัวเชื้อ	54
3.5.2 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสม	55
3.5.3 การหาปริมาณกลีเซอรอลที่เหมาะสม	55
3.5.4 การหาปริมาณกลูโคสที่เหมาะสม	56
3.5.5 การหาอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสที่เหมาะสม	56
3.6 การวิเคราะห์ตัวอย่าง	57
3.6.1 การตรวจวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิต	57
3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Miller, 1959)	57
3.6.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารผลิตภัณฑ์	58
3.6.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	59
4.1 การเปรียบเทียบอาหาร 2 สูตร ระหว่างอาหารสูตร Glucose-yeast extract-casein-cysteine (GYCC) และอาหารของ Andrade และ Vasconcelos (2003)	60
4.1.1 ผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	60
4.1.2 ผลของอาหารต่อการใช้สารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์	68
4.1.3 ผลของอาหารต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์	76
4.2 การหาความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่เหมาะสม	79
4.2.1 ผลของความเข้มข้นกลีเซอรอลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์	79
4.2.2 ผลของความเข้มข้นกลีเซอรอลต่อการใช้สารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์	88
4.2.3 ผลของความเข้มข้นกลีเซอรอลต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์	95
4.3 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม	107
4.3.1 ผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์	107
4.3.2 ผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการใช้สารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์	120
4.3.3 ผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์	131
4.4 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม	142
4.4.1 ผลของอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์	142
4.4.2 ผลของอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสต่อการใช้สารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์	153
4.4.3 ผลของอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์	167
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	179
เอกสารอ้างอิง	183

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และสงวนไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำเนื้อหาไปใช้เพื่อการค้า
 ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล คำนวณแหล่งคาร์บอน และกราฟมาตรฐานไปใช้ปรับ 194
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณสมบัติทางกายภาพของบิวทานอล	7
2.2 ชื่อเรียกและสูตรโมเลกุลของบิวทานอล	8
2.3 คุณสมบัติทางพลังงานของน้ำมันแก๊สโซลีน บิวทานอล เอทานอล และเมทานอล	10
2.4 คุณสมบัติทางเคมีของกลูโคส	13
2.5 การใช้ประโยชน์จากกลีเซอรอล	17
2.6 คุณสมบัติทางกายภาพของกลีเซอรอล	18
2.7 คุณสมบัติทางเคมีของกลีเซอรอล	19
2.8 มาตรฐานของสารกลีเซอรอลตามอุตสาหกรรมที่มีการนำไปใช้	21
2.9 รายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกลีเซอรอล	26
4.1 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	61
4.2 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	63
4.3 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	65
4.4 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	67
4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	69
4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	71

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.7	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	73
4.8	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	75
4.9	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	77
4.10	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่เติมกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	79
4.11	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	81
4.12	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	83
4.13	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	85
4.14	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	87
4.15	ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ภายในห้องเรียนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.16 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	91
4.17 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	93
4.18 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	95
4.19 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	97
4.20 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	100
4.21 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	102
4.22 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	104
4.23 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของกลีเซอรอลที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง	105
4.24 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของกลีเซอรอลที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> เมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมง	106
4.25 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	109

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.26 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มี กลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	111
4.27 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มี กลูโคส 30 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	113
4.28 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มี กลูโคส 40 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	115
4.29 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มี กลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	117
4.30 ผลของการศึกษาความเข้มข้นกลูโคสที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC โดยแสดง เป็นจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่สูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 ของการเพาะเลี้ยงแต่ละความเข้มข้นของกลูโคส บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	120
4.31 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	121
4.32 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	124
4.33 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 30 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	126
4.34 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 40 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	128

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.35	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	130
4.36	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	133
4.37	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	135
4.38	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	137
4.39	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	139
4.40	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	140
4.41	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	143
4.42	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	146
4.43	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	148

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนและวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังได้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.44 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	150
4.45 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	152
4.46 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	155
4.47 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	157
4.48 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	160
4.49 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	163
4.50 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	165

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.51	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	169
4.52	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	171
4.53	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	173
4.54	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	175
4.55	สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน	177
ก.1	ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	194

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	โครงสร้างทางเคมีของบิวทานอล	5
2.2	ค่า Octane rating ของน้ำมันเบนซินธรรมดาเมื่อผสมบิวทานอลลงไปในอัตราส่วนต่างกัน	9
2.3	การผลิตบิวทานอลจากกระบวนการหมัก	11
2.4	สูตรโครงสร้างทางเคมีของกลูโคส	14
2.5	ปฏิกิริยาเคมีในการผลิตกรดไขมันจากน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์	16
2.6	สูตรโครงสร้างของกลีเซอรอล	19
2.7	เมทาบอไลซึมของจุลินทรีย์ที่สร้างกลีเซอรอล	25
2.8	ภาพการหมักกลีเซอรอลที่ส่วนหนึ่งเป็นการสร้าง 1,3-โพเพนไดออล	28
2.9	วิธีสำหรับการเจริญและการผลิต DHA โดย <i>C. oxydans</i> ในกลีเซอรอล membrane-bound glycerol dehydrogenase นำไปสู่การผลิตนอกเซลล์ของ DHA และใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับสุดท้ายของอิเล็กตรอนและมีค่าเท่ากับการรีดิวซ์โดยค่าเฉลี่ยของ Ubiquinone และ Cytochrome O ส่วน DHA-P ถูกกระตุ้นโดยค่าเฉลี่ยของวิถี pentose-phosphate	29
2.10	ภาพรวมของผลพลอยได้ที่อาจได้ในการใช้จุลินทรีย์ต่างๆ ระหว่างการเพาะเลี้ยงด้วยกลีเซอรอล	31
2.11	ลักษณะของ <i>C. beijerinckii</i> JCM 1390 ระหว่างการหมักในอาหารอุดม (P2 medium) เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 100 เท่า	32
2.12	ลักษณะสปอร์ของ <i>C. beijerinckii</i> JCM 1390 ซึ่งถูกเก็บไว้ในน้ำกลั่นเมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 1000 เท่า	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.13	36
<p>วิธีการสร้างอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล ของ <i>C. acetobutylicum</i> ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ดังนี้: HYDA แทนไฮโดรจีเนส (hydrogenase) PTA แทนฟอสโฟทรานสอะซีทิลเลส (phosphotransacetylase) AK แทนอะซีเตทไคเนส (acetate kinase) THL แทนไทโอเลส (thiolase) CoAT แทนอะซีโตอะซีติล-โคเอ:อะซีเตต-บิวทิเรต:โคเอทรานสเฟอเรส (acetoacetyl-CoA:acetate-butyrate:CoA transferase) AADC แทนอะซีโตอะซีเตท ดีคาร์บอกซิเลส (acetoacetate decarboxylase) BHBD แทนเบต้า-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ ดีไฮโดรจีเนส (β-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase) CRO แทนโครโทเนส (crotonase) BCD แทนบิวทิริล-โคเอ ดีไฮโดรจีเนส (butyryl-CoA dehydrogenase) PTB แทนฟอสโฟทรานสบิวทิเรส (phosphotransbutylase) BK แทนบิวทิเรท ไคเนส (butyrate kinase) AAD แทนอัลดีไฮด์/แอลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde/ alcohol dehydrogenase) BDHA&BDHB แทนบิวทานอล ดีไฮโดรจีเนส เอ และบิวทานอล ดีไฮโดรจีเนส บี (butanol dehydrogenase A & butanol dehydrogenase B)</p>	
2.14	39
<p>ภาพของ <i>Clostridium acetobutylicum</i></p>	
2.15	44
<p>วัฏจักรของกระบวนการสลายกลูโคสของ <i>Clostridium acetobutylicum</i> เส้นที่บ และเส้นประแสดงถึงปฏิกิริยาตอบสนองภายในเซลล์ และกระบวนการขนถ่ายตามลำดับ จำนวนของปฏิกิริยาจะแสดงในวงเล็บ เอนไซม์จะแสดงโดยเลข EC</p>	
4.1	60
<p>จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)</p>	
4.2	62
<p>จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)</p>	
4.3	64
<p>จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Andrade และ Vasconcelos ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)</p>	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษานานาชาติเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.4	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Andrade และ Vasconcelos ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	66
4.5	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	69
4.6	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	70
4.7	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร Andrade และ Vasconcelos ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	72
4.8	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร Andrade และ Vasconcelos ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	74
4.9	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△ 1,3-โพเพนไดออล □ เอทานอล)	76
4.10	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△ 1,3-โพเพนไดออล □ เอทานอล + กรดบิวทริก)	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.11 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	80
4.12 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	82
4.13 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	84
4.14 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	86
4.15 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (☒ ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	88
4.16 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (☒ ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	90
4.17 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (☒ ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.18	ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (☒ ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	94
4.19	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล + กรดบิวทิริก ○ อะซิโตน — บิวทานอล)	96
4.20	วิธีชีวเคมีของการหมักกลีเซอรอลไปเป็นสาร 1,3-โพรเพนไดออล และโพรเวต ซึ่งการใช้โพรเวตจะแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ แบคทีเรียกลุ่มคลอสทิดีเยสสร้างบิวทิเรตและบิวทานอล ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียผลิต 2,3-บิวเทนไดออลด้วยส่วนอะซิเตตหรืออะซิโตนกับเอทานอลถูกสร้างในแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม	98
4.21	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล + กรดบิวทิริก ○ อะซิโตน — บิวทานอล)	99
4.22	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล)	101
4.23	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล)	103
4.24	ผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่สูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> ที่ 72 ชั่วโมง (●) และที่ 96 ชั่วโมง (■)	106
4.25	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD _{600nm})	108

เอกสารนี้เป็นเอกสาร (OD_{600nm}) สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.26	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	110
4.27	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	112
4.28	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	114
4.29	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)	116
4.30	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตทั้งหมดสูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีกลูโคสความเข้มข้นระดับต่างๆ (10 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ต่อมิลลิลิตร)	119
4.31	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	121
4.32	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	123

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.33	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	125
4.34	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	127
4.35	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)	129
4.36	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล ◇ แลคเตท)	132
4.37	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล ◇ แลคเตท)	134
4.38	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล ○ อะซิโตน)	136
4.39	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล)	138

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.40	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพเพนไดออล \square เอทานอล \circ อะซิโตน)	140
4.41	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วน คาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (\blacklozenge จำนวนเซลล์ \blacksquare OD 600 nm)	143
4.42	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วน คาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (\blacklozenge จำนวนเซลล์ \blacksquare OD 600 nm)	145
4.43	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วน คาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (\blacklozenge จำนวนเซลล์ \blacksquare OD 600 nm)	147
4.44	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วน คาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (\blacklozenge จำนวนเซลล์ \blacksquare OD 600 nm)	149
4.45	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วน คาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (\blacklozenge จำนวนเซลล์ \blacksquare OD 600 nm)	151
4.46	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอน ระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยง เชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (\times ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ \blacktriangle ค่าความเป็นกรดต่าง)	154

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.47	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (× ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ <input checked="" type="checkbox"/> ปริมาณกลีเซอรอล <input checked="" type="checkbox"/> ค่าความเป็นกรดต่าง)	156
4.48	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (× ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ <input checked="" type="checkbox"/> ปริมาณกลีเซอรอล <input checked="" type="checkbox"/> ค่าความเป็นกรดต่าง)	159
4.49	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (× ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ <input checked="" type="checkbox"/> ปริมาณกลีเซอรอล <input checked="" type="checkbox"/> ค่าความเป็นกรดต่าง)	162
4.50	ปริมาณกลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (<input checked="" type="checkbox"/> ปริมาณกลีเซอรอล <input checked="" type="checkbox"/> ค่าความเป็นกรดต่าง)	165
4.51	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△ 1,3-โพร-เพนไดออล <input type="checkbox"/> เอทานอล <input type="checkbox"/> แลคเตท)	168
4.52	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△ 1,3-โพร-เพนไดออล <input type="checkbox"/> เอทานอล)	170

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.53	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพร-เพนไดออล <input type="checkbox"/> เอทานอล)	172
4.54	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพร-เพนไดออล <input type="checkbox"/> เอทานอล <input checked="" type="radio"/> อะซิโตน)	174
4.55	ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>Clostridium acetobutylicum</i> TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพร-เพนไดออล <input type="checkbox"/> เอทานอล <input checked="" type="radio"/> อะซิโตน)	176
ก.1	กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DNS	195
ก.2	กราฟมาตรฐานของกลูโคสจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	196
ก.3	กราฟมาตรฐานของกลีเซอรอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	197
ก.4	กราฟมาตรฐานของกรดแลคติกจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	197
ก.5	กราฟมาตรฐานของกรดโพรพิโอนิกจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	198
ก.6	กราฟมาตรฐานของเมทานอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	198
ก.7	กราฟมาตรฐานของบิวทานอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	199
ก.8	กราฟมาตรฐานของอะซิโตนจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	199
ก.9	กราฟมาตรฐานของกรดอะซิติกจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	200
ก.10	กราฟมาตรฐานของเอทานอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	200
ก.11	กราฟมาตรฐานของโพรพานอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	201
ก.12	กราฟมาตรฐานของ 1,3-โพร-เพนไดออลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	201

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย

ในปัจจุบันมีความนิยมที่จะผลิตเอทานอลและไบโอดีเซลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนมากขึ้น ในกระบวนการผลิตพลังงานทดแทนเหล่านี้จะมีกลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการ เช่น การผลิตเอทานอลจากยีสต์ (Petitdemange และคณะ, 1995; Wang และคณะ, 2001 และ Antoni และคณะ, 2007) การผลิตไบโอดีเซล (Barbirato และคณะ, 1997a; Biebl และคณะ, 1999; Andrade และ Vasconcelos, 2003; Chiu และคณะ, 2006 และ Gonzalez-Pajuelo และคณะ, 2006) รวมถึงกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับไขมัน (Petitdemange และคณะ, 1995 และ Wang และคณะ, 2001) โดยมีชื่อสารเคมีของกลีเซอรอลตามระบบ IUPAC คือ โพรเพน-1, 2, 3-ไตรออล (Wang และคณะ, 2001) สารนี้ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง สี ยานยนต์ อาหาร ยาสูบ ยา กระจกและเยื่อกระดาษ เครื่องหนัง และสิ่งทอ (da Silva และคณะ, 2009)

ดังนั้น ในอนาคตอาจมีกลีเซอรอลมากเกินไปกว่าความต้องการของตลาด จึงควรมีการวิจัยเพื่อนำกลีเซอรอลไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เพื่อให้ได้สารต่างๆ เช่น บิวทานอล (Forsberg, 1987; Biebl, 2001 และ Andrade และ Vasconcelos, 2003) ซึ่งมีค่าออกเทนใกล้เคียงกับน้ำมันเบนซิน และมีคุณสมบัติที่ดีกว่าเอทานอลตรงที่แยกตัวออกจากร้ำมันเบนซินน้อยกว่า (Graboski, 2003 และ Smith and Workman, 2007) นอกจากนี้ สารนี้ยังสามารถนำไปใช้แทนเมทานอลในกระบวนการผลิตไบโอดีเซลด้วย (Antoni และคณะ, 2007) สารต่อมา คือ 1,3-โพรเพนไดออล (Barbirato และ Bories, 1997; Biebl และคณะ, 1999; Chen และคณะ, 2003 และ Gonzalez-Pajuelo และคณะ, 2006) ซึ่งสามารถนำไปผ่านการสังเคราะห์ทางเคมี ให้เป็นโพลีเอสเตอร์ พลาสติก poly(trimethylene terephthalate) (Allen และคณะ, 2000) โพลีเมอร์นี้มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะนำไปใช้กับอุตสาหกรรมสิ่งทอและไฟเบอร์ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ([Anon], 2001a; [Anon], 2001b; Alperowicz, 2001) โพลีอีเทอร์ และโพลียูรีเทน (Biebl และคณะ, 1999) และไดไฮดรอก

เอกสารนี้ เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
 ไม่ว่ากรณีใด ๆ ที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้แต่เพียงผู้เดียว และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

มีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถใช้กลีเซอรอลในเมทาบอลิซึมได้ (Amaral และคณะ, 2009) แต่มีไม่กี่สายพันธุ์ที่ใช้กลีเซอรอลในการหมักได้ เช่น สายพันธุ์ *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* และ *Clostridium* (Yazdani และ Gonzalez, 2007) แบคทีเรียคลาสที่มีการศึกษาว่าสามารถผลิตบิวทานอลได้ตามธรรมชาติคือคลาส Clostridia และสายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษามากและได้รับการยืนยันชื่อตั้งแต่ปีค.ศ. 1926 คือ *Clostridium acetobutylicum* (McCoy และคณะ, 1926) แบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถใช้สับสเตรทได้หลากหลายทั้งกลูโคส แป้งสตาร์ช ไชแลน แต่ใช้เซลลูโลสไม่ได้ (Durre, 1998) และมีการหมักอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล (acetone-butanol-ethanol fermentation) ต่อมาพบว่าแบคทีเรีย *C. beijerinckii* (ชื่อเดิม *C. butylicum*) มีการผลิตอะซิโตน บิวทานอล ไอโซโพรพานอล (acetone-butanol-isopropanol) ได้ เพียงแต่บางสายพันธุ์ของ *C. beijerinckii* อาจไม่สร้างไอโซโพรพานอล (George และคณะ, 1983) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าแบคทีเรีย *C. pasteurianum* ก็สังเคราะห์อะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลได้ ถ้าหากใช้กลูโคสความเข้มข้นสูง หรือหากใช้กลีเซอรอล *C. pasteurianum* จะผลิตบิวทานอล 1,3-โพรเพน-ไดออล และเอทานอล ซึ่งปริมาณของ 1,3-โพรเพนไดออลจะสูงกว่าปริมาณของบิวทานอล (Dabrock และคณะ, 1992; Biebl, 2001) อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียคลาส Clostridia อาจสูญเสียความสามารถในการผลิตตัวทำละลายเหล่านี้ได้ถ้าทำการหมักต่อเนื่องเป็นเวลานาน เนื่องจากพลาสมิด pSOL1 หายไป (Lee และคณะ, 2008) แต่ป้องกันปรากฏการณ์นี้ได้ในเชื้อ *C. acetobutylicum* โดยใช้สถานะจำกัดฟอสเฟต ขณะทำการเพาะเลี้ยง (Lee และคณะ, 2008)

เมื่อทำการเปรียบเทียบรายงานความเข้มข้นของบิวทานอลที่แบคทีเรีย *Clostridium* ทั้ง 3 สายพันธุ์ผลิตได้ในการเพาะเลี้ยงแบบกะ (batch) นั้น (George และคณะ, 1983; Shaheen และคณะ, 2000; Biebl, 2001; Andrade and Vasconcelos, 2003) พบว่า *C. acetobutylicum* มีความสามารถในการผลิตบิวทานอลสูงที่สุดเมื่อค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อลดต่ำลง เพราะมีการสร้างกรดอะซิติกและกรดบิวทริกก่อน แต่ pH ต้องไม่ต่ำกว่า 4.5 (Vasconcelos และคณะ, 1994; Maddox และคณะ, 2000; Lee และคณะ, 2008) นอกจากนี้ *C. acetobutylicum* สามารถใช้กลีเซอรอลเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำให้เกิดการสังเคราะห์บิวทานอลมากขึ้นด้วยเมื่อเทียบกับการใช้กลูโคสเป็นสับสเตรทอย่างเดียว (Vasconcelos และคณะ, 1994) แต่ถ้าหากเป็นการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องต้องใช้กลีเซอรอลร่วมกับกลูโคสเป็นสารตั้งต้น (Andrade และ Vasconcelos, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่สามารถนำเอกสารนี้ไปใช้ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

Pajuelo และคณะ, 2005) ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Forsberg ในปีค.ศ. 1987 ที่รายงานว่า *C. acetobutylicum* สามารถใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งอาหารเพียงอย่างเดียวได้ แต่ทั้งสองรายงานเป็นการศึกษาเพื่อการผลิตสาร 1,3-โพรเพนไดออล จึงเป็นที่น่าสนใจศึกษาว่า *C. acetobutylicum* สามารถใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งอาหารในการเพาะเลี้ยงเพื่อการผลิตบิวทานอลเพียงอย่างเดียวได้หรือไม่

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการใช้กลีเซอรอลเป็นสารอาหารของ *Clostridium acetobutylicum* โดยเปรียบเทียบกับการใช้ร่วมกับกลูโคส และกลูโคสเพียงอย่างเดียว
2. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แบบกะ (batch) ให้ได้บิวทานอลความเข้มข้นสูง

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตบิวทานอลจากเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISIR 1462 โดยใช้สูตรอาหารที่ต่างกันคือสูตรแรกจะเป็นอาหารของ Andrade และ Vasconcelos (2003) สูตรที่สองเป็นสูตรอาหาร GYCC โดยเลี้ยงเชื้อที่สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (anaerobic) ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีอาหารอยู่ 45 มิลลิลิตร และกลูโคสเข้มข้น 20 และ 50 กรัมต่อลิตร จากนั้น หากเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารสูตรไหน จึงทำการหาความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตบิวทานอลของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* ต่อมาทำการเติมกลูโคสความเข้มข้นตั้งแต่ 10 ถึง 50 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร เพื่อนำความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ ไปศึกษาอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสที่เติมลงในอาหารที่เลี้ยงเชื้อ ในปริมาณรวมตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสม โดยอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคสเป็น 1:0, 1:1, 1:2, 2:1 และ 0:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบว่า *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 สามารถใช้กีสเชอรอลเป็นแหล่งอาหารเพียงอย่างเดียว หรือต้องใช้กลูโคสเป็นแหล่งอาหารร่วมด้วย
2. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ให้ได้บิวทานอลความเข้มข้นสูง
3. เป็นแนวทางในการพัฒนางานวิจัยเรื่องนี้ในขั้นต่อนต่อไป คือ การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับการขยายขนาดสู่การผลิตในระดับโรงงานต้นแบบต่อไป
4. เป็นการพัฒนานักวิจัยและเทคโนโลยีเพื่อให้รองรับกับการเติบโตของอุตสาหกรรมด้านพลังงานของประเทศในอนาคต
5. เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการสร้างรายได้ และลดการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

2.1.2 ประวัติของบิวทานอล

บิวทานอลถูกค้นพบครั้งแรกครั้งแรกในปี ค.ศ. 1861 โดย Pasteur โดยใช้จุลินทรีย์เป็นครั้งแรก ต่อมาในปี ค.ศ. 1905 Sehardinger ได้ค้นพบผลิตภัณฑ์ที่เกิดร่วมกับบิวทานอลในการหมักคือ อะซิโตน ต่อมากระบวนการหมักอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล ได้ถูกพัฒนาขึ้นเนื่องจากเกิดปัญหาการขาดแคลนยางธรรมชาติ โดยบิวทานอลเป็นสารตั้งต้นของบิวทาไดอิน ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตยางสังเคราะห์ (Jones และ Woods, 1986)

ในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 1 อุตสาหกรรมมีความต้องการอะซิโตนมากขึ้น เนื่องจากมีความสำคัญในการเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตระเบิด ต่อมาภายหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 กระบวนการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์โดยการหมัก ได้รับความสนใจน้อยลงเพราะความสนใจน้อยลงเพราะการเจริญของอุตสาหกรรมปิโตรเคมี เมื่อปี ค.ศ. 1973 และ ค.ศ. 1979 เป็นต้นมา (สุนทร, 2537)

2.1.3 ประโยชน์ของบิวทานอล

ในปัจจุบันบิวทานอลถูกใช้งานในลักษณะของตัวทำละลายอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมสิ่งทอและอุตสาหกรรมเคมี อีกทั้งใช้เป็นสารตั้งต้นของทินเนอร์ อีกทั้งยังใช้บิวทานอลในการเป็นตัวทำละลายที่ต้องการระเหยช้า เนื่องจากบิวทานอลมีจุดเดือด จุดหลอมเหลวที่สูงกว่าเมทานอลและเอทานอล

นอกจากนี้บิวทานอลยังใช้เป็นสolvant ประกอบในน้ำหอม และในปัจจุบันนี้บิวทานอลมีแนวโน้มว่าจะถูกใช้เป็นเชื้อเพลิงมากขึ้น ซึ่งบิวทานอลสามารถใช้เชื้อเพลิงได้โดยตรง โดยไม่เป็นอันตรายต่อเครื่องยนต์ที่ปริมาณบิวทานอลความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในความเข้มข้นสูงปริมาณนี้ของเอทานอลนั้นไม่สามารถใส่ในเครื่องยนต์ได้โดยไม่ดัดแปลงเครื่องยนต์ บิวทานอลมีความร้อนมากกว่าเอทานอลและมีความร้อนใกล้เคียงกับแก๊สโซลีน

2.1.4 คุณสมบัติของบิวทานอล

2.1.3.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

บิวทานอลมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังแสดงตามตารางที่ 2.1

2.1.3.2 คุณสมบัติทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในวงเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

บิวทานอลมีชื่อเรียกทั่วไปและทางเคมี ดังแสดงตามตารางที่ 2.2

2.1.3.3 คุณสมบัติทางด้านพลังงาน

การเปลี่ยนรูปพลังงานที่ได้จากบิวทานอลจะเหมือนกับแอลกอฮอล์ตัวอื่นๆ กล่าวคือ

1. ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรง ทดแทนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล
2. นำไปผสมกับน้ำมันเบนซิน (Gasohol)
3. นำไปผสมกับน้ำมันดีเซล (Desohol)
4. ใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันเบนซิน เนื่องจากเอทานอลมีค่าออกเทนสูง
5. ค่าออกเทน จะเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของเอทานอลที่ใช้ผสมในน้ำมันเบนซิน
6. ใช้ผลิตกระแสไฟฟ้าจาก fuel cell แต่อยู่ในขั้นการวิจัย แต่มีแนวโน้มได้ผลดีกว่าการใช้แอลกอฮอล์ตัวอื่นๆ

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางกายภาพของบิวทานอล

คุณสมบัติทางกายภาพ	ค่าพารามิเตอร์
สถานะ	ของเหลวใส
สี	ใส ไม่มีสี
กลิ่น-รส	คล้ายเอทานอล
น้ำหนักโมเลกุล	74.12
จุดเดือด	117 องศาเซลเซียส
จุดหลอมเหลว	-89.5 องศาเซลเซียส
ความดันไอ	7.3 มิลลิปรอท ที่ 20 องศาเซลเซียส
ความถ่วงจำเพาะ	0.810 ที่ 20 องศาเซลเซียส
ความหนาแน่น(กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)	0.809 - 0.812 ที่ 20 องศาเซลเซียส
ความหนาแน่นของไอ	2.6
ความสามารถในการละลายน้ำ	7.7 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 20 องศาเซลเซียส
อัตราการระเหย	0.5
ความเป็นกรดต่าง (pH)	ไม่มีข้อมูล

ที่มา: [http://www.apcbkk.com/file/thai/Alcohol%20Group/n-Butanol%20\(NBA\).pdf](http://www.apcbkk.com/file/thai/Alcohol%20Group/n-Butanol%20(NBA).pdf)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า (01/04/2554)

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 2.2 ชื่อเรียกและสูตรโมเลกุลของบิวทานอล

ชื่อ IUPAC	1-บิวทานอล (1-Butanol)
ชื่อทั่วไป	เอ็น-บิวทานอล (n-Butanol) เอ็นบีเอ (NBA) , บิวทิว แอลกอฮอล์ (Butyl Alcohol)
ชื่อพ้องอื่นๆ	บิวทาน-1-อล (Butan-1-ol)
สูตรโมเลกุล	C_4H_9OH

ที่มา: [http://www.apcbkk.com/file/thai/Alcohol%20Group/n-Butanol%20\(NBA\).pdf](http://www.apcbkk.com/file/thai/Alcohol%20Group/n-Butanol%20(NBA).pdf)
(01/04/2554)

คุณสมบัติในการรวมตัวของบิวทานอลกับน้ำมัน

บิวทานอลสามารถรวมตัวกับน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซลได้เป็นอย่างดีในทุกส่วนผสม และ
ไม่ปรากฏการแยกตัวถึงแม้ตั้งทิ้งไว้นาน

ก) คุณสมบัติในการรวมตัวของบิวทานอลกับน้ำมัน

บิวทานอลสามารถรวมตัวกับน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซลได้เป็นอย่างดีในทุกส่วนผสม และ
ไม่ปรากฏการแยกตัวถึงแม้ตั้งทิ้งไว้นาน

ข) ค่าออกเทน (octane rating)

ค่าออกเทน (octane rating) ของบิวทานอลมีค่าประมาณ 100 เมื่อผสมน้ำมันกับบิวทานอล
ค่าออกเทนของน้ำมันเบนซินเพิ่มขึ้นในอัตราที่น่าสนใจ กล่าวคือ ค่าออกเทนจะเพิ่มขึ้น 2.5 เท่าต่อ
การเติมบิวทานอลทุกร้อยละ 10 โดยปริมาตรของบิวทานอลที่ผสม ดังจะเห็นได้จากรูปที่ 2.2 ทั้งนี้
อัตราเพิ่มของค่าออกเทนจะลดลงเล็กน้อย เมื่อส่วนผสมเพิ่มมากกว่าร้อยละ 50 แสดงให้เห็นว่าบิวทา
นอลสามารถใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทน (octane improver) แทนที่สารตะกั่วหรือสาร MTBE
(Methyl Tertiary Butyl Ether) เป็นสารเคมีที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ ผลิตขึ้นได้จากปฏิกิริยา
ทางเคมีระหว่าง Methanol และ Isobutane ได้ ซึ่งในอัตราส่วนร้อยละ 20 โดยปริมาตร จะทำให้
น้ำมันเบนซินธรรมดาในท้องตลาดประเทศไทยมีค่าออกเทนประมาณ 91 ซึ่งเพียงพอกับเครื่องยนต์
ส่วนใหญ่ที่ใช้กันทั่วไปในประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

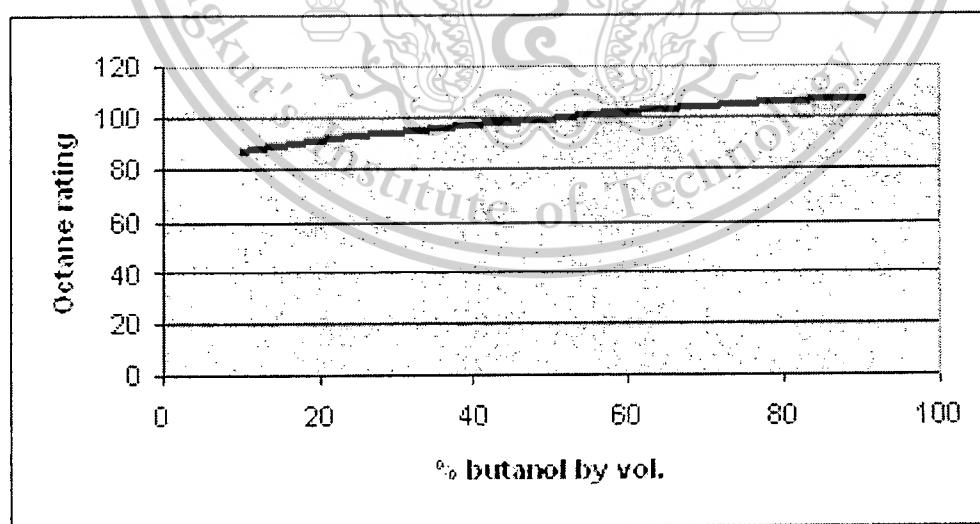
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ค) ค่าซีเทน (cetane rating)

ส่วนค่าซีเทน (cetane rating) ซึ่งใช้เปรียบเทียบคุณสมบัติของน้ำมันดีเซล พบว่าบิวทานอลมีค่าซีเทนประมาณ 28 เมื่อเปรียบเทียบกับค่าซีเทนของน้ำมันดีเซล ซึ่งมีค่าประมาณ 48.8 จะเห็นว่าค่าซีเทนของบิวทานอลต่ำกว่ามาก จนมีความจำเป็นต้องเติมสารเพิ่มค่าซีเทน (cetane improver) เช่น ไอโซบิวทิวไนเตรต (isobutyl nitrate) พบว่า หากผสมน้ำมันดีเซลร้อยละ 75 เปอร์เซ็นต์ บิวทานอลร้อยละ 23.75 และไอโซบิวทิวไนเตรตร้อยละ 1.25 จะได้ค่าซีเทน 45.4 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าซีเทนของน้ำมันดีเซลหมุนเร็ว (high speed diesel fuel) ซึ่งมีค่าซีเทน 48.8 ส่วนคุณสมบัติอื่นๆสามารถดูได้ในตารางเปรียบเทียบข้างล่าง

การใช้พลังงานจากบิวทานอลในอนาคต

บิวทานอลจัดว่าเป็นแอลกอฮอล์ที่มีอนาคตไกลมากที่สุดเนื่องด้วยเหตุผลหลายประการ คือ บิวทานอลเป็นแอลกอฮอล์ที่บริสุทธิ์ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันแก๊สโซลีนและไม่ต้องเก็บในระบบที่มีความดันสูงเหมือนแก๊สธรรมชาติเนื่องจากการระเหยต่ำ ซึ่งต่ำกว่าการระเหยของน้ำมัน สามารถรวมตัวกับน้ำมันได้ดีไม่เกิดการแยกตัว สามารถขนส่งตามท่อเนื่องจากการกักความร้อนเหมือนแอลกอฮอล์ตัวอื่น ดังจะเห็นได้จากค่าคุณสมบัติทางพลังงานที่ใกล้เคียงกับน้ำมันแก๊สโซลีนมากกว่าแอลกอฮอล์ตัวอื่นๆ ตามที่แสดงในตารางที่ 2.3



รูปที่ 2.2 ค่า Octane rating ของน้ำมันเบนซินธรรมดาเมื่อผสมบิวทานอลลงไปในส่วนต่างๆ

ที่มา: http://www.thaienergydata.in.th/econtent/upload_pic/1190688836.pdf

(25/04/2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติทางพลังงานของน้ำมันแก๊สโซลีน บิวทานอล เอทานอล และเมทานอล

คุณสมบัติทางพลังงาน ของน้ำมันรถ บิวทานอล เอทานอล เมทานอล	Energy density (MJ/L)	Air- fuel ratio	Specific energy (MJ/kg air)	Heat of vaporization (MJ/kg)	RON	MON
น้ำมันแก๊สโซลีน	32	14.6	2.9	0.36	91-99	81-89
บิวทานอล	29.2	11.2	3.2	0.43	96- 110	78-90
เอทานอล	19.6	9.0	3.0	0.92	129	102
เมทานอล	16	6.5	3.1	1.2	136	104

ที่มา: http://www.thaienergydata.in.th/econtent/upload_pic/1190688836.pdf
(25/04/2554)

2.1.5 กระบวนการผลิตบิวทานอล

บิวทานอลสามารถได้มาจากหลายวิธีคือกระบวนการทางเคมีที่มาจากน้ำมันหรือไฮโดรคาร์บอน กระบวนการหมักจากมวลชีวภาพบางชนิด และ กระบวนการขั้นสูง โดยมีสารตั้งต้นจากหลากหลายชนิด แต่วิธีที่นิยมในปัจจุบันที่ทำการมาคือ กระบวนการหมัก โดยใช้แบคทีเรียที่เหมาะสม ซึ่งในการหมัก มักจะเรียกว่ากระบวนการหมักอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล (Acetone Butanol Ethanol (ABE) fermentation) โดยแบคทีเรียที่ใช้มักจะเป็นแบคทีเรียในจีนัส *Clostridium* เช่น *Clostridium butyricum* และ *Clostridium acetobutylicum* ซึ่งเดิมทีนั้นแบคทีเรียในตระกูลนี้ใช้เพื่อ ผลิตอะซีโตน จากสารจำพวกแป้ง ซึ่งตอนนั้นบิวทานอลและเอทานอลเป็นผลพลอยได้ที่ได้ออกมาจากการหมัก ซึ่งบิวทานอลที่ได้นั้นมากพอสมควร

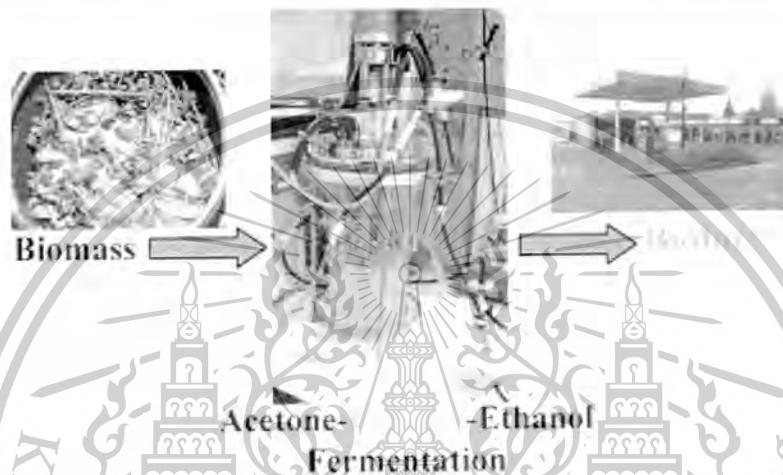
ในปัจจุบัน กระบวนการหมัก อะซีโตน บิวทานอล เอทานอล มีกระบวนการดังนี้คือ เมื่อสารตั้งต้น เช่น น้ำตาล ถูกหมักโดยแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกาศ (anaerobic bacteria) เช่น *Clostridium* นั้นจะเปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นบิวทานอล ซึ่งในกระบวนการนี้ แบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกาศ (anaerobic

bacteria) ที่เปลี่ยนสารอาหารให้เป็นบิวทานอลจะตายไป ตามแผนภาพที่แสดงในรูป 2.3 เมื่อความไม่ว่องไวเพิ่มขึ้นของบิวทานอลประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ จึงมีความพยายามที่จะค้นคว้าให้แบคทีเรียที่ไม่ใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

อากาศ (anaerobic bacteria) ซึ่งใช้ในการหมักสามารถทนทานต่อบิวทานอลให้ได้มากขึ้น เพื่อให้ผลผลิตของบิวทานอลมากขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากการศึกษาพบว่า บิวทานอลให้พลังงานได้สูงกว่าเอทานอลตามที่กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนี้พวกของเหลือจากการผลิตเอทานอลยังสามารถนำมาผลิตบิวทานอลต่อได้อีกด้วย (โครงการจัดทำระบบฐานข้อมูลพลังงานเพื่อการวิเคราะห์และวางแผนยุทธศาสตร์พลังงานของประเทศ สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานมหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2552)



รูปที่ 2.3 การผลิตบิวทานอลจากกระบวนการหมัก

ที่มา: www.bpe.wur.nl/UK/Research/Projects/Maximal+butanol+yield+by+directed+engineering (25/03/2554)

2.2 กลูโคส (Glucose)

กลูโคส เป็นน้ำตาลประเภทโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) มีความสำคัญที่สุดในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตด้วยกัน เซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน และสารเผาผลาญขั้นกลาง (metabolic intermediate) กลูโคสเป็นหนึ่งในผลผลิตหลักของการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) และเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการหายใจของเซลล์ (cellular respiration) โครงสร้างโมเลกุลตามธรรมชาติของมัน (D-glucose) จะอยู่ในรูปที่เรียกว่า เดกซ์โทรส (dextrose) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมอาหาร (<http://th.wikipedia.org/wiki/กลูโคส>, 01/04/2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

2.2.1 แหล่งที่มา

จากธรรมชาติ

1. ในพืชและสิ่งมีชีวิตจำพวกโพรแคริโอต จากการสังเคราะห์แสง
2. ในสัตว์และเชื้อรา จากการแยกสลายไกลโคเจน โดยกระบวนการที่รู้จักกันในชื่อ การสลายไกลโคเจน (Glycogenolysis) ในพืชจะเป็นการแยกสลาย ซับสเตอร์ต คือ แป้ง
3. ในสัตว์ กลูโคสจะถูกสังเคราะห์ในตับและไต จากสารขั้นกลาง (intermediates) ที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต (non-carbohydrate) เช่น ไพรูเวต (pyruvate) และ กลีเซอรอล (glycerol) โดยกระบวนการที่เรียกว่า กลูโคนีโอเจเนซิส (gluconeogenesis)

ผลิตทางการค้า

กลูโคสสามารถผลิตเป็นการค้าได้โดยการ ไฮโดรไลซิสแป้ง ที่มี เอ็นไซม์ ช่วยเร่งปฏิกิริยา พืชผักมากมายสามารถใช้เป็นแหล่งของแป้งได้เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวสาลี มันเทศ มันสำปะหลัง (cassava) ต้นไม้เท้าขยำม่อม (arrowroot) และ สาคุ การใช้แป้งจากพืชจะแตกต่างกันไปตามส่วนต่างๆของโลก ในสหรัฐอเมริกาแป้งส่วนใหญ่จะเป็นแป้งข้าวโพด (จากต้นข้าวโพด) ในประเทศแถบเอเชียอย่างประเทศไทย จะใช้ข้าวทำแป้งเช่น แป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียว กระบวนการที่ใช้เอ็นไซม์ช่วยจะมี 2 ขั้นตอน ดังนี้

1. ขั้นตอนแรกใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง อุณหภูมิประมาณ 100 °C เอ็นไซม์เหล่านี้จะไฮโดรไลซ์แป้งให้กลายเป็นคาร์โบไฮเดรตที่เล็กลง โดยจะมีโมเลกุลของกลูโคส 5-10 หน่วย ความผิดปกติของกระบวนการจะอยู่ที่การต้มส่วนผสมของแป้งที่อุณหภูมิ 130 °C หรือร้อนกว่านี้ หนึ่งครั้งหรือมากกว่า การใช้ความร้อนระดับนี้เพื่อช่วยการละลายของแป้งในน้ำแต่มันก็จะทำลายฤทธิ์เอ็นไซม์ซึ่งจะต้องเติมเอ็นไซม์เข้าไปใหม่ในการต้มแต่ละครั้ง

2. ขั้นตอนที่สองเรียกว่า แซคคาริฟิเคชัน (saccharification) ขั้นตอนนี้จะไฮโดรไลซ์แป้งบางส่วนและไฮโดรไลซ์กลูโคสอย่างสมบูรณ์โดยใช้เอ็นไซม์ กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) จาก เชื้อรา *Aspergillus niger* สภาวะของปฏิกิริยาจะต้องควบคุมให้อยู่ที่ pH 4.0-4.5 อุณหภูมิ 60 °C และ

ความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตจะต้องอยู่ที่ 30-35% โดยน้ำหนัก ภายใต้อุณหภูมิเหล่านี้แป้งจะถูกเอกลากรนี้เป็นเอกลากรที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เปลี่ยนเป็นกลูโคสประมาณ 96% หลังจากใช้เวลา 1-4 วัน ถ้าจะให้ผลผลิตสูงกว่านี้สามารถทำได้โดยไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การทำให้สารละลายจางลง แต่จะต้องใช้หม้อต้มที่ใหญ่กว่าและต้องการน้ำมากกว่าซึ่งสรุปแล้วไม่ประหยัดกว่า สารละลายกลูโคสที่ได้จะถูกทำให้บริสุทธิ์โดยการกรอง และเคี้ยวให้งวดในเครื่องระเหยเอนกประสงค์ (multiple-effect evaporator) ดี-กลูโคสที่เป็นของแข็งจะทำได้โดย การตกผลึก (crystallization)

2.2.2 คุณสมบัติของกลูโคส

กลูโคสมีชื่อเรียกทางเคมีและคุณสมบัติตามตารางที่ 2.4 และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูป 2.4

ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติทางเคมีของกลูโคส

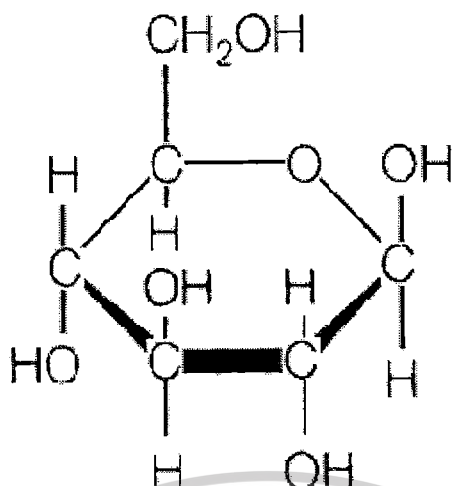
ชื่อ IUPAC	6-(hydroxymethyl)oxane -2,3,4,5-tetrol หรือ (2R,3R,4S,5R,6R) -6 - (hydroxymethyl) tetrahydro -2H-pyran- 2,3,4,5-tetraol
ชื่ออื่น	เดกซ์โตรส(Dextrose)
สูตรเคมี	$C_6H_{12}O_6$
น้ำหนักโมเลกุล	180.156 กรัมต่อโมล
ความหนาแน่น	1.54 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
จุดหลอมเหลว	α -D-glucose: 146 °C β -D-glucose: 150 °C

ที่มา: <http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%81%E0%B8%A5%E0%B8%B9%E0%B9%82%E0%B8%84%E0%B8%AA> (22/03/2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างทางเคมีของกลูโคส

ที่มา: http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap1/chapter1_2.html
(22/03/2554)

2.2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อการใช้กลูโคสในการผลิตบิวทานอล

Monot และคณะ (1982) ได้รายงานว่าในการหมักอะซิโตน บิวทานอลของ *C. acetobutylicum* ที่มีกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ เป็นสารตั้งต้น พบว่ากลูโคสที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นต่ำ (5-10 กรัมต่อลิตร) จะทำให้การหมักเกิดขึ้นเพียงครั้งเดียว คือขั้นตอนการสร้างกรดอินทรีย์เท่านั้น จะไม่มีการสร้างตัวทำละลาย กลูโคสที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นตั้งแต่ 20-40 กรัมต่อลิตร จะทำให้เชื้อเจริญได้ดีที่สุด และกลูโคสที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 80 กรัมต่อลิตร จะทำให้ *Clostridium* สร้างบิวทานอลได้สูงสุด

Monot และ Engasser (1983) กล่าวว่า ในกรณีที่แหล่งคาร์บอน (กลูโคส) ต่ำมาก การจำกัดปริมาณแหล่งไนโตรเจน (แอมโมเนียม) จะเพิ่มผลผลิตตัวทำละลาย แต่การเติมแอมโมเนียมมากเกินไป จะทำให้การหมักได้กรดมากกว่าตัวทำละลาย หรือกล่าวว่า การจำกัดปริมาณแอมโมเนียม ก็จะต้องจำกัดปริมาณกลูโคสด้วย จึงเป็นเงื่อนไขที่เหมาะสมในการสนับสนุนให้มีการสร้างตัวทำละลาย หรือกล่าวว่า ระดับความเข้มข้นของกลูโคสและแอมโมเนียมที่จะเปลี่ยนเป็นบิวทานอล ก็คือระดับความเข้มข้นของสับสเตรตที่จะเปลี่ยนเป็นระดับความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์นั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารของ Pimpa และ Goma (1984) กล่าวว่า ในวิถีเมตาบอลิซึมของการสร้างบิวทานอลจากกลูโคส ไม่ว่าจะผลิตโดยไม้อ่านกรดบิวทีริคานั้น จะวิเคราะห์ได้ว่า ในบางครั้ง *Clostridium* สามารถสร้างบิวทานอลจาก

กลูโคสได้โดยตรง โดยไม่ผ่านกรดบิวทริก ซึ่งมีข้อเสียคือ นอกจากไม่มีการกำจัดกรดอะซีติกแล้ว ยังต้องใช้ $\text{NADH}+\text{H}^+$ มากขึ้นอีกด้วย

มณีนาฏ (2527) ได้ใช้เทคนิคสำหรับการศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนโดยการวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้น โดยทำการศึกษาการเจริญของ *Clostridium* (ใช้กลูโคสเป็นอาหาร) เปรียบเทียบระหว่างการวัดความขุ่นของเซลล์ (โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์) และการวัดปริมาณของก๊าซ (โดยการแทนที่ของน้ำ) ซึ่งปรากฏว่าตัวแปรทั้งสองสอดคล้องกัน

2.3 กลิเซอรอล (Glycerol)

2.3.1 ประวัติของกลิเซอรอล

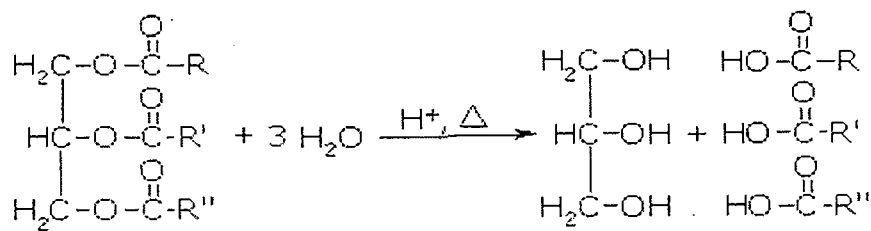
สารกลิเซอรอลถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1779 โดยนักเคมีชาวสวีเดนชื่อ Carl W. Scheele จากปฏิกิริยาสaponification ของน้ำมันมะกอก มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่นและมีรสหวาน ต่อมาพบว่ากลิเซอรอลเป็นองค์ประกอบหลักในไขมันและน้ำมันเกือบทุกชนิดโดยไขมันและน้ำมันประกอบด้วยกลิเซอรอลที่มีหมู่เอสเทอร์มาเกาะกัน 3 หมู่ หรือที่เรียกว่า ไตรกลีเซไรด์ (Triglyceride) เมื่อนำไขมันหรือน้ำมันมาแยกสลายด้วยน้ำในสภาวะกรดจะได้กลิเซอรอล (Glycerol) และกรดไขมัน (fatty acid) ดังแสดงในรูปที่ 2.5

ในช่วงแรก ได้นำกลิเซอรอลไปใช้ในการผลิตทาว ซึ่งมีส่วนช่วยทำให้ทาวมีความเหนียวมากขึ้น ในเวลาต่อมาได้นำไปใช้ในการทำสีย้อมน้ำหมึกและอื่นๆ จนกระทั่งในปี ค.ศ.1867 นักเคมีชาวสวีเดนชื่อ Alfred Nobel ได้คิดค้นวิธีการผลิตระเบิดไดนาไมต์ (dynamite) โดยใช้กลิเซอรอลที่ทำอยู่ในรูปไนโตรกลีเซอรีน (nitroglycerine) เมื่อนำมาผสมกับซิลิกา (silica) ณ จุดนี้ถือเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญในการนำกลิเซอรอลไปประยุกต์ในอุตสาหกรรม (อมร อุดเสน และคณะ, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



ไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันพืช/สัตว์ น้ำ กลีเซอรอล กรดไขมัน

รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยาเคมีในการผลิตกรดไขมันจากน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์

ที่มา : <http://www.alamo.edu/sac/chemistr/petrich/1307/Chapter%2018.htm> (8

กันยายน 2554)

2.3.2 ประโยชน์ของกลีเซอรอล

กลีเซอรอล หรือ 1,2,3 propanetriol เป็นแอลกอฮอล์อย่างง่าย (simple alcohol) ชนิดหนึ่งซึ่งมีการใช้ประโยชน์มากมาย ทั้งอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง สี เครื่องจักร เครื่องยนต์ อาหาร ยาสูบ เกษกรรม เยื่อกระดาษ เครื่องหนัง และสิ่งทอ แสดงดังตารางที่ 2.5 นอกจากนี้ กลีเซอรอลยังถูกใช้เป็นสารตั้งต้น (feedstock) สำหรับการผลิตสารเคมีต่างๆ เช่น ใช้ในการผลิต 1,3-โพรเพนไดออล (1,3-propanediol) ได้อีกด้วย (Biebl และคณะ, 1998; 1999)

2.3.3 คุณสมบัติของกลีเซอรอล

2.3.3.1 คุณสมบัติทางกายภาพของกลีเซอรอล

กลีเซอรอลมีคุณสมบัติทางกายภาพตามตารางที่ 2.6

2.3.3.2 คุณสมบัติทางเคมีของกลีเซอรอล

กลีเซอรอลมีชื่อเรียกทางเคมีตามตารางที่ 2.7 และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่

2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 2.5 การใช้ประโยชน์จากกลีเซอรอล

ด้านที่นำไปใช้ ประโยชน์	การนำไปใช้ (ร้อยละ)			
	สหรัฐฯ (160,000 ตันต่อ ปี)	ยุโรป (190,000 ตันต่อ ปี)	ญี่ปุ่น (50,000 ตันต่อปี)	จีน ^a (80,000 ตันต่อปี)
ยา	39.5	23.1	34.0	5.2
ยาสูบ	15.8	2.5	5.3	7.3
กลีเซอรินไตรอะซีเตท (glycerintriacetate)	ND ^b	14.4	ND	ND
อาหาร	14.5	5.6	ND	ND
โพลีเอเทอร์แอลกอฮอล์ (polyether alcohol)	10.5	13.1	11.6	5.2
สี	9.2	13.1	19.5	49.0
เซลโลเฟน (cellophane)	2.0	4.4	3.8	1.5
ระเบิด (dynamite)	0.6	3.1	1.9	3.1
ยาสีฟัน	ND	ND	ND	16.0
เครื่องสำอาง	ND	ND	ND	6.3
อื่นๆ	7.9	20.6	23.9	7.2

หมายเหตุ ^a ข้อมูลส่วนใหญ่มาจากรายงานของคุณยข้อมูลวิศวกรรมเคมีแห่งประเทศไทย
(Chinese Chemical Engineering Information Center)

^b ND ย่อมาจาก no data (ไม่มีข้อมูล)

ที่มา : Wang และคณะ (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and to use this document when use.

139605

ตารางที่ 2.6 คุณสมบัติทางกายภาพของกลีเซอรอล

คุณสมบัติทางกายภาพ	ค่าพารามิเตอร์
สถานะ	ของเหลวหนืด
สี	ใส ไม่มีสี
กลิ่น-รส	ไม่มีกลิ่น แต่มีรสหวาน
น้ำหนักโมเลกุล	92.10 กรัมต่อโมล
ความหนืด	1,400 มิลลิปาสคาล วินาที
การละลาย	ละลายได้ดีในน้ำและแอลกอฮอล์ ละลายได้เล็กน้อยในอีเทอร์ ไดออกเซน และไม่ละลายในสารประกอบไฮโดรคาร์บอน
คุณสมบัติทางกายภาพ	ค่าพารามิเตอร์
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	5 ที่ 20 องศาเซลเซียส
จุดเดือด	290 องศาเซลเซียส
จุดหลอมเหลว	17.8 องศาเซลเซียส
ความถ่วงจำเพาะ	1.26 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
ความดันไอ	0.0025 มิลลิปรอท ที่ 50 องศาเซลเซียส

ที่มา : ดัดแปลงจาก Mallinckrodt Chemicals และ The Columbia Electronic Encyclopedia, 6th ed. Copyright © 2007, Columbia University Press

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

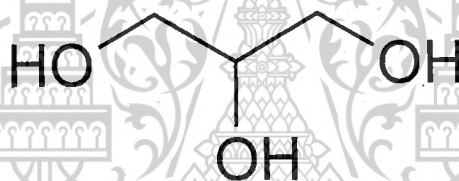
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 2.7 คุณสมบัติทางเคมีของกลีเซอรอล

ชื่อ IUPAC	1,2,3-Propanetriol หรือ 1,2,3-Trihydroxypropane
ชื่อทั่วไป	Glycerol ; Glycerin
ชื่อพ้องอื่นๆ	D-glycerol, L-glycerol, Glyceritol, Glycyl alcohol, Trihydroxypropane, Glycerin mist, Polyhydric alcohols, Propanetriol
สูตรโมเลกุล	$C_3H_5(OH)_3$

ที่มา: <http://msds.pcd.go.th/searchName.asp?viD=1568> (25/04/2554)



รูปที่ 2.6 สูตรโครงสร้างของกลีเซอรอล

ที่มา: Richard, Rusty และ Myers (2007)

2.3.4 การสังเคราะห์กลีเซอรอล

2.3.4.1 กระบวนการแยกจากผลพลอยได้ (by-product) ออกจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลหรือจากอุตสาหกรรมน้ำมัน

เนื่องด้วยกลีเซอรอลเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ ที่เกิดจากกระบวนการการผลิตไบโอดีเซลซึ่งส่วนใหญ่จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยเนื่องจากกลีเซอรอลที่ได้มีความบริสุทธิ์ต่ำ แต่กลีเซอรอลที่มีความบริสุทธิ์สูงๆ นั้นสามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการต่างๆ ได้อย่างหลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นการนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยา นำไปใช้ในการทำสบู่ หรือแม้กระทั่งใช้ในการผลิตระเบิด ด้วยเหตุนี้จึงมีการคิดวิธีที่จะทำให้กลีเซอรอลมีความบริสุทธิ์มากขึ้นเพื่อเพิ่มมูลค่าของกลีเซอรอล โดยกระบวนการและวิธีที่ใช้ในการทำให้บริสุทธิ์ได้แก่ การปรับสภาพคุณสมบัติให้เป็นกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือใช้เพื่อการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เพื่อแยกชั้นของกลีเซอรอลกับไขมัน โดยใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 5 หลังจากนั้นสกัดด้วยตัวทำละลายเพื่อแยกตะกอนของเกลือออก จากการทดลองเมื่อทำให้ กลีเซอรอลมีความเป็นกรดอยู่ที่ pH 2-4 จะทำให้มีชั้นของกลีเซอรอลแยกออกมาร้อยละ 38-40 โดยน้ำหนัก และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าประกอบตามมาตรฐาน BS 5711 จะพบว่ากลีเซอรอลมีความบริสุทธิ์อยู่ที่ร้อยละ 80-85 ซึ่งมีความบริสุทธิ์เพียงพอที่จะสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมสบู่ และสามารถเพิ่มมูลค่าของกลีเซอรอลได้ และมาตรฐานของกลีเซอรอลที่แบ่งตามอุตสาหกรรมมีตามตารางที่ 2.8

จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล จำเป็นต้องแยกกลีเซอรอลออกจากไบโอดีเซลให้หมด มิฉะนั้นกลีเซอรอลจะไปอุดหัวฉีดและยังก่อให้เกิดปริมาณอัลดีไฮด์ในท่อไอเสียเครื่องยนต์ขณะเผาไหม้สูงกว่าปกติอีกด้วย โดยปกติการผลิตไบโอดีเซลแต่ละครั้งจะได้กลีเซอรอลประมาณร้อยละ 10-15 โดยปริมาตร ซึ่งจะทำให้การแยกออกได้ด้วยการทำให้แยกชั้นออกจากไบโอดีเซลด้วยความแตกต่างของความหนาแน่น ไบโอดีเซลมีความหนาแน่น 0.86 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ในขณะที่กลีเซอรอลมีความหนาแน่น 1.26 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร มีผลทำให้กลีเซอรอลแยกตัวอยู่ชั้นล่างและไบโอดีเซลอยู่ชั้นบน ในส่วนของชั้นกลีเซอรอลยังคงมีสิ่งเจือปนอื่นได้แก่ ไบโอดีเซล ไตรกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ เมทานอล หรือแอลกอฮอล์ที่ใช้ในปฏิกิริยา โซเดียมไฮดรอกไซด์หรือโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา สบู่และน้ำ เป็นต้น เป็นผลทำให้กลีเซอรอลที่แยกได้ยังไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

Yong และคณะ (2001) ทำการวิเคราะห์หาค่าประกอบของกลีเซอรอลที่เป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์ม พบว่า มีปริมาณของสารดังนี้ กลีเซอรอล ร้อยละ 20.2 เถ้าร้อยละ 64.3 น้ำร้อยละ 3.0 และสารอินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ใช่กลีเซอรอลร้อยละ 12.4 และพีเอช (pH) 12.8 และเมื่อแยกสิ่งเจือปนโดยใช้กรดซัลฟูริกแล้ว พบว่ากลีเซอรอลที่ได้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น กล่าวคือ ได้กลีเซอรอลบริสุทธิ์ร้อยละ 33.9 กรดไขมันดิบ (crude fatty acid) ร้อยละ 10.5 และเกลือ (salt) ร้อยละ 65.2 และยังพบว่า pH มีผลต่อปริมาณและความบริสุทธิ์ของกลีเซอรอล จากการปรับเปลี่ยนพีเอช (pH) ของสารละลายกลีเซอรอลจากพีเอช (pH) 1-7 พบว่าที่พีเอช (pH) 1-2 ให้กลีเซอรอลบริสุทธิ์สูงสุด กล่าวคือ มีกลีเซอรอลร้อยละ 54 เถ้าร้อยละ 7.4 น้ำร้อยละ 7.5 และสารอินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ใช่กลีเซอรอลร้อยละ 31.1 หลังจากนั้นกลีเซอรอลดังกล่าวไปกลั่นแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการเชิงงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นที่พิมพ์โดยมติของสภา และของกองส่งเสริมงานเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

120-126 องศาเซลเซียส เมื่อวิเคราะห์ห้องประกอบ พบกลีเซอรอลบริสุทธิ์ร้อยละ 96.6 เถ้าร้อยละ 0.03 น้ำร้อยละ 2.4 และสารอินทรีย์อื่นๆที่ไม่ใช่กลีเซอรอลร้อยละ 2.4 และมีพีเอช (pH) เท่ากับ 3.5

ตารางที่ 2.8 มาตรฐานของสารกลีเซอรอลตามอุตสาหกรรมที่มีการนำไปใช้

คุณลักษณะ	อุตสาหกรรม					มาตรฐานที่ใช้ทดสอบ
	เคมี	โตนไมต์	ยา	อาหาร	สบู่	
กลิ่น	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	-	BS 5711 :Part 19
กลีเซอรอล ร้อยละ โดยน้ำหนัก ไม่น้อยกว่า	99	99	95	99	80	BS 5711 :Part 3
น้ำ ร้อยละ โดยน้ำหนัก ไม่นเกิน	-	-	-	-	10	ISO 2097 - 1972
เถ้า ร้อยละ โดยน้ำหนัก ไม่นเกิน	-	-	-	-	10	ISO 2098 - 1972
เถ้าซิลิเกต ร้อยละ โดยน้ำหนัก ไม่นเกิน	0.01	0.01	0.01	0.01	-	ISO 1616 - 1976
สารอินทรีย์ที่ไม่ใช่กลีเซอรอล ร้อยละ โดยน้ำหนัก ไม่นเกิน	-	-	-	-	2.5	ISO 2464 - 1973
ความหนาแน่นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 20°C/20 °C	1.261ถึง 1.264	1.261ถึง 1.264	-	1.261ถึง 1.264	-	ISO 2099 - 1972
ที่อุณหภูมิ 25°C/25 °C	-	-	1.249	-	-	-
ความเป็นด่างหรือความเป็นกรด มีลิกนิตริเวเลนส์ต่อ 100 กรัม ไม่นเกิน	0.064	0.32	-	0.32	-	BS 5711 :Part 5
สารหนู มีลิกนิตริเวเลนส์ต่อ 100 กรัม ไม่นเกิน	2	-	1.5	-	2	BS 5711 :Part 10
ตะกั่ว มีลิกนิตริเวเลนส์ต่อ 100 กรัม ไม่นเกิน	1	-	-	-	-	BS 2621-5
คลอไรด์ร้อยละ โดยน้ำหนัก ไม่นเกิน	-	0.01	0.01	0.01	-	BS 5711 :Part 12
สหพันธ์ฟิเลชันอัลวิมวอนด์ มีลิกนิตริเวเลนส์ต่อ 100 กรัม ไม่นเกิน	0.64	0.64	-	-	-	BS 5711 :Part 21

หมายเหตุ มาตรฐานที่ใช้ในการอ้างอิงคุณลักษณะของกลีเซอรอล คือ มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.337-2538)[13] และ British Standards Institution (BS 2621-5 : 1979)

ที่มา : มาตรฐานการผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกลีเซอรินบริสุทธิ์, มอก 377-2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

2.3.4.2 กระบวนการทางเคมี (Myers และ Myers, 2007)

ในปี ค.ศ. 1940 มีความต้องการกลีเซอรอลจากแหล่งธรรมชาติต่างๆ เพื่อใช้ในการผลิตสบู่ และเทียน ในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 1 เริ่มมีการผลิตกลีเซอรอลโดยวิธีการหมักจากน้ำตาลเป็นหลัก นอกจากนี้ยังมีผลิตจากกระบวนการทางเคมีซึ่งสังเคราะห์มาจากโพรไพลีน (propylene) โดยการสังเคราะห์จากโพรไพลีนมีขึ้นครั้งแรกก่อนสงครามโลกครั้งที่ 2 และการผลิตในเชิงการค้าเริ่มต้นขึ้นในปี ค.ศ. 1943 โดยประเทศเยอรมนี

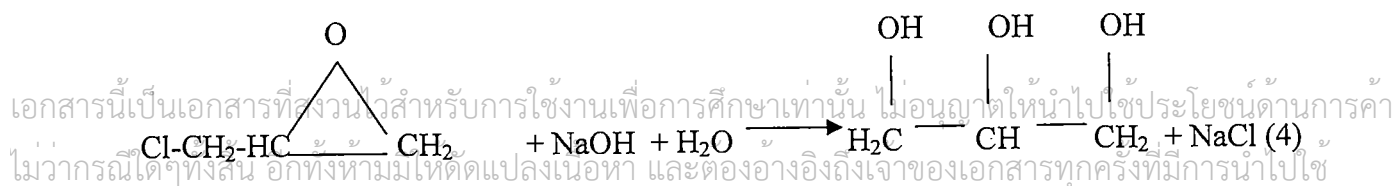
การสังเคราะห์กลีเซอรอลทางเคมีนั้นเริ่มจากการที่คลอรีนเข้าแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมของโพรไพลีน ได้เป็นสารอัลลิลคลอไรด์ (allyl chloride) ตามสมการที่ 1 จากนั้นทำปฏิกิริยากับกรดไฮโปคลอรัสจะได้เป็น 1,3 ไดคลอโรไฮดริน (1,3 dichlorohydrin) ดังสมการที่ 2



จากนั้นเติมสารละลายโซเดียม หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ลงใน 1, 3 ไดคลอโรไฮดรินจะได้ อีพิคลอโรไฮดริน (epichlorohydrin) ดังสมการที่ 3



ปฏิกิริยาขั้นตอนสุดท้ายนั้นอีพิคลอโรไฮดรินจะถูกไฮโดรไลส์ไปเป็น กลีเซอรอลด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโซเดียมคาร์บอเนต ดังสมการที่ (4)



This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การสังเคราะห์อีกทางหนึ่ง คือ อัลลิลคลอไรด์ถูกไฮโดรไลส์ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้เป็นอัลลิลแอลกอฮอล์ ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH}$) จากนั้นเติมคลอรีนจะได้โมนอคลอโรไฮดริน (Monochlorohydrin) และไดคลอโรไฮดริน (Dichlorohydrin) ซึ่งทั้งสองจะถูกไฮโดรไลส์ด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนตให้กลีเซอรอล

2.3.4.3 กระบวนการทางชีวภาพ

da Silva และคณะ (2009) กล่าวถึงปิโตรเลียมเป็นแหล่งพลังงานที่ถูกใช้ให้เกิดประโยชน์มากที่สุดในโลก แต่มีลักษณะที่ต้องใช้อย่างจำกัด จึงทำให้ต้องหาแหล่งพลังงานที่นำกลับมาใช้ใหม่ได้ ซึ่งเป็นที่สนใจกันอย่างมาก อย่างเชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuel) เช่น เอทานอล และไบโอดีเซล ซึ่งเติมไปด้วยแหล่งต่างๆ เพื่อไปแทนที่ของเชื้อเพลิงฟอสซิล (fossil fuel) ไบโอดีเซลสามารถแทนที่ปิโตรเลียมดีเซล (petroleum diesel) ผลิตจากไขมันสัตว์และน้ำมันพืช ซึ่งสร้างกลีเซอรอลเป็น ผลพลอยได้ (by product) ประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ซึ่งส่วนเกินของกลีเซอรอลที่ถูกสร้างขึ้นอาจจะกลายเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อม จนกระทั่งกลีเซอรอลไม่สามารถถูกจัดการให้หมดไปในสิ่งแวดล้อม จึงเป็นไปได้ที่จะมีการนำกลีเซอรอลไปใช้ โดยอาจใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และ/หรือแหล่งพลังงานจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม เพื่อผลิตเป็นสารเคมีโดยใช้กระบวนการชีวภาพให้มีมูลค่าสูงขึ้น เช่น 1,3-โพรเพนไดออล (1,3-propanediol) ไดไฮดรอกซีอะซิโตน (dihydroxyacetone) เอทานอล (ethanol) ซัคซิเนต (succinate) เป็นต้น

เพราะฉะนั้น จึงมีการศึกษาการผลิตสารกลีเซอรอลโดยใช้วิธีการทางชีวภาพ เพื่อลดการใช้ปิโตรเลียม ดังนี้ Benito และคณะ (1994) ศึกษาการผลิตกลีเซอรอลโดยสภาวะการหมักแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเพคเบด (packed bed) โดยใช้เซลล์ตรึงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิตกลีเซอรอลได้ความเข้มข้นสูงสุด 30 กรัมต่อลิตร โดยมีอัตราการผลิตเป็น 36.6 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดต่าง (pH) 6.9 และมีอัตราการเจือจาง (dilution rate) เป็น 1.22 ต่อชั่วโมง

Bisping และ Rehm (1986) ศึกษาการผลิตกลีเซอรอลโดยใช้เซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งถูกตรึงอยู่ในซินเตอร์กลาส (sintered glass) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 60-100 ไมโครเมตร พบว่าซินเตอร์กลาส (sintered glass) มีความสามารถในการกักเก็บเซลล์ได้ดี ซึ่งเมื่อทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การผลิตกลีเซอรอลในสภาวะการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous) 8 รอบ จะสามารถผลิตกลีเซอรอลได้ 26.2 ถึง 29.5 กรัมต่อลิตร

Guo และคณะ (2006) ศึกษาผลกระทบของสารควบคุมแรงดันออสโมติกชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตกลีเซอรอลของยีสต์ *Candida krusei* ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โพลีเอทิลีนไกลคอล 4000 (PEG 4000) และกลีเซอรอล (glycerol) พบว่าสามารถผลิตกลีเซอรอลได้ความเข้มข้นสูงสุด 179 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้สารควบคุมแรงดันออสโมติกเป็นกลีเซอรอล ได้ความเข้มข้นเพียง 80 กรัมต่อลิตร และในชุดการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมสารควบคุมแรงดันออสโมติกสามารถผลิตกลีเซอรอลได้เพียง 41 กรัมต่อลิตร

Zhugue และคณะ (2001) ศึกษาการผลิตกลีเซอรอลโดย *Candida glycerinogenes* ซึ่งเป็นยีสต์ที่ทนต่อแรงดันออสโมติกสูง (osmotolerance yeast) ในถังหมักขนาด 30 ลิตร พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างกลีเซอรอลคือ ที่อุณหภูมิ 29-33 องศาเซลเซียส และพีเอช (pH) 4-6 โดยอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตกลีเซอรอล ประกอบไปด้วยกลูโคส 230-250 กรัมต่อลิตร ยูเรีย 2 กรัมต่อลิตร และน้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) 5 มิลลิลิตร ซึ่งภายในมีฟอสเฟตประกอบ 55-65 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีผลได้ของกลีเซอรอลสูงสุดเป็นร้อยละ 64.5 โดยน้ำหนัก และความเข้มข้นของกลีเซอรอลสูงสุดเป็น 137 กรัมต่อลิตร

Yalcin1 และ Ozbas (2008) ศึกษาผลของปริมาณหัวเชื้อที่มีต่อการเจริญเติบโต และจลนพลศาสตร์ของการผลิตกลีเซอรอลแบบกะของเชื้อยีสต์ที่ใช้ผลิตไวน์ สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* Kalecik1 และ *Saccharomyces cerevisiae* Narince3 โดยทำการศึกษาปริมาณหัวเชื้อตั้งแต่ร้อยละ 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 และ 12.5 พบว่าเมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 2.5 สำหรับสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* Kalecik1 จะทำให้สามารถผลิตกลีเซอรอลได้ความเข้มข้นสูงสุด 8.6 กรัมต่อลิตร ส่วนสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* Narince3 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้ออยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 2.5-7.5 จะสามารถผลิตกลีเซอรอลได้ความเข้มข้นสูงสุด 7.6 กรัมต่อลิตร

Spencer และคณะ (1956) ศึกษาการผลิตกลีเซอรอลโดยใช้เชื้อ *Aerobacter aerogenes* ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของกลูโคสสูง พบว่าสามารถผลิตกลีเซอรอลได้ร้อยละ 3.2-4.8 และเมื่อทำการศึกษาการผลิตกลีเซอรอลโดยใช้เชื้อ *Torulopsis magnoliae* พบว่ากลีเซอรอลเป็นผลิตภัณฑ์เดียวที่ผลิตขึ้นระหว่างการหมัก และผลิตกลีเซอรอลได้ร้อยละ 17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

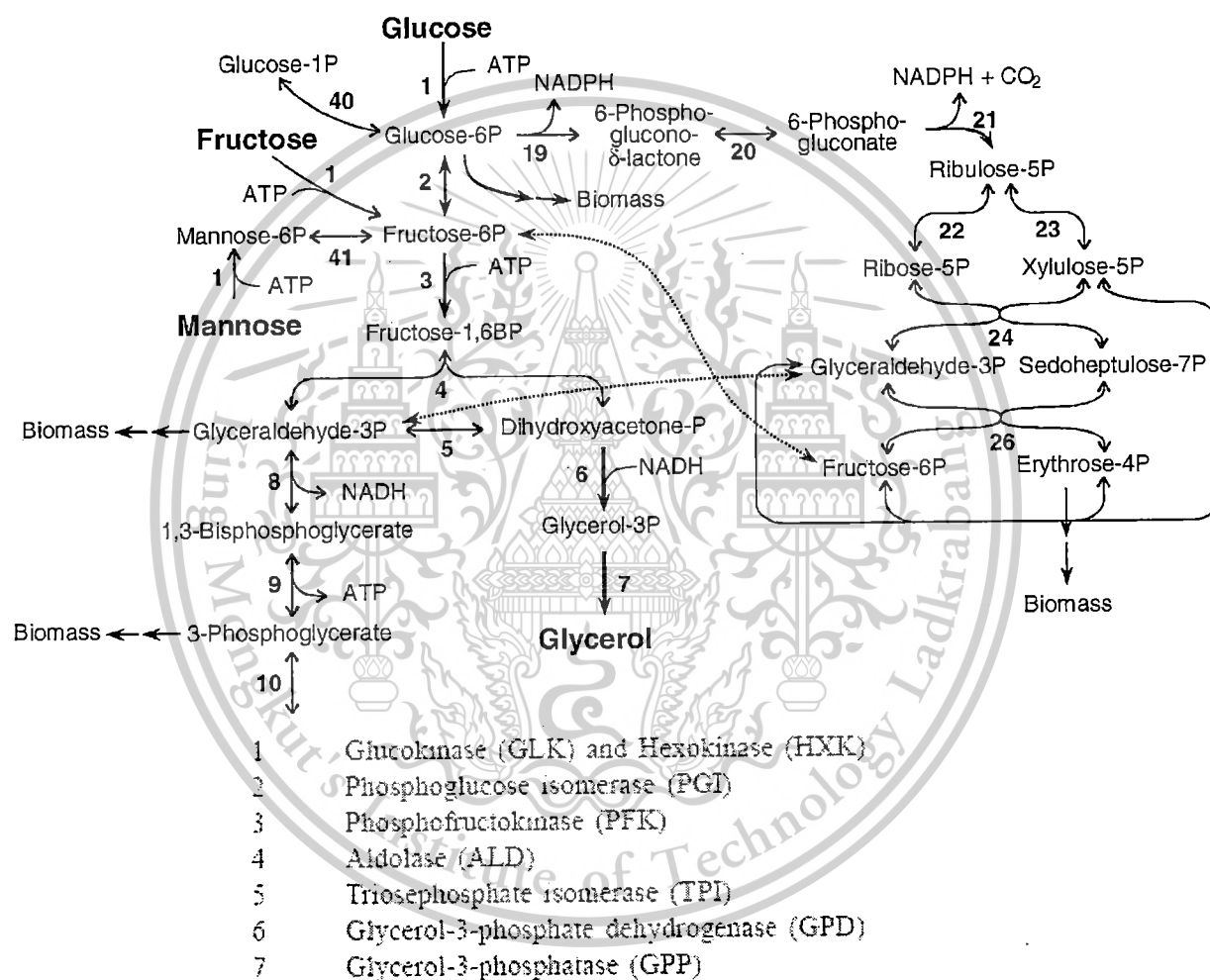
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

Liu และคณะ (2002) ศึกษาการผลิตกลีเซอรอลโดยสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบเขย่าของเชื้อ *Candida krusei* พบว่าการเติมโซเดียมคลอไรด์ 40 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยเพิ่มปริมาณการผลิตกลีเซอรอลจาก 16.5 เป็น 47.7 กรัมต่อลิตร

ทั้งนี้ การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกลีเซอรอลสรุปอยู่ในตารางที่ 2.9

2.3.5 เมแทบอลิซึมของกลีเซอรอล



รูปที่ 2.7 เมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่สร้างกลีเซอรอล

ที่มา : Mostafa (1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 2.9 รายงานการศีกษาที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกลีเซอรอล

สายพันธุ์	สารตั้งต้น	กระบวนการ/ระดับการผลิต	ความเข้มข้นกลีเซอรอลในอาหาร (กรัมต่อลิตร)	ประสิทธิภาพการผลิต (ร้อยละของภาวที่น้ำตาล)	อัตราการผลิตเฉลี่ย (กรัมต่อลิตรต่อวัน)	เอกสารอ้างอิง
อีลิต						
<i>S. cerevisiae</i>	กากน้ำตาล	Batch sulfite/ 12 ลิตร	55	25	11.5	Cocking และ Lily, 1919
	กลูโคส	Batch insoluble sulfite/ 2.5 ลิตร	35	23	11.6	Underkoffler, 1954
	กลูโคส	Continuous sulfite/pilot plant	50	28	33	Freeman และ Donald, 1957a
	กากน้ำตาล	Fed batch sulfite/vacuum, CO ₂ sparging	80	25	30	Kalle และคณะ, 1985
	กลูโคส	Batch alkali steered/ 12 ลิตร	45	23	9	Shade และ Farber, 1947
<i>C. maguroliae</i>	กลูโคส	Aerobic batch process/ shake flask	79 ^b	43	20	Spencer และ Shu, 1957
	กลูโคส	Aerobic fedbatch/ 60 ลิตร	170	ND ^c	17	Peterson และคณะ, 1958
<i>P. farinose</i>	กลูโคส	Aerobic fedbatch/ 1ลิตร	300	ND	75	Vijalishore และ Karanth, 1986a
<i>C. glycerifragens</i>	กลูโคส	Aerobic batch process/ จาก shake flask ถึง 50,000 ลิตร	110-130	52-63	28-32	Zhung และ Fang, 1995
แบบที่เรียบ						
<i>B. subtilis</i>	กลูโคส	Batch/shake flask	14.7	29	2	Neish และคณะ, 1945
สาหร่าย						
<i>D. tertiolecta</i>	CO ₂	Batch	0.12	ND	0.066	Ben-Amotz และ Avron, 1981

ที่มา : Wang และคณะ (2001)

รูปที่ 2.7 เป็นเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกลีเซอรอลได้ เช่น ยีสต์ และแบคทีเรียอย่าง *Lactobacillus lycopersici* กับ *Bacillus subtilis* ส่วนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตในสภาวะไม่มีอากาศกับกลีเซอรอลซึ่งมีบทบาทเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน มีมากมายหลายชนิด เช่น *Citrobacter freundii* (Homann และคณะ, 1990; Daniel และคณะ 1995; Seifert และคณะ, 2001) *Klebsiella pneumoniae* (Forage และ Foster, 1992; Tong และคณะ, 1991; Menzel และคณะ, 1997b; Biebl และคณะ, 1998; Németh และคณะ, 1998; Biebl, 2001) *Clostridium pasteurianum* (Luers และคณะ, 1997; Macis และคณะ, 1998; Biebl, 2001) *Clostridium butyricum* (Abbad-Andaloussi และคณะ, 1995; Biebl, 1991; Biebl และคณะ, 1992; Himmi และคณะ, 1999; Malaoui และ Marczak, 2001; Colin และคณะ, 2001) *Enterobacter agglomerans* (Barbirato และคณะ, 1996; Bories, 1997; Barbirato และคณะ, 1997a) *Enterobacter aerogenes* (Ito และคณะ, 2005) และ *Lactobacillus reuteri* (Talarica และคณะ, 1988, 1990)

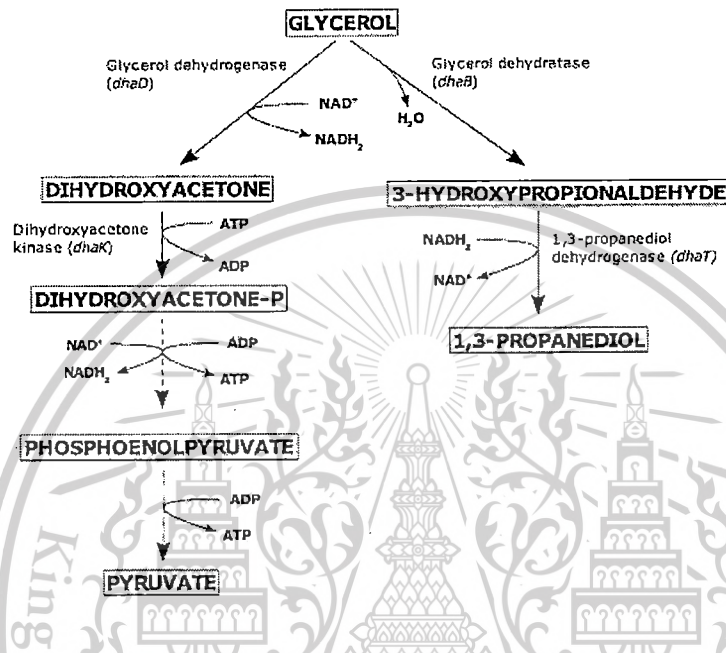
ในรูปที่ 2.8 *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Clostridium* และ *Enterobacter* กลีเซอรอลถูกใช้ในเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์เหล่านี้ ทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน(oxidation) และรีดักชัน (reduction) (Zhu และคณะ, 2002) ใน oxidative pathway จะมี NAD^+ ไม้อิสรระ เอนไซม์ glyceroldehydrogenase (EC 1.1.1.6) กระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลีเซอรอลไปเป็น dihydroxyacetone และถัดมาเอนไซม์ dehydroxyacetone kinase (EC 2.7.1.29) เร่งปฏิกิริยาการผลิต phosphorylates (Daniel และคณะ, 1995; Luers และคณะ, 1997; Macis และคณะ, 1998) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาไกลโคไลซิส (glycolysis) ส่วน reducing pathway จะถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ glycerol dehydratase (EC 4.2.1.30) ที่ต้องการโคเอนไซม์เป็นวิตามินบี 12 (coenzyme B_{12} -dependent) และเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ diol dehydratases (EC 4.2.1.28) (Toraya และคณะ, 1978; Forage และ Foster, 1982; Knietsch และคณะ, 2003) กลีเซอรอลถูกเปลี่ยนไปเป็น 3-hydroxy propionaldehyde (Toraya และคณะ, 1980; Tong และคณะ, 1991; Seifert และคณะ, 2001) และเอนไซม์ 1,3-propanediol dehydrogenase (1,3-propanediol-oxoreductase, EC 1.1.1.202) ที่ต้องการ $\text{NADH}+\text{H}^+$ ($\text{NADH}+\text{H}^+$ dependent) จะทำการรีดิวซ์

3-hydroxypropionaldehyde ไปเป็น 1,3-propanediol และสร้าง NAD^+ ขึ้นใหม่ (Macis และคณะ, 1998; Skraly และคณะ, 1998; Ahrens และคณะ, 1998; Veigo da Chuha และ Foster, 1998) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

1992; Németh และคณะ, 2003) ดังรูปที่ 2.8 ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ 1,3-propanediol (1,3-PDO) เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสำหรับการหมักกลีเซอรอล (Homann และคณะ, 1990; Deckwer, 1995)



รูปที่ 2.8 ภาพการหมักกลีเซอรอลที่ส่วนหนึ่งเป็นการสร้าง 1,3-โพรเพนไดออล
ที่มา : Bouvet และคณะ (1995); Barbirato และคณะ (1997b); Menzel และคณะ (1997a);
Biebl (2001)

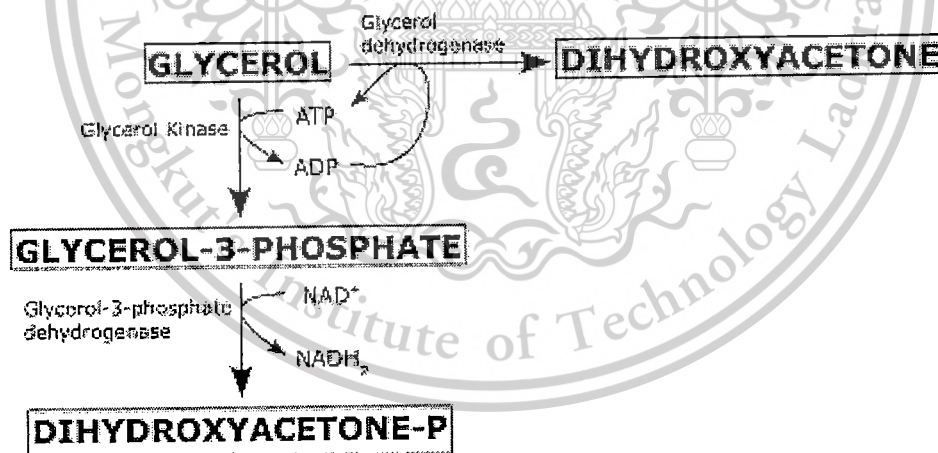
ใน *K. pneumoniae* (Forage และ Lin, 1982) และ *C. freundii* ลำดับการเรียงตัวของยีนสุดท้ายทำหน้าที่เชื่อมโยงและกระตุ้นเอนไซม์ glycerol dehydratase (*dhaB*), 1,3-PDO dehydrogenase (*dhaT*), glycerol dehydrogenase (*dhaD*), และ dihydroxyacetone kinase (*dhaK*) ซึ่งถูกล้อมรอบโดย *dha* regulon (Zhu และคณะ, 2002) สำหรับกลุ่มยีน 1,3-PDO ของ *C. butyricum* จะประกอบด้วย 3 ยีนที่แตกต่างกัน คือเอนไซม์ glycerol dehydratase (*dhaB1*), เป็นตัวกระตุ้นโปรตีน (*dhaB2*) และ *dhaT* (Raynaud และคณะ, 2003) ในแบคทีเรียนี้ เอนไซม์ glycerol dehydrogenase มีความว่องไวต่อออกซิเจนอย่างรุนแรง ซึ่งจะร่วมกับผนังเซลล์ของวิตามินบีสิบสองอิสระ (vitamin-B₁₂ independent) (Saint-Amans และคณะ, 2001; Raynaud และคณะ, 2003; Gonzalez-Pajuelo และคณะ, 2004, 2005a,b, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์โดย King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ใน *S. cerevisiae* และจุลินทรีย์อื่นๆ กลีเซอรอลจะถูกแยกเป็น dihydroxyacetone หรือ glycerol-3-phosphate ตามรูปที่ 2.9 (Wang และคณะ, 2001) จากสารหลังนั้น กลีเซอรอลจะถูกเปลี่ยนไปเป็น glycerol-3-phosphate ผ่านเอนไซม์ glycerol kinase (EC 2.7.1.30) ขณะที่สามารถใช้อันใดอันหนึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ไขมันหรือการเปลี่ยนแปลงไปเป็น dihydroxyacetone phosphate และสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็น glyceraldehyde-3-phosphate โดยเอนไซม์ triose phosphate isomerase (EC 5.3.1.1) ในปฏิกิริยาไกลโคไลซิส (glycolysis) หรือสามารถนำมาให้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์เมทาบอลิซึมอื่นๆ (Wang และคณะ, 2001) เหมือนวิถีสำหรับ glycerol oxidation (*glp* regulon) ถูกแสดงใน *K. pneumoniae* (Ruch และคณะ, 1974; Forage และ Lin, 1982) *Gluconobacter oxydans* (Bories และคณะ, 1991; Claret และคณะ, 1994) และ *C. acetobutylicum* (Gonzalez-Pajuelo และคณะ, 2006) ดังรูปที่ 2.5 ตามด้วย Ruch และคณะ (1974) ซึ่งวิถี glycerol-3-phosphate เป็นต้นเหตุสำหรับการแยกสภาวะที่มีอากาศของกลีเซอรอลใน *K. pneumoniae* (เปลี่ยนชื่อมาจาก *K. aerogenes*) ขณะที่วิถี dihydroxyacetone เป็นต้นเหตุสำหรับการแยกสภาวะไม่มีอากาศของสารตั้งต้นนี้



รูปที่ 2.9 วิถีสำหรับการเจริญและการผลิต DHA โดย *C. oxydans* ในกลีเซอรอล membrane-bound glycerol dehydrogenase นำไปสู่การผลิตนอกเซลล์ของ DHA และใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับสุดท้ายของอิเล็กตรอนและมีค่าเท่ากับคาร์รีติวซ์โดยค่าเฉลี่ยของ Ubiquinone และ Cytochrome O ส่วน DHA-P ถูกกระตุ้นโดยค่าเฉลี่ยของวิถี pentose-phosphate

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การหมักจากกลีเซอรอลไปเป็นเอทานอลหรือบิวทานอลโดย *C. pasteurinum* ไม่ขึ้นอยู่กับ การสร้างเป็นผลพลอยได้ (by-product) (Biebl, 2001) จนกระทั่งตัวพาไฮโดรเจนจะสมบูรณ์เมื่อถูก สร้างขึ้นใหม่ในวิถี (Biebl และคณะ, 1998) อีกตัวอย่างหนึ่งของกระบวนการ redox-balanced เป็น การเปลี่ยนแปลงกลีเซอรอลไปเป็น succinic acid แม้ว่าวิถีสำหรับเอทานอลและ succinate มีค่า เท่ากับ redox-balanced ที่เกี่ยวข้องกันทั้งหมด ซึ่งมีการใช้พลังงานของวิถี ethanologenic สูงมาก คือ 1ATP เป็นผลผลิตต่อแต่ละโมเลกุลของกลีเซอรอล ซึ่งถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล ขณะที่การผลิต พลังงานในวิถี succinate จะถูกจำกัดไปเป็นความสามารถในการสร้าง proton motive force โดย fumarate reductase (Dharmadi และคณะ, 2006) ดังรูปที่ 2.10

กลีเซอรอลที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลจะมีแอลกอฮอล์ น้ำมัน มอนอกลิเซอไรด์ ได กลีเซอไรด์ สบู และสิ่งสกปรกอื่นๆ ปนกันอยู่ การทำกลีเซอรินบริสุทธิ์ทำได้โดยนำกลีเซอรอลมาทำ ปฏิกิริยากับกรด เพื่อให้กลายเป็นกรดไขมันและเกลือ พร้อมทั้งเติมสารละลายเฮกเซนเพื่อละลาย สิ่งเจือปนต่างๆ ให้แยกออกจากชั้นกลีเซอริน จากนั้นนำกลีเซอรินไปเติมผงถ่านและกรองออก จะได้ กลีเซอรินที่ใสสะอาด เมื่อกลั่นเอาแอลกอฮอล์ออก ก็จะได้กลีเซอรินบริสุทธิ์ในที่สุด

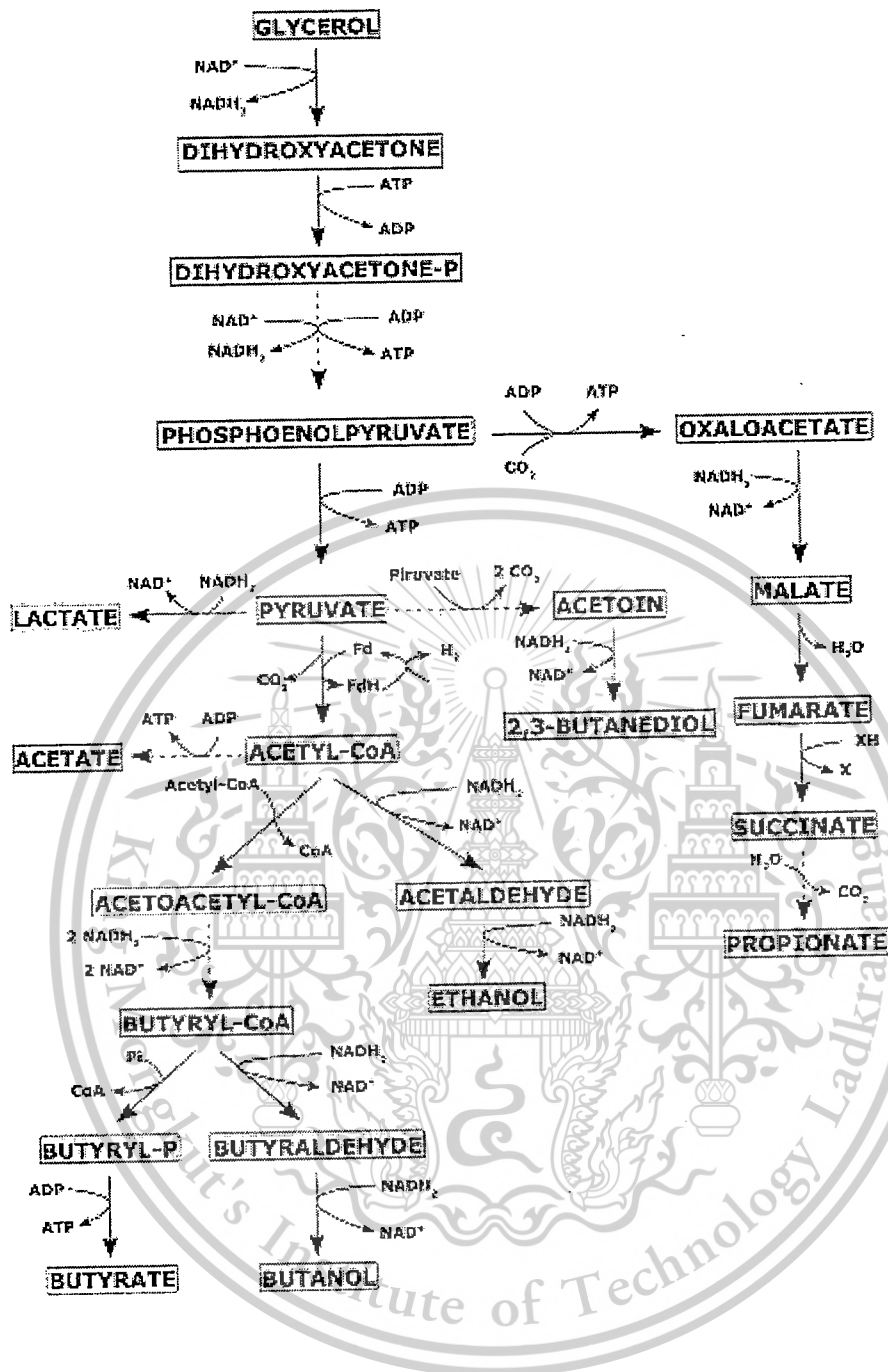
การผลิตไบโอดีเซลจึงยังเป็นกระบวนการที่ไม่คุ้มค่าการลงทุน ดังนั้นในการที่จะขยาย กระบวนการผลิตไบโอดีเซลไปสู่ระดับอุตสาหกรรม จึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตพลอย ได้ โดยในกระบวนการทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชันนั้นจะเกิดกลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้ดังนั้นแนวคิดใน เชิงเศรษฐศาสตร์แนวหนึ่ง คือ การทำกลีเซอรอลให้บริสุทธิ์เพื่อที่จะได้ใช้ประโยชน์จากกลีเซอรอลนั้น ต่อไป กลีเซอรอลที่บริสุทธิ์จะมีราคาสูงกว่าเมทิลเอสเทอร์

กลีเซอรอลเป็นแหล่งทรัพยากรที่สามารถกลับมาใช้ใหม่ ซึ่งเป็นผลพลอยได้ของการหมัก เอ ทานอลจากกลูโคสหรือเป็นผลพลอยได้ของกระบวนการที่มีขั้นตอนเริ่มต้นจากไขมันพืช และไขมัน สัตว์ มีแบคทีเรียจำนวนมากหมักกลีเซอรอลไปสู่สารเคมี เช่น บิวทานอล เอทานอล อะซีโตน กรดอะ ซิติก และกรดแลคติก ตามรูปที่ 2.10 อีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าของผลพลอยได้ของ กระบวนการผลิตไบโอดีเซลคือ การแปรรูปกลีเซอรอลดิบให้เป็นสารมูลค่าเพิ่ม โดยการเปลี่ยนกลี-เซ อรอลไปเป็นบิวทานอล ซึ่งเป็นตัวเด่นที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 2.10 ภาพรวมของผลพลอยได้ที่อาจได้ในการใช้จุลินทรีย์ต่างๆ ระหว่างการเพาะเลี้ยงด้วย กลีเซอรอล

ที่มา : da Silva และคณะ (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

2.4 กระบวนการหมักอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล

2.4.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก

บิวทานอลเป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมัก อะซิโตน บิวทานอล เอทานอล จากกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกาศโดยแบคทีเรียไม่ใช้ออกาศ (anaerobic bacteria) เช่น *Clostridium acetobutylicum*, *C. beijerinckii* และ *C. saccharoperbutylacetonicum* เป็นต้น โดยทั่วไปแบคทีเรีย *C. acetobutylicum* สามารถหมักแป้ง น้ำตาลเฮกโซส หรือเพนโตส เป็นอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล ได้โดยผลิตในอัตราส่วน 6:3:1 (Spivey, 1978)

แบคทีเรียในกลุ่ม *Clostridium* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อน ลักษณะตามตัวอย่างแบคทีเรียในจินัสตามรูปที่ 2.11 เซลล์มีความยาวตั้งแต่ 3-8 มิลลิเมตร และกว้าง 0.4-1.2 มิลลิเมตร เป็นพวกแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกาศ (obligate anaerobes) หรือมีบางพวกเป็นแบคทีเรียที่ทนอากาศ (aerotolerant) ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบตัว มีความสามารถในการสร้างสปอร์ชนิดเอนโดสปอร์ (endospore) ซึ่งเป็นสปอร์ที่สร้างขึ้นภายในเซลล์แบคทีเรีย ตามรูปที่ 2.12 การสร้างสปอร์ของแบคทีเรียทำให้แบคทีเรียสามารถทนทานอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น การขาดสารอาหาร เป็นต้น สปอร์จะไม่งอกถ้าขาดสภาพที่เหมาะสม คือ สภาพที่ไม่มีออกซิเจน สปอร์มีความทนทานต่อความร้อน ความแห้ง และสารเคมีได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (vegetative cell) สามารถทนอุณหภูมิถึง 120 องศาเซลเซียสได้นานถึง 10-15 นาที เมื่อแบคทีเรียสร้างสปอร์ เมทาบอลิซึมของแบคทีเรียจะหยุดชะงัก จนกระทั่งสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงงอกใหม่เป็นเซลล์ปกติ (จิริยา, 2541)

รูปที่ 2.11 ลักษณะของ *C. beijerinckii* JCM 1390 ระหว่างการหมักในอาหารอุดม (P2 medium)

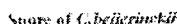
เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 100 เท่า

ที่มา : Spivey (1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



Spore of *C. beijerinckii*

รูปที่ 2.12 ลักษณะสปอร์ของ *C. beijerinckii* JCM 1390 ซึ่งถูกเก็บไว้ในน้ำกลั่นเมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 1000 เท่า
ที่มา : Spivey (1978)

การเพาะเลี้ยงเชื้อทำได้ในสภาพไร้ออกซิเจน โดยส่วนใหญ่ใช้การเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของเลือด (blood agar) และ อาหารแข็งที่มีส่วนผสมของไข่แดง (egg yolk agar) ในสภาพไม่มีอากาศเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง โคโลนีจากอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของเลือด สามารถนำมาตรวจดูปฏิกิริยาการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง และลักษณะโคโลนี ส่วนเชื้อที่เจริญในอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของไข่แดง สามารถตรวจหาการทำงานของเอนไซม์เลซิทีเนส (lecithinase) โดยดูจากลักษณะตกตะกอนขุ่นขาวในเนื้ออุ่น และตรวจหาการทำงานของเอนไซม์ไลเปส โดยดูจากความเป็นเงา (iridescent sheen) ที่ผิวหน้าเชื้อ

การแยกเชื้อ *Clostridium* ออกจากเชื้ออื่นที่ปะปนอยู่ (Primary isolation) ทำได้โดยนำตัวอย่างมาให้ความร้อน 80 องศาเซลเซียสนาน 10-15 นาที เพื่อทำลายเซลล์ปกติ และบ่มไว้ 37 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเลี้ยงต่อ (subculture) ในอาหาร หรือนำตัวอย่าง ใส่ในอาหาร thioglycolate broth ที่มีกลูโคส บ่มไว้ 24-48 ชั่วโมง เชื้อ *Clostridium* จะเปลี่ยนกลูโคสได้เป็นกรดที่จะไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้

เชื้อ *Clostridium* เป็นพวกที่ไม่มีระบบไซโตรโครม และกลไกการถ่ายทอดอิเล็กตรอน เพื่อสร้างสารพลังงาน ATP ดังนั้นการได้มาซึ่ง ATP จึงต้องผ่านกระบวนการ ซับสเตรท-เลเวล-ฟอสโฟ-

ริเลชัน (substrate- level-phosphorylation) การจัดจำพวกในระดับจีโนมออกเป็นสปีชีส์ต่างๆ จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ใช้คุณสมบัติในด้านความสามารถในการใช้คุณสมบัติในด้านความสามารถในการใช้สารชนิดต่างๆ เป็นไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

แหล่งพลังงาน เช่น *C. cellodioparum* และ *C. thermocellum* สามารถหมักเซลลูโลสแล้วให้ผลเป็นกรดอะซิติก (acetic acid) กรดซัคซินิก (succinic acid) เอทานอล (ethanol) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และไฮโดรเจน (H₂) ส่วน *C. butyricum* *C. pasteurianum* *C. perfringens* และ *C. acetobutylicum* หมักน้ำตาล แป้ง และแพคติน ให้ผลลัพท์เป็นอะซีโตน (acetone) บิวทานอล (butanol) เอทานอล (ethanol) ไอโซโพรพานอล (isopropanol) กรดบิวทีริก (butyric acid) กรดอะซิติก (acetic acid) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และไฮโดรเจน (H₂)

2.4.2 กระบวนการทางชีวเคมีของการหมัก

ลักษณะของการเกิดผลิตภัณฑ์ในระหว่างกระบวนการหมักอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล สามารถแบ่งได้เป็น 2 ช่วง ตามลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ช่วงแรกแบคทีเรียจะสร้างผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดขึ้นเรียกช่วงนี้ว่า อะซิโดเจนิซิสเฟส (Acidogenesis phase) โดยกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นอะซี-ติลโคเอ (acetyl CoA) และอะซีติลโคเอ จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (acetic acid) และบิวไทริลโคเอ (butyryl CoA) ก่อนเปลี่ยนเป็นกรดบิวทีริก (butyric acid) ในช่วงนี้ความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลง จากนั้นแบคทีเรียจะเปลี่ยนผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นตัวทำละลายต่างๆ โดยกรดอะซิติกจะถูกเปลี่ยนเป็นอะซีโตน ส่วนกรดบิวทีริกจะถูกเปลี่ยนเป็นบิวทานอล และอะซีติลโคเอเปลี่ยนเป็นอะซีทัลดีไฮด์ (acetaldehyde) ซึ่งอะซีทัลดีไฮด์จะเปลี่ยนเป็นเอทานอล เรียกช่วงนี้ว่า โซลเวนท์โวจีนิซิสเฟส (Solventogenesis phase) ในขั้นตอนนี้จะทำให้ค่าความเป็นกรดต่างสูงขึ้นและจะมีการนำกรดอินทรีย์มาใช้เป็นบางส่วน ซึ่งค่าความเป็นกรดต่างที่ อะซิโดเจนิซิสเฟสเปลี่ยนเป็น โซลเวนท์โวจีนิซิสเฟส เรียกว่า จุดเปลี่ยนค่าความเป็นกรดต่าง (pH transition point) หรือ จุดยุติค่าความเป็นกรดต่าง (pH break – point) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดอินทรีย์จะถูกเปลี่ยนไปเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งมีพิษต่อเซลล์น้อยกว่ากรดอินทรีย์ นอกจากนี้ในระหว่างกระบวนการหมักยังมีแก๊สไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นด้วย วิธีการสร้างอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล แสดงดังรูป 2.13

2.4.3 ปัจจัยที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก

เพื่อให้มีประสิทธิภาพการหมักสูงสุดและได้ปริมาณบิวทานอลสูง จำเป็นต้องมีปัจจัยแวดล้อม

ที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในการหมักบิวทานอล มีองค์ประกอบที่เป็นปัจจัยสำคัญและไม่ว่ากรณีใดก็ตามการนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตเห็นว่าเป็นการผิดกฎหมาย

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

2.4.3.1 สารตั้งต้น

วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักจะทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนของ *Clostridium* วัสดุที่ใช้ได้แก่ น้ำตาลและสารคาร์โบไฮเดรตในรูปต่างๆ ทั้งที่เป็นโมเลกุลเดี่ยวและโพลิเมอร์ ซึ่งอาจจำแนกได้ดังนี้ ประเภทที่หนึ่งเป็นผลผลิตทางการเกษตร ได้แก่ ข้าวเจ้า ข้าวเหนียว ข้าวโพด มันสำปะหลัง และมันเทศ เป็นต้น ประเภทที่สอง เป็นวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ กากน้ำตาล หางนม เป็นต้น และประเภทที่สาม เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร ได้แก่ ฟางข้าวและซังข้าวโพด เป็นต้น

Robinson (1922) ศึกษากระบวนการผลิตอะซีโตน-บิวทานอล พบว่าการใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส ซูโครส แลคโตส แป้ง และเดกทรินเป็นไปอย่างสมบูรณ์ ส่วนกาแลคโตส ไซโลส อะราบิโนส ราฟฟิโนส เมเลซิโตส อินนูลิน แมนนิทอลถูกใช้ไปเพียงบางส่วน และน้ำตาล ทรีฮาโลส แรมโนส เมลิไบโอส กลีเซอรอล ไม่ถูกใช้ในการหมัก

หากใช้น้ำตาลกลูโคส แบบที่เรีขชนิดนี้จะมีวิธีการสร้างอะซีโตน บิวทานอล และเอทานอล ตามรูปที่ 2.13

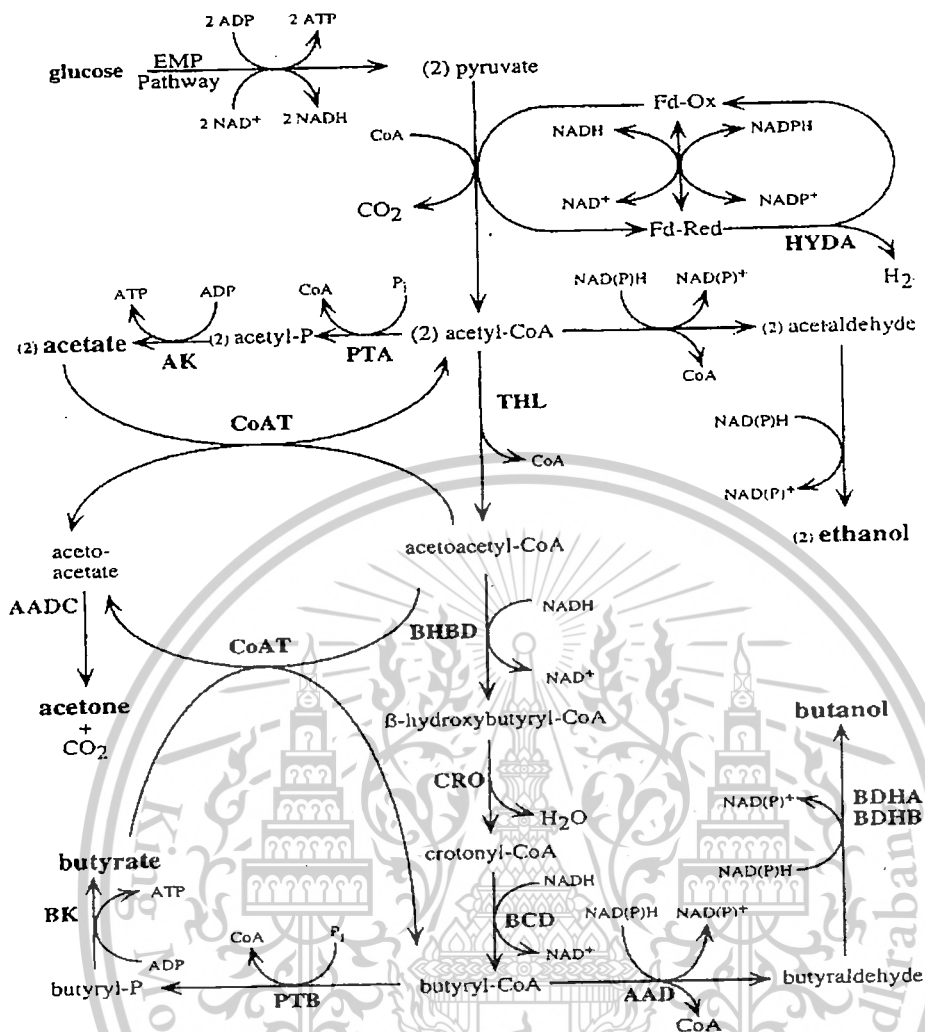
2.2.3.2 ความเข้มข้นของสารอาหาร

ในการหมักอะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอล มีรายงานว่า การกำจัดปริมาณคาร์บอนเป็นอันตรายต่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ ภายใต้การจำกัดปริมาณแหล่งคาร์บอน ปริมาณกรดในขั้นตอนสุดท้ายที่เกิดขึ้นจะไม่เพียงพอที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 2.13 วิธีการสร้างอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล ของ *C. acetobutylicum* ซึ่งประกอบด้วย เอนไซม์ดังนี้: HYDA แทนไฮโดรจีเนส (hydrogenase) PTA แทนฟอสโฟทรานสอะซีทิลเลส (phosphotransacetylase) AK แทนอะซีเตทไคเนส (acetate kinase) THL แทนไทโอลเลส (thiolase) CoAT แทนอะซีโตอะซีทิล-โคเอ:อะซีเตต- บิวทิเรต:โคเอทรานสเฟอเรส (acetoacetyl-CoA:acetate-butyrate:CoA transferase) AADC แทนอะซีโตอะซีเตท ดีคาร์บอกซิเลส (acetoacetate decarboxylase) BHBD แทนเบต้า-ไฮดรอกซีบิวทิริว-โคเอ ดีไฮโดรจีเนส (β -hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase) CRO แทนโครโทเนส (crotonase) BCD แทนบิวทิริว-โคเอ ดีไฮโดรจีเนส (butyryl-CoA dehydrogenase) PTB แทนฟอสโฟทรานสบิวทิเลส (phosphotransbutylase) BK แทนบิวทิเรท ไคเนส (butyrate kinase) AAD แทนอัลดีไฮด์/แอลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde/ alcohol dehydrogenase) BDHA&BDHB แทนบิวทานอล ดีไฮโดรจีเนส เอ และบิวทานอล ดีไฮโดรจีเนส บี (butanol dehydrogenase A & butanol dehydrogenase B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ที่มา: Ruchir และคณะ (1999)
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นที่สมเหตุสมผลเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

2.2.3.3 อุณหภูมิ

McCutchan และ Hickey (1954) ทำการศึกษาอุณหภูมิในการหมักที่มีผลต่อการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ อัตราการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในการหมัก มีรายงานว่าการใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ ผลอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วงระหว่าง 30 องศาเซลเซียสและ 33 องศาเซลเซียส แต่การผลิตจะลดลงเมื่ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งการทดลองคล้ายกับการทดลองการหมักในอาหารสังเคราะห์ (synthesis medium)

2.2.3.4 ออกซิเจน

O' Brien และ Morris (1971) ศึกษา *C. acetobutylicum* ที่ดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาวะไม่มีอากาศ การเจริญที่เหมาะสมเกิดขึ้นในน้ำหมักที่มีความต่างศักย์รีดอกซ์ ในช่วงระหว่าง -250 ถึง -400 มิลลิโวลท์ การสัมผัสกับออกซิเจนในน้ำหมักแบบไร้อากาศไม่เป็นอันตรายถ้าเกิดในระยะสั้นๆ อย่างไรก็ตามถ้าหมักสัมผัสกับออกซิเจนในปริมาณมาก (40-60 ไมโครโมลาร์) การใช้กลูโคสของจุลินทรีย์จะลดลง อัตราการเจริญ การสังเคราะห์ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีนจะหยุดชะงัก ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ จุลินทรีย์จะมีพลังงานน้อยลง และมีการผลิตบิวทาเรทแต่ไม่มีการผลิตอะซีเตท และจะหยุดการผลิตทำให้ปริมาณ ATP ในเซลล์ลดลง การเจริญและเมทาบอลิซึมจะกลับคืนสู่สภาพเดิมเมื่อเข้าสู่สภาวะไร้อากาศอีก

2.2.3.5 ระดับความเป็นกรดต่าง (pH)

ในน้ำหมักความเป็นกรดต่างจะเป็นตัวกำหนดการย่อยสลายของน้ำตาล หากรักษาระดับความเป็นกรดต่างของน้ำหมักไว้ที่ค่าสูงๆ จะทำให้ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ของการหมักเป็นกรด ในทางตรงข้ามถ้ารักษาค่าความเป็นกรดต่างไว้ที่ค่าต่ำๆ ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นจะเป็นตัวทำละลายอินทรีย์อย่างไรก็ตามช่วงของความเป็นกรดต่างที่จะทำให้มีการผลิตสารละลายอยู่ในช่วงกว้าง ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ และสภาวะในการหมัก (Jones และ Woods, 1986) ช่วงความเป็นกรดต่างที่มีการสร้างสารละลายมักอยู่ในช่วงความเป็นกรดต่าง 3.8-5.5 (Bahl และคณะ, 1982)

2.2.3.6 วิตามิน

ไบโอติน (biotin) และกรดพารา-อะมิโนเบนโซอิก (p-aminobenzoic acid) มีความจำเป็นไม่่ว่ากรณีใดๆ สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ที่สร้างอะซีโตน-บิวทานอล ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีอยู่ในสารสกัดจาก

ยีสต์ (yeast extract) หรือวิตามินที่ประกอบไปด้วยวิตามินที่จำเป็น (essential vitamin) (นวลจันทร์ และสุวิงษา, 2548)

2.2.3.7 Clostridial degeneration

กลไกการเกิดความสูญเสียความสามารถในการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์บ่งชี้ได้จาก (1) การสร้างกรดที่มากเกินไประหว่างการเจริญในช่วง การเติบโตแบบทวีการ(exponential phase) ซึ่ง Eva และคณะ (1995) ได้รายงานว่ *C. beijerinckii* NCIMV 8052 มีการใช้กลูโคสในการหมักซึ่งจะ ได้กรดอะซิติกและกรดบิวทริก ในอัตราที่มากกว่าการผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ความเป็น กรดต่างลดลงและเซลล์ไม่สามารถเปลี่ยนไปอยู่ในช่วงของการผลิตตัวทำละลาย (Solventogenesis phase) ได้และมีการสร้างสปอร์เกิดขึ้น (2) Hugh และ Chen ในปี 1995 ได้คัดแยกสายพันธุ์กลาย ของ *C. beijerinckii* NCIMV 8052 ซึ่งมีความทนทานต่อความสูญเสียความสามารถในการผลิตตัวทำ ละลายอินทรีย์ (3) มีการคาดคะเนว่ายีนควบคุมของ *C. beijerinckii* ที่มีการสูญเสียสภาพแล้วไม่ สามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ในการเพาะเลี้ยงแบบ ซีโมสแตท(chemostat) และ (4) เซลล์ที่เสีย สภาพจะแบ่งตัวอย่างต่อเนื่องในการหมักแบบต่อเนื่องขณะที่เซลล์ที่ไม่เสียสภาพจะหยุดแบ่งตัวแล้ว เริ่มเปลี่ยนแปลงไปเป็นเอนโดสปอร์

2.5 เชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum*

Clostridium sp. มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์ พบได้ทั่วไปในน้ำ ดิน ตามพืชผักต่างๆ บางสปีชีส์เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม และมีเพียง 2-3 สปี- ชีส์ ในลำไส้ที่ทำให้เกิดโรค เช่น *C. botulinum* เป็นสาเหตุสำคัญของโบทูลิซึม (Botulism) *C. tetani* ทำให้เกิดโรคบาดทะยัก (Tetanus) และ *C. perfringens* ทำให้เกิดก๊าซแกงกรีน (Gas Gangrene) (<http://moomsabuy.exteen.com/20070717/clostridium-spp>, 8 ตุลาคม 2554)

2.3.1 อนุกรมวิธาน

Kingdom	:	Bacteria
Phylum	:	Firmicutes
Class	:	Clostridia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

Order	:	Clostridiales
Family	:	Clostridiaceae
Genus	:	<i>Clostridium</i>
Species	:	<i>acetobutylicum</i>

2.3.2 สัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา

เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* มีรูปร่างและลักษณะตามรูปที่ 2.14

รูปที่ 2.14 ภาพของ *Clostridium acetobutylicum*

ที่มา : www.scribemedica.org/2007/09/18/nanologix-clostridia/ (25/04/2554)

แบคทีเรียชนิดนี้จัดอยู่ใน Class Clostridia ประกอบด้วย แบคทีเรีย 3 Order และ 11 Family โดย Genus *Clostridium* เป็น Genus ที่ใหญ่ที่สุด เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อน การเรียงตัวของเซลล์ที่เพาะเชื้อในระยะแรก เซลล์มีการเรียงตัวเป็นสายสั้นๆ ที่มีปลายกลมและปลายแหลม โดยทั่วไปมักมีรูปร่างไม่แน่นอน สร้างสปอร์อยู่ภายในเซลล์ สปอร์มีรูปรีหรือกลม เซลล์มีความยาวตั้งแต่ 3-8 มิลลิเมตร และกว้าง 0.4-1.2 มิลลิเมตร จัดเป็น obligate (strict) anaerobes มีบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีอากาศ (aerotolerant) มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ catalase แตกต่างกัน แต่โดยทั่วไปมักสร้างเอนไซม์ ไม่สร้างแคปซูล การเคลื่อนที่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบเซลล์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 10-65 องศาเซลเซียส (นันทนา, 2549) ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบตัว สปอร์จะไม่งอกถ้าขาด

สภาพที่เหมาะสม คือ สภาพที่ไม่มีออกซิเจน สปอร์ทนความร้อนได้ดีสามารถทนอุณหภูมิถึง 120 องศาเซลเซียสได้นานถึง 10-15 นาที การเพาะเลี้ยงเชื้อทำได้ในสภาพไร้ออกซิเจน โดยส่วนใหญ่ใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การเลี้ยงใน Blood agar และ Egg yolk agar ในสภาพไม่มีอากาศเป็นเวลา 48 - 72 ชั่วโมง โคโลนี จาก Blood agar สามารถนำมาตรวจดูปฏิกิริยาการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ลักษณะโคโลนี ส่วนเชื้อที่ เจริญใน Egg yolk agar สามารถตรวจหาการทำงานของเอนไซม์ Lecithinase โดยดูจากลักษณะ ตกตะกอนขุนขาวในเนื้อวุ้น และตรวจหาการทำงานของเอนไซม์ Lipase โดยดูจากความเป็นเงา (Iridescent sheen) ที่ผิวหน้าเชื้อ

การแยกเชื้อ *Clostridium* ออกจากเชื้ออื่นที่ปะปนอยู่ (Primary isolation) ทำได้โดย

นำตัวอย่างมาให้ความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 10 - 15 นาที เพื่อทำลายเซลล์ปกติ และ บ่มไว้ 37 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเลี้ยงต่อ (Subculture) ในอาหาร หรือนำตัวอย่างใส่ในอาหาร Thioglycolate broth ที่มีกลูโคส บ่มไว้ 24 - 48 ชั่วโมง เชื้อ *Clostridium* จะเปลี่ยนกลูโคสได้เป็น กรดที่จะไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้นอกจากนี้ยังสามารถนำตัวอย่างใส่ใน Chopped meat medium ปิดฝาสนิทด้วย Petrolatu หลังจากบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำไปเลี้ยง ต่อยังอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น

ลักษณะสำคัญของ *Clostridium* แต่ละสปีชีส์ คือ ความสามารถในการ Ferment น้ำตาล ต่างชนิดกันได้ นอกจากนี้ *Clostridium* บางชนิดยังสามารถให้ก๊าซมากพอ ที่จะนำมาใช้ในการ จำแนกเชื้อได้

Clostridium acetobutylicum รูปร่างเป็นแท่งตรง เคลื่อนที่โดยใช้ pertrichous flagella สปอร์เป็นรูปไข่ อยู่ก่อนไปทางปลายเซลล์ ติดสีแกรมบวก ลักษณะโคโลนีไม่สม่ำเสมอ สีขาวเทา โปร่ง แสงเป็นมัน เจริญได้เล็กน้อยในอาหาร NB แต่ถ้ามีคาร์โบไฮเดรตที่เชื้อมักจะเจริญได้ดี หมักผลิตภัณฑ์ ที่ได้จากการหมักมีกรดอะซิติก บิวทirik บิวทานอล และสร้างอะซีโตน สามารถรีจแก๊สไนโตรเจน พบทั่วไปในดิน

Clostridium acetobutylicum อยู่ในจีนัส *Clostridium* เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญเชิง การค้าอย่างมาก บางครั้งสามารถเรียกแบคทีเรียชนิดนี้ว่า “Weizmann Organism” ซึ่งเป็นชื่อที่ตั้ง ตาม Chiam Weizmann ผู้ค้นพบแบคทีเรียชนิดนี้ในปี ค.ศ.1916 เขายังค้นพบอีกว่า *C. acetobutylicum* นั้นสามารถนำมาใช้ในการผลิตอะซีโตน บิวทานอล และเอทานอล จากแป้ง โดยใช้กระบวนการ ABE (Acetone Butanol Ethanol process) ในงานอุตสาหกรรม เช่น การผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ในงานเพื่อการศึกษาระดับสูง ไม่อนุญาตให้มีการนำเอกสารนี้ไปใช้ในการค้า
 ดินปืน และดินระเบิด กระบวนการ ABE จึงกลายมาเป็นมาตรฐานอุตสาหกรรมจนกระทั่งปลายปี
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

1940 เมื่อน้ำมันมีราคาตกลงทำให้มีผลกระทบต่อกระบวนการพื้นฐานของการแยกไฮโดรคาร์บอน และเทคนิคการกลั่นปิโตรเลียม *C. acetobutylicum* ยังสามารถผลิตกรดอะซิติก กรดบิวทีริก คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน (กฤตภาและคณะ, 2553)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตบิวทานอล

นักวิจัยหลายท่านได้มีการศึกษาการผลิตบิวทานอลจากเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดอย่างกว้างขวาง เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตนี้สามารถกำหนดสภาวะให้ผลิตสารผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการได้ รวมทั้งยังศึกษาความเป็นไปได้ที่จะมีประยุกต์ใช้เศษวัตถุดิบเหลือใช้มาประยุกต์ใช้เพื่อทำการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพต่างๆ เพื่อเป็นการลดต้นทุนด้านวัตถุดิบที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต โดยทดแทนสารตั้งต้นสังเคราะห์สำเร็จรูปที่มีราคาแพง รวมไปถึงช่วยลดปัญหามลภาวะที่มาจากเศษวัตถุดิบ เหลือใช้จากการเกษตร

จิรภานต์และคณะ (2544) ศึกษาพัฒนา เทคโนโลยีการผลิต n-butanol จากวัสดุทางการเกษตร เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์สันดาปภายใน การศึกษาวัตถุดิบที่เหมาะสมในกระบวนการหมักอะซิโตน บิวทานอล โดยใช้เชื้อ *Clostridium butylicum* NRRL B592 และ *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 เปรียบเทียบระหว่างวัตถุดิบ มันสำปะหลังสด มันสำปะหลังแห้งย่อยด้วยเอนไซม์ แป้งมันสำปะหลัง และผักตบชวาแห้งย่อยด้วยกรด ผลจากการทดลองพบว่าการหมักโดยใช้มันสำปะหลังสดที่ค้ำน้ำตาลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ให้บิวทานอลสูงสุด (11.1-11.3 กรัมต่อลิตร) การเพิ่มผลผลิตสามารถทำได้โดยการพัฒนากระบวนการผลิต จากการทดลองหมักอะซิโตน บิวทานอลแบบต่อเนื่องที่มีการเวียนกลับของเซลล์สามารถทำให้อัตราการผลิตเป็น 20 เท่าของแบบครั้งคราว และ 4.6 เท่าของแบบต่อเนื่อง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือที่ความเข้มข้นน้ำตาล 52 กรัมต่อลิตร

อังคณาและคณะ (2552) ศึกษาการผลิตบิวทานอลจากฟางข้าว พบว่าองค์ประกอบของฟางข้าว ประกอบด้วย เซลลูโลสร้อยละ 32-47 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 19-27 และลิกนินร้อยละ 5-24 จากการศึกษาการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้กรดซัลฟูริก โซเดียมไฮดรอกไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือ สามารถกำจัดลิกนินได้ร้อยละ

65.6 และเปลี่ยนฟางข้าวเป็นเซลลูโลสได้สูงถึงร้อยละ 60.8 หลังจากนั้นนำมาไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ลิกนินเพื่อย่อยสลายเซลลูโลสและลิกนินเป็นน้ำตาลต่อไปใช้

ไม่ว่ากรณีใดๆ ห้ามทำซ้ำหรือดัดแปลงเนื้อหา และต้องยกย่องเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

15 psi) พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างปริมาณฟางข้าวต่อปริมาณกรด ซัลฟูริก คือ 1 กิโลกรัม ต่อ 2,200 มิลลิลิตร ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด 120 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าการย่อยสลายด้วย เอนไซม์ และจากการศึกษาองค์ประกอบของสูตรอาหารที่มีผลกระทบต่อการผลิตบิวทานอลของ เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* JCM 1419 พบว่ากลูโคสที่มีอยู่ในน้ำคั้นฟางข้าวมีผลต่อการ ผลิตบิวทานอลของเชื้อมากที่สุด ซึ่งปริมาณที่เหมาะสมคือ 70.27 กรัมต่อลิตร ส่วนปัจจัยรอง คือ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ปริมาณที่เหมาะสมคือ 7.23 กรัมต่อลิตร และสารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) 3.91 กรัมต่อลิตร ทำการหมักแบบกะภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่ 34 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณบิวทานอล 1.16 ± 0.04 กรัมต่อลิตร

อรุณศรี (2549) ศึกษาศาสภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้นการเจริญของ *Clostridium beijerinckii* เพื่อผลิตพลังงานชีวมวลใหม่ คือบิวทานอล โดยการหมักแบบกะเพื่อศึกษาผลของการ กระตุ้นสปอร์ของ *Clostridium beijerinckii* JCM 1390 ด้วยความร้อนต่อการเจริญและผลิต บิวทานอลแบบกะในอาหารอุดมและน้ำคั้นลำต้นข้าวฟางหวานในพลาสติกขนาด 2 ลิตร ผลการทดลอง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้นสปอร์ของแบคทีเรียด้วยความร้อนคือที่ 80 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

Gheslaghi และคณะ (2009) เป็นบทความที่กล่าวถึงเมทาบอลิซึมของ *Clostridium acetobutylicum* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศ สามารถใช้สารตั้งต้นได้หลากหลาย (heterofermentative) สร้างสปอร์ได้ (Girbal และ Soucaille, 1994) การหมักอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล (acetone butanol ethanol, ABE) แบบแบช (Batch) จะสามารถแบ่งได้ตามเมทาบอลิซึมของ *C. acetobutylicum* ออกเป็นสองส่วนที่มีลักษณะเฉพาะ คือ ขั้นตอนของการให้ผลผลิตที่เป็น กรด และขั้นของผลผลิตที่เป็นสารละลาย (Johnson และคณะ, 1931) ขณะที่อยู่ในขั้นแรกนั้น เซลล์ จะเติบโตอย่างรวดเร็ว และสร้างผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ซึ่ง ส่วนใหญ่จะเป็นอะซิเตตและบิวทาเลต กรดเหล่านี้ที่ขับออกมาจะทำให้ค่า pH ภายนอกลดลง กรด เหล่านี้ถูกนำมาใช้เป็นตัวชักนำในกระบวนการชีวสังเคราะห์ของสารละลายอินทรีย์จากเอนไซม์

ในกระบวนการหมักขั้นที่สอง (Ballongue และคณะ, 1985) กรดที่เกิดขึ้นมาก่อนหน้านี้จะ กลับเข้าไปยังเซลล์ และทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นร่วม (co-substrates) สำหรับการผลิตสารละลายที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในเชิงพาณิชย์ การค้า
ไม่ว่ากรณีใดก็ตาม กรุณาแจ้งให้ทราบก่อนใช้ และต้องอ้างอิงถึงชื่อของเอกสารทุกครั้งหากนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ค่อยๆ เพิ่มขึ้น เนื่องจากกรดถูกดูดกลืนเข้าไปในเซลล์ (Terracciano และ Kashket, 1986; Spivey, 1978) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนไปของกระบวนการผลิตสารละลายนั้น คือการที่เซลล์ปรับตัวเพื่อตอบสนองต่ออาหารที่มีค่า pH ต่ำ อันเป็นผลมาจากกระบวนการผลิตกรด ผลิตภัณฑ์หลักสุดท้ายที่ได้จากการหมักนี้คือบิวทานอล โดยมีอะซีโตน และเอทานอล เป็นผลิตภัณฑ์รองลงมา แบคทีเรีย *C. acetobutylicum* มีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของคาร์โบไฮเดรต และสภาวะการเพาะเลี้ยง ขอบเขตของการเปลี่ยนแปลงเป็นตัวทำละลายนี้มีความไม่แน่นอน นอกจากนี้ คาร์บอนและอิเล็กตรอนเป็นตัวกำหนดรูปแบบของตัวทำละลายเหล่านี้ ในท้ายที่สุดของกระบวนการหมักตัวทำละลายอาจจะมีระดับความเข้มข้นจนถึงระดับของการยับยั้ง และทำให้กระบวนการผลิตสิ้นสุดลง (Bowles และ Ellefson, 1985) ตัวทำละลายที่สะสมน่าจะมีผลต่อเซลล์ของ *C. acetobutylicum* โดยการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของเซลล์ (Moreira และคณะ, 1981) และของเหลวในเซลล์ (Vollherbst-Scheneck และคณะ, 1984)

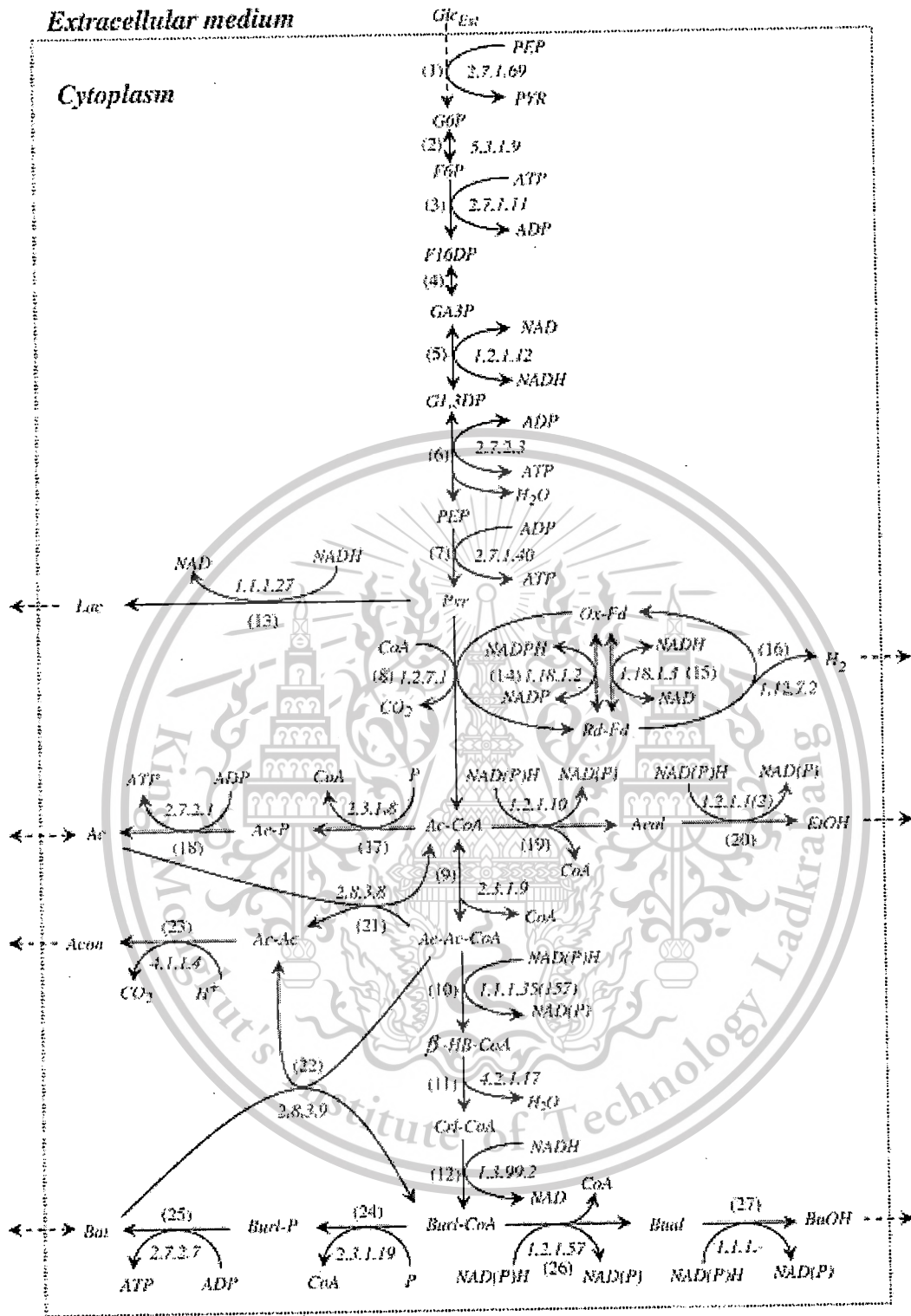
วิถีทางชีวเคมีที่หลากหลายในกระบวนการผลิตกรดอินทรีย์ และตัวทำละลายอินทรีย์ ได้ถูกศึกษาในหลายรายงาน (Andreesen และคณะ, 1989; Ljungdahl และคณะ, 1989; Jones และ Woods, 1986; Rogers, 1986) และวิถีที่เป็นที่นิยมโดยทั่วไปได้แสดงให้เห็นในรูปที่ 2.14

Kotze (1969) ได้พบว่าเอนไซม์เฮกโซอินเนส (hexokinase, HK, EC 2.7.1.2) เอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส (glucose-6-phosphate phosphate isomerase, G6PI, EC 5.3.1.9) และเอนไซม์ไพรูเวตไคเนส (pyruvate kinase, PK, EC 2.7.1.40) มีกิจกรรมที่แตกต่างกันไปในกลุ่มของ clostridia (ตัวอย่างเช่น กลุ่มที่ย่อยน้ำตาลได้ (saccharolytic) กลุ่มที่ย่อยโปรตีนได้ (proteolytic) กลุ่มที่ย่อยเซลลูโลสได้ (cellulolytic) หรือกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนได้ (nitrogen fixing) ซึ่งทั้งหมดนี้มีความสามารถในการสลายคาร์โบไฮเดรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 2.15 วัฏจักรของกระบวนการสลายกลูโคสของ *Clostridium acetobutylicum* เส้นทึบและเส้นประแสดงถึงปฏิกิริยาตอบสนองภายในเซลล์ และกระบวนการขนถ่ายตามลำดับ จำนวนของปฏิกิริยาจะแสดงในวงเล็บ เอนไซม์จะแสดงโดยเลข EC

เอกสารนี้ที่มาจาก: Gheshlaghi และคณะ (2009) ซึ่งงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

จากวิถีของเชื้อ *C. acetobutylicum* ในรูปที่ 2.15 เฮกโซส 1 โมล จะให้ไพรูเวต 2 โมล ได้ ATP 2 โมล และ NADH 2 โมล กระบวนการผลิตตัวทำละลายจาก clostridia ยังสามารถใช้น้ำตาล เพนโตสโดยวัฏจักรของเพนโตสฟอสเฟต (Ounine และคณะ, 1983; Cynkin และ Delwiche, 1958) ผลที่ได้ระหว่างการเติมหมู่ฟอสเฟต คือการเปลี่ยนจากเอนไซม์ทรานส์อัลโดเลส (transaldolase) และเอนไซม์ทรานส์คีโตเลส (transketolase) ให้ได้ฟรุกโตส-6-ฟอสเฟต (fructose-6-phosphate) และกลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (glyceraldehydes-3-phosphate) ซึ่งจะเข้าสู่วัฏจักรไกลโคไลซิส กระบวนการสลายเพนโตส 3 โมล ไปเป็นไพรูเวต จะให้ ATP 5 โมล และ NADH 5 โมล (Rogers, 1986)

โดยทั่วไป เชื้อจุลินทรีย์ *C. acetobutylicum* DG1 เป็นเชื้อที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในกลีเซอรอล เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว แต่สายพันธุ์ผสมจะสามารถเติบโตได้ในแหล่งคาร์บอนนี้ ซึ่งจะใช้เอนไซม์กลีเซอรอลไคเนส (glycerol kinase) และเอนไซม์กลีเซอรอล-3-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (glycerol-3-phosphate dehydrogenase) สำหรับการออกซิไดซ์กลีเซอรอล โดยที่กลีเซอรอล 1 โมลที่ถูกใช้ไปจะให้ ATP 1 โมลและ NADH 2 โมล *C. acetobutylicum* ได้แสดงให้เห็นถึงการมีเอ็นหลาย ๆ ตัวที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลส (Nolling และคณะ, 2001) แต่ไม่สามารถนำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ (Mitchell, 1998) clostridia กลุ่มที่ย่อยน้ำตาลได้จะสามารถเปลี่ยนไพรูเวตไปเป็นแลคเตตได้ โดยเอนไซม์แลคเตตดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase) อย่างไรก็ตาม ไพรูเวตส่วนใหญ่จะใช้ไปในปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ไพรูเวตเฟอเรออกซินด็อกซิโดรีดักเทส (pyruvate-ferredoxin oxidoreductase) ไปเป็นอะเซตทิวโคเอ (acetyl-CoA) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) กับการลดลงของเฟอเรออกซิน (ferredoxin) ไปพร้อม ๆ กัน

Turkish (2008) ศึกษาการเพิ่มผลผลิตบิวทานอลโดยใช้ *Clostridium acetobutylicum* ที่กลายพันธุ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากกากน้ำตาลในสถานะที่เชื้อจุลินทรีย์เกิดการกลายพันธุ์จากการฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต การกลายพันธุ์โดยใช้สารเคมี สาร N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) และ ethyl methane sulphonate (EMS) โดยมีการใช้กากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตรที่เติมแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการหมักในถังหมักขนาด 14 ลิตร โดยมี pH เริ่มต้นที่ 6.2 และไม่ควบคุมความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอด

กระบวนการหมัก เติมน้ำไฮโดรเจนในถังหมักเพื่อให้เกิดสภาวะปลอดออกซิเจน ทำการหมักที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 96 ชั่วโมงจะพบว่าการฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต และการใช้ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สาร N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) ไม่มีผลกระทบต่อการผลิตบิวทานอลแต่การเติมสาร ethyl methane sulphonate (EMS) นั้นมีความสามารถในการเพิ่มการผลิตบิวทานอลได้ร้อยละ 20

Qureshi และคณะ (2008a) ศึกษาการกำจัดสารยับยั้งการหมักที่มาจากฟางของต้นข้าวสาลีที่ผ่านการใส่อัลคาไลน์เพอร์รอกไซด์และย่อยด้วยเอนไซม์ : การผลิตบิวทานอลจากฟางต้นข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยโดยใช้ *Clostridium beijerinckii* ในถังหมักแบบกะ โดยมีการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ทำการหมักในในขวดฝาเกลียวปิดขนาด 125 มิลลิลิตร ทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะไร้อากาศ เป็นการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้กลูโคสในการหมักและกลุ่มที่ใช้ฟางข้าวสาลีที่ถูกย่อยและกำจัดเกลือ จะพบว่าสามารถผลิต อะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอล ได้ 21.37 และ 22.17 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Qureshi และคณะ (2008b) ศึกษาการผลิตบิวทานอล จากกระบวนการย่อยฟางข้าวสาลีโดยเชื้อ *Clostridium beijerinckii* P260 ด้วยการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการย่อยฟางข้าวสาลีให้น้ำตาลโมลเสกุลเดี่ยวและการหมักให้ได้บิวทานอลไปพร้อมๆกันได้ผล 100% ในการเพิ่มฟางข้าวสาลีโดยการบ้อนลงในถังหมักร่วมกับสารละลายน้ำตาล ทำให้อัตราผลผลิต (productivity) ของอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล เพิ่มขึ้น 16% เมื่อเทียบกับการทดลองการเปลี่ยนแบ่งให้เป็นน้ำตาลและการหมักให้ได้บิวทานอลไปพร้อมๆกัน ซึ่งได้อัตราผลผลิต (productivity) $0.36 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$ และ ณ เวลาเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ถูกกระตุ้นสูงสุดจะได้อัตราผลผลิต (productivity) $0.77 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$ การหมักแบบกึ่งต่อเนื่องใช้เวลาในทั้งสิ้น 533 ชั่วโมง

Qureshi และคณะ (2010) ศึกษากระบวนการผลิตอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล จากกระบวนการย่อยลำต้นหรือใบของข้าวโพดและการย่อยหญ้า switchgrass โดยเชื้อ *Clostridium beijerinckii* P260 ผลของการทดลองจะได้ว่า การทดลองควบคุมจะใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้น ผลลัพธ์ในการผลิตอะซีโตน บิวทานอล เอทานอลทั้งหมดเท่ากับ 21.06 กรัมต่อลิตร ผลได้ของอะซีโตน บิวทานอล เอทานอลคือ 0.41 และอัตราผลผลิต (productivity) เป็น 0.31 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง กระบวนการย่อยลำต้นหรือใบของข้าวโพดโดยไม่ผ่านการปรับสภาพจะไม่แสดงการเจริญเติบโต และไม่เกิดการผลิตอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเจือจางด้วยน้ำและเจือจาง

ด้วยการหมักการย่อยฟางข้าวสาลี (อัตราส่วน 1:1) ผลผลิตอะซีโตน บิวทานอล เอทานอลจะมีค่าความเข้มข้นเป็น 16.00 และ 18.04 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ผลลัพธ์ของอัตราผลผลิต (productivity) ไม่ต่ำกว่า 0.31 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

มีค่าระหว่าง 0.17-0.21 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และเมื่อทำการปรับสภาพด้วยการย่อยลำต้นหรือใบของข้าวโพด ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ $[Ca(OH)_2]$ (เรียกว่ากระบวนการ Overliming) จุลินทรีย์สามารถผลิตอะซีโตน บิวทานอล เอทานอลได้ 26.67 กรัมต่อลิตร การย่อยหญ้า switchgrass โดยไม่ผ่านการปรับสภาพจะทำให้ผลของการหมักต่ำ และจุลินทรีย์ไม่สามารถผลิตอะซีโตน บิวทานอล เอทานอลมากกว่า 1.48 กรัมต่อลิตร หรือมากถึง 14.61 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า การปรับสภาพสารชีวมวลไม่สามารถที่จะหยุดการสร้างสรรค์ยับยั้งที่มาจาก การทดลองได้ หรืออีกประการหนึ่ง เชื้อจุลินทรีย์ทนต่อสารยับยั้งและสามารถผลิตบิวทานอลได้ที่มีความเข้มข้นสูงๆ ซึ่งอาจใช้สำหรับเป็นแนวทางในการปรับปรุงกระบวนการหมักอื่นๆให้ดีขึ้น

Turkish (2008) ศึกษาการเพิ่มผลผลิตบิวทานอลโดยใช้ *Clostridium acetobutylicum* ที่กลายพันธุ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากกากน้ำตาลในสถานะที่เชื้อจุลินทรีย์เกิดการกลายพันธุ์จากการฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต การกลายพันธุ์โดยใช้สาร N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) และ ethyl methane sulphonate (EMS) โดยมีการใช้กากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตรที่เติมแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการหมักในถังหมักขนาด 14 ลิตร โดยมี pH เริ่มต้นที่ 6.2 และไม่ควบคุมความเป็นกรดเบสของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดกระบวนการหมัก เติมน้ำไฮโดรเจนในถังหมักเพื่อให้เกิดสถานะปลอดออกซิเจน ทำการหมักที่อุณหภูมิ 32 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 96 ชั่วโมงจะพบว่าการฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต และการใช้สาร N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) ไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตบิวทานอลแต่การเติมสาร ethyl methane sulphonate (EMS) นั้นมีความสามารถในการเพิ่มการผลิตบิวทานอลได้ร้อยละ 20

Qureshi และคณะ (2008) ศึกษาการกำจัดสารยับยั้งการหมักที่มาจากฟางของต้นข้าวสาลีที่ผ่านการใส่อัลคาไลน์เพอร์รอกไซด์และย่อยด้วยเอนไซม์ โดยใช้ *Clostridium beijerinckii* มาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตบิวทานอลในถังหมักแบบกะ โดยมีการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ทำการหมักในขวดฝาเกลียวปิดขนาด 125 มิลลิลิตร ทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะไร้อากาศ เป็นการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้กลูโคสในการหมักและกลุ่มที่ใช้ฟางข้าวสาลีที่ถูกย่อยและกำจัดเกลือ จะพบว่าสามารถผลิต อะซีโตน-บิวทานอล-เอทานอล ได้ 21.37 และ 22.17 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

Gheslaghi และคณะ (2009) เป็นบทความที่กล่าวถึงเมทาบอลิซึมของ *Clostridium acetobutylicum* ไม่ว่ากรณีนี้จะมีเป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศ สามารถใช้สารตั้งต้นได้หลากหลาย

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

(heterofermentative) สร้างสปอร์ได้ (Girbal และ Soucaille, 1994) การหมักอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล (acetone butanol ethanol, ABE) แบบแบช (Batch) จะสามารถแบ่งได้ตามเมทาบอลิซึมของ *C. acetobutylicum* ออกเป็นสองส่วนที่มีลักษณะเฉพาะ คือ ชั้นของการให้ผลผลิตที่เป็นกรด และชั้นของผลผลิตที่เป็นสารละลาย (Johnson และคณะ, 1931) ขณะที่อยู่ในขั้นแรกนั้น เซลล์จะเติบโตอย่างรวดเร็ว และสร้างผลิตภัณฑ์ในรูปแบบของกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นอะซิเตตและบิวทาเลต กรดเหล่านี้ที่ขับออกมาจะทำให้ค่า pH ภายนอกลดลง กรดเหล่านี้ถูกนำมาใช้เป็นตัวชักนำในกระบวนการ ชีวสังเคราะห์ของสารละลายอินทรีย์จากเอนไซม์

ในปี ค.ศ. 1997 Fermanek และคณะ พบว่าระดับของบิวทานอลและอะซีโตนที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ได้ผลของบิวทานอลและตัวทำละลายอินทรีย์เพิ่มขึ้นด้วย โดย *C. beijerinckii* BA101 และ NCIMB 8052 สายพันธุ์พ่อแม่ที่เจริญใน อาหารเลี้ยงเชื้อ P2 กึ่งแข็ง ที่ประกอบไปด้วยมอลโตเดรีกซ์ติน (maltodextrin) ร้อยละ 6 หรือกลูโคสในกระบวนการหมักแบบกะ 20 ลิตร *C. beijerinckii* BA101 สามารถผลิตบิวทานอลได้ 19 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบการผลิตบิวทานอลระหว่างสายพันธุ์ BA101 กับ NCIMB 8052 พบว่าสายพันธุ์ BA101 ผลิตบิวทานอลในอัตราที่รวดเร็วกว่าสายพันธุ์ NCIMB 8052 และสายพันธุ์ BA101 ยังสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้อย่างสมบูรณ์มากกว่าสายพันธุ์ NCIMB 8052

ต่อมา ในปี ค.ศ. 2004 Tashiro และคณะ ศึกษาการผลิตบิวทานอลด้วยการหมักแบบกึ่งกะ ที่ควบคุมความเป็นกรดต่างให้คงที่ด้วยการเติมกรดบิวทิริก และกลูโคส จากการทดลองพบว่าการเติมกรดบิวทิริกลงไปให้อาหาร สามารถเพิ่มอัตราการผลิตบิวทานอลจำเพาะ การผลิตอะซีโตน บิวทานอล และผลได้ของตัวทำละลายด้วย *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 ได้โดยกระบวนการเติมกรดบิวทิริกและกลูโคส สามารถควบคุมความเข้มข้นของกลูโคสให้อยู่ในระดับต่ำได้อย่างสม่ำเสมอ และได้ผลได้ของบิวทานอลสูงกว่าการหมักแบบกะประมาณ 1.5 เท่า นอกจากนี้ยังได้อัตราผลผลิตบิวทานอลจำเพาะ (specific butanol product rate) มากกว่า 0.10 กรัมต่อกรัมต่อลิตรที่เวลา 39 ชั่วโมงของการหมัก เมื่ออัตราการส่วนระหว่างกรดบิวทิริกและกลูโคส เท่ากับ 1.6 และพบว่าการเติมกรดบิวทิริก และการควบคุมความเป็นกรดต่างให้อยู่ในระดับต่ำ (น้อย

กว่า 5.5) จะไม่พบการผลิตเอทานอล ในขณะที่การเติมกรดอะซีติกลงไปให้อาหารจะเพิ่มการผลิตอะซีโตนเท่านั้น

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ในปี ค.ศ. 1982 Bahl และคณะรายงานว่า การเติมกรดอะซิติก และบิวทิริก ลงในการหมักแบบกึ่งกะที่ใช้ *C. acetobutylicum* และ *C. beijerinckii* ทำให้ผลได้ของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ต่อมาในปี ค.ศ. 1984 Monot และคณะ ได้รายงานว่า กรดบิวทิริกที่ถูกเติมลงในอาหารหมัก เป็นตัวชักนำให้เกิดการผลิตบิวทานอล โดย *C. acetobutylicum* ATCC 824 จากผลการทดลองยังพบว่า ความเป็นกรดต่างของอาหารมีผลต่อการผลิตกรดอินทรีย์ และตัวทำละลาย ในอาหารที่มีความเป็นกรดต่างสูง การหมักจะได้กรดอินทรีย์เป็นผลิตภัณฑ์หลัก ในขณะที่การหมักในอาหารที่มีความเป็นกรดต่างต่ำ จะได้ตัวทำละลายเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ซึ่งการผลิตตัวทำละลายโดยใช้ เชื้อจุลินทรีย์ *C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4 จะเพิ่มขึ้นที่ความเป็นกรดต่าง 5.0 ซึ่งให้ผลคล้ายการผลิตอะซิโตน บิวทานอล เอทานอลด้วย *Clostridium* ชนิดอื่น

ในปี ค.ศ. 1997 Formanek และคณะ พบว่าในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องใน อาหารเลี้ยงเชื้อ P2 กึ่งแข็ง ที่ประกอบด้วยกลูโคสร้อยละ 6 พบว่าสายพันธุ์ BA101 สามารถผลิตตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีกว่าสายพันธุ์ NCIMB 8052 คือ ได้ผลได้และอัตราผลผลิตของตัวทำละลายอินทรีย์เท่ากับ 0.78 และ 1.74 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงสำหรับสายพันธุ์ BA101 และ 0.34 และ 1.77 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงสำหรับสายพันธุ์ NCIMB 8052 ที่อัตราเจือจาง 0.05 และ 0.20 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 2005 Ezeji และคณะ พบว่าความเป็นไปได้ในการใช้แป้งข้าวโพดในการผลิตอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล โดยใช้ *C. beijerinckii* BA101 ด้วยการหมักแบบต่อเนื่อง โดยเมื่อใช้แป้งข้าวโพดเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร และหมักแบบต่อเนื่อง *C. beijerinckii* BA101 สามารถผลิตอะซิโตนได้ 5.4 กรัมต่อลิตร บิวทานอลได้ 14.3 กรัมต่อลิตร และเอทานอลได้ 0.3 กรัมต่อลิตร

ปี ค.ศ. 2005 Tashiro และคณะ ศึกษาการผลิตอะซิโตน บิวทานอล เอทานอลให้ได้ความเข้มข้นสูงโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ความเข้มข้นสูงด้วยการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ และการดึงเซลล์ออก จากการทดลองพบว่า การหมักอย่างต่อเนื่องที่ไม่มีการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีอัตราการเจือจางวิกฤติ (critical dilution rate) เท่ากับ 0.26 ต่อชั่วโมง และให้อัตราผลผลิตอะซิโตน บิวทานอล เอทานอล รวมกันเท่ากับ 1.85 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงที่อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.20 ต่อชั่วโมง สำหรับการหมักอย่างต่อเนื่องที่มีการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ มีอัตราผลผลิตอะซิโตน บิวทานอล เอทานอลสูงสุดเท่ากับ 11.0 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงที่ อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.85 ต่อชั่วโมง ซึ่งการหมัก

ในระบบนี้สามารถปรับปรุงอัตราการผลิตอะซิโตน บิวทานอล เอทานอลเชิงปริมาณได้เมื่อหมักอย่างต่อเนื่องที่อัตราเจือจางสูง (มากกว่า 0.52 ต่อชั่วโมง) ในขณะที่การหมักอย่างต่อเนื่องร่วมกับการนำ

เซลล์กลับมาใช้ใหม่และการดึงเซลล์ออกจากถังหมัก มีอัตราการผลิตอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล เชนิงปริมาณสูงสุดเท่ากับ 7.55 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และหมักได้นานถึง 200 ชั่วโมง

ปี ค.ศ. 2010 Qureshi และคณะ การย่อยฟางข้าวบาร์เลย์ด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการปรับสภาพก่อนการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium beijerinckii* P260 ผลในการผลิตคือได้ อะซีโตน บิวทานอล เอทานอล เป็นปริมาณ 7.09 กรัมต่อลิตร ผลได้ของอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล เท่ากับ 0.33 และอัตราผลผลิต (productivity) ได้เป็น 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ระดับอะซีโตน บิวทานอล เอทานอลนี้จะมีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับการควบคุมการหมัก (21.06 กรัมต่อลิตร) เมื่อความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 60 กรัมต่อลิตร ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการควบคุมการหมัก ผลได้ ของอะซีโตน บิวทานอล เอทานอลเท่ากับ 0.41 และอัตราผลผลิต (productivity) ได้เป็น 0.31 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง การเปรียบเทียบนี้จะชี้ให้เห็นว่าการย่อยฟางข้าวบาร์เลย์ด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางเป็นพิษต่อการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เพื่อลดผลของความเป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นนี้ ฟางข้าวบาร์เลย์ที่ถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางจะได้รับการปรับสภาพด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ $[Ca(OH)_2]$ ตามด้วยการหมัก การปรับสภาพฟางข้าวบาร์เลย์ที่ถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางจะทำให้การหมักประสบผลสำเร็จ และความเข้มข้นของอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล ที่ได้เท่ากับ 26.64 กรัมต่อลิตร ซึ่งผลที่ได้ดีกว่าการควบคุมการหมักและการหมักฟางข้าวบาร์เลย์ที่ถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางและไม่ผ่านการปรับสภาพ (ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 60 กรัมต่อลิตร) ในการหมักผลได้ของอะซีโตน บิวทานอล เอทานอล เท่ากับ 0.43 และได้อัตราผลผลิต (productivity) เป็น 0.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (390% ของการหมักที่ไม่ผ่านการปรับสภาพฟางข้าวบาร์เลย์ที่ถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจาง และการใช้ฟางข้าวบาร์เลย์ที่ถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางโดยไม่เจือจางน้ำตาล) ซึ่งจะสังเกตเห็นว่า การใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ปรับสภาพฟางข้าวบาร์เลย์ที่ถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเจือจาง ทำให้ได้อัตราผลผลิตเฉพาะ (specific productivity) เท่ากับ 0.55 ต่อชั่วโมง เมื่อเทียบกับ 0.12 ต่อชั่วโมงของการควบคุมการหมักที่มีการควบคุมการกระตุ่นของคาร์บอนที่มากขึ้น ซึ่งมาจากผลิตภัณฑ์การหมักโดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้มาจาก ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดยเก็บเป็นก้ำเชื้อในอาหาร Reinforced clostridial ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และทำการถ่ายเชื้อทุก 4 สัปดาห์ มีการจัดเก็บในกลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส

3.2 สารเคมี

Nutrient broth	วุ้น (agar)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)
ซิสเทอีน-ไฮโดรคลอริก โมโนไฮเดรต (Cystein-HCl·H ₂ O)	กรดซัลฟูริก
โพแทสเซียมโซเดียมทาทเรต (Potassium sodium tartrate)	กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก
ไบโอติน (Biotin)	แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH ₄ OH)
เคซีน (Casein)	โซเดียมคลอไรด์
รีซาซูลิน (Resazurin)	กลีเซอรอล
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K ₂ HPO ₄)	โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH ₂ PO ₄)
ไดแอมโมเนียมซัลเฟต ([NH ₄] ₂ SO ₄)	แมกนีเซียมซัลเฟต-7-ไฮเดรต (MgSO ₄ · 7H ₂ O)
แคลเซียมคลอไรด์-2-ไฮเดรต (CaCl ₂ · 2H ₂ O)	โคบอลต์คลอไรด์ (CoCl ₂)
สารสกัดจากยีสต์	แบคโตเปปโตน
สารสกัดจากเนื้อ	อีดีทีเอ (EDTA)

เอกสารนี้เพื่อวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาเท่านั้น ห้ามเผยแพร่โดยไม่ขออนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

คอปเปอร์คลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	กรดบอริก (H_3BO_3)
โซเดียมโมลิบเดต-2-ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	กรดอะซิติก
นิกเกิลคลอไรด์-2-ไฮเดรต ($\text{NiCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	ซิงค์ซัลเฟต-7-ไฮเดรต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
กรดซิตริก (citric acid)	กลูโคส
แอมโมเนียมซัลเฟต	แคลเซียมคลอไรด์
แคลเซียมคาร์บอเนต	กรดไฮโดรคลอริก

3.3 อุปกรณ์

ฟลาร์กส์	ปักเกอร์	จานเพาะเลี้ยงเชื้อ
ขวดเก็บอาหาร (Duran ®)	หลอดทดลอง	หลอดทดลองฝาเกลียว
Anaerobic jar	แท่งแก้วคน	กระบอกตวง
ตะเกียงแอลกอฮอล์	เข็มเขี่ยเชื้อ	หลอดหยด
ปิเปต	จุกยางดูดสาร	จุกสำลี
จุกยางปิดฟลาร์กส์	หลอดปั่นเหวี่ยง	ขวดเก็บตัวอย่าง
เครื่องเขย่า	ตุ้ม 30, 37 องศาเซลเซียส	เครื่องปั่นเหวี่ยง
ขวดลูกขมพู	เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	หม้อนึ่งอัตโนมัติ
ตู้เย็น	ถังแก๊สไนโตรเจน	เครื่องชั่ง
เครื่องเขย่าความเร็วสูง (Vortex)	ตู้แอนแอโรบิกแชมเบอร์ (Anaerobic chamber)	

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.1 อาหาร Reinforced Clostridial

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

เคซีน เอนไซมามิก ไฮโดรไลเซต 10 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (Casein enzymatic hydrolysate) ขอสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	10	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	3	กรัม
สารละลายเดกซ์โทรส (Dextrose)	5	กรัม
สารละลายโซเดียม คลอไรด์ (Sodium chloride)	5	กรัม
สารละลายโซเดียม อะซิเตต (Sodium acetate)	3	กรัม
สารละลายแป้ง (Starch soluble)	1	กรัม
แอล-ซิสเทอีน ไฮโดรคลอไรด์ (L-Cysteine hydrochloride)	0.5	กรัม
วุ้น (Agar)	0.5	กรัม

ซึ่งส่วนประกอบต่างๆ มาละลายน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร หนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในหม้อนึ่งอัดไอ

3.4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* สูตรที่ 1

อาหารเลี้ยงเชื้อ *C. acetobutylicum* (Andrade และ Vasconcelos, 2003) มีส่วนประกอบเป็นน้ำหนักต่อหนึ่งลิตรดังนี้

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.5	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.2	กรัม
เฟอร์ริกซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.01	กรัม
กรดอะซิติก (acetic acid)	2.2	กรัม
ไบโอติน (biotin)	0.04	กรัม
กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (p-aminobenzoic acid)	8.0	มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ทำการเติมแหล่งคาร์บอนโดยเลือกใช้กลูโคส (glucose) 20.0 หรือ 50.0 กรัมต่อลิตร หรือ กลีเซอรอล (glycerol) 20.0 หรือ 50.0 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปปรับค่าพีเอช (pH) ให้ได้ 6.3 โดยเติมสารละลาย NH_4OH เข้มข้นร้อยละ 30 หรือสารละลาย H_2SO_4 เข้มข้น 5 โมลาร์

3.4.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* สูตรที่ 2

อาหารเลี้ยงเชื้อ *C. acetobutylicum* (Badr, Toledo และ Hamdy, 2000) หรืออาหาร กลูโคส-ยีสต์สกัด-เคซีน-ซิสทีน (Glucose-yeast extract-casein-cysteine, GYCC) มีส่วนประกอบ เป็นน้ำหนักต่อ 1 ลิตร ดังนี้

กลูโคส (Glucose)	10	กรัมต่อลิตร
ยีสต์สกัด (Yeast extract)	5	กรัมต่อลิตร
เคซีน (Casein)	15	กรัมต่อลิตร
Cystein-HCl	0.5	กรัมต่อลิตร
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	1.0	กรัมต่อลิตร
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.0	กรัมต่อลิตร
โซเดียมคลอไรด์	2.5	กรัมต่อลิตร
Resazurin	0.001	กรัมต่อลิตร

ทำการเติมแหล่งคาร์บอนโดยเลือกใช้กลูโคส (Glucose) 10.0 20.0 30.0 40.0 และ 50.0 กรัมต่อลิตร หรือกลีเซอรอล (Glycerol) 20.0 30.0 40.0 และ 50.0 กรัมต่อลิตร หรืออัตราส่วน คาร์บอนของกลีเซอรอลและ/หรือกลูโคสเป็น 1:0 1:1 1:2 2:1 0:1 ในปริมาณรวมตามความ เข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสม

3.5 การเพาะเลี้ยงเชื้อ

3.5.1 การเตรียมหัวเชื้อ

ทำการเลี้ยงเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ที่เก็บในอาหารแข็ง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า reinforced clostridial ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส มา 1 ลูก ลงในหลอดอาหารเหลว reinforced ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

clostridial ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มในแอนแอโรบิกจาร์ (Anaerobic jar) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่ได้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่เตรียมไว้ในหัวข้อที่ 3.4.1 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร จะได้ปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 50 มิลลิลิตร จากนั้นทำการบ่มในตู้แอนแอโรบิกแคมเบอร์ ซึ่งอยู่ภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.5.2 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสม

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความแตกต่างกัน ดังหัวข้อที่ 3.4.2 และ 3.4.3 ซึ่งใช้กลูโคสความเข้มข้นเริ่มต้น 20 และ 50 กรัมต่อลิตร โดยนำอาหารทั้ง 2 สูตรมาทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที จากนั้นนำมาทำการเตรียมหัวเชื้อตามที่ได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 3.5.1 โดยทำการเพาะเลี้ยงที่สภาวะนิ่ง ในตู้บ่มปราศจากอากาศ โดยทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 12 24 36 48 60 72 96 120 และ 144 ชั่วโมง โดยจะเก็บตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างโดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรซึ่งวัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่โดยวิธีการเขย่าจาน (pour plate) จากนั้น นำตัวอย่างมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการเก็บส่วนใสเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารเคมีในขั้นตอนต่อไป

3.5.3 การหาปริมาณกลีเซอรอลที่เหมาะสม

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบที่ได้จากหัวข้อ 3.5.2 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร โดยใส่กลีเซอรอลเป็น 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที จากนั้นทำการดูหัวเชื้อที่เตรียมในหัวข้อ 3.5.1 มา 5 มิลลิลิตร เติมนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำไปเลี้ยงที่สภาวะนิ่ง ในตู้บ่มปราศจากอากาศ จากนั้นนำมาทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 24 48 72 96 120 144 168 192 และ 216 ชั่วโมง โดยจะนำมาทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างโดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่

เอกสารนี้ ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรซึ่งวัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่โดยวิธีการเขย่าจาน (pour plate) จากนั้น นำตัวอย่างมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อ

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

นาที่ เป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการเก็บส่วนใสเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารเคมีในขั้นต่อไป

3.5.4 การหาปริมาณกลูโคสที่เหมาะสม

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบที่ได้จากหัวข้อ 3.5.2 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร โดยมีการเติมกลูโคสความเข้มข้นตั้งแต่ 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร เพื่อนำความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมไปศึกษาอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสที่จะเติมลงในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ในปริมาณรวมตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสม เตรียมอาหารลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งออตโอ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที จากนั้นทำการดูดหัวเชื้อที่เตรียมในหัวข้อ 3.5.1 มา 5 มิลลิลิตร เติมนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำไปเลี้ยงที่สภาวะนิ่ง ในตู้บ่มปราศจากอากาศ จากนั้นนำมาทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 24 48 72 96 120 และ 144 ชั่วโมง โดยจะนำมาทำการวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรดต่างโดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรซึ่งวัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่โดยวิธีการเขย่าจาน (pour plate) จากนั้น นำตัวอย่างมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการเก็บส่วนใสเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารเคมีในขั้นต่อไป

3.5.5 การหาอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสที่เหมาะสม

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบที่ได้จากหัวข้อ 3.5.2 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร โดยอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคส ที่ใช้ในการศึกษา คือ 1:0 1:1 1:2 2:1 และ 0:1 ในปริมาณรวมตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมที่ได้จากหัวข้อ 3.5.4 เตรียมอาหารลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งออตโอ (autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที จากนั้นทำการดูดหัวเชื้อที่เตรียมในหัวข้อ 3.5.1 มา 5 มิลลิลิตร เติมนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำไปเลี้ยงที่สภาวะนิ่ง ในตู้บ่มปราศจากอากาศ จากนั้นนำมาทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 24 48 72 96 120 และ 144 ชั่วโมง

เอกสารนี้ยกเว้นสูตรอาหารที่เติมกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวจะใช้เวลาในการบ่มเชื้อ 216 ชั่วโมง ไม่ว่าจะบ่มที่อุณหภูมิใดก็ตาม

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรซึ่งวัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่โดยวิธีการเขย่าจาน (pour plate) จากนั้น นำตัวอย่างมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการเก็บส่วนใสเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารเคมีในขั้นตอนต่อไป

3.6 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.6.1 การตรวจวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิต

ในการตรวจวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ เริ่มด้วยการเจือจางเป็นชุด (series dilution) จนได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วนำไปทำการนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการตรวจวิเคราะห์จำนวนโดยวิธีเขย่าจาน (pour plate) เริ่มจากหลอมอาหารเพาะเชื้อให้ละลายแล้วทิ้งให้เย็นประมาณ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมตัวอย่างอาหารให้เจือจางได้ความเข้มข้นช่วงที่เหมาะสม 3 ระดับความเจือจางโดยใช้ปิเปตดูดอาหารแต่ละความเจือจาง เริ่มจากสารละลายเชื้อที่มีความเจือจางมากที่สุดใส่ในงานเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ทำอย่างน้อย 3 จาน โดยเรียงจานทั้ง 3 ซ้อนกัน ดูดอาหารใส่จานล่างสุดก่อน แล้วไล่ขึ้นมาจนถึงใบบนสุด เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานประมาณ 15-20 มิลลิลิตร โดยเริ่มจากจานใบล่างสุด เช่นเดียวกัน เขย่าจานที่ซ้อนอยู่ทั้ง 3 ใบพร้อมกันโดยหมุนไปทางขวา 3-4 ครั้ง หมุนไปทางซ้าย 3-4 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้จนอุ่นแข็งแล้วนำเชื้อไปบ่มในกระบอกใส่งานเพาะเชื้อปิดกันอากาศเข้า (anaerobic jar) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 วันโดยกลับงานเพาะเชื้อ เมื่อบ่มครบเวลาแล้วทำการนับจำนวนโคโลนีทั้งบนผิวหน้าและที่ฝังในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ colony counter เลือกเฉพาะความเจือจางที่มีโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนีต่องานเพาะเชื้อ นับจำนวนรวมทั้ง 3 จานแล้วหาค่าเฉลี่ย รายงานจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่นับได้ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร (CFU ต่อ มิลลิลิตร)

3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Miller, 1959)

นำตัวอย่างส่วนใสที่ได้หลังการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่เหลือด้วยวิธีดีเอ็นเอส (DNS method) (Miller, 1959) โดยดูตัวอย่างที่ระดับความเจือจางไม่ต่างกันเกินไป

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ต่างๆ ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายดีเอ็นเอสปริมาตร 3 มิลลิลิตรในแต่ ละตัวอย่าง จากนั้นนำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที และแช่หลอดทดลองในอ่างน้ำ เย็น 5 นาที ทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความ ยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เพื่อนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ซึ่ง เตรียมที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะได้ค่า ความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่างที่ทดสอบ

3.6.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารผลิตภัณฑ์

นำส่วนใสของตัวอย่างที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่ อุณหภูมิห้อง นำมาเจือจางให้ได้สารละลายความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกความ เข้มข้นร้อยละ 2 สำหรับเป็น Internal standard แล้วกรองสารละลายด้วยตัวกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมครอนให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของบิวทานอล อะซิ โตน เอทานอล กรดอะซิติก กรดบิวทีริกและกรด 1,3-โพรเพนไดออล ด้วยเครื่อง HPLC (Agilent 1200) โดยใช้คอลัมน์ Aminex® HPX-87H Ion Exclusion ขนาด Particle size 9 ไมโครเมตร เส้น ผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ 7.8 มิลลิเมตร ความยาว 30 เซนติเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้ คือสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.005 โมลาร์ ที่มีอัตราการไหล 0.75 มิลลิลิตรต่อ นาที ส่วนคอลัมน์ (column oven) ทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส โดยวัดค่า Refractive index ด้วย เครื่องวัดการหักเหของแสง ใช้ Run time 40 นาที และฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้น วิเคราะห์หาพื้นที่ใต้กราฟของสารที่มี Retention time ตามสารมาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์ไว้ ล่วงหน้า แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของสารต่างๆเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.6.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่าที่ได้จากความเจือจางที่มีโคโลนีระหว่าง 20-200 โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อนำมาหา ค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เป็นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร (CFU/ml) และสารที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC แล้วนำมาวิเคราะห์เพื่อหาค่า ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป โดย

เอกสารนี้ใช้วิธีวิเคราะห์ของ Duncan's ในการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในตอนแรกของโครงการวิจัยนี้ ต้องการศึกษาการเจริญเติบโตและความสามารถในการใช้อาหาร 2 สูตรที่มีสารอาหารแตกต่างกัน คือ อาหาร Glucose-yeast extract-casein-cysteine (GYCC) และอาหารของ Andrade และ Vasconcelos (2003) โดยที่สูตรอาหารสองอย่างนี้นั้น มีการเติมกลูโคสระดับความเข้มข้นต่างกัน จึงทำการทดลองเปรียบเทียบอาหารสองชนิดโดยใช้กลูโคสเข้มข้น 2 ระดับ คือ 20 และ 50 กรัมต่อลิตร จากนั้น จึงนำอาหารสูตรที่เหมาะสม มาทำการหาค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่เหมาะสม โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ต่อมาเติมกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร เพื่อหาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม แล้วจึงนำความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมไปศึกษาอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสที่เติมลงในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง โดยให้มีปริมาณรวมเท่ากับความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสม ซึ่งอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคสที่ใช้ในการศึกษา คือ 1:0, 1:1, 1:2, 2:1 และ 0:1

เริ่มทำการทดลองจากการถ่ายเชื้อจากอาหาร reinforce clostridial ลงในอาหารเหลวชนิดเดียวกันปริมาตร 5 มิลลิลิตร 1 ลูบ ป่มในโถป่มเชื้อแบบไร้ออกซิเจน (anaerobic jar) ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปถ่ายลงในอาหารเหลว ปริมาตร 50 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปป่มไว้ในเครื่องตุ้มปลอดเชื้อในสภาพไร้ออกซิเจน (Anaerobe chamber) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้วจึงเก็บตัวอย่างตามเวลาดังนี้ ถ้าเติมกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว หรือเป็นแหล่งคาร์บอนร่วม ทำการเก็บตัวอย่างที่ 0 12 24 36 48 60 72 96 120 และ 144 ชั่วโมง ถ้าใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ทำการเก็บตัวอย่างที่ 0 24 48 72 96 120 144 168 192 และ 216 ชั่วโมง จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่โดยวิธีการเขย่าจาน (pour plate) ที่ระดับความเจือจางต่างๆ และรายงานในหน่วยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร (CFU/mL) และวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 600 นาโนเมตร แล้วนำตัวอย่างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาทำการปั่น

เอกสารนี้เป็นเพียงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสไป
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

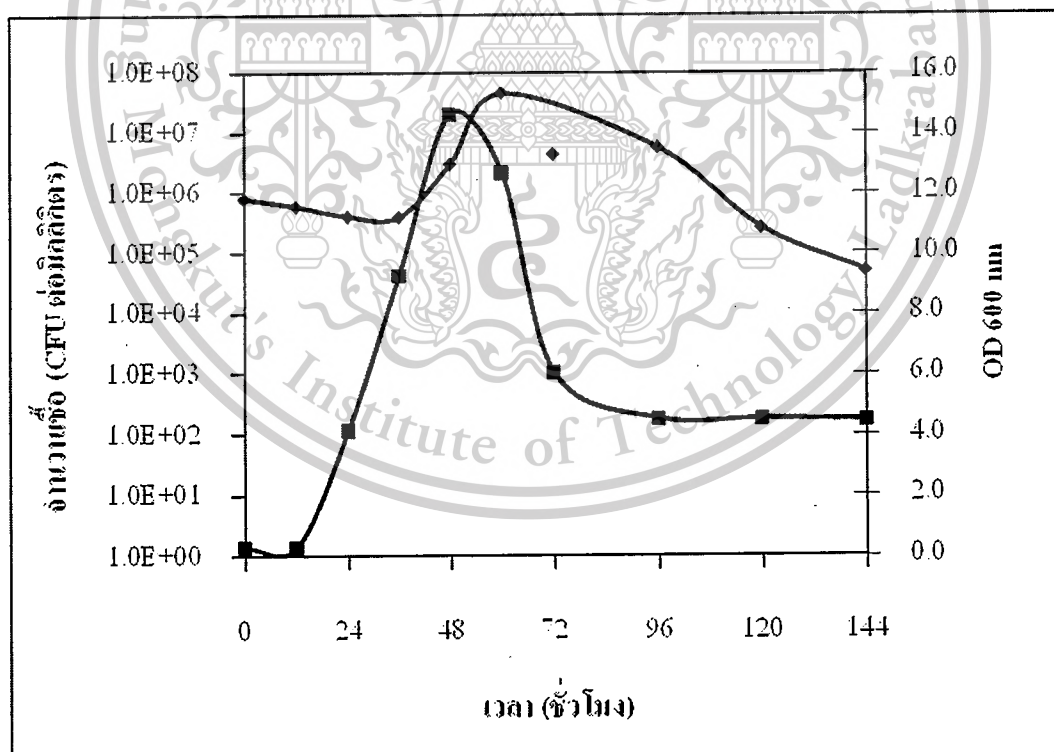
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณกลูโคสโดยวิธี DNS ของ Miller (1959) และนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เชื้อสร้างขึ้นด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

4.1 การเปรียบเทียบอาหาร 2 สูตร ระหว่างอาหารสูตร Glucose-yeast extract-casein-cysteine (GYCC) และอาหารของ Andrade และ Vasconcelos (2003)

4.1.1 ผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อทำการทดลองโดยใช้อาหาร GYCC โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ได้ผลดังรูปที่ 4.1 และตารางที่ 4.1 พบว่าในกระบวนการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นที่เวลา 0 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 8.1×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อเวลาในการบ่มผ่านไป 36 ชั่วโมงแรก จำนวนเซลล์มีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 อยู่ในค่าระหว่าง 5.58×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ถึง



รูปที่ 4.1 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462

และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์โดยไม่ได้รับอนุญาตจากทางสถาบันฯ สภาวະນິงและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm) บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.1 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	OD 600 nm
0	$(8.10 \pm 5.70)^b \times 10^5$	$0.269^e \pm (0.751 \times 10^{-3})$
12	$(6.03 \pm 3.18)^b \times 10^5$	$0.297^e \pm (0.651 \times 10^{-3})$
24	$(6.13 \pm 1.19)^b \times 10^5$	$4.133^d \pm (0.208 \times 10^{-1})$
36	$(5.58 \pm 5.74)^b \times 10^5$	$9.260^b \pm (0.961 \times 10^{-1})$
48	$(3.58 \pm 6.19)^b \times 10^6$	$14.600^a \pm (0.115 \times 10^1)$
60	$(4.81 \pm 14.10)^a \times 10^7$	$12.660^b \pm (0.666 \times 10^{-1})$
72	$(5.75 \pm 8.66)^b \times 10^6$	$6.030^c \pm (0.115 \times 10^{-1})$
96	$(6.65 \pm 13.60)^b \times 10^6$	$4.500^d \pm (0.200 \times 10^{-1})$
120	$(2.70 \pm 6.67)^b \times 10^5$	$4.500^d \pm 0.000$
144	$(5.63 \pm 4.33)^b \times 10^4$	$4.460^d \pm (0.153 \times 10^{-1})$

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

8.1×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร จนกระทั่งชั่วโมงที่ 48 จำนวนเชื้อเริ่มมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 3.58×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้น เซลล์ที่พบมีจำนวนมากขึ้นอย่างรวดเร็ว จนมีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 60 มีค่าเท่ากับ 4.81×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อวิเคราะห์สถิติ ต่อมา ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มีค่าลดลงอย่างช้าๆ ตามเวลาที่ผ่านไป ในชั่วโมงที่ 72 ถึง 144 ชั่วโมงซึ่ง

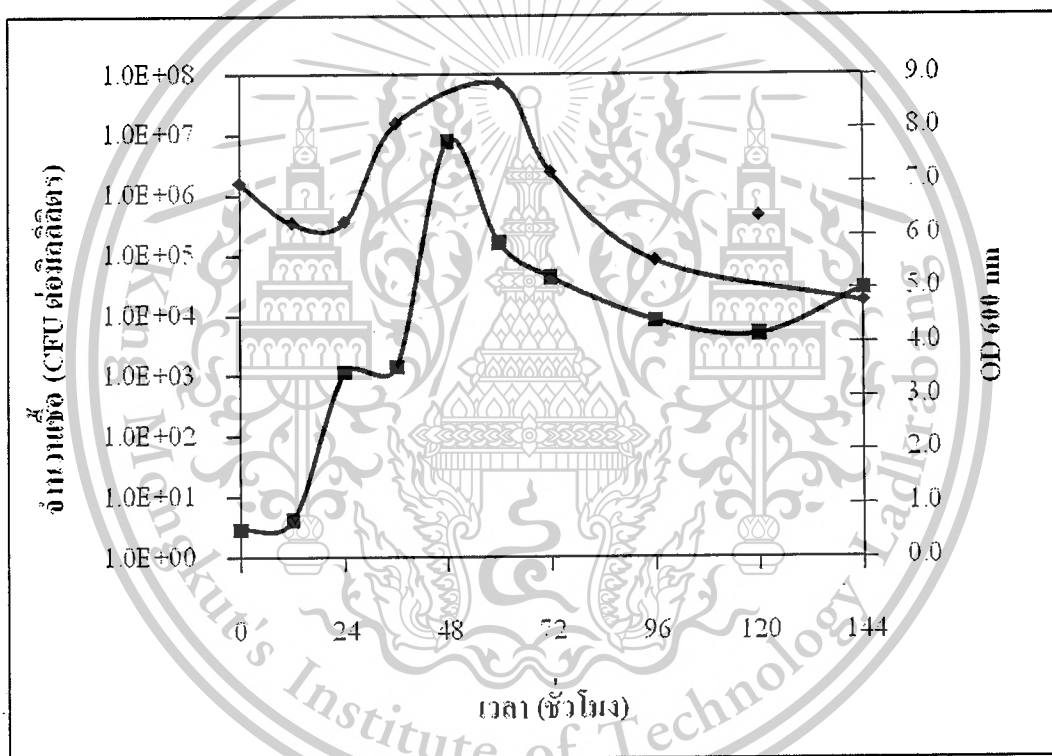
เป็นเวลาสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง มีเชื้อจุลินทรีย์รอดอยู่เพียง 5.63×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรนั้น พบว่าชั่วโมงที่ 0 เริ่มต้นที่ 0.269 และในชั่วโมงที่มีการเจริญเติบโตที่สุดที่ชั่วโมงที่ 60 มีค่าการดูดกลืนแสง 12.700 ซึ่งค่อนข้างสอดคล้องกันกับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น ถึงแม้ว่าค่าดูดกลืนคลื่นแสง 600 นาโนเมตรมีค่ามากที่สุดที่ 48 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง (14.600) หลังจากผ่านชั่วโมงที่ 60 ไป พบว่าค่าการดูดกลืนคลื่นแสง 600 นาโนเมตรค่อยๆลดลงจนถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่า มีค่า OD เท่ากับ 4.46 จึงสรุปได้ว่า ค่าการดูดกลืนแสงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร มีความสอดคล้องกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *C. Acetobutylicum*



รูปที่ 4.2 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ปกติ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.2 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	OD 600 nm
0	$(1.30 \pm 3.06)^b \times 10^6$	$0.523^d \pm (0.253 \times 10^{-2})$
12	$(3.30 \pm 2.31)^b \times 10^5$	$0.696^d \pm (0.117 \times 10^{-2})$
24	$(3.80 \pm 3.16)^b \times 10^5$	$3.440^c \pm (0.421 \times 10^{-2})$
36	$(1.49 \pm 2.30)^b \times 10^7$	$3.540^c \pm (0.249 \times 10^{-1})$
48	$(1.04 \pm 2.22)^b \times 10^7$	$7.750^a \pm (0.118 \times 10^{-1})$
60	$(7.44 \pm 1.52)^a \times 10^7$	$5.860^b \pm (0.986 \times 10^{-1})$
72	$(3.42 \pm 3.30)^b \times 10^6$	$5.210^b \pm (0.631 \times 10^{-1})$
96	$(1.90 \pm 2.80)^b \times 10^5$	$4.410^b \pm (0.477 \times 10^{-1})$
120	$(5.00 \pm 1.62)^b \times 10^5$	$4.150^b \pm (0.060 \times 10^{-2})$
144	$(6.70 \pm 6.01)^b \times 10^4$	$5.000^b \pm (0.163 \times 10^{-1})$

หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในกระบวนการหมักโดยเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร จะมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.3×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ดังแสดงผลตามรูปที่ 4.2 และตารางที่ 4.2 และเมื่อเวลาในการหมักมากขึ้นจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ลดลงเล็กน้อย เป็น 3.80×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ที่ 24 ชั่วโมง แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นเชื้อมีปริมาณมากขึ้น และมีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่

ชั่วโมงที่ 60 มีค่าเท่ากับ 7.44×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้น ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มีค่าลดลงตาม

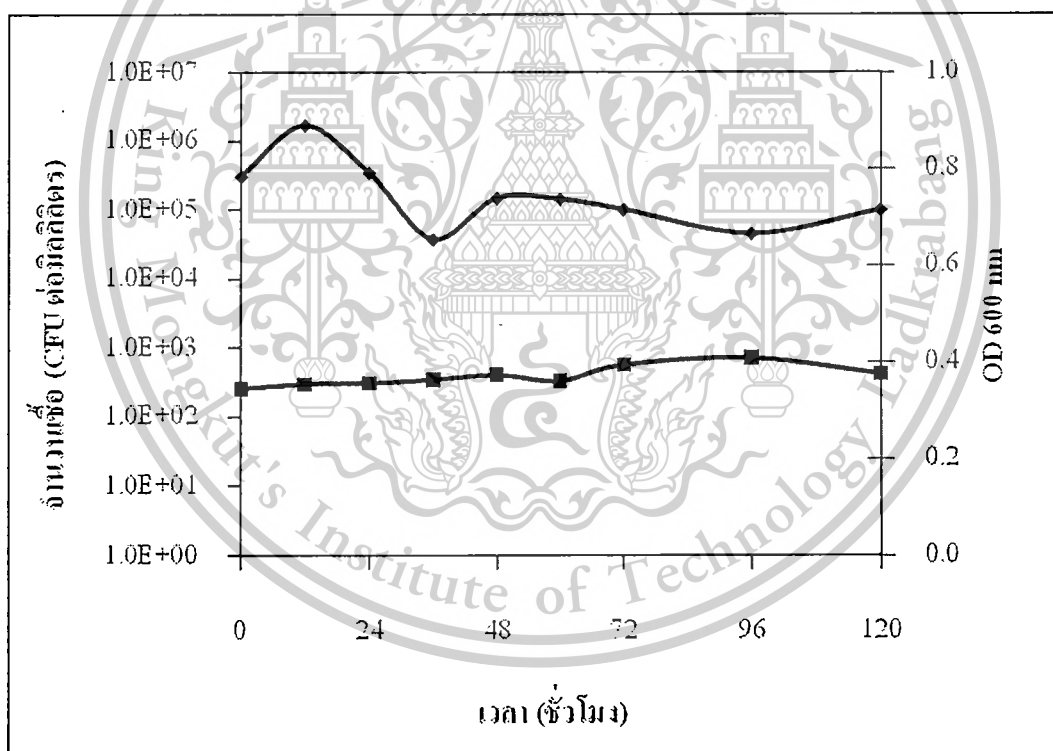
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เวลาที่ผ่านไปและเริ่มมีการเจริญเติบโตคงที่ในช่วงที่ 96 ถึง 144 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีเชื้อจุลินทรีย์รอดอยู่เพียง 6.7×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร

ขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากรูปที่ 4.2 และตาราง 4.2 พบว่าชั่วโมงที่ 0 มีค่าเริ่มต้นที่ 0.523 และในการเก็บตัวอย่างที่มีค่าดูดกลืนคลื่นแสง 600 นาโนเมตร สูงที่สุด คือชั่วโมงที่ 48 มีค่าการดูดกลืนแสง 7.75 ซึ่งเป็นการเก็บตัวอย่างครั้งก่อนที่จะเป็นชั่วโมงที่ 60 ซึ่งเป็นชั่วโมงที่มีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอยู่สูงสุด อย่างไรก็ตาม หลังจากผ่านชั่วโมงที่ 48 ไป พบว่า OD มีค่าลดลงจนเวลาการเพาะเลี้ยงสุดท้าย (ชั่วโมงที่ 144) มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสง 600 นาโนเมตร อยู่ 4.460

ผลที่ได้จากกระบวนการหมักโดยเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีส่วนประกอบของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.3 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Andrade และ Vasconcelos ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■

OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

แสดงในรูปที่ 4.3 และตารางที่ 4.3 พบว่าจำนวนเซลล์ของการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 มีค่าเท่ากับ 2.7×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อเวลาในการหมักผ่านไป 12 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อมีค่าลดลงเล็กน้อยเป็น 4.90×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จากนั้น จำนวนเซลล์มีปริมาณมากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 3.02×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้น ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มีค่าลดลง ในการเก็บตัวอย่างครั้งต่อมา (ชั่วโมงที่ 36) และเริ่มมีการเจริญเติบโตคงที่ระหว่างการเพาะเลี้ยงชั่วโมงที่ 48 ถึง 120 ชั่วโมง โดยในการเก็บตัวอย่างครั้งสุดท้ายมีเชื้อจุลินทรีย์รอดอยู่ 5.2×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร จะสังเกตเห็นว่าเชื้อในอาหารสูตรนี้มีการเจริญเติบโตต่ำ

ตารางที่ 4.3 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	OD 600 nm
0	$(2.70 \pm 1.65)^b \times 10^5$	$0.344^c \pm (0.700 \times 10^{-3})$
12	$(4.90 \pm 3.06)^b \times 10^4$	$0.354^b \pm (0.148 \times 10^{-2})$
24	$(3.02 \pm 4.68)^a \times 10^6$	$0.356^b \pm (0.656 \times 10^{-3})$
36	$(4.40 \pm 3.61)^b \times 10^5$	$0.363^b \pm (0.265 \times 10^{-3})$
48	$(5.60 \pm 3.00)^b \times 10^4$	$0.373^a \pm (0.200 \times 10^{-3})$
60	$(1.90 \pm 1.45)^b \times 10^5$	$0.360^b \pm (0.751 \times 10^{-3})$
72	$(2.85 \pm 3.92)^b \times 10^5$	$0.394^a \pm (0.471 \times 10^{-2})$
96	$(1.10 \pm 1.02)^b \times 10^5$	$0.408^a \pm (0.442 \times 10^{-2})$
120	$(5.20 \pm 7.14)^b \times 10^4$	$0.375^a \pm (0.493 \times 10^{-2})$

หมายเหตุ a, b, c ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

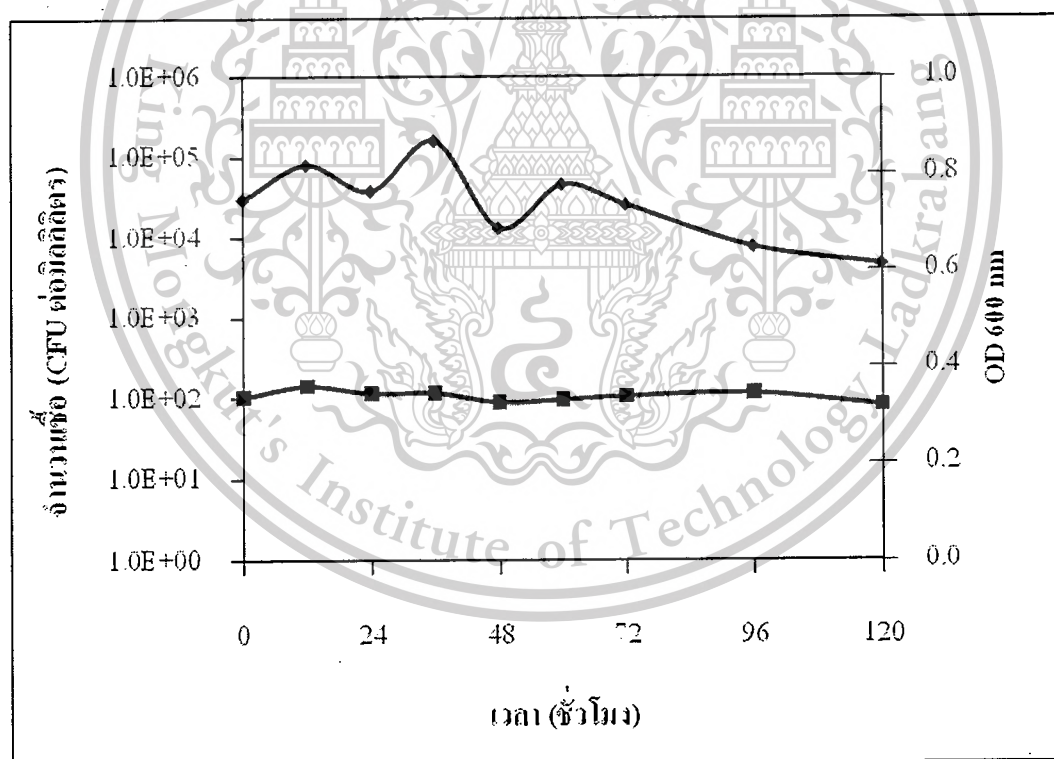
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้เฉพาะในโครงการวิจัยของหน่วยงาน ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรนั้น พบว่าชั่วโมงที่ 0 มีค่าเท่ากับ 0.344 เมื่อเวลาการเพาะเลี้ยงผ่านไป จากรูปที่ 4.3 พบว่าค่า OD ที่ 600 นาโนเมตรเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ไม่แตกต่างกันมากเมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติ และมีค่า OD สูงสุดในชั่วโมงที่ 96 (0.408)

จากรูปที่ 4.4 และตารางที่ 4.4 พบว่าในกระบวนการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีการเติมกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรลงไป มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นเท่ากับ 4.0×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อเวลาในการบ่มมากขึ้นเป็น 12 ชั่วโมงจำนวนเซลล์ก็จะมีปริมาณมากขึ้นเล็กน้อย มีค่า 9.25×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนที่ 24 ชั่วโมง พบปริมาณเชื้อ 6.40×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จากนั้น จำนวนเซลล์มากที่สุดในชั่วโมงที่ 36 มีค่าเท่ากับ 3.00×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ต่อมา ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มีค่าลดลงตามเวลาที่ผ่านไป และมีการเจริญเติบโตคงที่ในชั่วโมงที่ 48 ถึง 120 ของการเพาะเลี้ยงและที่ 120 ชั่วโมง มีเชื้อจุลินทรีย์รอดอยู่เพียง 9.6×10^3



รูปที่ 4.4 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Andrade และ Vasconcelos ที่มี

กลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.4 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	OD 600 nm
0	$(4.00 \pm 2.88)^b \times 10^5$	$0.336^b \pm (0.232 \times 10^{-2})$
12	$(9.25 \pm 4.83)^b \times 10^4$	$0.359^b \pm (0.344 \times 10^{-2})$
24	$(6.40 \pm 8.93)^b \times 10^4$	$0.344^b \pm (0.248 \times 10^{-2})$
36	$(3.00 \pm 4.53)^a \times 10^5$	$0.345^b \pm (0.335 \times 10^{-2})$
48	$(2.80 \pm 4.02)^b \times 10^4$	$0.326^b \pm (0.165 \times 10^{-2})$
60	$(5.81 \pm 3.54)^b \times 10^4$	$0.331^b \pm (0.462 \times 10^{-3})$
72	$(7.00 \pm 5.19)^b \times 10^4$	$0.338^b \pm (0.379 \times 10^{-3})$
96	$(1.62 \pm 3.40)^b \times 10^4$	$0.344^b \pm (0.366 \times 10^{-2})$
120	$(9.60 \pm 6.90)^b \times 10^3$	$0.318^b \pm (0.659 \times 10^{-2})$

หมายเหตุ a, b, ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

CFU ต่อมิลลิลิตร จะสังเกตเห็นว่าเชื้อในอาหารสูตรนี้มีการเจริญเติบโตที่ต่ำเช่นเดียวกัน ในขณะที่พิจารณาการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่าการเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.336 เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าค่า OD ไม่เปลี่ยนแปลงมาก และไม่มีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และมีค่า OD สูงสุดในชั่วโมงที่ 12 โดยมีค่าเท่ากับ 0.359

เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างอาหาร GYCC และ Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร พบว่าอาหาร GYCC ทำให้มีการเจริญเติบโตของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ดีกว่าอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003)

โดยในอาหาร GYCC มีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 60 มีค่าเท่ากับ 4.81×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร อย่างไรก็ตามมีข้อควรระวังคืออาหาร GYCC มีค่า OD สูงสุดในชั่วโมงที่ 12 โดยมีค่าเท่ากับ 0.359

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

มิลลิลิตร ส่วนในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) มีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 24 มีค่าเพียง 3.02×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งการเจริญเติบโตในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) มีไม่มากนัก สาเหตุเกิดจาก การที่จุลินทรีย์สามารถนำสารอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตได้น้อย ส่วนอาหาร GYCC และ Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ยังพบว่าอาหาร GYCC สามารถใช้เลี้ยงเชื้อให้เจริญเติบโตได้ดีกว่าอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) โดยในอาหาร GYCC พบจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 60 มีค่าเท่ากับ 7.44×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) มีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 36 มีค่าเพียง 3.00×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร เท่านั้น

จากรูปที่ 4.1-4.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรนั้นค่อนข้างมีความสอดคล้องกับผลการทดลองอยู่บ้างในอาหาร GYCC เมื่อเชื้อมีการเจริญเติบโตที่มาก ค่าการดูดกลืนแสงก็จะจะมีมากขึ้น แต่ในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ไม่เป็นไปตามนั้น อาจเกิดจากการที่เชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นน้อยจนวัดความขุ่นที่เกิดจากจำนวนเชื้อได้ไม่แตกต่างกัน

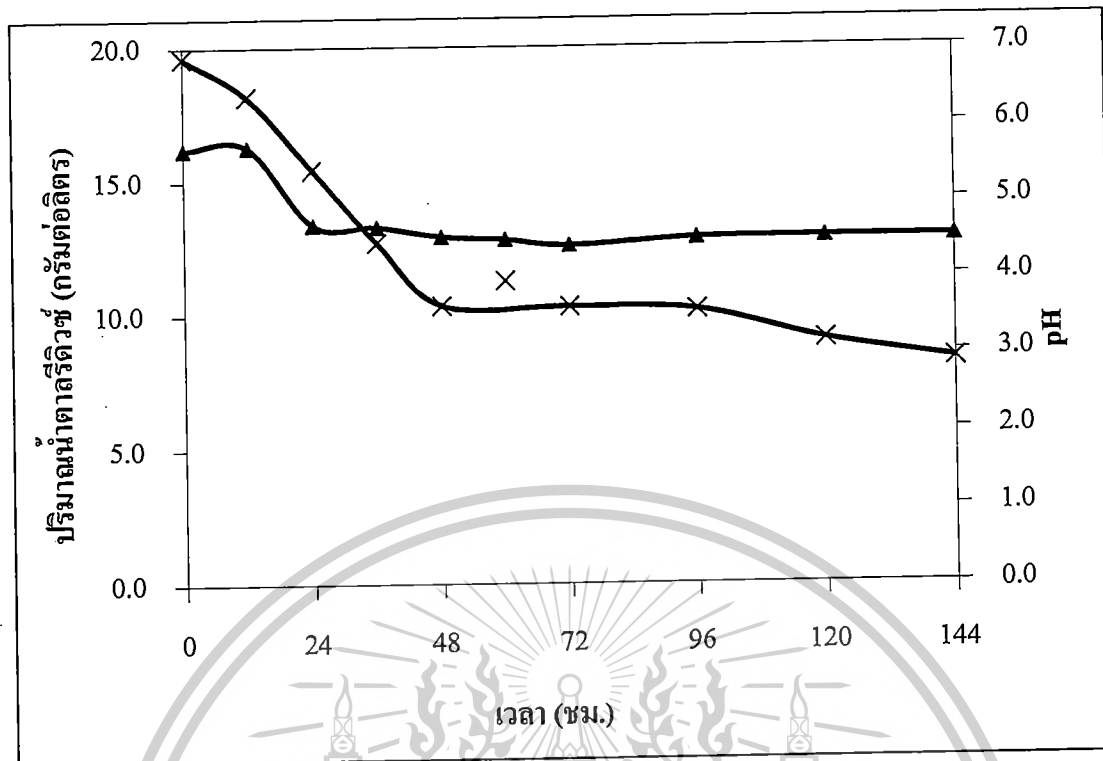
4.1.2 ผลของอาหารต่อการใช้สารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารสูตร GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลูโคส 20 กรัม ได้ผลดังแสดงในรูป 4.5 และตาราง 4.5 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 19.62 กรัมต่อลิตร และเมื่อเวลาผ่านไป ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างต่อเนื่อง จนถึงชั่วโมงที่ 48 เชื้อจุลินทรีย์มีการใช้น้ำตาลจนมีปริมาณเหลือ 9.94 กรัมต่อลิตรซึ่งใช้น้ำตาลไปทั้งหมด 9.68 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้น การใช้ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มคงที่ ตั้งแต่การเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 48 ถึง 96 แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตน้อยลง จากนั้น ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าลดลงเล็กน้อยจนเมื่อชั่วโมงที่ 144 ซึ่งเป็นชั่วโมงการเพาะเลี้ยงสุดท้าย มีปริมาณต่ำสุด เท่ากับ 8.28 กรัมต่อลิตร และเมื่อกลับไปดูผลการทดลองจากตาราง 4.1 พบว่าเชื้อมีแนวโน้มการเจริญมีความสอดคล้องกับค่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้ ส่วนแนวโน้มค่าความเป็นกรดต่างค่อนข้างมีความสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาล คือมีแนวโน้มลดลง โดยเริ่มต้นที่ 5.67 มาเป็น 4.50 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	pH
0	19.62 ^a ± 0.56	5.67 ^b ± 0.17
12	18.17 ^b ± 0.58	5.70 ^a ± 0.01
24	15.43 ^c ± 1.09	4.68 ^c ± 0.17
36	12.69 ^d ± 1.13	4.65 ^c ± 0.04
48	9.94 ^f ± 0.63	4.52 ^d ± 0.01
60	11.20 ^e ± 1.00	4.48 ^e ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้มีการเผยแพร่หรือใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุที่เปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

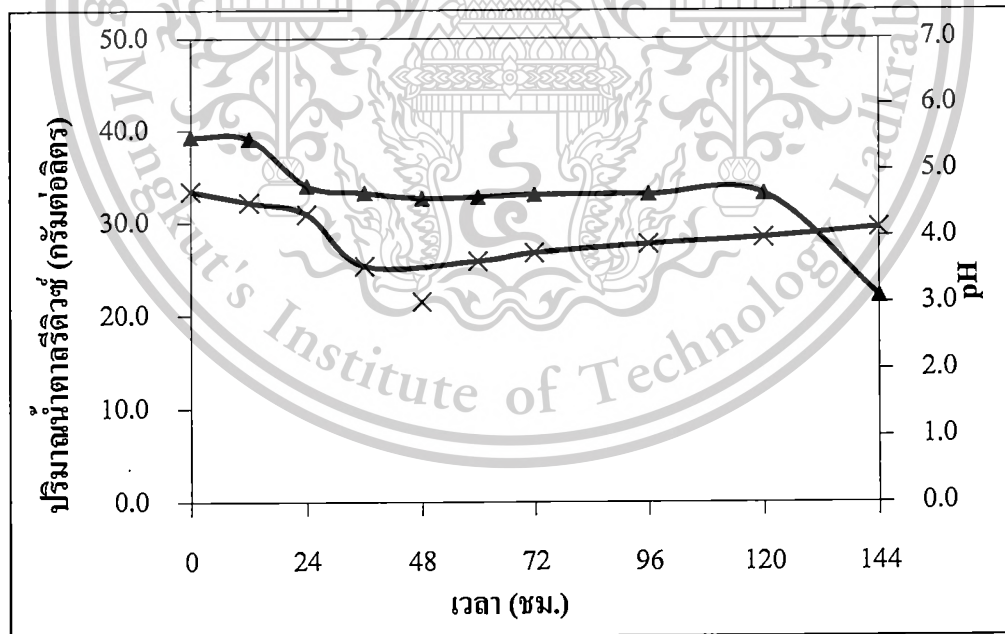
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.5 (ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	pH
72	$10.29^f \pm 1.29$	$4.40^f \pm 0.11$
96	$10.15^f \pm 1.69$	$4.49^e \pm 0.01$
120	$9.02^g \pm 0.34$	$4.50^d \pm (0.05 \times 10^{-1})$
144	$8.28^g \pm 0.51$	$4.50^d \pm 0.15$

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f, g ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



รูปที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศา

เซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (x ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง) ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	pH
0	33.40 ^a ± 2.60	5.52 ^a ± (0.05×10 ⁻¹)
12	32.18 ^b ± 3.44	5.47 ^b ± 0.02
24	30.92 ^b ± 3.90	4.76 ^c ± (0.45×10 ⁻¹)
36	25.36 ^c ± 6.53	4.65 ^d ± (0.15×10 ⁻⁴)
48	25.83 ^c ± 5.67	4.57 ^f ± (0.15×10 ⁻⁴)
60	25.88 ^c ± 7.99	4.59 ^f ± 0.02
72	26.75 ^b ± 6.24	4.62 ^e ± 0.03
96	27.71 ^b ± 4.42	4.63 ^e ± 0.11
120	28.42 ^b ± 3.23	4.64 ^d ± 0.15×10 ⁻³)
144	29.49 ^b ± 2.84	4.65 ^d ± (0.07×10 ⁻¹)

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.6 ผลของการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ทำให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 มีค่าเท่ากับ 33.40 กรัมต่อลิตร และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง มีการใช้น้ำตาลไปเพียงเล็กน้อย โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 30.92 กรัมต่อลิตร จากนั้น น้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารลดลงมีปริมาณเหลือ 25.36 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 36 ซึ่งใช้น้ำตาลไปทั้งหมด 8.04 กรัมต่อลิตร หลังชั่วโมงที่ 36 เป็นต้นไป ค่า

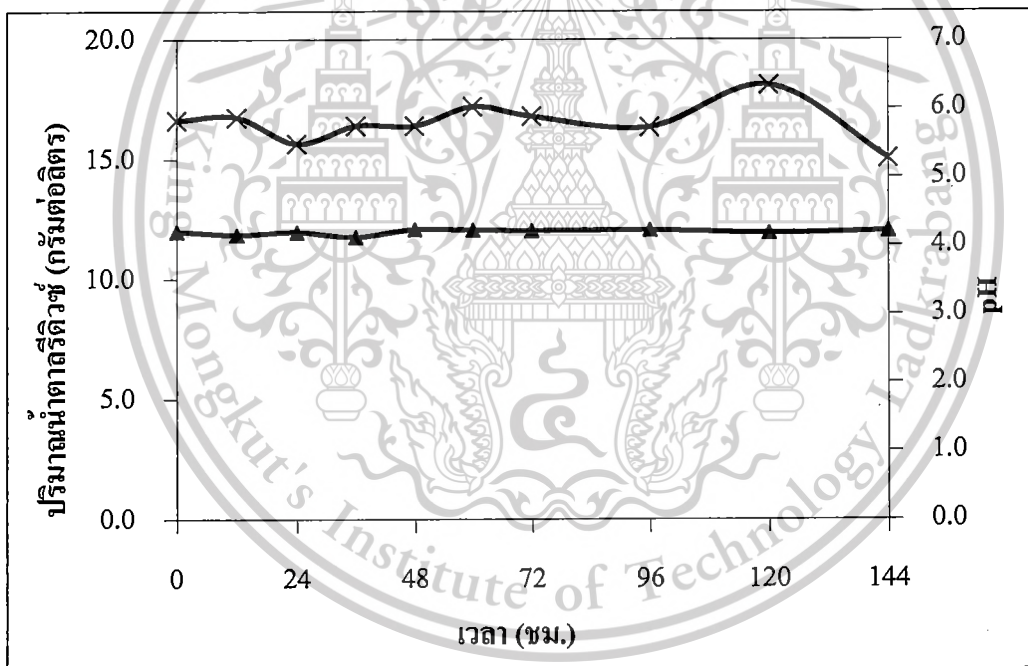
น้ำตาลมีแนวโน้มคงที่แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตน้อยลง และเมื่อกลับไปดูผลเอกสารนี้เป็นต้นไปจะเห็นว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลที่ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตที่น้อยลงนี้ไม่ได้หมายความว่าปริมาณน้ำตาลที่ลดลงจากตารางที่ 4.5 พบว่าเชื้อมีแนวโน้มการเจริญเติบโตที่มีความสอดคล้องกับค่าปริมาณ

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

น้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้ ส่วนค่าความเป็นกรดต่างมีแนวโน้มลดลง โดยเริ่มจาก 5.52 มาเป็น 4.65 ซึ่ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ส่วนการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรของ Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีการเติม กลูโคสลงไปความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. acetobutylicum* ได้ผลดังรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.7 เห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 มีค่าเท่ากับ 16.62 กรัมต่อ ลิตร และมีค่าน้ำตาลรีดิวซ์ค่อนข้างคงที่เป็นเพราะเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตน้อยมาก เมื่อกลับไปดูผลการทดลองจากตารางที่ 4.6 พบว่าเชื้อที่เจริญมีความสอดคล้องกับค่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้ คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มลดลง ส่วนแนวโน้มของค่าความเป็นกรดต่างมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก มีค่าอยู่ระหว่าง 4.12 ถึง 4.22



รูปที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร Andrade และ Vasconcelos ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (× ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	pH
0	16.62 ^c ± 0.73	4.19 ^a ± 0.005
12	16.75 ^c ± 1.78	4.15 ^b ± 0.005
24	17.40 ^b ± 0.55	4.19 ^b ± 0.010
36	16.40 ^c ± 0.24	4.12 ^c ± 0.010
48	16.31 ^c ± 0.91	4.22 ^a ± 0.005
60	17.24 ^b ± 0.83	4.22 ^f ± 0.030
72	16.80 ^c ± 0.83	4.21 ^a ± 0.043
96	16.35 ^c ± 2.06	4.22 ^a ± 0.037
120	18.10 ^a ± 1.26	4.18 ^b ± 0.005

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

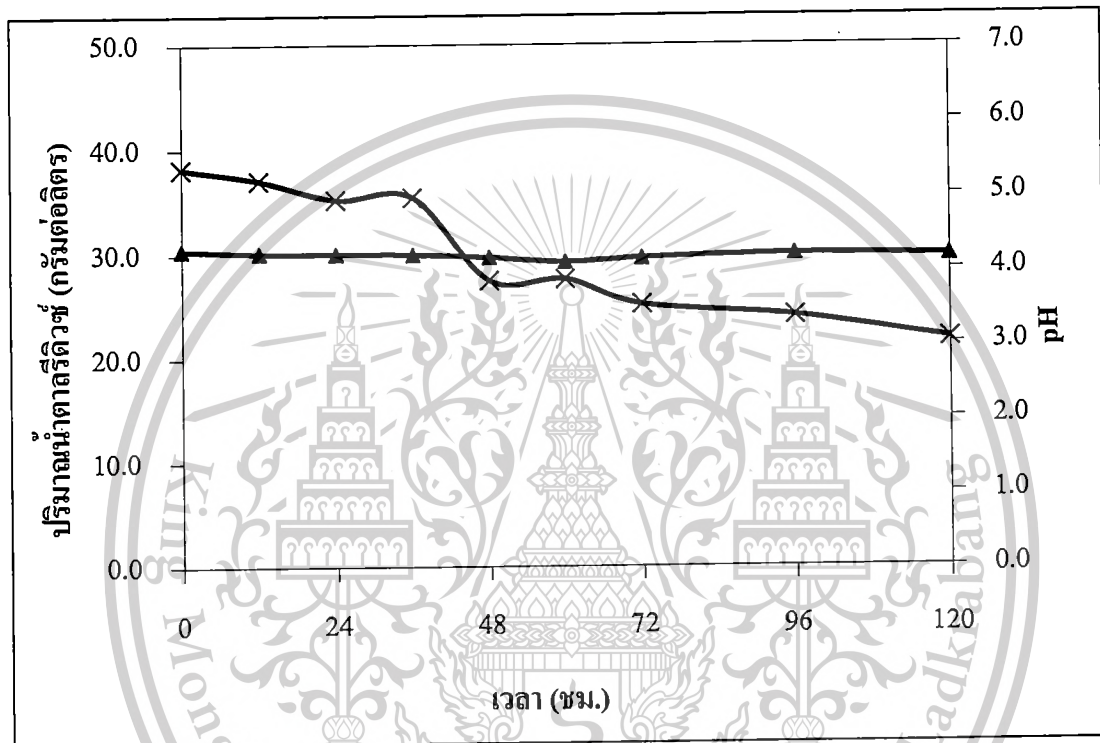
นอกจากนี้ จากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Andrade และ Vasconcelos (2003) ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ได้ผลดังรูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เวลาเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 38.20 กรัมต่อลิตร และเมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเล็กน้อยตามเวลาของการบ่ม เหลือ 35.45 กรัมต่อลิตร เมื่อถึงชั่วโมงที่ 48 จะมีการใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็วจนมีปริมาณเหลือ 28.26 กรัมต่อลิตรซึ่งใช้น้ำตาลไปทั้งหมด 9.94 กรัมต่อลิตร หลังจากชั่วโมงที่ 48 เป็นต้นไป แนวโน้มของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลืออยู่ในอาหารเริ่มมีค่าคงที่ จนจบการเพาะเลี้ยงเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพและเมื่อกลับไปดูผลการทดลองจากตารางด้านการคำนวณว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.6 พบว่าเชื้อที่เจริญมีความสอดคล้องกับค่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้ คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มลดลง ส่วนแนวโน้มของค่าความเป็นกรดต่างมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก มีค่าอยู่ระหว่าง 4.12 ถึง 4.22 ส่วนค่าความเป็นกรดต่างมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก มีค่าอยู่ระหว่าง 4.10 ถึง 4.26



รูปที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร Andrade และ Vasconcelos ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	pH
0	38.20 ^a ± 1.37	4.26 ^a ± 0.010
12	37.08 ^b ± 0.19	4.22 ^b ± 0.032
24	35.25 ^c ± 0.41	4.21 ^b ± 0.036
36	35.45 ^c ± 0.64	4.20 ^c ± 0.020
48	28.26 ^d ± 0.91	4.16 ^a ± 0.034
60	27.63 ^d ± 0.53	4.10 ^f ± 0.017
72	25.20 ^e ± 0.32	4.15 ^a ± 0.050
96	24.07 ^f ± 0.53	4.20 ^a ± 0.057
120	21.86 ^g ± 0.95	4.18 ^b ± 0.078

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f, g ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เมื่อทำการศึกษาค้นหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 แล้ว พบว่าเชื้อจุลินทรีย์นี้เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร GYCC ซึ่งมีการเติมกลูโคสลงไป 50 กรัมต่อลิตร ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.3 เมื่อใช้กลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรแล้ว มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดสูงสุด 7.44×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร จึงนำสูตรอาหารชนิด GYCC ไปใช้ในการทดลองต่อไป

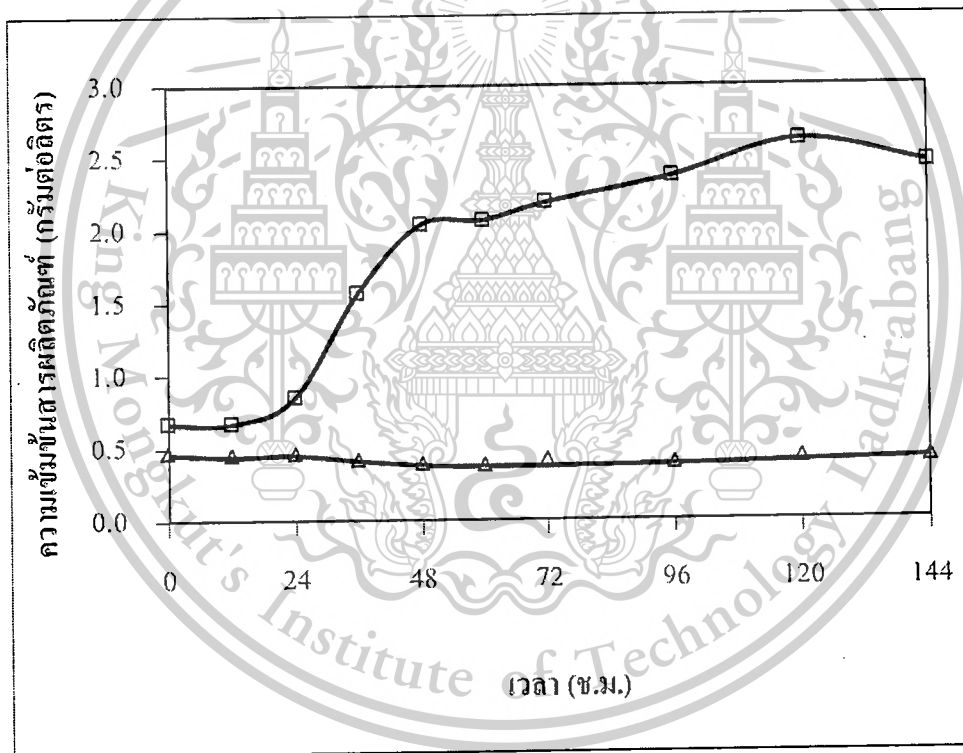
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

4.1.3 ผลของอาหารต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์

จากรูปที่ 4.9 และตารางที่ 4.9 เห็นได้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของ กลูโคสเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงที่ 0 มีปริมาณสารผลิตภัณฑ์ 1,3-โพรเพนไดออล 0.46 กรัมต่อลิตร เมื่อระยะเวลาการหมักที่ยาวนานขึ้นพบว่าปริมาณสารผลิตภัณฑ์โพรเพนไดออลจะค่อนข้างคงที่ จนถึงชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง นอกจากนี้ยังพบเอทานอล โดยมีแนวโน้มสูงขึ้นตลอด กระบวนการหมัก และในชั่วโมงที่ 0 พบในปริมาณ 0.67 กรัมต่อลิตร เมื่อระยะเวลาการหมักที่ยาวนานขึ้นพบว่าปริมาณสารผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น จนถึงชั่วโมงที่ 120 พบว่ามีเอทานอลในปริมาณ 2.62 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.9 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล \square เอทานอล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.9 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยง เชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและ ไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)	
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล
0	$0.46^b \pm (0.901 \times 10^{-2})$	$0.67^e \pm (0.608 \times 10^{-2})$
12	$0.44^a \pm (0.427 \times 10^{-2})$	$0.67^e \pm (0.173 \times 10^{-3})$
24	$0.45^b \pm (0.387 \times 10^{-2})$	$0.85^e \pm (0.293 \times 10^{-1})$
36	$0.41^a \pm (0.178 \times 10^{-2})$	$1.57^d \pm (0.211 \times 10^{-1})$
48	$0.38^b \pm (0.863 \times 10^{-1})$	$2.04^c \pm (0.120 \times 10^{-1})$
60	$0.37^a \pm (0.254 \times 10^{-2})$	$2.07^c \pm (0.106 \times 10^{-1})$
72	$0.41^b \pm (0.951 \times 10^{-2})$	$2.19^c \pm (0.165 \times 10^{-1})$
96	$0.38^a \pm (0.655 \times 10^{-2})$	$2.37^a \pm (0.197 \times 10^{-1})$
120	$0.42^b \pm (0.517 \times 10^{-2})$	$2.62^a \pm (0.176 \times 10^{-1})$

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

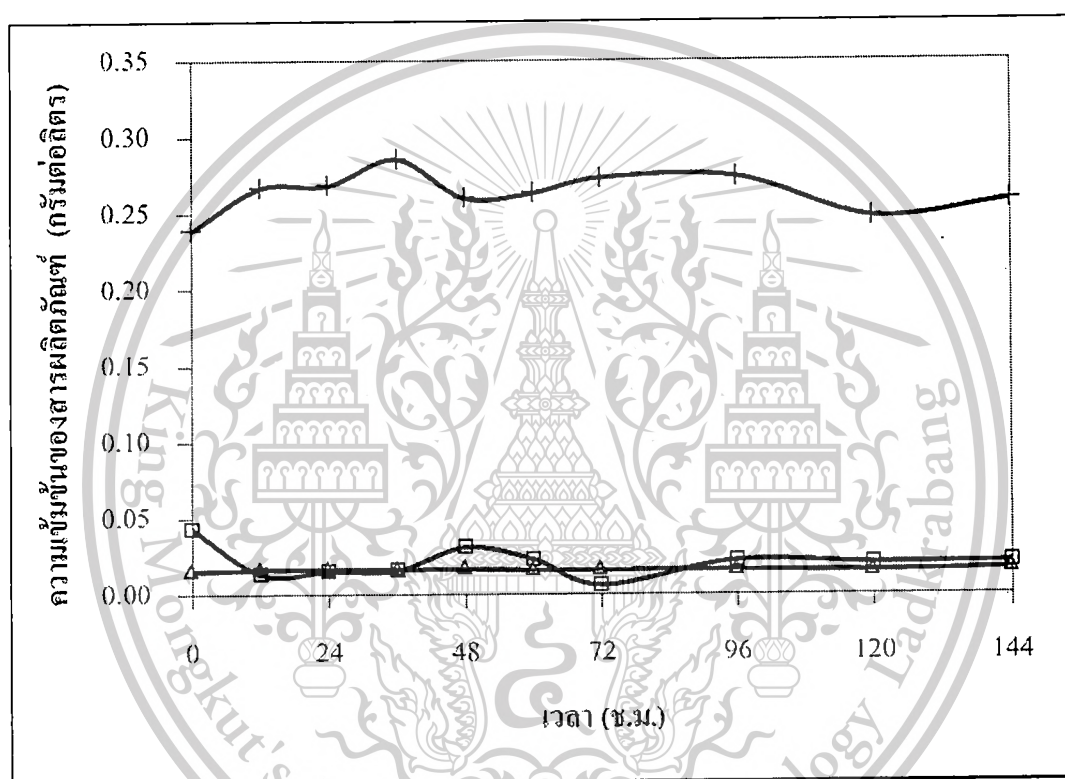
ส่วนอาหาร GYCC ที่เติมกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร และอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่เติมกลูโคส 20 กรัมต่อลิตรนั้นเมื่อนำไปทำการวิเคราะห์แล้วไม่พบสารผลิตภัณฑ์ที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้น ในขณะที่การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Andrade และ Vasconcelos (2003) ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ได้ผลวิเคราะห์ HPLC ดังรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.10

พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีความสามารถในการสร้างสารต่างๆ อย่าง 1,3-โพรเพนไดออลและเอทานอล เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เช่นเดียวกับการใช้อาหาร GYCC ที่เติมกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร แต่พบในปริมาณต่ำกว่า โดยพบทั้งไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สองสารอย่างไม้แตกต่างกันตลอดการเพาะเลี้ยง และปริมาณของ 1,3-โพรเพนไดออลที่วิเคราะห์ได้ อยู่ในช่วง 0.015 ถึง 0.017 กรัมต่อลิตร ส่วนความเข้มข้นเอทานอลที่ตรวจพบอยู่ในช่วงกว้างกว่าคือ 0.006 ถึง 0.043 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม ในอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ ยังวิเคราะห์พบผลิตภัณฑ์อีกหนึ่ง สาร นั่นคือกรดบิวทริก ซึ่งพบในลักษณะเดียวกับอีกสองสาร และพบอยู่ในช่วง 0.239 ถึง 0.286 กรัมต่อลิตร ตลอด 144 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.10 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มี กลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล + กรดบิวทริก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.10 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่เติมกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล	กรดบิวทิริก
0	0.015 ± 0.002	0.043 ± 0.037	0.239 ± 0.022
12	0.016 ± 0.001	0.013 ± 0.011	0.267 ± 0.029
24	0.016 ± 0.000	0.015 ± 0.013	0.269 ± 0.049
36	0.016 ± 0.001	0.016 ± 0.014	0.286 ± 0.023
48	0.017 ± 0.001	0.031 ± 0.029	0.260 ± 0.024
60	0.016 ± 0.000	0.023 ± 0.025	0.263 ± 0.011
72	0.016 ± 0.000	0.006 ± 0.011	0.273 ± 0.007
96	0.016 ± 0.000	0.022 ± 0.002	0.274 ± 0.003
120	0.015 ± 0.000	0.020 ± 0.000	0.248 ± 0.050
144	0.017 ± 0.001	0.021 ± 0.002	0.259 ± 0.032

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.2 การหาความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่เหมาะสม

4.2.1 ผลของความเข้มข้นกลีเซอรอลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

เพื่อหาความเข้มข้นเริ่มต้นของกลีเซอรอลที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 นำผลการศึกษาจากตอนที่กล่าวมาแล้ว (หัวข้อ 4.1) มาทำการ

เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ โดยเปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้นที่ 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตรโดย

ทำการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 รวม 10 ครั้ง แล้วนำไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ต่อผู้อื่น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

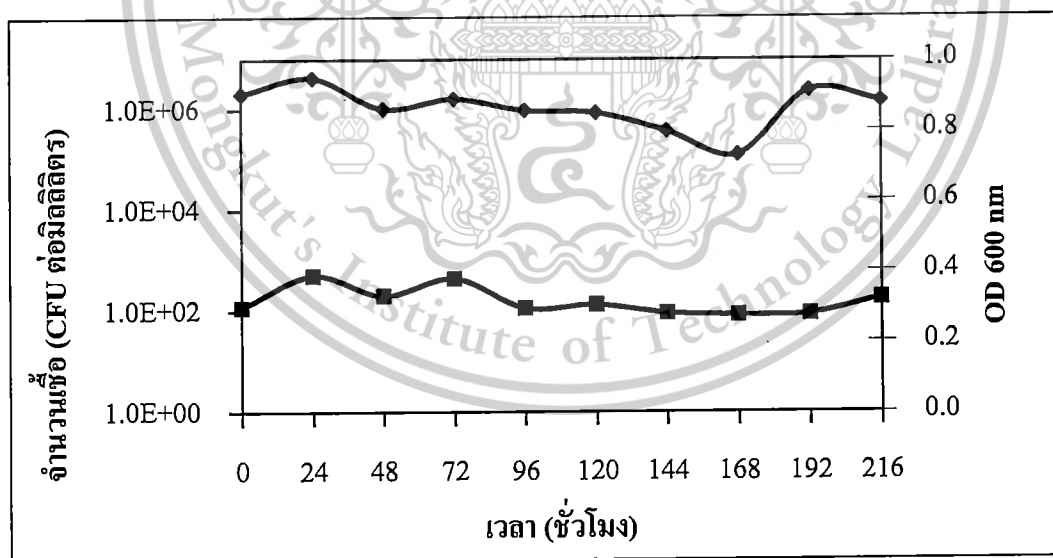
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ทำการตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่โดยวิธีการเขย่าจาน (pour plate) ที่ระดับความเจือจางต่างๆ และรายงานในหน่วยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร (CFU/mL) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร แล้วนำตัวอย่างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาทำการปั่น

เหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสไปวิเคราะห์เพื่อหาความเข้มข้นของกลีเซอรอลและสารผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

จากเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. acetobutylicum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตรแล้ว ได้ผลดังรูปที่ 4.11 และตารางที่ 4.11 พบจำนวนเซลล์เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 2.1×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อเวลาในการหมักมากขึ้นจำนวนเซลล์ก็จะมีปริมาณเปลี่ยนแปลงไป โดยในชั่วโมงที่ 24 เพิ่มขึ้นเป็น 2.1×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้นมีปริมาณเชื้อลดลงเล็กน้อย เป็น 1.16×10^6 ที่ 48 ชั่วโมง และมีค่าค่อนข้างคงที่ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จนมีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 192 มีค่าเท่ากับ 4.01×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนเมื่อจบการเพาะเลี้ยงที่ 216 ชั่วโมง พบจำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอด 1.64×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 4.11 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สถานะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.11 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	OD 600 nm
0	$(2.10 \pm 1.49)^c \times 10^6$	$0.296^b \pm (0.566 \times 10^{-2})$
24	$(3.36 \pm 3.87)^b \times 10^6$	$0.386^c \pm (0.196 \times 10^{-2})$
48	$(1.16 \pm 1.37)^c \times 10^6$	$0.329^c \pm (0.708 \times 10^{-2})$
72	$(1.77 \pm 1.15)^c \times 10^6$	$0.378^c \pm (0.146 \times 10^{-2})$
96	$(1.23 \pm 1.30)^c \times 10^6$	$0.294^b \pm (0.107 \times 10^{-2})$
120	$(1.40 \pm 2.54)^c \times 10^6$	$0.303^b \pm (0.342 \times 10^{-2})$
144	$(5.20 \pm 3.50)^c \times 10^5$	$0.280^b \pm (0.360 \times 10^{-2})$
168	$(1.41 \pm 0.87)^c \times 10^5$	$0.274^b \pm (0.471 \times 10^{-2})$
192	$(4.01 \pm 8.45)^a \times 10^6$	$0.277^b \pm (0.370 \times 10^{-2})$
216	$(1.64 \pm 0.92)^c \times 10^6$	$0.322^c \pm (0.386 \times 10^{-2})$

หมายเหตุ a, b, c ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

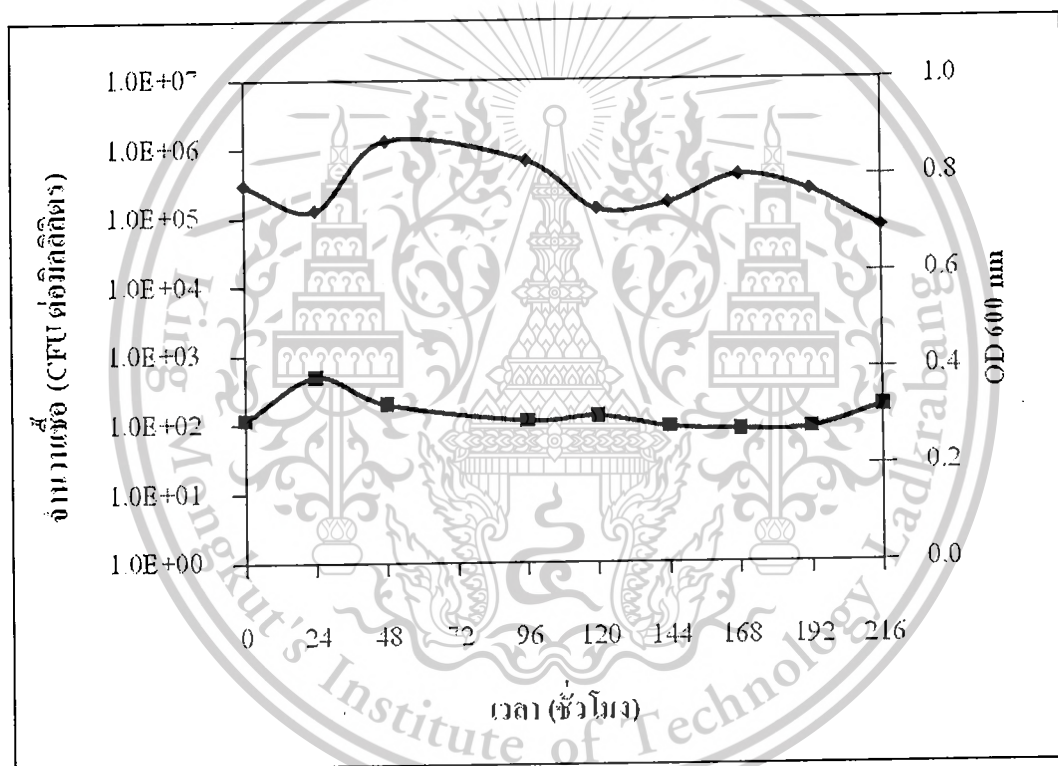
ในขณะที่ค่าดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรมีแนวโน้มความสอดคล้องกับจำนวนเซลล์ ยกเว้นช่วงท้ายของการบ่ม ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรของเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 0.322 สังเกตได้ว่าการเจริญเติบโตของเซลล์ค่อนข้างใกล้เคียงกันตามช่วงเวลาที่ผ่านมา แสดงว่ากลีเซอรอลอาจไม่เพียงพอสำหรับการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

รูปที่ 4.12 และตารางที่ 4.12 เป็นผลจากการวิเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ซึ่งมี ส่วนประกอบของกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณเชื้อซึ่งเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 มีค่าเท่ากับ 3.3×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อเวลาในการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมง เชื้อมีจำนวนลดลงเล็กน้อย เป็น 1.57×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้น จำนวนเซลล์มีเพิ่มขึ้นจนมีค่ามากที่สุดเป็น 1.87×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรที่ 48 ชั่วโมง ต่อมา ปริมาณเชื้อลดลงเล็กน้อยอย่างต่อเนื่องจนมีค่าเท่ากับ 2.00×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรที่ 120 ชั่วโมง จากนั้น จำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ จนจบการเพาะเลี้ยงที่ 216 ชั่วโมง มีปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.26×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ค่าดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรมีความสอดคล้องกับจำนวนเซลล์



รูปที่ 4.12 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.12 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	OD 600nm
0	$(3.30 \pm 1.49)^c \times 10^5$	$0.246^e \pm (0.224 \times 10^{-2})$
24	$(1.57 \pm 1.78)^b \times 10^5$	$0.464^a \pm (0.155 \times 10^{-2})$
48	$(1.87 \pm 2.23)^c \times 10^6$	$0.419^b \pm (0.924 \times 10^{-3})$
72	$(8.80 \pm 1.15)^c \times 10^4$	$0.393^b \pm (0.107 \times 10^{-2})$
96	$(1.58 \pm 1.30)^c \times 10^6$	$0.345^c \pm (0.710 \times 10^{-3})$
120	$(2.00 \pm 2.00)^c \times 10^5$	$0.338^c \pm (0.211 \times 10^{-1})$
144	$(2.11 \pm 1.76)^c \times 10^5$	$0.277^d \pm (0.139 \times 10^{-2})$
168	$(4.64 \pm 2.91)^c \times 10^5$	$0.360^c \pm (0.240 \times 10^{-2})$
192	$(2.64 \pm 1.46)^b \times 10^5$	$0.339^c \pm (0.115 \times 10^{-3})$
216	$(1.26 \pm 1.38)^c \times 10^6$	$0.337^c \pm (0.212 \times 10^{-2})$

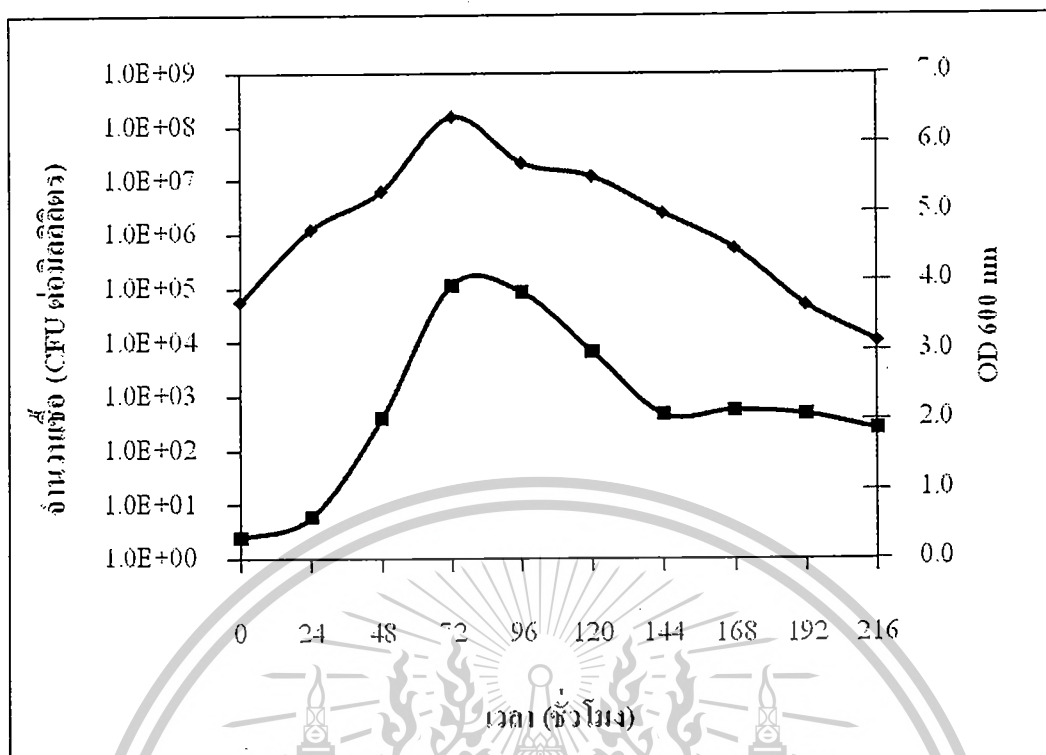
หมายเหตุ a, b, c ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.13 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

จากรูปที่ 4.13 และตารางที่ 4.13 เห็นได้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอลเริ่มต้น 30 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 7.5×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อเวลาในการหมักมากขึ้น 24 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ก็จะมีปริมาณมากขึ้นเป็น 1.54×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้น การเจริญเติบโตของเซลล์มีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆ ตามเวลาที่เปลี่ยนไป จนมีจำนวนเชื้อมากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 1.51×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้น ปริมาณเชื้อมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง จนเมื่อเวลาผ่านไป 216 ชั่วโมง พบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ 1.5×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนค่าดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรมีความสอดคล้องกับจำนวนเซลล์ ยกเว้นในระยะเวลา 144 ถึง 216 ชั่วโมง ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงมีค่าคงที่อยู่ระหว่างค่า 2.020 ถึง 2.080 จะสังเกตว่าการเจริญเติบโตนั้นมีค่าสูง แสดงว่าเชื้อสามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่เติมในการเจริญเติบโตได้ดี รูป 4.12 นั้นแสดงถึงค่าความเป็นกรดต่าง ซึ่งมีแนวโน้มคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.13 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	OD 600 nm
0	$(7.5 \pm 4.05)^d \times 10^4$	$0.305^d \pm (0.321 \times 10^{-3})$
24	$(1.54 \pm 0.65)^d \times 10^6$	$0.608^d \pm (0.265 \times 10^{-2})$
48	$(7.50 \pm 4.53)^d \times 10^6$	$2.020^c \pm (0.199 \times 10^{-1})$
72	$(1.51 \pm 0.45)^a \times 10^8$	$3.930^a \pm (0.698 \times 10^{-1})$
96	$(2.40 \pm 1.85)^b \times 10^7$	$3.830^a \pm (0.221 \times 10^{-1})$
120	$(1.69 \pm 1.23)^c \times 10^7$	$2.980^b \pm (0.223 \times 10^{-1})$
144	$(2.32 \pm 2.91)^d \times 10^6$	$2.080^c \pm (0.945 \times 10^{-2})$
168	$(1.00 \pm 1.77)^d \times 10^6$	$2.140^c \pm (0.851 \times 10^{-2})$
192	$(7.52 \pm 7.51)^d \times 10^4$	$2.080^c \pm (0.131 \times 10^{-1})$
216	$(1.50 \pm 2.55)^d \times 10^4$	$1.870^c \pm (0.271 \times 10^{-2})$

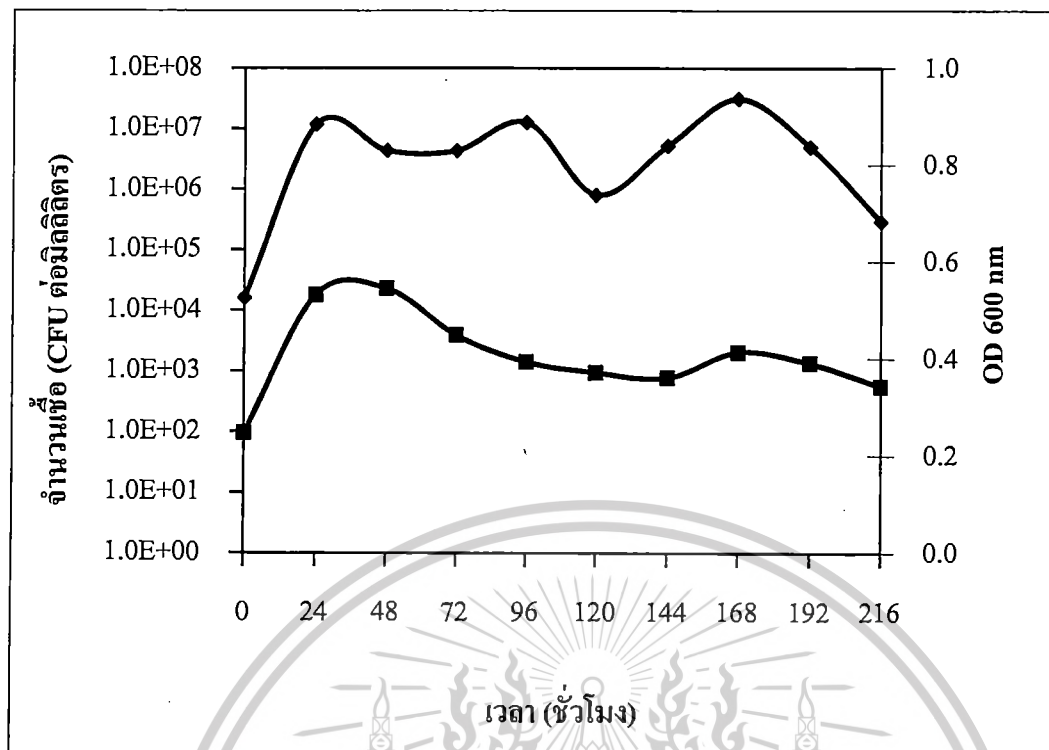
หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.14 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ซึ่งมีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

หากทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร ได้ผลตามรูปที่ 4.14 และตารางที่ 4.14 จำนวนเซลล์เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 3.1×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร เมื่อเวลาในการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมง จำนวนเชื้อก็มีปริมาณมากขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็น 1.17×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้น มีค่าค่อนข้างคงที่โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการวิเคราะห์เชิงสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และมามีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 96 มีค่าเท่ากับ 2.06×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ต่อมา ปริมาณเซลล์มีค่าลดลงเป็น $1.57 \pm 2.72 \times 10^6$ CFU ต่อมิลลิลิตรที่ 120 ชั่วโมง จากนั้น จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนมีค่า 1.88×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตรที่ 168 ชั่วโมง แล้วมีแนวโน้มลดลง จนชั่วโมงที่ 216 ค่าปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตรอดเหลือ 2.83×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนค่าดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรมีความสอดคล้องกับจำนวนเซลล์ โดยมีค่าเพิ่มขึ้นสูงภายใน 24 ชั่วโมงแรก สังเกตว่าการเจริญเติบโตนั้นมีค่าค่อนข้างสูง แสดงว่าเชื้อสามารถใช้แหล่งคาร์บอนนี้ในการเจริญเติบโตได้ อาจหมายถึงเชื้อต้องการกลีเซอรอลเริ่มต้นความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ห้ามขึ้นสูง
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.14 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	OD 600 nm
0	$(3.10 \pm 3.30)^b \times 10^4$	$0.248^c \pm (0.206 \times 10^{-2})$
24	$(1.17 \pm 3.32)^b \times 10^6$	$0.532^a \pm (0.122 \times 10^{-1})$
48	$(4.08 \pm 3.89)^b \times 10^6$	$0.545^a \pm (0.188 \times 10^{-2})$
72	$(4.33 \pm 3.19)^b \times 10^6$	$0.449^a \pm (0.446 \times 10^{-2})$
96	$(2.06 \pm 3.00)^a \times 10^7$	$0.394^b \pm (0.214 \times 10^{-2})$
120	$(1.57 \pm 2.72)^b \times 10^6$	$0.372^b \pm (0.351 \times 10^{-3})$
144	$(5.02 \pm 6.71)^b \times 10^6$	$0.361^b \pm (0.233 \times 10^{-2})$
168	$(1.88 \pm 3.46)^a \times 10^7$	$0.414^b \pm (0.796 \times 10^{-2})$
192	$(2.25 \pm 5.18)^b \times 10^6$	$0.391^b \pm (0.870 \times 10^{-2})$
216	$(2.83 \pm 1.78)^b \times 10^5$	$0.343^c \pm (0.896 \times 10^{-3})$

หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

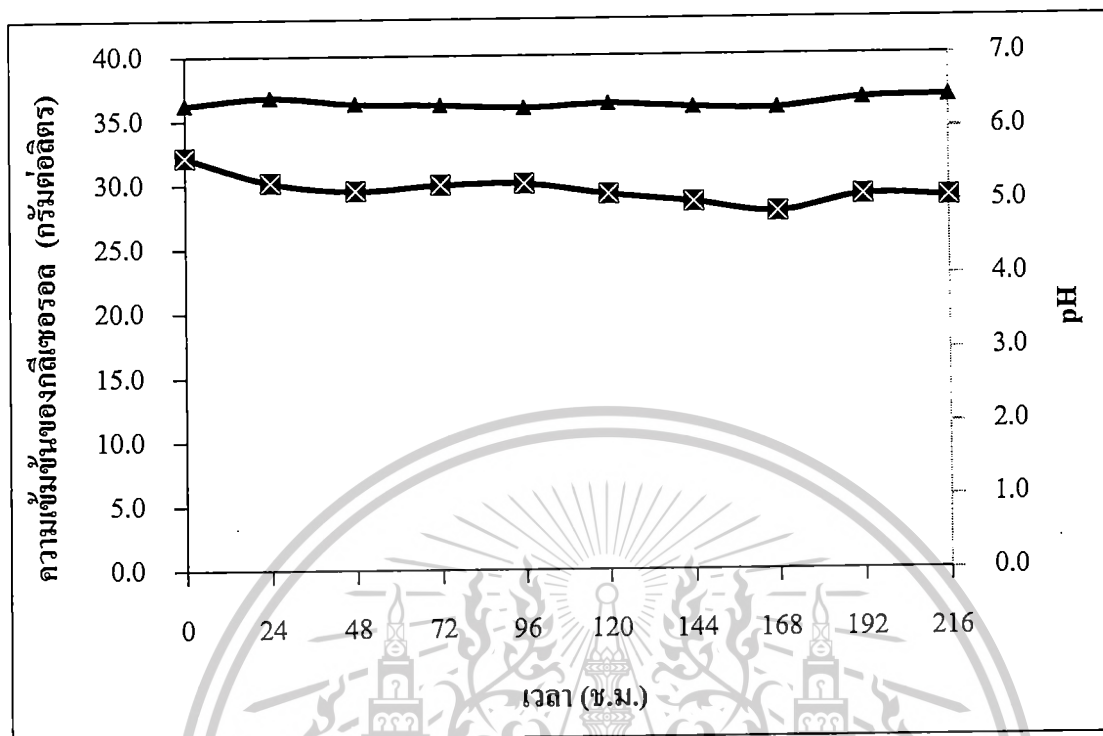
ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

4.2.2 ผลของความเข้มข้นกลีเซอรอลต่อการใช้สารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์



รูปที่ 4.15 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (✕ ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. acetobutylicum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตรแล้ว ได้ผลค่าความเป็นกรดต่างดังรูปที่ 4.15 และตารางที่ 4.15 ในส่วนของรูป 4.15 แนวโน้มของค่าความเป็นกรดต่างที่วัดได้ค่อนข้างมีความคงที่อยู่ระหว่าง 6.27 ถึง 6.44 ส่วนปริมาณกลีเซอรอลที่เหลืออยู่ในตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อก็มีค่าลดลงในปริมาณเพียงเล็กน้อย โดยคำนวณได้จากค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่เวลาเริ่มต้น และเวลาที่ตรวจวัดค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลได้ต่ำสุด (168 ชั่วโมง) เชื้อ *C. acetobutylicum* มีการใช้กลีเซอรอลเพียง 4.401 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.15 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 20 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	pH
0	32.160	6.34 ^c ± 0.03
24	30.173	6.44 ^a ± 0.02
48	29.504	6.35 ^c ± 0.03
72	29.941	6.33 ^c ± 0.03
96	30.023	6.29 ^c ± 0.03
120	29.182	6.34 ^c ± 0.04
144	28.551	6.29 ^c ± 0.02
168	27.759	6.27 ^c ± 0.02
192	29.037	6.40 ^b ± 0.04
216	28.875	6.42 ^b ± 0.13

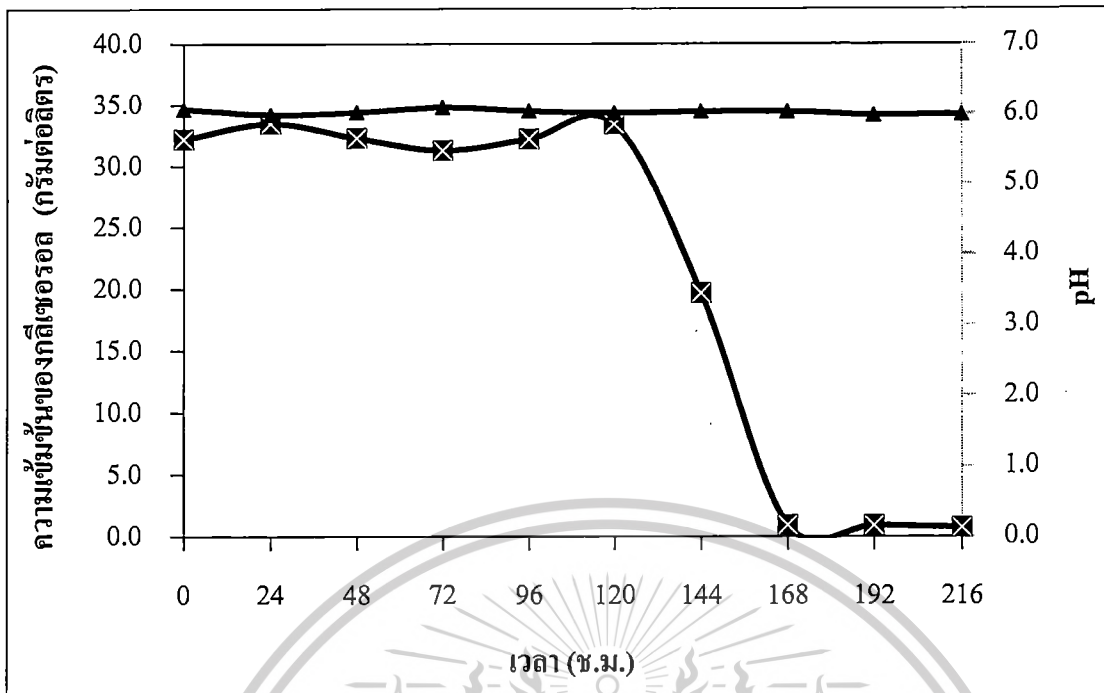
หมายเหตุ a, b, c ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.16 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. acetobutylicum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตรแล้ว ได้ผลดังรูปที่ 4.16 และตารางที่ 4.16 ในส่วนของรูป 4.16 ค่าความเป็นกรดต่างที่วิเคราะห์ได้มีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลงมีค่าระหว่าง 5.99 ถึง 6.09 ในขณะที่พิจารณาผลการทดลองของปริมาณกลีเซอรอล พบว่าค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็ว หลังจากเชื้อจุลินทรีย์ผ่านการบ่มไปแล้ว 120 ชั่วโมง จนมีค่าประมาณ 0.936 กรัมต่อลิตร ที่ 168 ชั่วโมง และ 0.754 กรัมต่อลิตร ที่ 216 ชั่วโมง ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.16 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 30 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	pH
0	32.200 ± 0.249	6.07 ^a ± 0.032
24	33.497 ± 0.570	5.99 ^d ± 0.010
48	32.280 ± 0.422	6.02 ^c ± 0.012
72	31.265 ± 1.431	6.09 ^a ± 0.012
96	32.209 ± 0.592	6.04 ^b ± 0.006
120	33.402 ± 0.643	6.01 ^c ± 0.021
144	19.656 ± 17.059	6.03 ^b ± 0.017
168	0.936 ± 0.221	6.03 ^b ± 0.062
192	0.903 ± 0.094	5.98 ^e ± 0.017
216	0.754 ± 0.142	5.99 ^d ± 0.10 ⁰

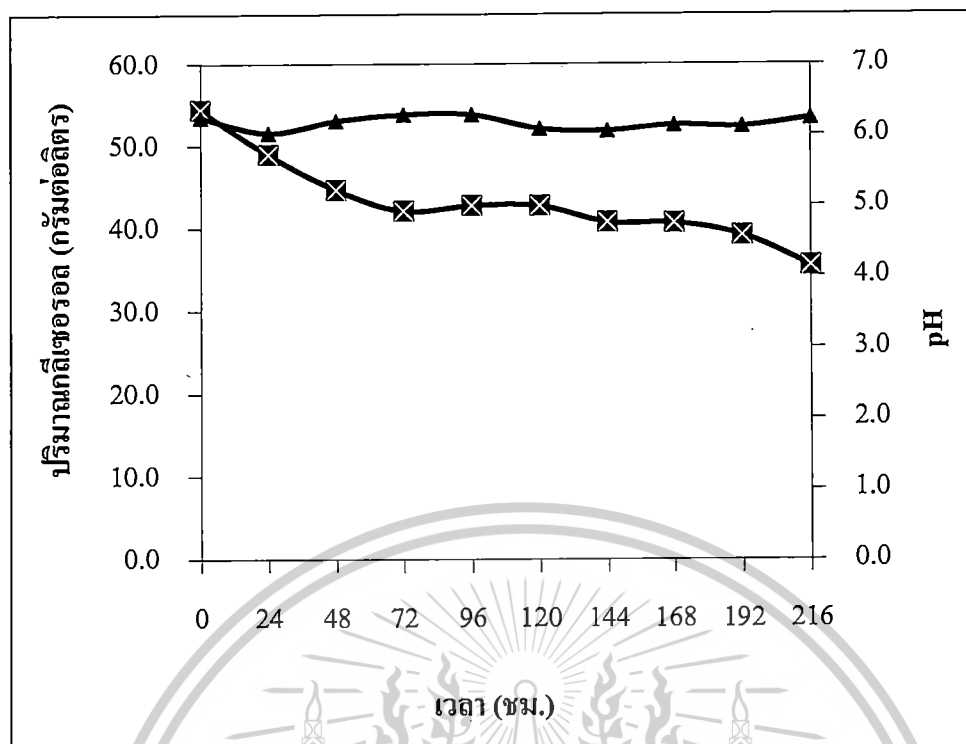
หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.17 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

จากรูปที่ 4.17 และตารางที่ 4.17 เห็นได้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอลเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร มีปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้นถึง 54.41 กรัมต่อลิตร เมื่อเวลาในการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมง ปริมาณกลีเซอรอลลดลงเป็น 48.98 กรัมต่อลิตร จากนั้นปริมาณของกลีเซอรอลจะลดลงเรื่อยๆ ตามเวลาที่เปลี่ยนไป จนถึงชั่วโมงที่ 216 มีปริมาณเหลือเท่ากับ 35.54 กรัมต่อลิตร คำนวณได้ว่าเชื้อมีการใช้กลีเซอรอลไป 18.56 กรัมต่อลิตร ส่วนค่าความเป็นกรดต่างมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่ามีความเป็นกรดมากกว่าการเติมกลีเซอรอลความเข้มข้นอื่นๆ โดยมีค่าระหว่าง 6.28 ถึง 6.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.17 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	pH
0	54.41 ^a ± 1.022	6.24 ^b ± 0.028
24	48.98 ^b ± 6.619	6.02 ^e ± 0.020
48	44.68 ^b ± 3.918	6.19 ^c ± 0.037
72	42.11 ^c ± 0.731	6.28 ^b ± 0.066
96	42.77 ^c ± 1.091	6.28 ^b ± 0.015
120	42.73 ^c ± 1.115	6.08 ^e ± 0.075
144	40.74 ^c ± 2.995	6.05 ^e ± 0.047
168	40.66 ^c ± 0.657	6.13 ^d ± 0.060
192	39.17 ^d ± 2.237	6.11 ^e ± 0.020
216	35.54 ^e ± 0.657	6.16 ^b ± 0.100

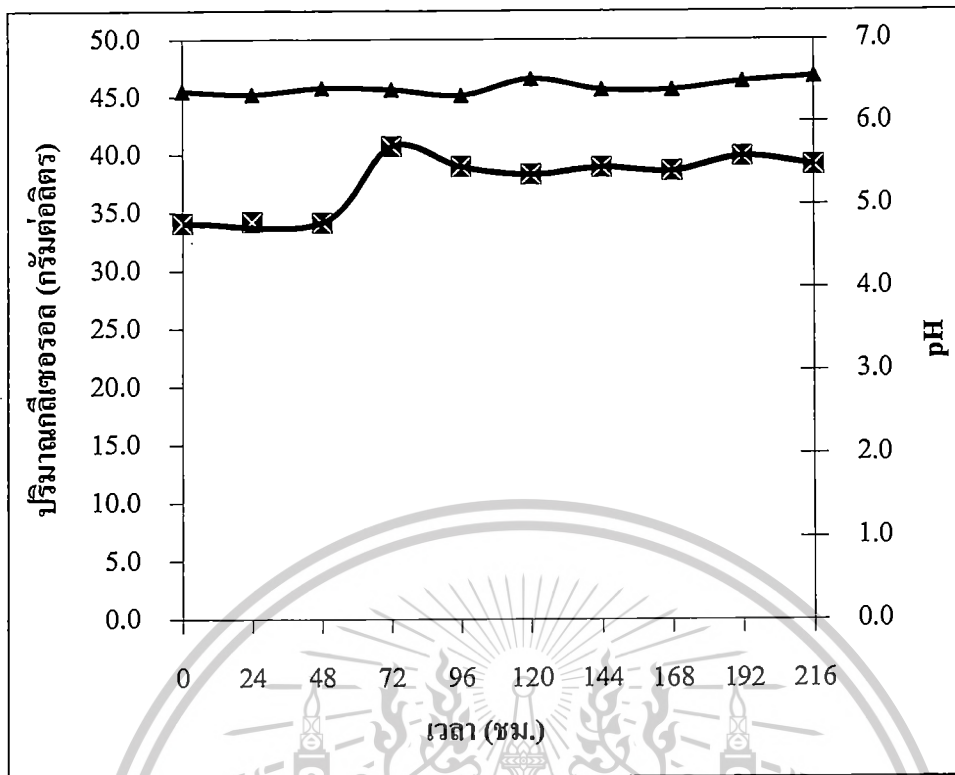
หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.18 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

จากรูปที่ 4.18 และตารางที่ 4.18 เห็นได้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร ในเวลาเริ่มต้น มีปริมาณกลีเซอรอลเพียง 34.08 กรัมต่อลิตร จะค่อนข้างคงที่ในชั่วโมงที่ 0 ถึง 48 จนถึงชั่วโมงที่ 216 มีปริมาณเท่ากับ 37.68 กรัมต่อลิตร ส่วนค่าความเป็นกรดต่างมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าระหว่าง 6.32 ถึง 6.55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.18 ปริมาณกลีเซอรอลและค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	pH
0	34.08 ^c ± 0.154	6.37 ^d ± 0.005
24	34.22 ^c ± 0.784	6.33 ^d ± 0.085
48	34.14 ^c ± 0.340	6.41 ^d ± 0.034
72	40.70 ^a ± 3.125	6.39 ^d ± 0.173
96	38.95 ^a ± 0.990	6.32 ^d ± 0.095
120	38.27 ^b ± 0.297	6.52 ^b ± 0.055
144	38.90 ^a ± 0.750	6.39 ^d ± 0.087
168	38.58 ^a ± 1.109	6.39 ^d ± 0.136
192	39.85 ^a ± 0.618	6.49 ^c ± 0.035
216	37.68 ^a ± 2.635	6.55 ^a ± 0.470

หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.2.3 ผลของความเข้มข้นกลีเซอรอลต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในพลาสติก สภาวะนิ่งและไร้อากาศ เป็นระยะเวลา 144 ชั่วโมง โดยใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้น 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร และทำการ

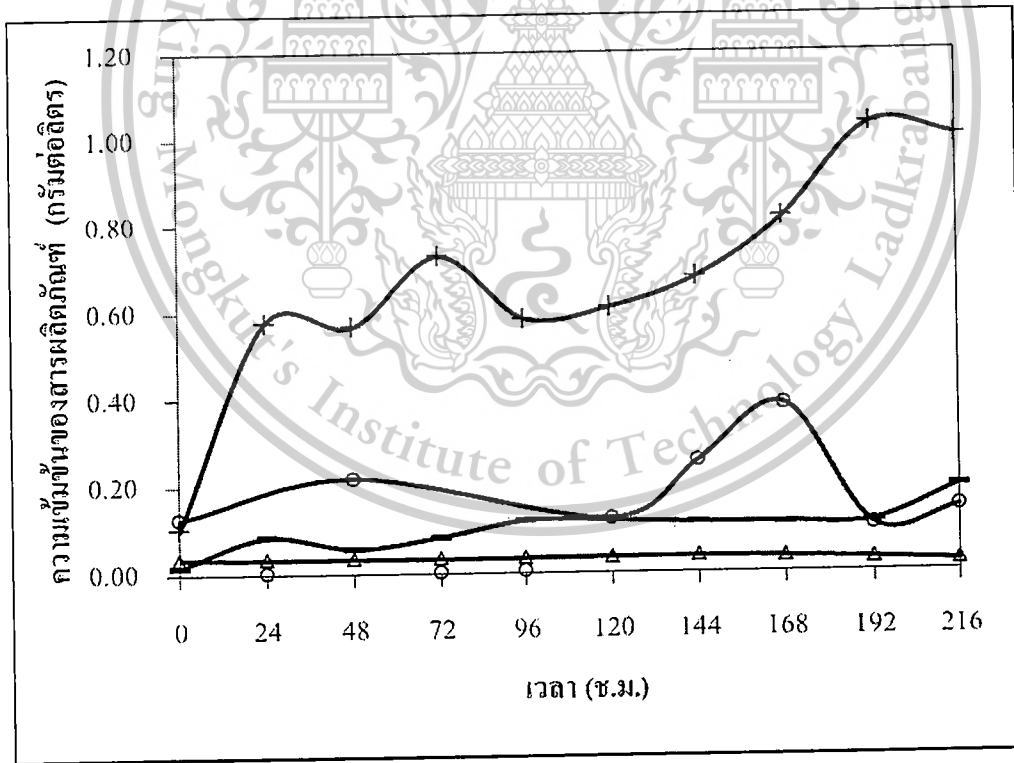
เอกสารนี้วิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ โดยนำน้ำหมักมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที ไม่ว่ากรณีใน 15 นาที เพื่อแยกเอกสารละลายส่วนในสมาเจือจางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 2 ให้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับเป็น Internal standard กรองสารละลายด้วยตัวกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมครอนให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง HPLC

จากรูปที่ 4.19 และตารางที่ 4.19 เห็นได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอลเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร ทำการสร้างสารผลิตภัณฑ์ต่างๆออกมา 4 สาร คือกรดบิวทริก อะซิโตน บิวทานอล และ 1,3-โพรเพนไดออล ซึ่งสร้างออกมาตามเมตาบอริซึมในรูปที่ 4.20 โดย 1,3-โพรเพนไดออลถูกเชื้อผลิตออกมาในปริมาณน้อย อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.020 ถึง 0.035 กรัมต่อลิตรเท่านั้น ในขณะที่กรดบิวทริกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จาก 0.101 กรัมต่อลิตร ถึง 0.578 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 และมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงจนถึงชั่วโมงที่ 120 จึงมีค่าเพิ่มขึ้นอีก โดยเพิ่มขึ้นจาก 0.609 กรัมต่อลิตร ไปเป็น 1.030 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าสูงสุด อาจเป็นไปได้ว่าการที่กรดบิวทริกที่มีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลง ถูกดูดซึมกลับเข้าสู่เซลล์ *Clostridium acetobutylicum*



รูปที่ 4.19 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้

เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส

สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล + กรดบิวทริก O อะซิโตน - บิวทานอล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	1,3-โพรเพนไดออล (กรัมต่อลิตร)	กรดบิวทีริก (กรัมต่อลิตร)	อะซิโตน (กรัมต่อลิตร)	บิวทานอล (กรัมต่อลิตร)
0	0.034 ± 0.000	0.101 ± 0.088	0.125 ± 0.036	0.017 ± 0.029
24	0.032 ± 0.000	0.578 ± 0.027	0.003 ± 0.002	0.084 ± 0.022
48	0.033 ± 0.001	0.566 ± 0.015	0.218 ± 0.371	0.056 ± 0.005
72	0.032 ± 0.000	0.728 ± 0.035	0.002 ± 0.002	0.082 ± 0.036
96	0.033 ± 0.001	0.583 ± 0.040	0.004 ± 0.000	0.119 ± 0.001
120	0.034 ± 0.002	0.609 ± 0.009	0.123 ± 0.196	0.118 ± 0.002
144	0.035 ± 0.000	0.677 ± 0.079	0.254 ± 0.190	0.112 ± 0.003
168	0.033 ± 0.001	0.814 ± 0.123	0.385 ± 0.293	0.112 ± 0.004
192	0.028 ± 0.000	1.030 ± 0.525	0.106 ± 0.030	0.114 ± 0.003
216	0.020 ± 0.007	1.003 ± 0.336	0.144 ± 0.035	0.194 ± 0.067

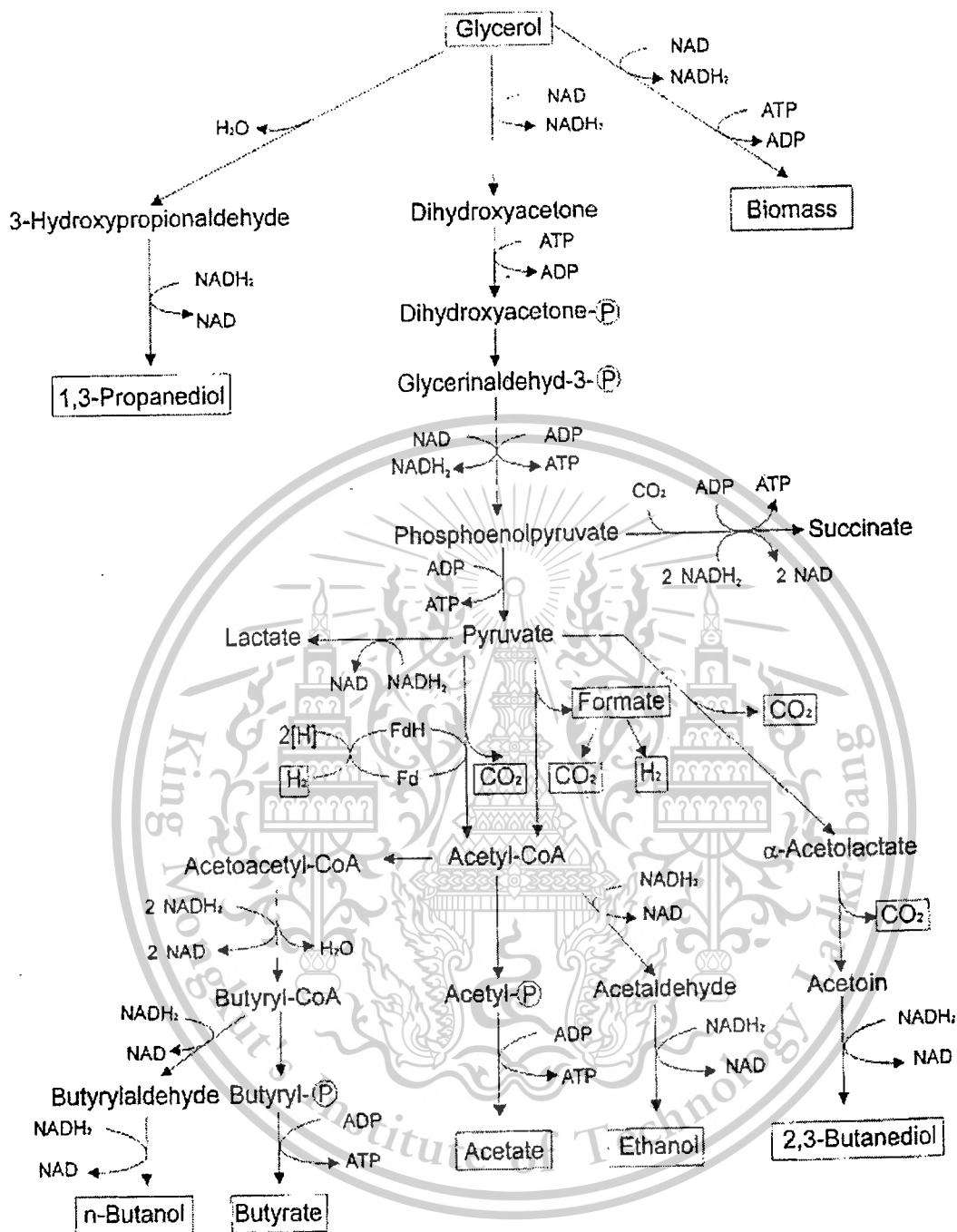
หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ส่วนอะซิโตน ในช่วงแรกมีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลง มีค่าอยู่ในช่วง 0.123 กรัมต่อลิตรถึง 0.218 กรัมต่อลิตร จนชั่วโมงที่ 144 ซึ่งมีความเข้มข้นของอะซิโตน 0.254 กรัมต่อลิตร ต่อมาเพิ่มขึ้นไปเป็นค่าสูงสุดที่ 0.385 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 168 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้น มีค่าลดลงเป็น 0.106 กรัมต่อลิตร และ 0.144 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 192 และ 216 ตามลำดับ สารสุดท้ายคือบิวทานอล พบตั้งแต่ระยะเวลาเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง มีค่า 0.017 กรัมต่อลิตร และมีค่า

ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนมีค่าสูงสุดที่ 0.194 กรัมต่อลิตร จากตัวอย่างอาหารสุดท้ายของการ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
เพาะเลี้ยง (216 ชั่วโมง)
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.20 วิธีชีวเคมีของการหมักกลีเซอรอลไปเป็นสาร 1,3-โพรเพนไดออล และไพรูเวต ซึ่งการใช้ไพรูเวตจะแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ แบคทีเรียกลุ่มคลอสทริเดียมสร้างบิวทิเรตและบิวทานอล ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียผลิต 2,3-บิวเทนไดออลด้วย ส่วนอะซิเตตหรืออะซิโตนกับ

เอทานอลถูกสร้างในแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม

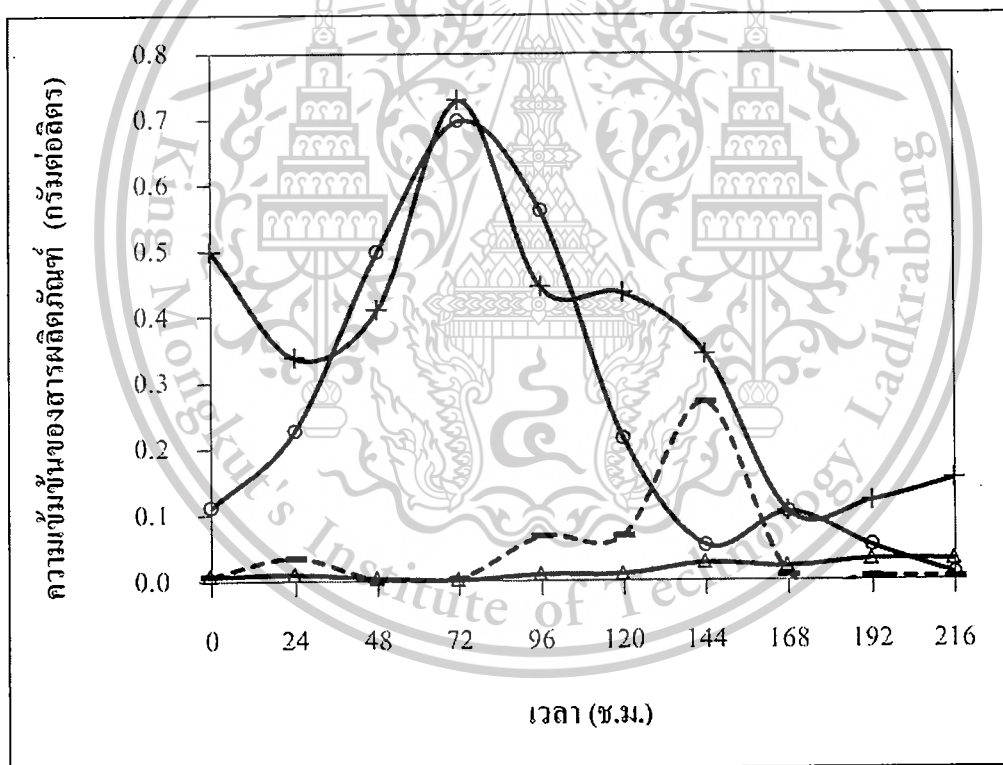
ที่มา : Biebl และคณะ (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นที่พิมพ์เผยแพร่เนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร GYCC ที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *C. acetobutylicum* และมีกลีเซอรอลเริ่มต้น 30 กรัมต่อลิตร ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.21 และตารางที่ 4.20 พบว่าสร้างสารออกมา 4 สาร คือ กรดบิวทิริก อะซิโตน บิวทานอล และ 1,3-โพรเพนไดออลเช่นเดียวกันกับการใช้อาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอลเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร โดยวิเคราะห์พบ 1,3-โพรเพนไดออลในลักษณะเดียวกันด้วย มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.002 ถึง 0.032 กรัมต่อลิตร ส่วนกรดบิวทิริกและอะซิโตนมีแนวโน้มคล้ายกัน ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจากเวลาเริ่มต้น และมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง โดยกรดบิวทิริกมีค่าสูงสุด 0.728 กรัมต่อลิตร และพบปริมาณอะซิโตนสูงสุด 0.697 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม กรดบิวทิริกมีความเข้มข้นสูงสุดที่เวลา 150 ชั่วโมง มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.222 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.21 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล + กรดบิวทิริก O อะซิโตน — บิวทานอล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.20 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอล 30 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

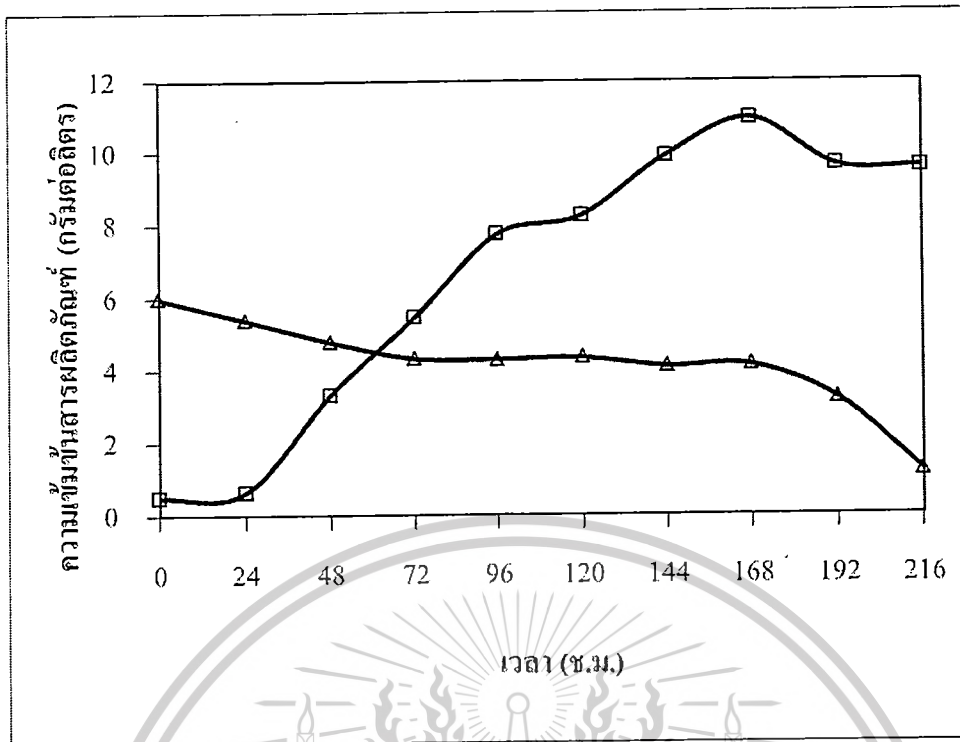
เวลา (ชั่วโมง)	1,3-โพรเพนไดออล (กรัมต่อลิตร)	กรดบิวทิริก (กรัมต่อลิตร)	อะซิโตน (กรัมต่อลิตร)	บิวทานอล (กรัมต่อลิตร)
0	0.008 ± 0.001	0.498 ± 0.434	0.113 ± 0.054	0.123 ± 0.009
24	0.011 ± 0.008	0.338 ± 0.061	0.228 ± 0.274	0.067 ± 0.036
48	0.005 ± 0.002	0.411 ± 0.003	0.499 ± 0.096	0.102 ± 0.003
72	0.002 ± 0.004	0.728 ± 0.042	0.697 ± 0.276	0.116 ± 0.005
96	0.011 ± 0.005	0.445 ± 0.011	0.561 ± 0.189	0.078 ± 0.068
120	0.011 ± 0.002	0.436 ± 0.012	0.215 ± 0.042	0.080 ± 0.070
144	0.027 ± 0.031	0.343 ± 0.311	0.054 ± 0.083	0.222 ± 0.269
168	0.022 ± 0.038	0.104 ± 0.009	0.104 ± 0.128	0.011 ± 0.009
192	0.032 ± 0.026	0.120 ± 0.024	0.052 ± 0.025	0.015 ± 0.006
216	0.031 ± 0.034	0.153 ± 0.007	0.011 ± 0.001	0.020 ± 0.005

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.22 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล)

จากรูปที่ 4.22 และตารางที่ 4.21 เห็นได้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอลเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร ทำให้เชื้อ *C. acetobutylicum* มีการสร้างปริมาณสารผลิตภัณฑ์ 1,3-โพรเพนไดออล 5.99 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงที่ 0 เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปนานขึ้น พบว่าปริมาณสารผลิตภัณฑ์ 1,3-โพรเพนไดออลจะค่อยๆลดลงจนชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง (216 ชั่วโมง) พบ 1,3-โพรเพนไดออล เพียง 1.22 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.21 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	1,3-โพรเพนไดออล (กรัมต่อลิตร)
0	5.99 ^a ± 0.002
24	5.39 ^a ± 0.000
48	4.79 ^a ± 0.003
72	4.32 ^c ± 0.001
96	4.30 ^d ± 0.001
120	4.34 ^e ± 0.006
144	4.10 ^c ± 0.002
168	4.13 ^d ± 0.001
192	3.21 ^b ± 0.001
216	1.22 ^c ± 0.001

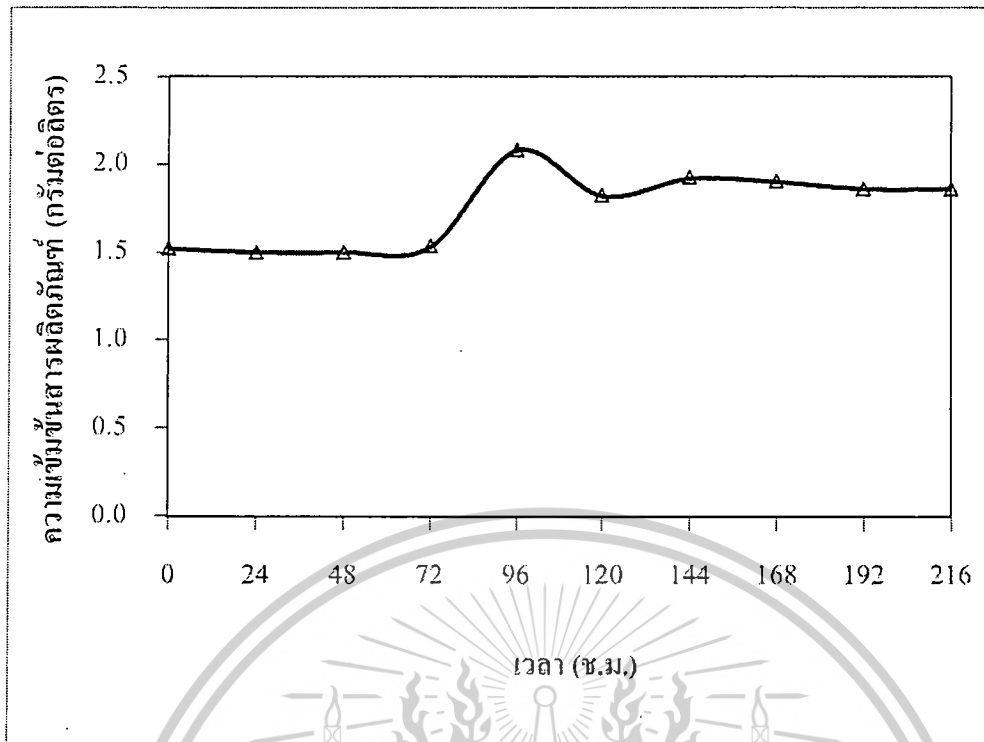
หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.23 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ป่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล)

จากรูปที่ 4.23 และตารางที่ 4.22 เห็นได้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีส่วนประกอบของ กลีเซอรอลเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าที่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยง มีปริมาณสาร ผลิตภัณฑ์ 1,3-โพรเพนไดออลค่อนข้างคงที่ในช่วง 1.50 ถึง 1.52 กรัมต่อลิตร และพบว่าปริมาณ ของ 1,3-โพรเพนไดออลสูงสุดในชั่วโมงที่ 92 หลังจากนั้นจะพบว่าลดลงอยู่ในช่วง 1.82-1.92 กรัม ต่อลิตร จนจบการเก็บตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.22 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	1,3-โพรเพนไดออล (กรัมต่อลิตร)
0	$1.52^b \pm 0.001$
24	$1.50^b \pm 0.004$
48	$1.50^b \pm 0.004$
72	$1.53^b \pm 0.002$
96	$2.08^a \pm 0.086$
120	$1.82^a \pm 0.003$
144	$1.92^a \pm 0.095$
168	$1.90^a \pm 0.007$
192	$1.86^a \pm 0.005$
216	$1.86^a \pm 0.001$

หมายเหตุ a, b ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากงานวิจัยนี้พบว่าจากการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นกลีเซอรอลที่แตกต่างกัน การเติมสารที่ 20 และ 30 กรัมต่อลิตร เชื้อไม่ค่อยมีการเจริญเติบโตเท่าที่ควร ในส่วนความเข้มข้นของกลีเซอรอล 40 และ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าเชื้อเจริญเติบโตได้ดีในช่วงเวลาที่ 72 และ 96 โดยช่วงเวลาที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงด้วยความเข้มข้นกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร จำนวนเซลล์มีค่าเท่ากับ 1.52×10^8 CFU ต่อ มิลลิลิตร และเมื่อเติมความเข้มข้นกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตรลงในอาหาร จำนวนเชื้อมีค่าเท่ากับ

4.37×10^6 CFU ต่อ มิลลิลิตร ส่วนในช่วงเวลาที่ 96 ของการเพาะเลี้ยงด้วยกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ปริมาณเซลล์มีค่าเท่ากับ 2.09×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร และอาหารที่มีความเข้มข้นกลีเซอรอล 50
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

กรัมต่อลิตร จำนวนเชื้อมีค่าเท่ากับ 1.27×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ในส่วนความเข้มข้นกลีเซอรอลที่ระดับ 50 กรัมต่อลิตร เชื้อมีการเจริญเติบโตที่ดีในช่วงเวลาที่ 168 อีกด้วย ซึ่งจำนวนเซลล์มีค่าเท่ากับ 3.13×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร โดยมีตารางที่ 4.23 เปรียบเทียบค่าการเจริญเติบโตในช่วงเวลาที่ 72 และตารางที่ 4.24 เปรียบเทียบค่าการเจริญเติบโตในช่วงเวลาที่ 96 และนำผลที่ได้มาสรุปในรูปแบบที่ 4.24

เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อใช้ปริมาณกลีเซอรอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ 40 กรัมต่อลิตร พบจำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุดที่ช่วงเวลาที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงคือ 1.51×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร และเมื่อเติมกลีเซอรอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 กรัมต่อลิตร จะมีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ช่วงเวลาที่ 168 คือ 3.13×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำผลจำนวนเซลล์ที่ได้จากการหมักมาเปรียบเทียบกับทางสถิติจะพบว่าการหมักที่มีปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะมีจำนวนเซลล์มากที่สุดคือ 1.51×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดโดยดูจากสถิติสำหรับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* สายพันธุ์นี้ นอกจากนี้ เห็นได้ว่าระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่จะทำให้ได้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ปริมาณมากโดยดูจากสถิติที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงพบว่าในช่วงช่วงเวลาที่ 72 ถึง 96 เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี

ตารางที่ 4.23 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของกลีเซอรอลที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง

ปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตช่วงเวลาที่ 72 (CFU ต่อมิลลิลิตร)
20	$(1.77 \pm 1.15)^b \times 10^6$
30	$(8.80 \pm 0.16)^b \times 10^5$
40	$(1.51 \pm 0.45)^a \times 10^8$
50	$(4.33 \pm 3.19)^b \times 10^6$

หมายเหตุ a, b ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

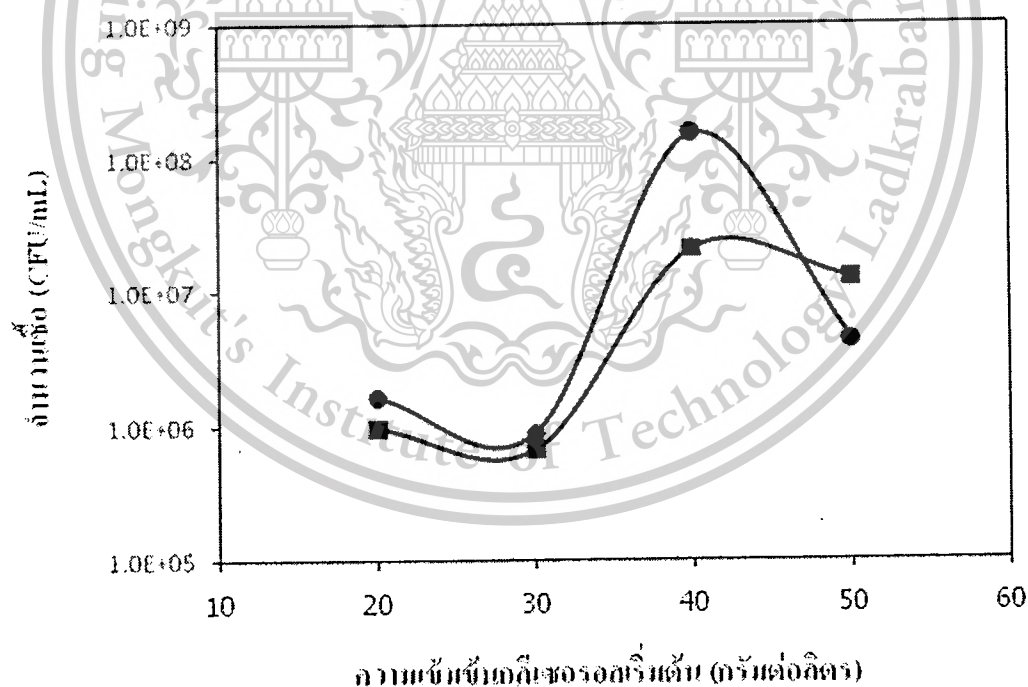
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.24 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของกลีเซอรอลที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* เมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมง

ปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตชั่วโมงที่ 96 (CFU ต่อมิลลิลิตร)
20	$(1.23 \pm 1.30)^b \times 10^6$
30	$(1.58 \pm 3.71)^b \times 10^6$
40	$(2.40 \pm 1.85)^b \times 10^7$
50	$(2.06 \pm 3.00)^a \times 10^7$

หมายเหตุ a, b ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



รูปที่ 4.24 ผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* ที่ 72 ชั่วโมง (●) และที่ 96 ชั่วโมง (■) ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

นอกจากนี้ เมื่อทำการเปรียบเทียบโดยใช้อาหาร GYCC ที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบระหว่างกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร กับกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร และระหว่างกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร กับกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร โดยพิจารณาจากรูปที่ 4.1 – 4.4 เห็นได้ว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* โดยเติมแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันลงในอาหาร GYCC โดยใช้กลูโคสและกลีเซอรอลในปริมาณ 20 กรัมต่อลิตรจะเห็นได้ว่า อาหาร GYCC ที่เติมกลูโคสมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่า โดยมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 60 คือ 4.58×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนในกลีเซอรอลพบว่าไม่ค่อยมีการเจริญเติบโตเท่าที่ควรโดยดูจากรูปที่ 4.9 จะเห็นว่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตมีค่าเท่ากับ $1.64 \pm 0.92 \times 10^6$ CFU ต่อมิลลิลิตร จึงสามารถสรุปได้ว่าการเติมแหล่งคาร์บอนระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร กลูโคสทำให้เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* เจริญได้ดีกว่า

สำหรับการเติมแหล่งคาร์บอนปริมาณ 50 กรัมต่อลิตร พบว่ามีการเจริญเติบโตที่ดีทั้ง 2 ชนิด โดยในอาหาร GYCC ที่ประกอบไปด้วยกลูโคส 50 กรัมต่อลิตรเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 60 คือ 7.12×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.2 ส่วนในอาหาร GYCC ที่เติมกลีเซอรอลลงไป 50 กรัมต่อลิตรเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 96 และ 168 คือ 1.27×10^7 และ 3.13×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.13)

อย่างไรก็ตาม จากการเปรียบเทียบนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อหาปริมาณเชื้อในเวลาที่ไม่เท่ากัน แต่ก็พอจะสามารถนำมาเปรียบเทียบกัน จากการทดลองนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าแหล่งคาร์บอนแบบใดที่ได้ผลทำให้เชื้อเจริญได้ดีที่สุด เพราะในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 40 กรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 1.52×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าการเจริญเติบโตสูงสุดในอาหาร GYCC ที่มีกลีเซอรอล 50 กรัมต่อลิตร

4.3 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม

4.3.1 ผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในพลาสติก

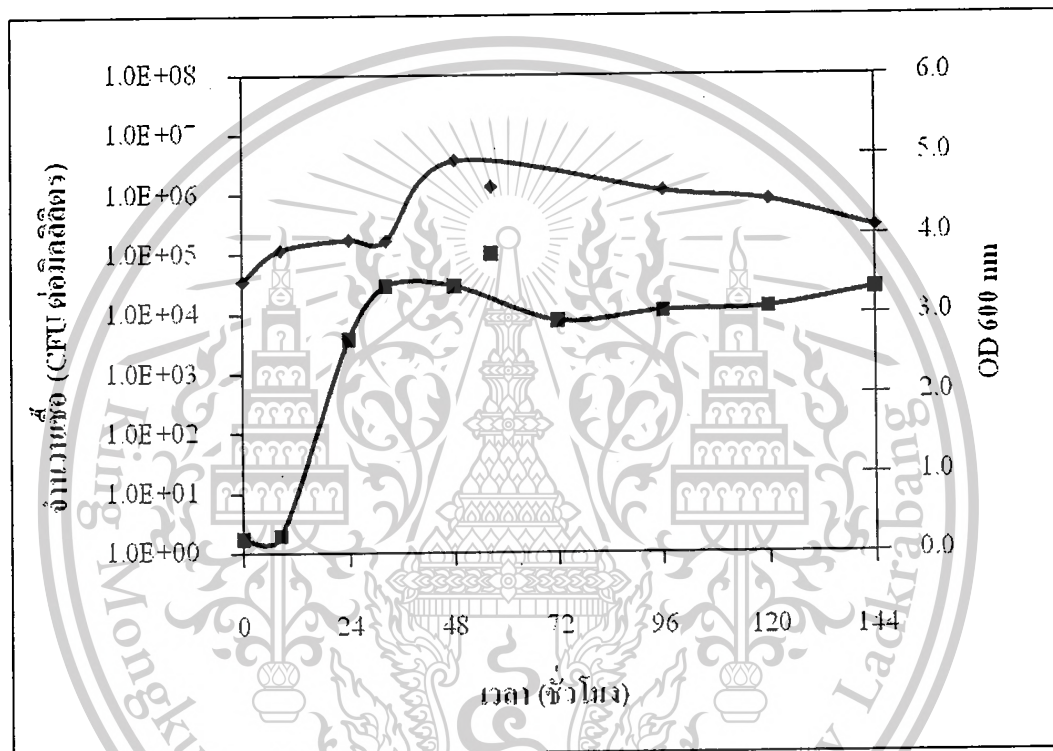
สุภาวะนิ่งและไร้อากาศเป็นระยะเวลา 144 ชั่วโมง โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร ทำ
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การวิเคราะห์การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคเขย่าจาน (pour plate) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

การเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 10 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร ได้ผลดังแสดงใน รูปที่ 4.25 และตารางที่ 4.25 พบว่า เชื้อมีการเจริญเติบโตมากที่สุดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปแล้ว 48 ชั่วโมง โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต 3.67×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร และมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรเท่ากับ 3.3533



รูปที่ 4.25 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.25 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัม ต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(3.56 \pm 0.99)^c \times 10^4$	$0.177^c \pm 0.037$
8.5	$(1.18 \pm 0.10)^{bc} \times 10^5$	$0.212^c \pm 0.044$
24	$(1.76 \pm 1.85)^{bc} \times 10^5$	$2.690^b \pm 0.579$
32.5	$(1.68 \pm 1.69)^{bc} \times 10^5$	$3.350^{ab} \pm 0.818$
48	$(3.60 \pm 1.53)^a \times 10^6$	$3.353^{ab} \pm 0.087$
56.5	$(1.33 \pm 0.29)^b \times 10^6$	$3.760^a \pm 0.443$
72	nd	$2.917^b \pm 0.067$
96	$(1.14 \pm 1.26)^{bc} \times 10^6$	$3.040^b \pm 0.338$
120	$(7.97 \pm 1.98)^{bc} \times 10^5$	$3.083^{ab} \pm 0.035$
144	$(2.83 \pm 1.64)^{bc} \times 10^5$	$3.317^{ab} \pm 0.134$

หมายเหตุ a, b, c ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

nd หมายถึง ค่าที่ได้จากการทดลองเกิดการผิดพลาด

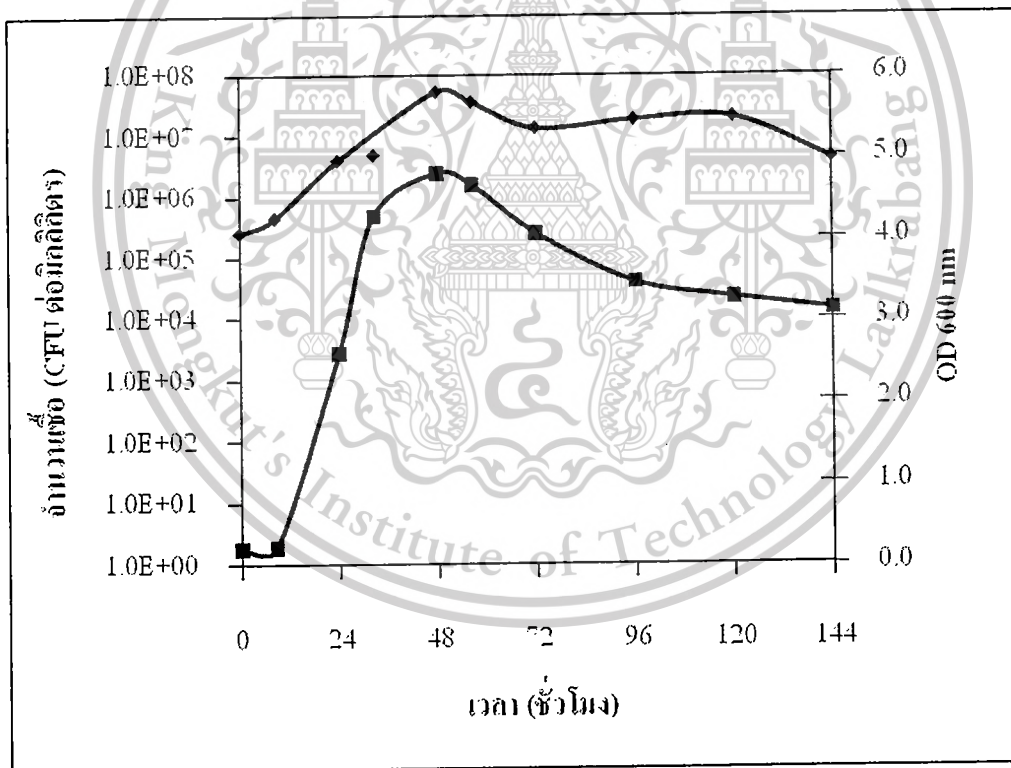
นอกจากนี้ ผลจากรูปที่ 4.25 และตารางที่ 4.25 ยังเห็นได้ว่าในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง เชื้อมีการเจริญเติบโตค่อนข้างน้อย จากชั่วโมงที่ 0 มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตเท่ากับ 3.56×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร เพิ่มขึ้นเป็น 1.18×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 จากนั้นจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย โดยในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 1.76×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร และเป็น 1.68×10^5

CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 32.5 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การเจริญสูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ในชั่วโมงที่ 48 (3.67×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร) การเจริญของไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เชื้อจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลง คือจาก 1.33×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 56.5 เป็น 1.14×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 96 ต่อมา มีค่า 7.97×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 120 และเท่ากับ 2.83×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในเวลาสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง (144 ชั่วโมง) ส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรที่เวลาเริ่มต้นเป็น 0.177 (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) ก็ บ ชั่วโมงที่ 8.5 ซึ่งมีการดูดกลืนแสงเป็น 0.121 แต่หลังจากนั้น ค่าการดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมาก โดยมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นจาก 0.212 ในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 2.690 ในชั่วโมงที่ 24 อาจเนื่องมาจากเป็นค่าการเจริญที่วัดได้จากเซลล์ทั้งมีชีวิตและไม่มีชีวิต ต่อมา มีการเจริญเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในชั่วโมง 32.5 มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 3.350 และคงที่ในชั่วโมง 48 คือ 3.353 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด คือในชั่วโมง 56.5 มีค่าเป็น 3.760 แต่ค่าการดูดกลืนแสงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 72 มีแนวโน้มคงที่ตลอดการเพาะเลี้ยง ซึ่งอาจเนื่องจากเป็นค่าที่ได้จากการวัดการเจริญทั้งในส่วนของเซลล์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต



รูปที่ 4.26 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.26 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัม ต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(2.57 \pm 0.81)^e \times 10^5$	$0.197^f \pm 0.004$
8.5	$(4.57 \pm 1.22)^e \times 10^5$	$0.213^f \pm 0.005$
24	$(4.03 \pm 2.99)^{de} \times 10^6$	$2.580^e \pm 0.382$
32.5	$(4.95 \pm 1.08)^{de} \times 10^6$	$4.267^{bc} \pm 0.351$
48	$(5.33 \pm 1.78)^a \times 10^7$	$4.790^a \pm 0.104$
56.5	$(3.62 \pm 1.46)^b \times 10^7$	$4.650^{ab} \pm 0.115$
72	$(1.36 \pm 1.14)^{cde} \times 10^7$	$4.053^c \pm 0.276$
96	$(1.86 \pm 0.16)^{cd} \times 10^7$	$3.453^d \pm 0.465$
120	$(2.05 \pm 0.18)^c \times 10^7$	$3.263^d \pm 0.198$
144	$(4.32 \pm 1.80)^{de} \times 10^6$	$3.113^d \pm 0.021$

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

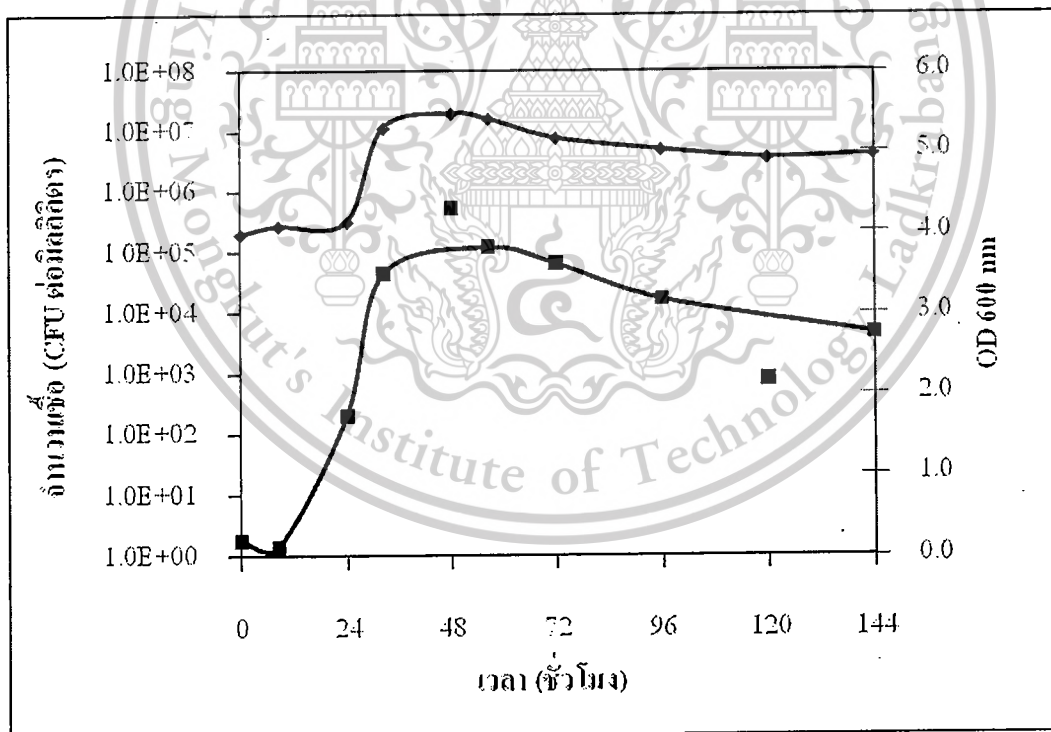
ผลที่แสดงในรูปที่ 4.26 และตารางที่ 4.26 เป็นของการเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 20 กรัมต่อหนึ่งลิตร พบว่า เชื้อมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในช่วง 48 ชั่วโมงแรกของกระบวนการหมัก จากเวลาเริ่มต้นมีจำนวนเชื้อ 2.57×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร เพิ่มเป็น 4.57×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 ชั่วโมงที่ 24 พบจำนวนเชื้อเป็น 4.03×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร และเท่ากับ 4.95×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 32.5 ของการเก็บตัวอย่าง จนต่อมามีค่าสูงสุดในชั่วโมง 48 ซึ่งมีจำนวนเซลล์ 5.33×10^7 CFU ต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่น การค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

มิลลิลิตร และการเจริญมีแนวโน้มที่ค่อยๆ ลดลงในชั่วโมงที่ 56.5 เป็น 3.62×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร ส่วนชั่วโมงที่ 72 เป็น 1.36×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร ต่อมาคงที่ โดยมีค่าเป็น 1.86×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 96 จากนั้นชั่วโมงที่ 120 ของการเพาะเลี้ยงมีจำนวนเชื้อ 2.05×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร และลดลงอีกในชั่วโมงที่ 144 ของการเก็บตัวอย่างเป็น 4.32×10^6 CFU ต่อ มิลลิลิตร เช่นเดียวกับค่าการดูดกลืนแสงซึ่งเพิ่มขึ้นของจากชั่วโมงเริ่มต้นคือ 0.197 ได้เป็น 0.213 ใน 8.5 ชั่วโมงถัดมา จากนั้นชั่วโมงที่ 24 ของการเก็บตัวอย่างก็เพิ่มขึ้นเป็น 2.580 และ 4.267 ในชั่วโมง 32.5 จนกระทั่งในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งมีการเจริญเติบโตของเชื้อที่สูงสุด โดยพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ได้สูงถึง 4.790 และลดลงเล็กน้อยเป็น 4.650 ในการเก็บตัวอย่างครั้งต่อมา (56.5 ชั่วโมง) แต่ก็ยังไม่มี ความแตกต่างในเชิงสถิติ ส่วนในชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงมีค่าการดูดกลืนแสง 4.053 และคงที่จนจบ กระบวนการหมัก โดยในชั่วโมง 96 มีค่า 3.453 และเป็น 3.263 เมื่อเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 120 จน ชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง (144 ชั่วโมง) ซึ่งมีค่าต่ำสุด คือ 3.1133 แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ แล้วไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96 ถึง 144



รูปที่ 4.27 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (♦ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm) ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.27 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 30 กรัม ต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(1.94 \pm 0.49)^e \times 10^5$	$0.191^h \pm 0.005$
8.5	$(2.66 \pm 0.08)^e \times 10^5$	$0.113^h \pm 0.010$
24	$(3.11 \pm 1.54)^e \times 10^5$	$1.730^g \pm 0.106$
32.5	$(1.14 \pm 0.77)^c \times 10^7$	$3.483^c \pm 0.104$
48	$(1.98 \pm 0.22)^a \times 10^7$	$4.297^a \pm 0.042$
56.5	$(1.60 \pm 0.15)^{ab} \times 10^7$	$3.810^b \pm 0.100$
72	$(7.67 \pm 3.46)^{cd} \times 10^6$	$3.610^{bc} \pm 0.291$
96	$(4.93 \pm 1.82)^{de} \times 10^6$	$3.170^d \pm 0.190$
120	$(3.59 \pm 0.40)^{de} \times 10^6$	$2.180^f \pm 0.130$
144	$4.07 \pm 1.30)^{de} \times 10^6$	$2.750^e \pm 0.161$

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f, g, h ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

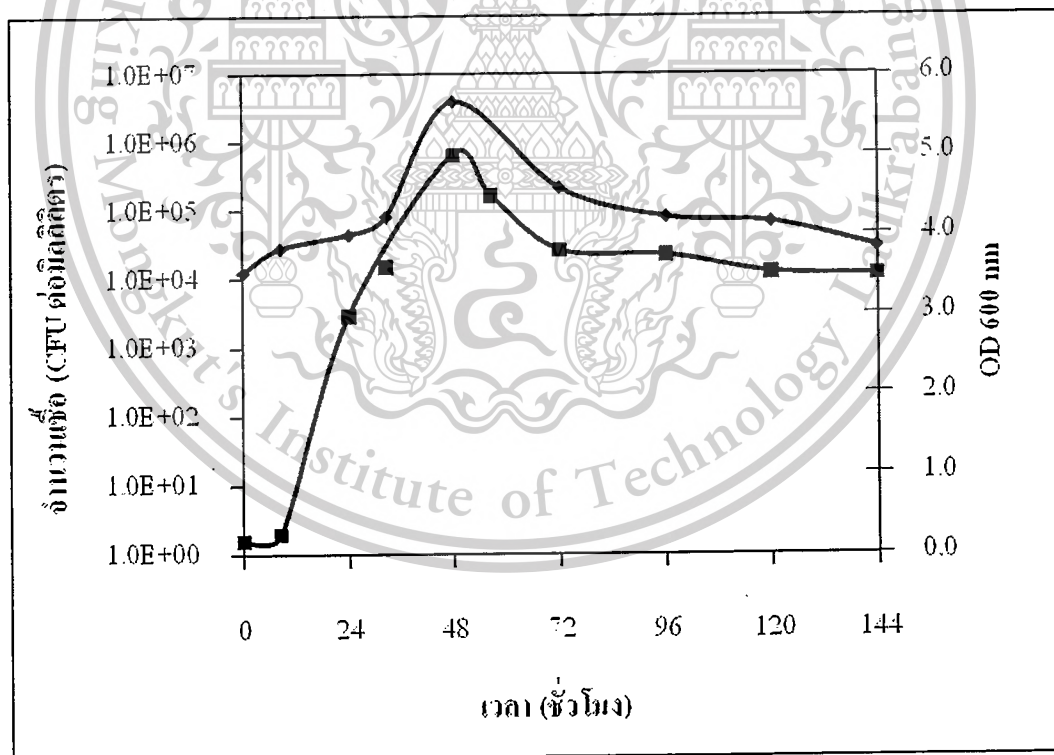
ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร แสดงผลดังรูปที่ 4.27 และตารางที่ 4.27 พบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 ของการเพาะเลี้ยงคือ 1.98×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร โดยใน 24 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากชั่วโมงที่ 0 ซึ่งมีจำนวนเชื้อ 1.94×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 2.66×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรและมีค่า 3.11×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 24 ของกระบวนการหมัก ต่อมาชั่วโมงที่ 32.5 มีจำนวนเชื้อ 1.14×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

$\times 10^7$ CFU ต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 56.5 มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด 1.60×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร จากนั้นแล้วค่อยๆลดลงจนถึงชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงที่มีจำนวนเชื้อ 7.67×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร และคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง โดยดูจากผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ดัง แสดงในตารางที่ 4.27 ซึ่งเท่ากับ 4.93×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 96 ส่วนชั่วโมง 120 เป็น 3.59×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร และมีจำนวน 4.07×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงสุดท้ายของการ เก็บตัวอย่าง เช่นเดียวกับการเจริญซึ่งวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรที่ไม่มีการ เปลี่ยนแปลงใน 8.5 ชั่วโมงแรก คือ 0.191 จากชั่วโมงเริ่มต้น เป็น 0.113 ในชั่วโมงถัดมา (ชั่วโมงที่ 8.5) จากนั้นเพิ่มขึ้นเป็น 1.730 ในชั่วโมงที่ 24 และเป็น 3.483 ในชั่วโมงที่ 32.5 ของการเก็บตัวอย่าง จนถึงชั่วโมงที่ 48 มีการเจริญของเชื้อสูงสุด และมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเช่นเดียวกัน ซึ่งเท่ากับ 4.297 จากนั้นลดลงเป็น 3.810 ในชั่วโมงที่ 56.5 และคงที่ในชั่วโมง 72 (ค่าการดูดกลืนแสง 3.610) นอกจากนี้ การเจริญซึ่งวัดโดยค่าการดูดกลืนแสงมีแนวโน้มที่ลดลงตั้งแต่ชั่วโมง 96 เป็นต้นมาคือ 3.170 ชั่วโมงที่ 120 เป็น 2.180 และเป็น 2.750 ในชั่วโมงที่ 144 ของกระบวนการหมัก



รูปที่ 4.28 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462

และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร

บวมที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.28 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(1.26 \pm 0.22)^b \times 10^4$	$0.164^f \pm 0.015$
8.5	$(2.82 \pm 2.06)^b \times 10^4$	$0.245^f \pm 0.029$
24	$(4.50 \pm 4.77)^b \times 10^4$	$2.970^e \pm 0.061$
32.5	$(8.11 \pm 3.84)^b \times 10^4$	$3.580^{cd} \pm 0.170$
48	$(3.92 \pm 4.69)^a \times 10^6$	$4.980^a \pm 0.412$
56.5	nd	$4.467^b \pm 0.181$
72	$(2.11 \pm 1.64)^b \times 10^5$	$3.787^c \pm 0.146$
96	$(7.96 \pm 9.76)^b \times 10^4$	$3.723^{cd} \pm 0.138$
120	$(6.64 \pm 1.09)^b \times 10^4$	$3.503^{cd} \pm 0.042$
144	$(2.91 \pm 0.35)^b \times 10^4$	$3.473^d \pm 0.021$

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

nd หมายถึง ค่าที่ได้จากการทดลองเกิดการผิดพลาด

การเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acetobutylicum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร พบว่า การเจริญใน 32.5 ชั่วโมงแรกนั้นไม่ต่างกันในเชิงสถิติ จากชั่วโมงเริ่มต้น คือ 1.26×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 2.82×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร

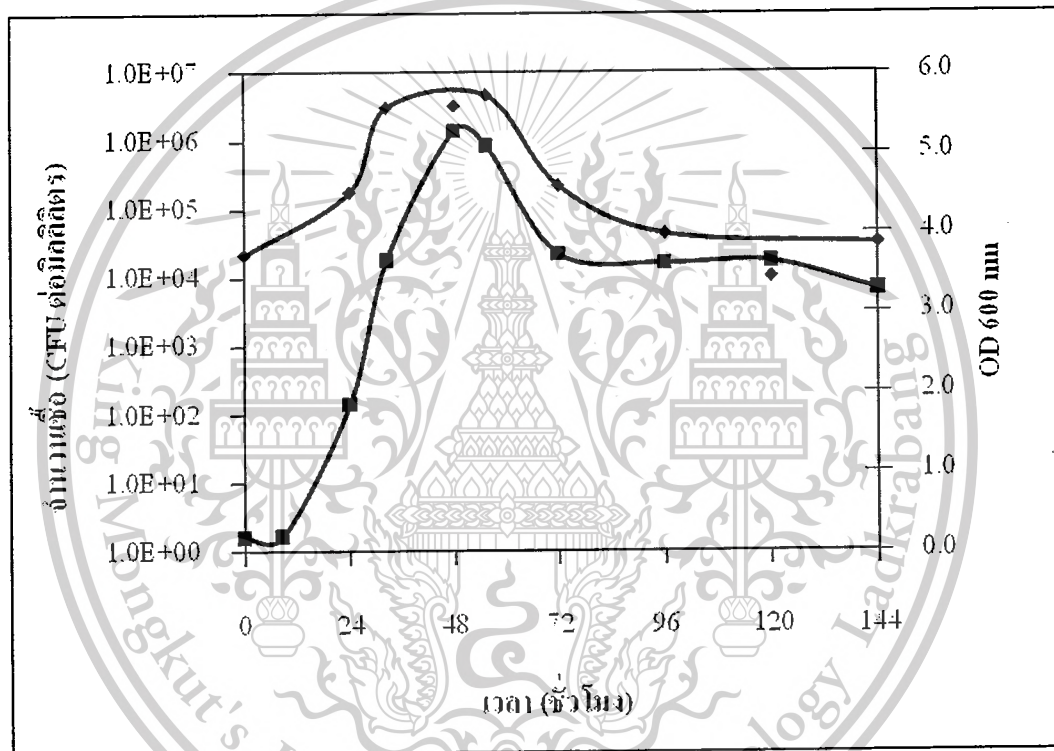
ในชั่วโมง 8.5 เป็น 4.50×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมง 24 ของการเก็บตัวอย่าง และมีจำนวนเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
8.11 $\times 10^4$ CFU ต่อมิลลิลิตรหลังการเพาะเลี้ยงผ่านไปแล้ว 32.5 ชั่วโมง นอกจากนั้น ยังพบว่า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ชั่วโมง 48 ของกระบวนการหมักนั้นมีการเจริญเติบโตสูงสุดของเชื้อ โดยมียาจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต 3.92×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร และมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 48 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยงเช่นกัน ซึ่งเท่ากับ 4.980 ส่วนการเจริญหลังจากการเพาะเลี้ยงไปแล้ว 48 ชั่วโมง มีแนวโน้มที่ลดลงเหลือ 2.11×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 72 จากนั้นมีการเจริญที่คงที่ตลอดระยะเวลาเพาะเลี้ยง ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ โดยมีจำนวนเชื้อเท่ากับ 2.91×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 144 และค่าการดูดกลืนแสงลดลงจาก 4.467 ในชั่วโมงที่ 56.5 เป็น 3.473 ในชั่วโมงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในรูปที่ 4.28 และตารางที่ 4.28



รูปที่ 4.29 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.29 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(3.56 \pm 0.98)^c \times 10^4$	$0.184^e \pm 0.196$
8.5	nd	$0.194^e \pm 0.004$
24	$(1.80 \pm 1.35)^c \times 10^5$	$1.850^d \pm 0.223$
32.5	$(3.07 \pm 1.44)^b \times 10^6$	$3.653^{bc} \pm 0.064$
48	$(3.20 \pm 0.64)^b \times 10^6$	$5.270^a \pm 0.586$
55.5	$(4.66 \pm 1.40)^a \times 10^6$	$5.087^a \pm 0.042$
72	$(2.22 \pm 1.17)^c \times 10^5$	$3.727^b \pm 0.120$
96	$(4.44 \pm 3.66)^c \times 10^4$	$3.613^{bc} \pm 0.121$
120	$(1.04 \pm 0.53)^c \times 10^4$	$3.633^{bc} \pm 0.130$
144	$(3.19 \pm 1.35)^c \times 10^4$	$3.280^c \pm 0.020$

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

nd หมายถึง ค่าที่ได้จากการทดลองเกิดการผิดพลาด

จากรูปที่ 4.29 และตาราง 4.29 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อมีการเจริญเติบโตค่อนข้างคงที่ใน 24 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงคือจาก 3.56×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงเริ่มต้นเป็น 1.80×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมง 24 และเจริญรวดเร็วหลัง 32.5 ชั่วโมงของการเลี้ยง โดยเพิ่มเป็น 3.07×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรและคงที่ในชั่วโมง 48 ซึ่งมีเชื้อที่มีชีวิตเป็น 3.26×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

นอกจากนี้สังเกตได้ว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรจากชั่วโมงที่ 0 คือ 0.184 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 0.194 ของชั่วโมงที่ 8.5 และเพิ่มขึ้นในชั่วโมงต่อมา (ชั่วโมง 24) และมีค่าการดูดกลืนแสงเป็น 1.850 และ 3.653 ในชั่วโมง 32.5 ของการเก็บตัวอย่าง จนถึงชั่วโมงที่ 55.5 ที่มีการเจริญเติบโตของ *C. acetobutylicum* TISTR 1462 สูงสุดเท่ากับ 4.66×10^6 CFU ต่อ มิลลิลิตร ในขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ชั่วโมงที่ 48 คือ 5.270 และลดลงเหลือ 5.087 ใน ชั่วโมง 55.5 ของการเก็บตัวอย่าง (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ) จากนั้นลดลงและคงที่ใน ชั่วโมงที่ 72 โดยมีค่าการดูดกลืนแสงเป็น 3.727 และลดลงอีกในชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ลดลงหลังการเจริญสูงสุด และคงที่ตั้งแต่ชั่วโมง 72 คือมีจำนวนเชื้อ 2.22×10^5 CFU ต่อ มิลลิลิตร ในชั่วโมง 96 เป็น 4.44×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร ส่วนในการเก็บตัวอย่างชั่วโมง 120 เป็น 1.04×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร และเท่ากับ 3.19×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตรในชั่วโมงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง ซึ่งแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติดังตาราง 4.29

จากผลของความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในกระบวนการหมัก โดยใช้อาหารสูตร GYCC ที่มีการเติมกลูโคส ด้วยระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตรนั้น พบว่า ชุดการทดลองที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรมีการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acetobutylicum* TISTR 1462 สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งมีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตเท่ากับ 5.33×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.30 และตารางที่ 4.30

สุรพล (2530) ได้ศึกษาการเจริญของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 โดยใช้รำล้าต้นข้าวฟ่างหวาน และตรวจวัดการเจริญทุก 6 ชั่วโมง พบว่า เชื้อมีการเจริญสูงสุดเมื่อ กระบวนการผ่านไป 30 ชั่วโมง โดยมีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตประมาณ 3×10^8 CFU ต่อ มิลลิลิตร

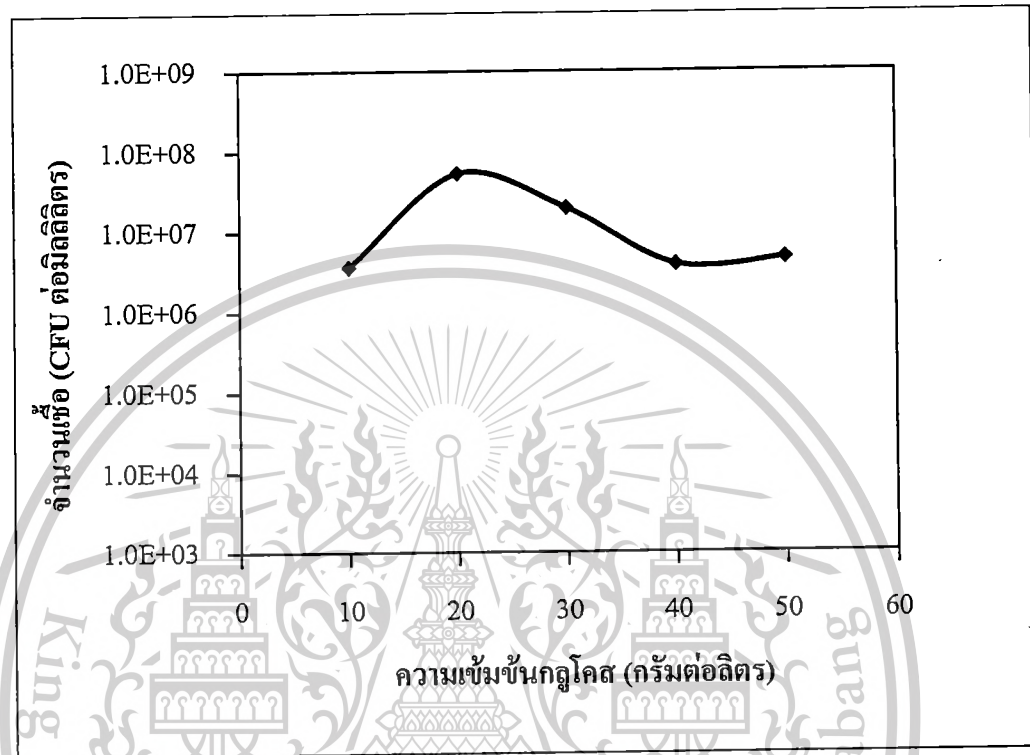
หลังจากทราบผลจากการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารเลี้ยงอาหารกลูโคส-ยีสต์สกัด-เคซีน-ซิสทีน (Glucose-yeast extract-casein-cysteine, GYCC) โดยเติมกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร และพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของกลูโคสคือ 20 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะนำความเข้มข้นที่เหมาะสมไปศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

กลูโคสที่เหมาะสม โดยอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคสที่ใช้ในการศึกษา คือ 1:0, 1:1, 1:2, 2:1 และ 0:1



รูปที่ 4.30 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตทั้งหมดสูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่มีกลูโคสความเข้มข้นระดับต่างๆ (10 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.30 ผลของการศึกษาความเข้มข้นกลูโคสที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC โดยแสดงเป็นจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่สูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ของการเพาะเลี้ยงแต่ละความเข้มข้นของกลูโคส บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

ปริมาณกลูโคสเริ่มต้น(กรัมต่อลิตร)	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่เจริญสูงสุด (CFU/mL)
10	$(3.67 \pm 1.53)^b \times 10^6$
20	$(5.33 \pm 1.78)^a \times 10^7$
30	$(1.90 \pm 0.22)^b \times 10^7$
40	$(3.92 \pm 4.69)^b \times 10^6$
50	$(4.66 \pm 1.40)^b \times 10^6$

หมายเหตุ a, b ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.3.2 ผลของอาหารต่อการใช้สารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์

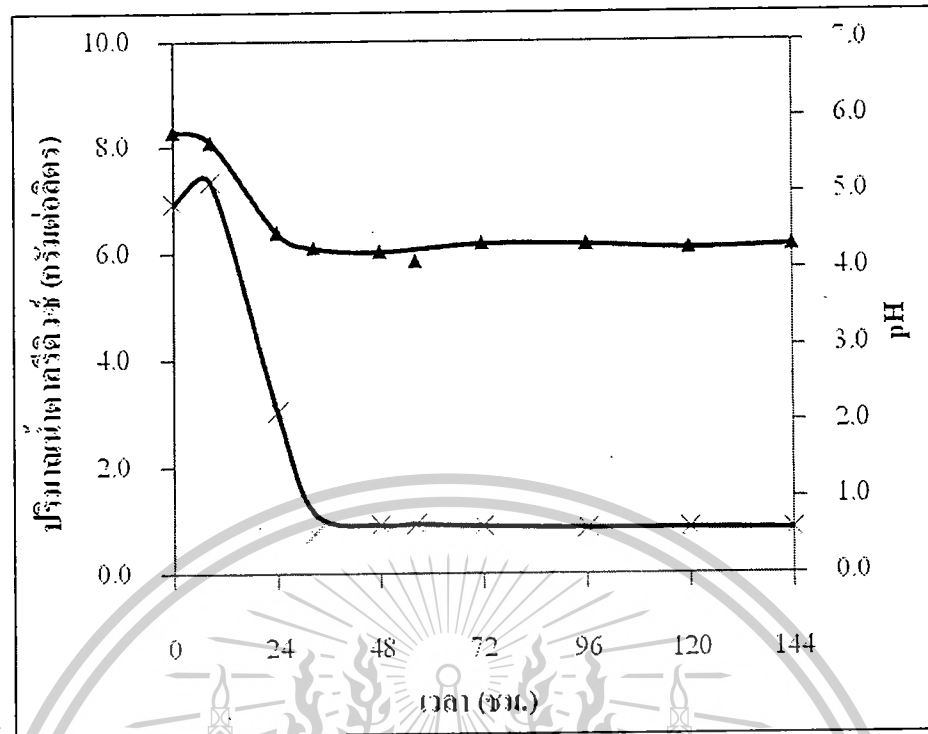
จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในพลาสติก สภาวะนิ่งและไร้อากาศ เป็นระยะเวลา 144 ชั่วโมง โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ในอาหารอาหารกลูโคส-ยีสต์สกัด-เคซีน-ซิสทีน (Glucose-yeast extract-casein-cysteine, GYCC) ที่ระดับความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร และวัดค่าความเป็นกรดต่าง จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงในเครื่องด้วยความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่เหลือด้วยวิธีดีเอ็นเอส (Miller, 1959)

การเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 10 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร ได้ผลดังรูปที่ 4.31 และตารางที่ 4.31 พบว่ามีความเข้มข้นของกลูโคสเหลืออยู่น้อยที่สุด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปแล้ว 32.5 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ 0.763 กรัมต่อลิตร และมีค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 4.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.31 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

ตารางที่ 4.31 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
0	6.944 ^a ± 0.132	5.81 ^a ± 0.03
8.5	7.354 ^a ± 0.149	5.67 ^b ± 0.03
24	3.047 ^b ± 1.051	4.48 ^c ± 0.09
32.5	0.763 ^c ± 0.103	4.27 ^{de} ± 0.02
48	0.923 ^c ± 0.028	4.22 ^e ± 0.03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.31 (ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
56.5	0.939 ^c ± 0.014	4.09 ^f ± 0.02
72	0.900 ^c ± 0.048	4.33 ^d ± 0.01
96	0.870 ^c ± 0.001	4.32 ^d ± 0.01
120	0.866 ^c ± 0.011	4.27 ^{de} ± 0.02
144	0.849 ^c ± 0.037	4.31 ^d ± 0.01

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

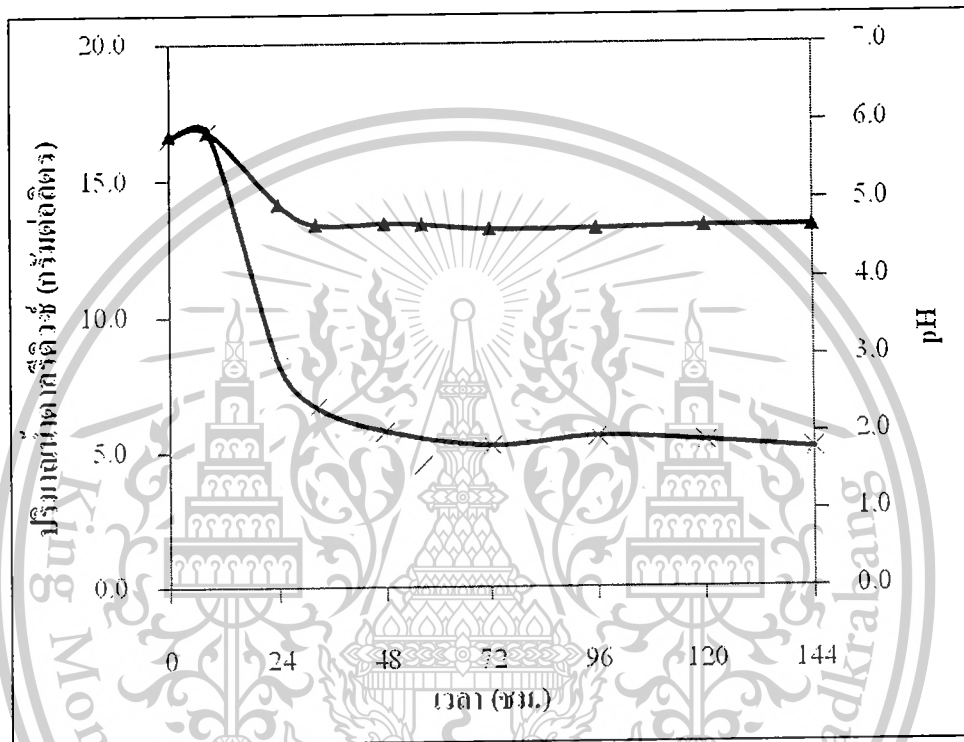
จากรูปที่ 4.31 และตารางที่ 4.31 พบว่าในช่วงเวลาเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) โดยเริ่มแรกมีค่าประมาณ 6.944 กรัมต่อลิตร เมื่อผ่านไป 8.5 ชั่วโมง มีค่าน้ำตาลอยู่ 7.354 กรัมต่อลิตร จากนั้นเชื้อมีการใช้น้ำตาลกลูโคสอย่างรวดเร็วจนกระทั่งชั่วโมงที่ 32.5 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงเหลือเพียง 0.763 กรัมต่อลิตร แล้วปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือจึงเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ เมื่อเข้าสู่ชั่วโมง 48 จนจบการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลอยู่ 6.591 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ค่าความเป็นกรดต่างก็ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาเดียวกัน จาก 5.67 ในชั่วโมงที่ 8.5 ของการเพาะเลี้ยง ลดเหลือ 4.48 ในชั่วโมงที่ 24 ต่อจากนั้นค่าความเป็นกรดต่างลดลงอีกเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าเท่ากับ 4.31 ในช่วงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง (144 ชั่วโมง) นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลืออยู่ลดลงน้อยที่สุดในชั่วโมงที่ 32.5 ในช่วงนี้ก็มีค่าความเป็นกรดต่างคือ 4.27 ซึ่งใกล้เคียงกับเวลาที่

เอกสารนี้เป็นจำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* เจริญสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 48

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ในการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ไปแล้ว 56.5 ชั่วโมง ผลปรากฏว่าเชื้อจุลินทรีย์มีความเข้มข้นของกลูโคสน้อยที่สุด คือ 4.543 กรัมต่อลิตร โดยมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.69 แสดงผลดังในรูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.8



รูปที่ 4.32 ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

เมื่อศึกษาค่าพีเอชในอาหารที่เติมกลูโคสแต่ละความเข้มข้นพบว่า พีเอชของระบบมีค่าลดลงและเข้าสู่สภาวะคงที่ในช่วงเวลาที่ 48 ของกระบวนการหมักนั้น คาดว่ามีสาเหตุสืบเนื่องสองประการ ประการแรก คาร์บอนไดออกไซด์ที่เชื้อผลิตออกมานั้นรวมตัวกับโมเลกุลของน้ำ เกิดเป็นกรดคาร์บอนิก ซึ่งทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ของระบบการหมัก ค่าพีเอชในช่วงหลังของกระบวนการจึงไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก และสาเหตุที่สองคือการที่สารผลิตภัณฑ์เปลี่ยนจากกระอะซิติกเป็นอะซิโตน ซึ่งสาเหตุหลัก

คาดว่ามาจากเหตุผลในประการที่หนึ่งมากกว่า (สุรพล, 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.32 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
0	16.567 ^a ± 1.410	5.84 ^b ± 0.01
8.5	16.810 ^a ± 0.517	5.89 ^a ± 0.02
24	8.220 ^b ± 0.267	4.96 ^c ± 0.05
32.5	6.644 ^c ± 0.214	4.69 ^d ± 0.02
48	5.754 ^{cd} ± 0.269	4.70 ^d ± 0.02
56.5	4.543 ^e ± 0.486	4.69 ^d ± 0.03
72	5.227 ^{de} ± 0.295	4.63 ^e ± 0.02
96	5.569 ^{de} ± 0.660	4.64 ^e ± 0.01
120	5.386 ^{de} ± 0.224	4.67 ^{de} ± 0.01
144	5.090 ^{de} ± 0.281	4.66 ^{de} ± 0.02

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ดังผลที่แสดงในรูปที่ 4.32 และตารางที่ 4.32 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้โดยเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร พบว่ามีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลืออยู่น้อยที่สุดในชั่วโมงที่ 56.5 ของการเพาะเลี้ยง คือ 4.543 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางเดียวกับการเจริญสูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ในชั่วโมงที่ 48 โดยใน 8.5 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง

นอกจากนี้อาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มขึ้นเล็กน้อยซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากชั่วโมงที่ 0 มีค่าความเข้มข้นของกลูโคสอยู่ 16.567 กรัมต่อลิตร

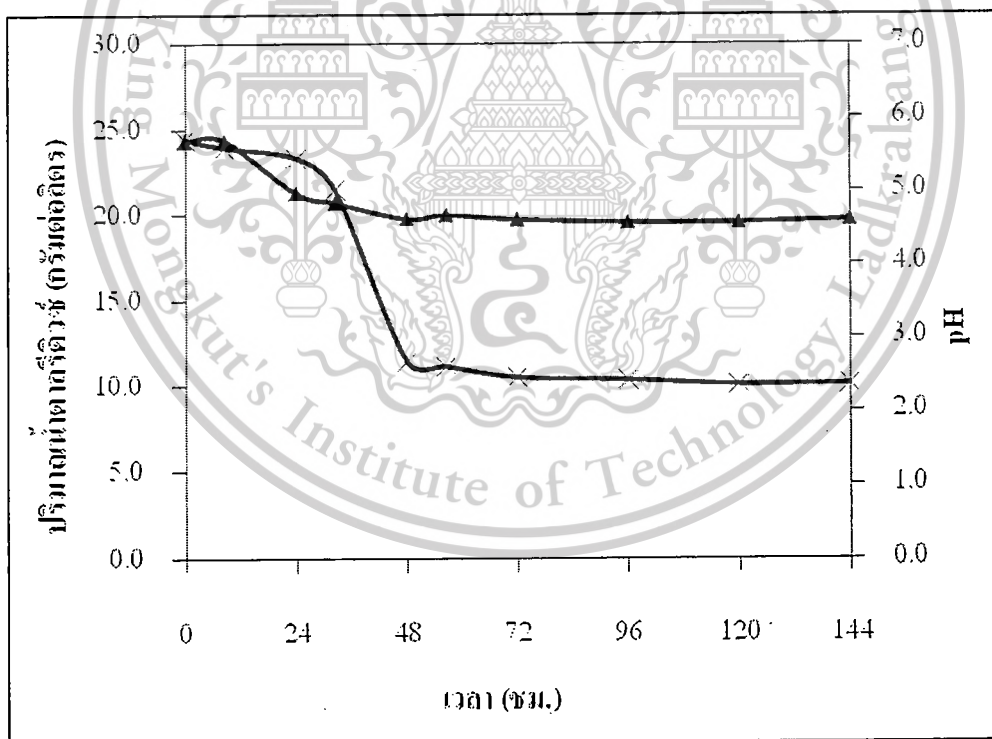
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ส่วนในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 16.810 กรัมต่อลิตร หลังจากชั่วโมงที่ 8.5 ผ่านไป เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคสไปเป็นจำนวนมาก โดยมีค่าลดลงเป็น 8.220 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 24 (คิดการใช้น้ำตาลเป็น 12.267 กรัมต่อลิตร) ส่วนในชั่วโมงที่ 32.5 มีความเข้มข้นของกลูโคสเท่ากับ 6.644 กรัมต่อลิตร จากนั้นความเข้มข้นของกลูโคสจะค่อยๆลดลงจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 56.5 โดยมีความเข้มข้นของกลูโคสเป็น 4.543 กรัมต่อลิตร และคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง โดยในชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง มีความเข้มข้นของกลูโคส 5.090 กรัมต่อลิตร ส่วนค่าความเป็นกรดต่างมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 5.84 ในชั่วโมงที่ 0 เป็น 5.89 แต่หลังจากนั้นค่าความเป็นกรดต่าง มีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมาก โดยลดลงจาก 5.89 ในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 4.96 ในชั่วโมงที่ 24 และเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ในชั่วโมงที่ 32.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.69 จนกระทั่งถึงชั่วโมงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง มีค่าเป็น 4.66

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 30 กรัมต่อหนึ่งลิตร พบว่าที่ชั่วโมงสุดท้ายของกระบวนการหมัก (120 ชั่วโมง) จะมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลืออยู่จำนวนน้อยที่สุด คือ 10.073 ซึ่งมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.57



รูปที่ 4.33 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์สงวนและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง) ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.33 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
0	24.415 ^a ± 2.359	5.69 ^a ± 0.03
8.5	23.955 ^a ± 6.241	5.69 ^a ± 0.02
24	23.341 ^a ± 0.765	4.97 ^b ± 0.04
32.5	21.477 ^a ± 0.193	4.83 ^c ± 0.02
48	11.460 ^b ± 0.261	4.62 ^e ± 0.00
56.5	11.140 ^b ± 0.139	4.67 ^d ± 0.00
72	10.492 ^b ± 0.342	4.61 ^{ef} ± 0.01
96	10.344 ^b ± 0.259	4.57 ^f ± 0.02
120	10.073 ^b ± 0.158	4.57 ^f ± 0.05
144	10.117 ^b ± 0.166	4.61 ^{ef} ± 0.01

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การใช้น้ำตาลกลูโคสของเชื้อ *C. acetobutylicum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.33 และตารางที่ 4.33 พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยจากชั่วโมงแรก 24.415 กรัมต่อลิตร เป็น 23.955 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 8.5 ลดลงเป็น 23.955 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 24 และเท่ากับ 21.477 กรัมต่อลิตรใน

ชั่วโมงที่ 32.5 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ต่อมาในชั่วโมงที่ 48 จะมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่

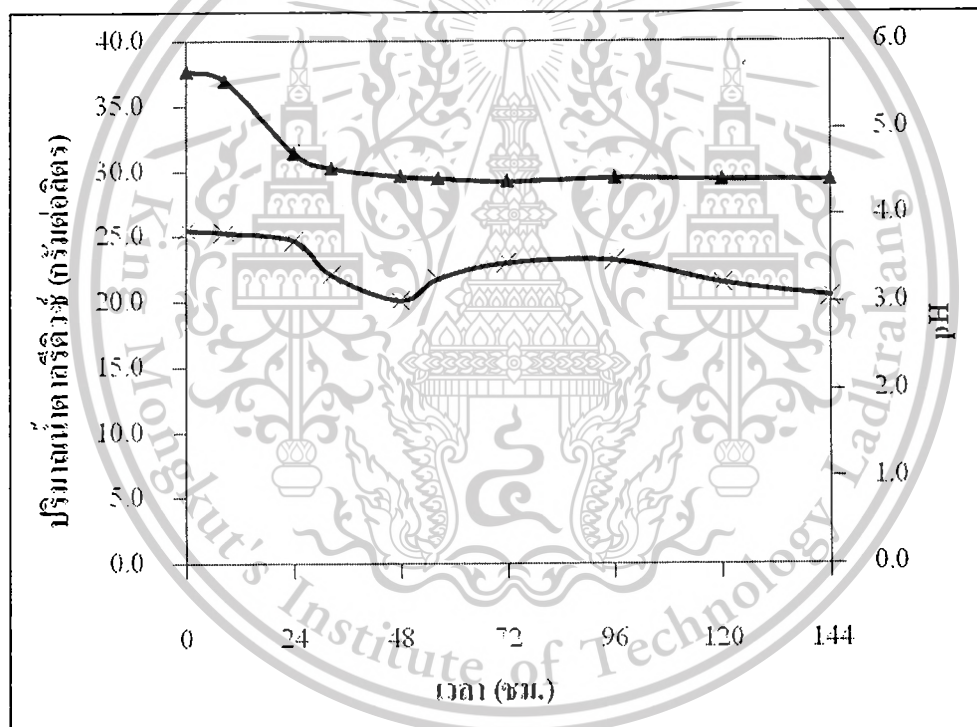
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
เหลืออยู่น้อยที่สุดเท่ากับ 11.460 กรัมต่อลิตรโดยมีแนวโน้มที่สอดคล้องกับการเจริญสูงสุดของ
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เชื้อจุลินทรีย์ในชั่วโมงที่ 48 และคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก (144 ชั่วโมง) โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ค่าความเป็นกรดต่างไม่มีการเปลี่ยนแปลงใน 8.5 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง คือ 5.69 จากนั้นจึงมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วไปเป็น 4.97 ในชั่วโมงที่ 24 และลดลงอีกเล็กน้อยซึ่งมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.83 แล้วเริ่มคงที่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 48

ในการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC ที่ระดับความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ไปแล้ว 48 ชั่วโมง พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีความเข้มข้นของกลูโคสน้อยที่สุด คือ 20.089 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.44 แสดงผลดังในรูปที่ 4.34 และตารางที่ 4.34



รูปที่ 4.34 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.34 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
0	25.500 ^a ± 1.359	5.65 ^a ± 0.00
8.5	25.314 ^{ab} ± 2.881	5.54 ^b ± 0.02
24	24.691 ^{ab} ± 1.950	4.17 ^c ± 0.01
32.5	22.048 ^{cd} ± 0.194	4.54 ^d ± 0.02
48	20.089 ^d ± 0.697	4.44 ^e ± 0.01
56.5	21.785 ^{cd} ± 0.885	4.42 ^f ± 0.01
72	22.995 ^{bc} ± 0.513	4.39 ^s ± 0.01
96	23.182 ^{abc} ± 0.992	4.43 ^{ef} ± 0.01
120	21.485 ^{cd} ± 0.460	4.41 ^f ± 0.00
144	20.457 ^d ± 0.441	4.41 ^f ± 0.02

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f, g ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตามผลที่ปรากฏในรูปที่ 4.34 และตารางที่ 4.34 พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือใน 24 ชั่วโมงแรกนั้นไม่แตกต่างกันในเชิงสถิติ จากเวลาเริ่มต้นมีค่า 25.509 กรัมต่อลิตร ลดลงเล็กน้อยเป็น 25.323 กรัมต่อลิตรเมื่อทำการเพาะเลี้ยงชั่วโมงที่ 8.5 และ 24.700 กรัมต่อลิตรของการเก็บตัวอย่าง ชั่วโมงที่ 24 จากนั้น ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือจะลดลงเหลือ 22.055 กรัมต่อลิตร เป็น 20.096 กรัมต่อลิตร และ 21.792 กรัมต่อลิตรในการเพาะเลี้ยงที่ 32.5 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 56.5 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งในชั่วโมงที่ 48 นั้นมีน้ำตาลกลูโคสอยู่น้อยที่สุดคือ 20.096 กรัมต่อลิตร โดยมีค่าความ

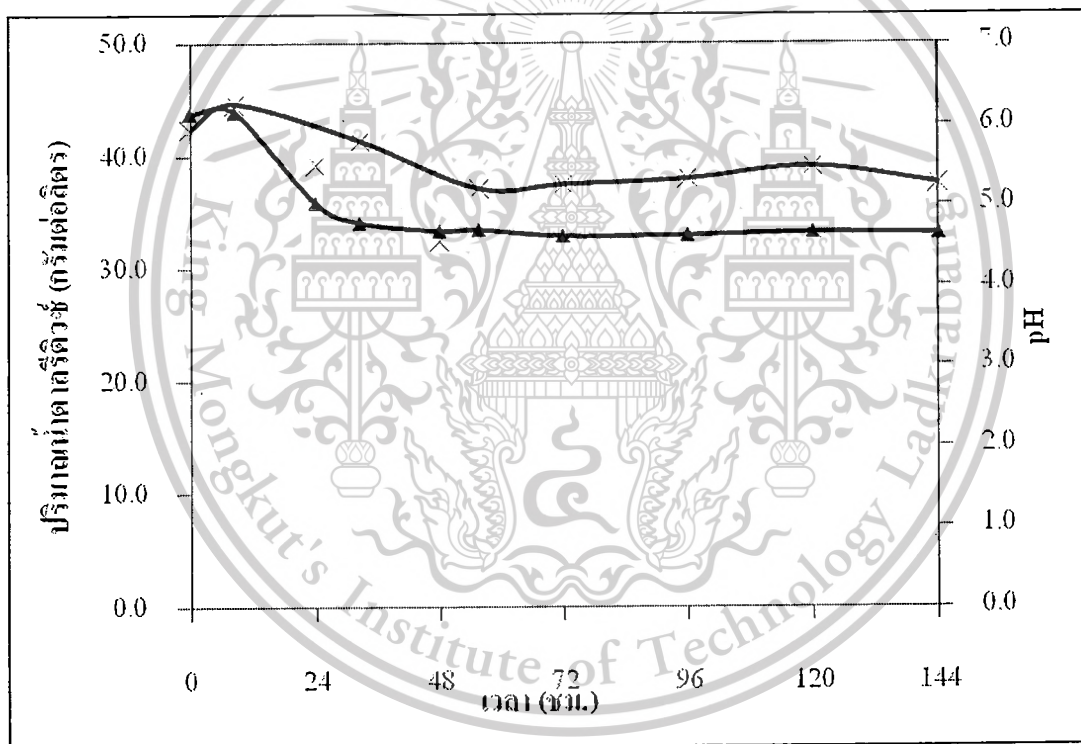
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในทางเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เป็นกรดต่างเท่ากับ 4.44 ซึ่งเป็นค่าที่น้อยที่สุดด้วย จนในที่สุดชั่วโมงที่ 56.5 ปริมาณน้ำตาลเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่จนถึงระยะสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงชั่วโมงที่ 144 ขณะที่ค่าความเป็นกรดต่างที่เวลาเริ่มต้นมีค่าลดลงจาก 5.65 ไปเป็น 5.54 ในชั่วโมงที่ 8.5 แต่หลังจากนั้นค่าความเป็นกรดต่างมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมาก โดยลดลงจาก 5.54 ในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 4.17 ในชั่วโมงที่ 24 ต่อมาค่าความเป็นกรดต่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 32.5 คือ 4.54 และค่าความเป็นกรดต่างตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง

การเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 50 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร ได้ผลดังรูปที่ 4.35 และตารางที่ 4.35 พบว่ามีความเข้มข้นของกลูโคสเหลืออยู่น้อยที่สุด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปแล้ว 48 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ 32.487 กรัมต่อลิตร และมีค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 4.67



รูปที่ 4.35 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (x ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.35 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 50 กรัม ต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บมที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
0	42.404 ^{ab} ± 1.500	6.14 ^a ± 0.01
8.5	44.645 ^a ± 2.744	6.16 ^a ± 0.01
24	39.236 ^{abc} ± 1.492	5.02 ^b ± 0.01
32.5	41.374 ^{ab} ± 6.874	4.77 ^c ± 0.01
48	32.487 ^c ± 3.066	4.67 ^{de} ± 0.00
56.5	37.110 ^{bc} ± 2.045	4.68 ^d ± 0.02
72	37.470 ^{abc} ± 0.903	4.60 ^s ± 0.04
96	37.957 ^{abc} ± 6.498	4.61 ^s ± 0.01
120	39.066 ^{abc} ± 5.159	4.65 ^{ef} ± 0.02
144	37.561 ^{abc} ± 1.214	4.63 ^{fg} ± 0.02

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f, g ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

นอกจากนี้ เมื่อเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปให้อาหารความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เห็นได้จากรูปที่ 4.35 และตารางที่ 4.35 ว่าช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง ค่าความเป็นกรดต่างมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกับการเติมน้ำตาลกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นอื่น จากชั่วโมงที่ 0 มีค่าเท่ากับ 6.14 เป็น 6.16 ในชั่วโมงที่ 8.5 จากนั้นค่าความเป็นกรดต่างก็มีการลดลงอย่างรวดเร็วจาก 6.16 ในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 5.02 ในชั่วโมงที่ 24 และเริ่มคงที่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 32.5 หลังจากนั้นค่าความเป็นกรดต่างนี้ลดลงเพียงเล็กน้อยจนมีค่าเท่ากับ 4.63 เมื่อจบการเพาะเลี้ยงเชื้อ *C.*

acetobutylicum ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสซึ่งเติมให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

นัยสำคัญเช่นกัน คือ 42.404 กรัมต่อลิตรที่ระยะเวลาเริ่มต้นกับความเข้มข้น 44.645 กรัมต่อลิตรเมื่อการเพาะเลี้ยงผ่านไป 8.5 ชั่วโมง จากนั้นความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่เหลือลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งเข้าสู่ชั่วโมงที่ 48 มีค่าเท่ากับ 32.487 กรัมต่อลิตร ต่อมาคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 144 โดยเชื้อจุลินทรีย์มีการใช้น้ำตาลกลูโคสไปทั้งหมด 12.158 กรัมต่อลิตรซึ่งคิดได้จากปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงผ่านไป 48 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณกลูโคสที่เหลืออยู่ในอาหารน้อยที่สุดด้วย คือ 32.487 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.67 ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางเดียวกับการเจริญสูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ในชั่วโมงที่ 55.5 จากการทดลองข้างต้นจะสังเกตเห็นได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์มีการใช้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในจำนวนที่น้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น อาจเกิดจากเชื้อมีการใช้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสค่อนข้างน้อย

4.3.3 ผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในพลาสติกสถานะนิ่งและไร้อากาศ เป็นระยะเวลา 144 ชั่วโมง โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร และทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ โดยนำน้ำหมักมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เพื่อแยกเอาสารละลายส่วนในมาเจือจางด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 2 ให้ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับเป็น Internal standard กรองสารละลายด้วยตัวกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมครอนให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง HPLC

การเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 10 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.36 และตารางที่ 4.36 พบว่าผลิตภัณฑ์หลักที่เชื้อผลิตขึ้นคือ 1,3-โพรเพนไดออล เอทานอล และแลคเตท ตามลำดับ ซึ่งเอทานอลถือเป็นสารผลิตภัณฑ์หลักที่ควรพบตามวิถีมेटาบอลิซึมอันประกอบด้วยอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอล (Durre, 2008)

ตามรูปที่ 4.36 และตารางที่ 4.36 นั้น ในช่วงแรกของกระบวนการหมักจะพบเพียง 1,3-โพรเพนไดออลเท่านั้น จนกระทั่งชั่วโมงที่ 8.5 เกิดแลคเตทปริมาณเล็กน้อย (0.136 กรัมต่อลิตร) และค่อยๆเพิ่มขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 56.5 มีแลคเตทเข้มข้น 0.357 กรัมต่อลิตร จากนั้นปริมาณแลคเตทที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ การค้า
 วัตถุประสงค์ได้มีปริมาณลดลงจนกระทั่งไม่สามารถตรวจวัดได้อีกตั้งแต่ชั่วโมงที่ 120 ของกระบวนการหมัก ซึ่ง
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

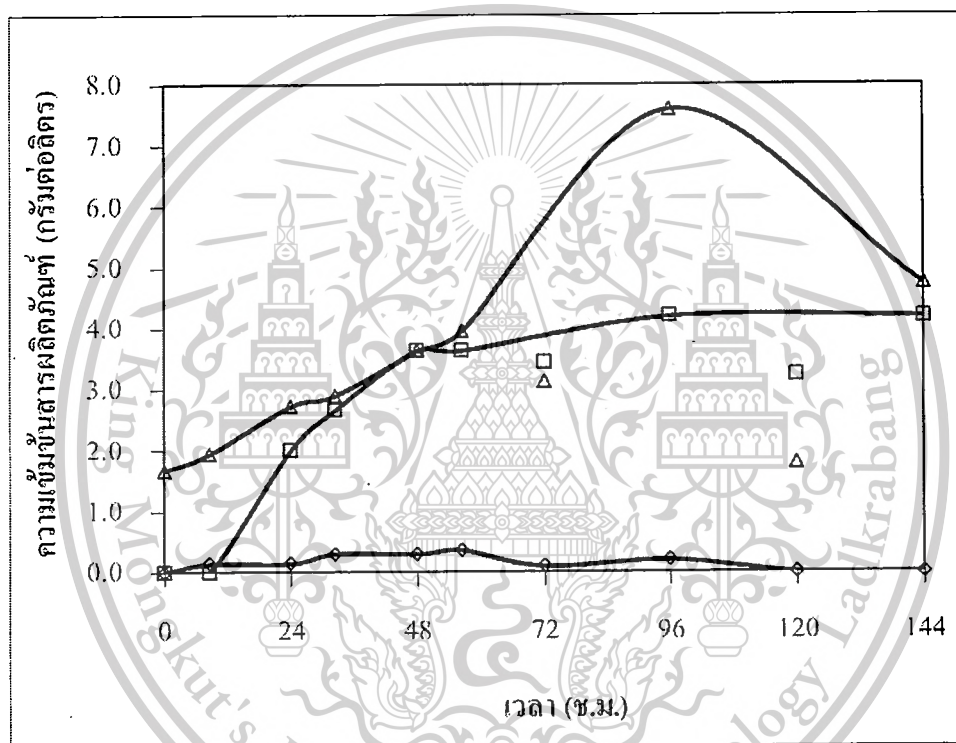


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การที่จุลินทรีย์ผลิตแลคเตทออกมานั้น เป็นสิ่งหนึ่งที่บ่งชี้ได้ว่าเชื้ออยู่ในสภาวะที่มีการเจริญต่ำ ส่วนเอทานอลนั้นเริ่มวัดปริมาณได้ตั้งแต่วินาที 24 เป็นต้นไป และมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยพบว่าเอทานอลมีความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 4.199 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 96 ของกระบวนการหมัก และ 1,3-โพรเพนไดออลเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่พบในปริมาณสูงสุดที่เชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ผลิตขึ้นในอาหารสูตร GYCC ที่มีการเติมกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร โดยมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับเอทานอล และวัดปริมาณได้สูงสุดที่ 4.731 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 144 ของกระบวนการหมัก



รูปที่ 4.36 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล ◇ แลคเตท)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.36 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	แลคเตท	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล
0	0	1.671 ^c ± 0.080	0
8.5	0.136 ^a ± 0.236	1.943 ^c ± 0.320	0
24	0.143 ^a ± 0.248	2.730 ^{bc} ± 0.775	2.017 ^b ± 0.422
32.5	0.302 ^a ± 0.046	2.902 ^{bc} ± 0.091	2.670 ^{ab} ± 1.044
48	0.296 ^a ± 0.140	3.627 ^{ab} ± 1.037	3.642 ^a ± 0.090
56.5	0.357 ^a ± 0.216	3.957 ^{ab} ± 0.228	3.636 ^a ± 0.078
72	0.097 ^a ± 0.168	3.122 ^{bc} ± 0.077	3.440 ^{ab} ± 0.790
96	0.203 ^a ± 0.016	4.622 ^a ± 0.030	4.199 ^a ± 1.048
120	0	1.803 ^c ± 2.007	3.229 ^{ab} ± 1.718
144	0	4.731 ^a ± 0.155	4.197 ^a ± 0.177

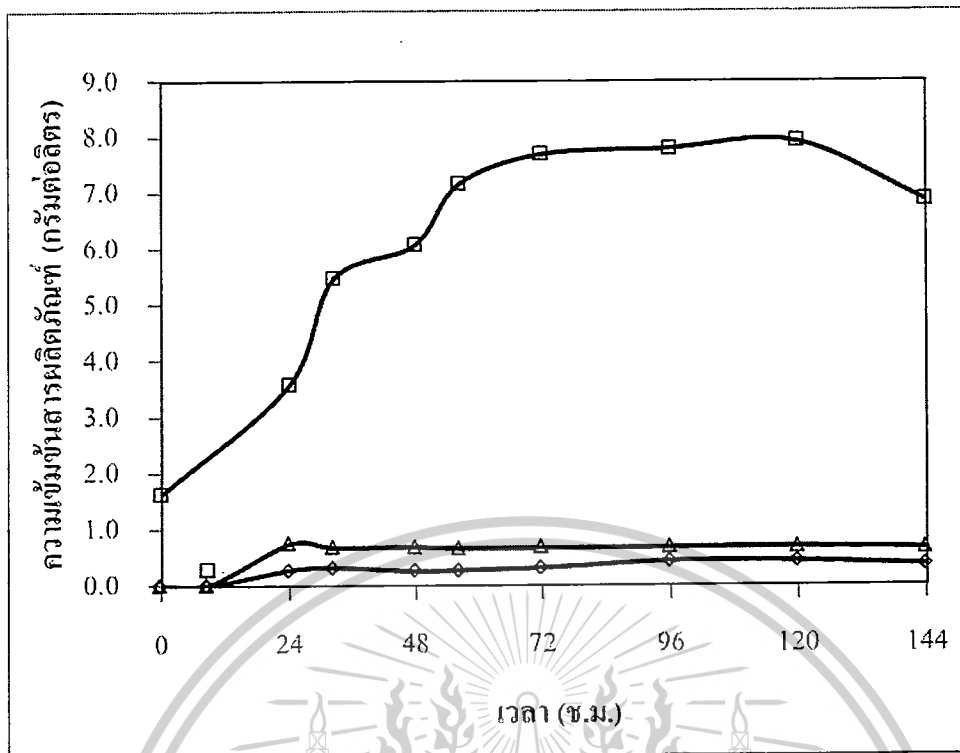
หมายเหตุ a, b, c ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.37 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล ◇ แลคเตท)

ผลของการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารสูตร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.37 และตารางที่ 4.37 ว่า เอทานอลเป็นสารผลิตภัณฑ์หลักที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นตลอดกระบวนการหมัก โดยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จากในช่วงเริ่มต้นกระบวนการที่มีปริมาณเพียงเล็กน้อย ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดในชั่วโมงที่ 120 วัดได้เท่ากับ 7.912 กรัมต่อลิตร ส่วนสารผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่พบในการเจริญของเชื้อชนิดนี้ได้แก่ 1,3-โพรเพนไดออลและแลคเตท ซึ่งพบตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 โดยแลคเตทมีปริมาณสูงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96 ของกระบวนการหมักเป็นต้นไป (0.426 กรัมต่อลิตร) และ 1,3-โพรเพนไดออล มีปริมาณที่ค่อนข้างคงที่อยู่ในช่วง 0.652 ถึง 0.739 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.37 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	แลคเตท	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล
0	0	0	1.627 ^e ± 0.653
8.5	0	0	0.283 ^e ± 0.491
24	0.271 ^b ± 0.018	0.739 ^c ± 0.017	3.572 ^d ± 0.019
32.5	0.315 ^{ab} ± 0.032	0.670 ^c ± 0.003	5.469 ^c ± 0.308
48	0.251 ^b ± 0.015	0.681 ^c ± 0.023	6.063 ^{bc} ± 0.419
56.5	0.270 ^b ± 0.100	0.656 ^c ± 0.028	7.152 ^{ab} ± 0.450
72	0.310 ^{ab} ± 0.083	0.670 ^c ± 0.007	7.686 ^a ± 0.437
96	0.426 ^a ± 0.039	0.672 ^c ± 0.015	7.791 ^a ± 0.255
120	0.426 ^a ± 0.009	0.682 ^c ± 0.002	7.912 ^a ± 0.186
144	0.354 ^{ab} ± 0.138	0.652 ^c ± 0.045	6.855 ^{abc} ± 2.206

หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

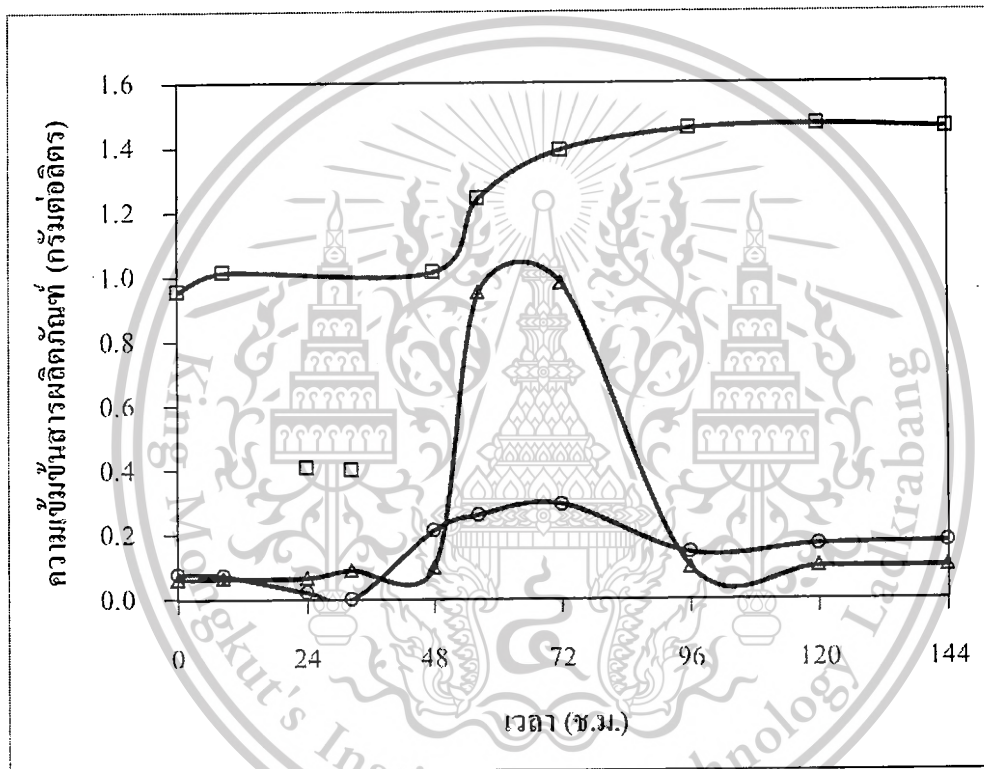
สำหรับการการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารสูตร GYCC ที่มีการเติมกลูโคสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์ผลิตเอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์หลักในทุกช่วงของกระบวนการหมักดังรูปที่ 4.38 และตารางที่ 4.38 โดยมีแนวโน้มการผลิตเอทานอลในปริมาณที่เพิ่มขึ้น สำหรับสาร 1,3-โพรเพนไดออลนั้นสามารถตรวจพบได้ในทุกช่วง

ของกระบวนการหมักเช่นกัน ซึ่งปริมาณที่วัดได้นั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยปริมาณ 1,3-เอทิลแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 32.5 เป็นต้นไป โดยค่าที่วัดได้ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกมีค่าไม่ต่างกันมากนัก อีกทั้งยังมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ระหว่าง 0.062 ถึง 0.067 กรัมต่อลิตร ในขณะที่หลังจากการเพิ่มของสาร 1,3-โพรเพนไดออล (ชั่วโมงที่ 32.4 ถึง 44) มีค่าที่ได้อยู่ระหว่าง 0.091 ถึง 0.101 กรัมต่อลิตร ส่วนอะซิโตน พบปริมาณเล็กน้อยในช่วงเริ่มต้นของกระบวนการหมัก คือช่วง 32.5 ชั่วโมงแรก จนกระทั่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 48 พบค่า 0.213 กรัมต่อลิตร ถึงชั่วโมงที่ 72 โดยวัดได้ 0.295 กรัมต่อลิตร จากนั้น ปริมาณของอะซิโตนที่ได้มีปริมาณลดลงเล็กน้อยจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก มีค่า 0.176 กรัมต่อลิตร ซึ่งอะซิโตนถือเป็นหนึ่งในสารผลิตภัณฑ์หลักที่จะพบในวิถีการใช้สารอาหารของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* เช่นเดียวกับเอทานอล



รูปที่ 4.38 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล ○ อะซิโตน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.38 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา(ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล	อะซิโตน
0	0.062 ^b ± 0.005	0.955 ^c ± 0.046	0.079 ^{cd} ± 0.001
8.5	0.064 ^b ± 0.010	1.014 ^{bc} ± 0.174	0.073 ^{cd} ± 0.003
24	0.067 ^b ± 0.001	0.410 ^d ± 0.564	0.022 ^d ± 0.038
32.5	0.091 ^a ± 0.022	0.403 ^d ± 0.290	0
48	0.098 ^a ± 0.006	1.015 ^{bc} ± 0.154	0.213 ^{ab} ± 0.018
56.5	0.095 ^a ± 0.004	1.243 ^{abc} ± 0.077	0.262 ^a ± 0.020
72	0.098 ^a ± 0.002	1.393 ^{ab} ± 0.070	0.295 ^a ± 0.030
96	0.098 ^a ± 0.000	1.458 ^a ± 0.044	0.144 ^{bc} ± 0.097
120	0.100 ^a ± 0.001	1.471 ^a ± 0.018	0.170 ^b ± 0.022
144	0.101 ^a ± 0.001	1.459 ^a ± 0.055	0.176 ^b ± 0.042

หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

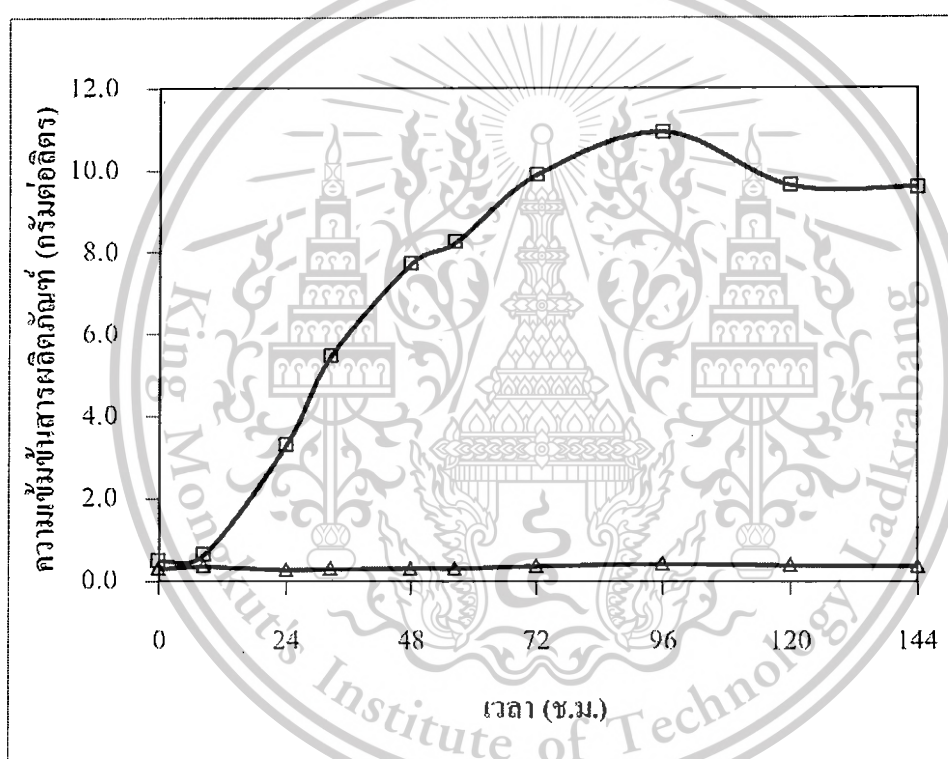
สำหรับสารผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ผลิตขึ้นเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารสูตร GYCC ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตรลงไป พบว่ามีเพียงเอทานอลและ 1,3-โพรเพนไดออลเกิดขึ้นเท่านั้น ดังรูปที่ 4.39 และตารางที่ 4.39 จุลินทรีย์มีการผลิตเอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์หลักเช่นเดียวกับอาหารสูตรที่เติมกลูโคสเข้มข้น 20 และ 30 กรัมต่อลิตร และมี

แนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งการที่ได้เอทานอลในปริมาณสูงเช่นนี้ เนื่องจากในอาหารมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในปริมาณสูง รวมทั้งสภาวะในกระบวนการหมัก ส่งผลให้จุลินทรีย์ย่อยสลายกลูโคส

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เป็นแอลกอฮอล์ได้เร็วกว่าการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นสารผลิตภัณฑ์อื่นๆ เพื่อให้ได้พลังงานออกมา เช่นเดียวกัน จึงพบสารตัวอื่นในปริมาณน้อย โดยปริมาณเอทานอลที่ได้มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วใน จากชั่วโมงที่ 8.5 ซึ่งมีค่า 0.644 กรัมต่อลิตร ถึงชั่วโมงที่ 24 ของกระบวนการหมัก ซึ่งมีค่าเอทานอล 3.320 กรัมต่อลิตร และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 10.941 กรัมต่อลิตร ซึ่งถือเป็นปริมาณเอทานอลสูงที่สุดที่ได้จากชุดทดลองที่เติมกลูโคสในความเข้มข้นต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้น ปริมาณเอทานอลที่วัดได้จะเริ่มลดลงเนื่องจากจุลินทรีย์ในระบบมีปริมาณน้อยลงนั่นเอง ส่วนสาร 1,3-โพรเพนไดออลสามารถตรวจพบได้ปริมาณเล็กน้อยซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน ตลอดระยะเวลาการหมัก โดยมีค่าระหว่าง 0.277 ถึง 0.428 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.39 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.39 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา(ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)	
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล
0	0.298 ^{de} ± 0.022	0.496 ^f ± 0.102
8.5	0.352 ^{bcd} ± 0.061	0.644 ^f ± 0.130
24	0.277 ^e ± 0.044	3.320 ^e ± 0.476
32.5	0.298 ^{de} ± 0.009	5.464 ^d ± 0.552
48	0.313 ^{cde} ± 0.015	7.739 ^c ± 0.329
56.5	0.315 ^{cde} ± 0.034	8.252 ^c ± 0.889
72	0.374 ^{abc} ± 0.046	9.905 ^b ± 0.930
96	0.428 ^a ± 0.020	10.941 ^a ± 0.544
120	0.393 ^{ab} ± 0.031	9.6377 ^b ± 0.650
144	0.378 ^{ab} ± 0.010	9.590 ^b ± 0.356

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

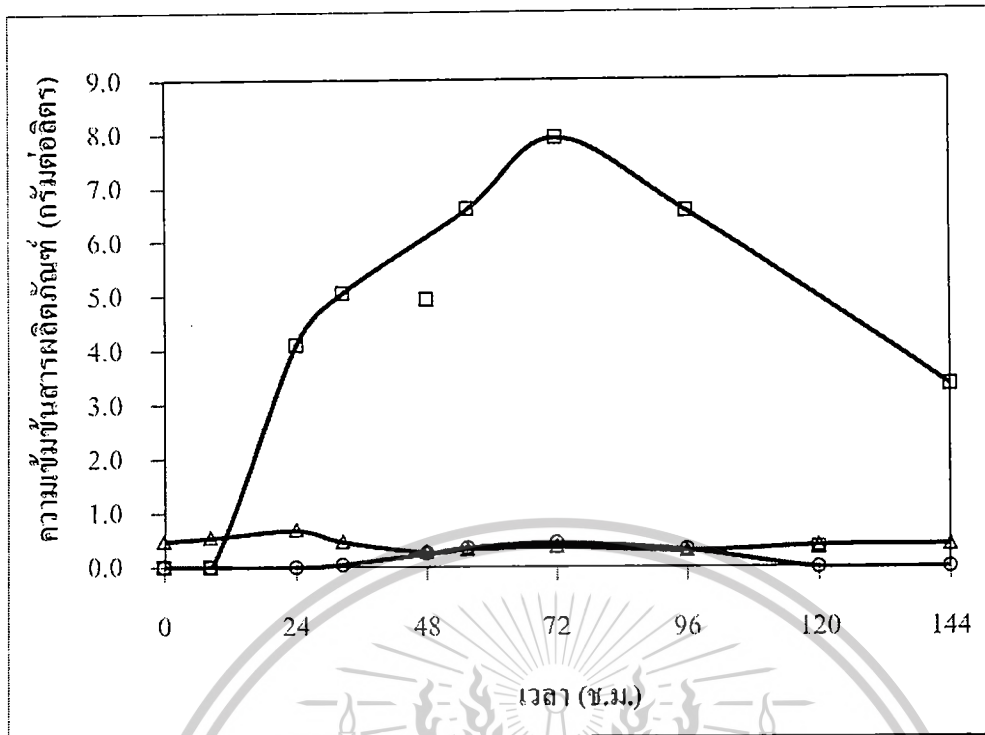
และการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารสูตร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนนั้น ยังคงมีเอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์หลักและพบ 1,3-โพรเพนไดออลได้ตลอดระยะเวลาการหมักดังรูปที่ 4.40 และตารางที่

4.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.40 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล \square เอทานอล \circ อะซีโตน)

ตารางที่ 4.40 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา(ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล	อะซีโตน
0	0.483 ^{bc} ± 0.046	0	0
8.5	0.543 ^{ab} ± 0.038	0	0
24	0.681 ^a ± 0.110	4.106 ^c ± 0.596	0
32.5	0.471 ^{bc} ± 0.225	5.067 ^{bc} ± 1.671	0.057 ^b ± 0.098
48	0.275 ^d ± 0.033	4.929 ^{bc} ± 0.300	0.252 ^{ab} ± 0.009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำมาใช้เพื่อการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.40 (ต่อ) สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา(ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล	อะซิโตน
55.5	0.332 ^{cd} ± 0.798	6.604 ^{ab} ± 1.731	0.362 ^a ± 0.098
72	0.379 ^{bcd} ± 0.106	7.922 ^a ± 2.026	0.445 ^a ± 0.178
96	0.307 ^c ± 0.047	6.566 ^{ab} ± 0.907	0.322 ^a ± 0.030
120	0.407 ^{bcd} ± 0.010	0.363 ^d ± 0.012	0
144	0.414 ^{bcd} ± 0.046	3.345 ^c ± 0.660	0

หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในช่วงต้นของกระบวนการหมักนั้นไม่สามารถตรวจพบเอทานอลได้ จนกระทั่งวัดปริมาณเอทานอลได้เท่ากับ 4.106 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 ของกระบวนการหมัก และตรวจวัดได้ปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งชั่วโมงที่ 72 วัดได้ 7.922 กรัมต่อลิตร จากนั้นปริมาณเอทานอลที่วัดได้มีปริมาณลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก ในชั่วโมงที่ 144 มีเอทานอลเข้มข้น 3.345 กรัมต่อลิตร ส่วนสาร 1,3-โพรเพนไดออลนั้นพบได้ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง และสามารถวัดปริมาณได้มากที่สุดในช่วงชั่วโมงที่ 24 ซึ่งเท่ากับ 0.681 กรัมต่อลิตร จากนั้นปริมาณของสาร 1,3-โพรเพนไดออลที่พบจะมีค่าลดลงและมีค่าคงที่ระหว่าง 0.275 ถึง 0.471 กรัมต่อลิตรอยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 32.5 ถึง 144 และสารผลิตภัณฑ์อีกตัวที่พบนั้นคืออะซิโตน โดยจะตรวจวัดได้ในระหว่างชั่วโมงที่ 32.5 ถึง 96 ของกระบวนการหมัก ซึ่งชั่วโมงที่ 72 นั้นพบอะซิโตนในปริมาณสูงสุด คือ 0.445 กรัมต่อลิตร

ทั้งนี้การที่จุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ไม่ผลิตผลิตภัณฑ์บาง

ชนิดเช่น บิวทานอล ได้นั้นคาดว่าเกิดจากสาเหตุสำคัญหลายประการ อาทิ สภาวะต่างๆ ในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า กระบวนการหมัก ทำให้จุลินทรีย์เลือกที่จะย่อยสลายกลูโคสไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นซึ่งง่ายกว่า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การผลิต บิวทานอล หรือค่าพีเอชในระบบที่ไม่ต่ำมากพอจะทำให้จุลินทรีย์อยู่ในสภาวะที่จะสร้างบิวทานอลได้ เป็นต้น ดังในรายงานของสุรพล (2530) รวมทั้งพัฒนา และคณะ (2549) ได้ผลิตบิวทานอลจากข้าวฟ่างหวานจากแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ด้วยวิธีการหมักแบบกะ และกึ่งกะ พบว่ามีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นเพียงอะซิโตนและเอทานอล แต่ไม่พบบิวทานอลเช่นกัน สันนิษฐานว่าอาหารในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานไม่เหมาะสมต่อการสร้างบิวทานอล จึงได้ทดลองต่อโดยใช้สูตรอาหารของ Qureshi และอาหารอุดมที่แตกต่างกัน 6 สูตรเลี้ยงเชื้อต่อ พบว่าเชื้อยังคงไม่ผลิตบิวทานอลเช่นเดิม

4.4 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม

4.4.1 ผลของอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

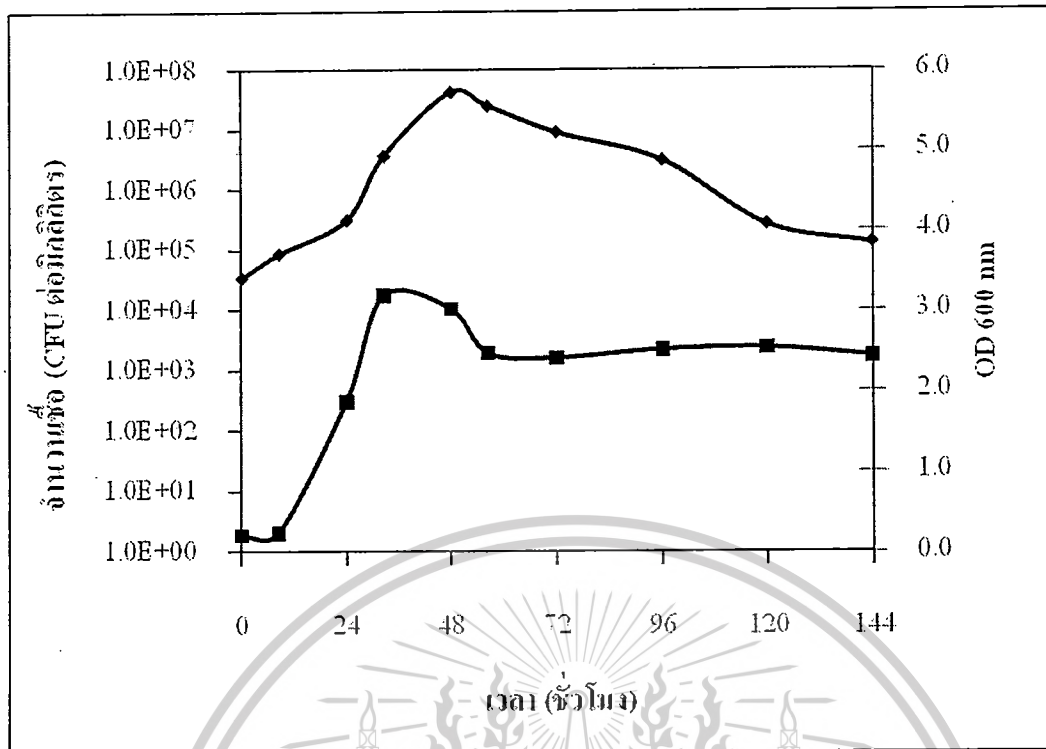
ในการศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสโดยเติมลงในอาหารสูตร GYCC ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และให้มีปริมาณรวมตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสม ซึ่งเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตรโดยที่ใช้อัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคสในการศึกษา คือ 1:0, 1:1, 1:2, 2:1 และ 0:1 ที่สภาวะเช่นเดียวกับการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำตาลกลูโคส คือ ในพลาสติกที่สภาวะนิ่งและไร้อากาศ และระยะเวลาในการหมักเป็น 144 ชั่วโมง ยกเว้นการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่ประกอบด้วยกลีเซอรอลต่อกลูโคสเป็น 1:0 ใช้เวลาทั้งหมด 216 ชั่วโมง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ของชุดการทดลองที่มีระดับความเข้มข้นของอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน โดยใช้กลีเซอรอล 10.11 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 9.89 กรัมต่อลิตร ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.41 และตารางที่ 4.41 พบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต 4.19×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่เดียวกันมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในชั่วโมง 32.5 เป็น 3.183 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 3.013 ในชั่วโมง 48 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.41 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

ตารางที่ 4.41 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(3.40 \pm 0.27)^d \times 10^4$	$0.202^d \pm 0.004$
8.5	$(8.57 \pm 0.94)^d \times 10^4$	$0.229^d \pm 0.010$
24	$(3.12 \pm 0.51)^d \times 10^5$	$1.860^c \pm 0.053$
32.5	$(3.61 \pm 0.50)^{cd} \times 10^6$	$3.183^a \pm 0.268$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.41 (ต่อ) จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
48	$(4.19 \pm 0.17)^a \times 10^7$	$3.013^a \pm 0.106$
56.5	$(2.47 \pm 0.50)^b \times 10^7$	$2.460^b \pm 0.115$
72	$(8.92 \pm 9.86)^c \times 10^6$	$2.403^b \pm 0.015$
96	$(3.04 \pm 1.57)^{cd} \times 10^6$	$2.507^b \pm 0.047$
120	$(2.62 \pm 0.63)^d \times 10^5$	$2.530^b \pm 0.044$
144	$(1.30 \pm 0.78)^d \times 10^5$	$2.427^b \pm 0.038$

หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

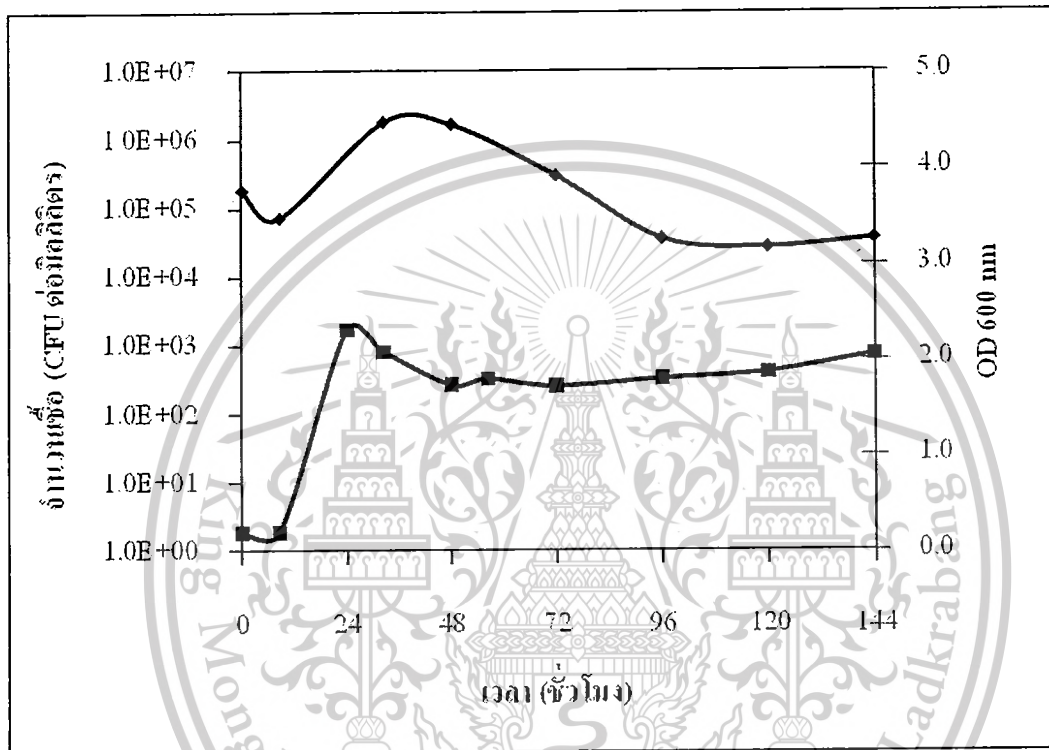
ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในช่วง 32.5 ชั่วโมงแรกมีการเจริญที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยเริ่มต้นมีจำนวนเชื้อ 3.40×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร เพิ่มเป็น 8.57×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 3.12×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24 และคงที่จนถึงชั่วโมง 32.5 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งพบจำนวนเชื้อเป็น 3.61×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร จนมีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 จากนั้นค่อยๆ ลดลงจาก 2.47×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตรของชั่วโมง 56.5 เป็น 8.92×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมง 72 ต่อมามีการเจริญลดลงเล็กน้อยซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเป็น 3.04×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 96 และเป็น 2.62×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 120 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนชั่วโมงที่ 144 มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 1.30×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้การวัดการเจริญซึ่งดูจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรนั้น พบว่า จากชั่วโมงเริ่มต้นที่มีค่าการดูดกลืนแสง 0.202 เป็น 0.229 ใน 8.5 ชั่วโมงของการเก็บตัวอย่าง จากนั้นในชั่วโมงที่ 24 เพิ่มขึ้นเป็น 1.860 และเป็น 3.183 ในชั่วโมง 32.5 ที่เป็นการเจริญเติบโตสูงสุด และยังคงที่ในชั่วโมงถัดมา (ชั่วโมงที่ 48) ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 3.013 และลดลงเหลือ 2.460 ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ยกเว้นที่พิมพ์โดยมติของคณะผู้บริหารและคณาจารย์ของมหาวิทยาลัยสุโขทัย

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การเก็บตัวอย่างครั้งต่อมา (56.5 ชั่วโมง) และตั้งแต่ชั่วโมงที่ 56.5 แนวโน้มการเจริญมีลักษณะคงที่ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จนถึงชั่วโมง 144 โดยในชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงมีค่าการดูดกลืนแสงเป็น 2.403 ชั่วโมงที่ 96 มีค่าเป็น 2.507 และเป็น 2.503 เมื่อเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 120 จนถึงชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง (144 ชั่วโมง) มีค่าการดูดกลืนแสงคือ 2.427



รูปที่ 4.42 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.42 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(1.84^b \pm 0.30) \times 10^5$	$0.194^d \pm 0.010$
8.5	$(7.29^b \pm 0.48) \times 10^4$	$0.195^d \pm 0.018$
24	nd	$2.306^a \pm 0.156$
32.5	$(1.80^a \pm 0.64) \times 10^6$	$2.083^b \pm 0.091$
48	$(1.68^a \pm 0.27) \times 10^6$	$1.737^c \pm 0.078$
56.5	nd	$1.800^c \pm 0.193$
72	$(3.06^b \pm 0.52) \times 10^5$	$1.723^c \pm 0.055$
96	$(3.67^b \pm 1.53) \times 10^4$	$1.800^c \pm 0.049$
120	$(2.78^b \pm 0.47) \times 10^4$	$1.870^c \pm 0.035$
144	$(3.72^b \pm 0.72) \times 10^4$	$2.057^b \pm 0.091$

หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

nd หมายถึง ค่าที่ได้จากการทดลองเกิดการผิดพลาด

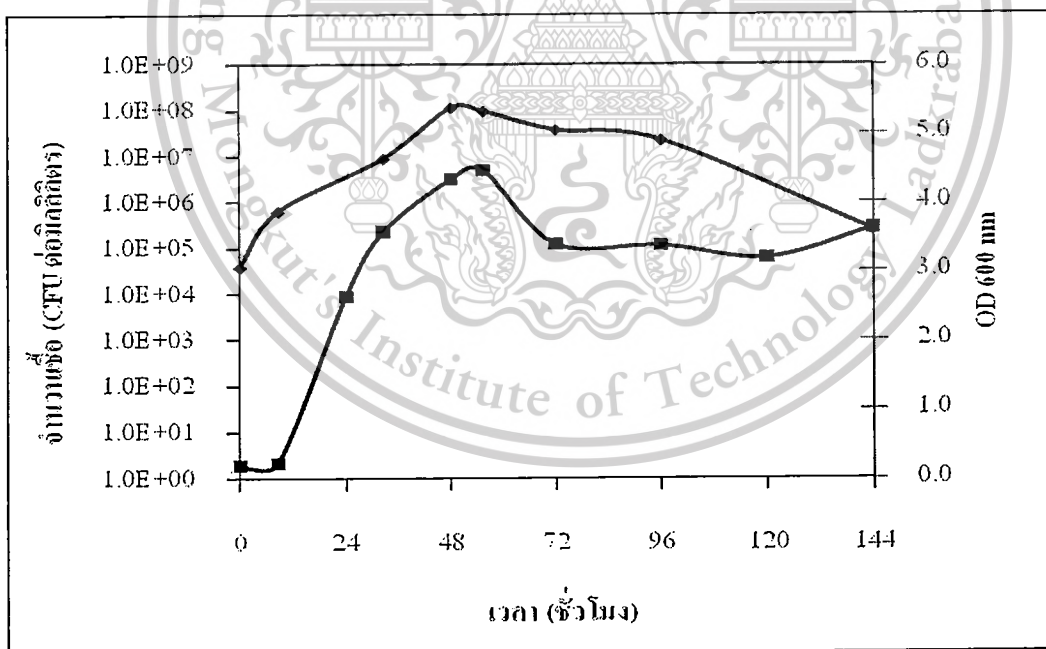
จากรูปที่ 4.42 และตารางที่ 4.42 แสดงผลการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารสูตร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน โดยใช้กลีเซอรอล 13.45 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 6.55 กรัมต่อลิตร พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อค่อนข้าง

คงที่ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง คือจาก 1.84×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงเริ่มต้นเป็น 7.29×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมง 8.5 ส่วนค่าการดูดกลืนแสงจาก 0.194 เป็น 0.195 ในชั่วโมง 8.5 จนไม่ปรากฏใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

มีค่าสูงสุดในการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 24 คือ 2.306×10^6 ขณะที่จำนวนเชื้อที่มีชีวิตสูงที่สุดอยู่ที่ชั่วโมง 32.5 ซึ่งเท่ากับ 1.80×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร และมีค่าเป็น 1.68×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 48 ของการเพาะเลี้ยง ต่อมาเมื่อค่าลดลงเป็น 3.06×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร (ชั่วโมง 72) และคงที่ตั้งแต่ ชั่วโมง 72 จนชั่วโมงที่ 96 ของกระบวนการหมักมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เป็น 3.67×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร และเท่ากับ 2.78×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตรสำหรับการเก็บตัวอย่างในชั่วโมง 120 ซึ่งไม่ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับในชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก (ชั่วโมง 144) ที่มี 3.72×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร นอกจากนั้นสังเกตได้ว่า หลังจากชั่วโมงที่มีค่าการ ดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรสูงสุดแล้ว จากนั้นมีแนวโน้มที่ลดลงจากชั่วโมง 24 (2.306) เป็น 2.083 ในชั่วโมง 32.5 และคงที่ในชั่วโมงถัดมา โดยที่ในชั่วโมง 48 คือ 1.737 และเป็น 1.800 ของ 56.5 ชั่วโมงหลังการเพาะเลี้ยง ในชั่วโมงการเก็บตัวอย่างที่ 72 มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.723 และคงที่ ในชั่วโมง 96 (1.800) และชั่วโมง 120 (1.870) หลังจากนั้นค่าการดูดกลืนแสงมีค่าเพิ่มขึ้นจากเดิมอีก เล็กน้อย ซึ่งเท่ากับ 2.057 อาจเนื่องมาจากการสะสมของตะกอนเซลล์ในตัวอย่างน้ำหมัก แสดงค่า การวิเคราะห์ทางสถิติดังตารางที่ 4.42



รูปที่ 4.43 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่าง

กลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600-nm)

ตารางที่ 4.43 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(3.82 \pm 2.54)^d \times 10^4$	$0.186^e \pm 0.003$
8.5	$(6.32 \pm 1.19)^d \times 10^5$	$0.226^e \pm 0.004$
24	nd	$2.623^d \pm 0.046$
32.5	$(8.92 \pm 1.58)^{cd} \times 10^6$	$3.567^b \pm 0.057$
48	$(1.14 \pm 0.18)^a \times 10^8$	$4.337^a \pm 0.120$
55.5	$(9.62 \pm 2.11)^a \times 10^7$	$4.463^a \pm 0.189$
72	$(3.75 \pm 1.19)^b \times 10^7$	$3.387^{bc} \pm 0.095$
96	$(2.22 \pm 0.95)^{bc} \times 10^7$	$3.370^{bc} \pm 0.280$
120	nd	$3.190^{bc} \pm 0.104$
144	$(2.39 \pm 0.88)^{de} \times 10^5$	$3.620^b \pm 0.512$

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

nd หมายถึง ค่าที่ได้จากการทดลองเกิดการผิดพลาด

ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นรวม 20 กรัมต่อลิตรที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน โดยใช้กลีเซอรอล 6.75 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 13.25 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน แสดงผลดังรูปที่ 4.19 และตารางที่ 4.19 ซึ่งจากจำนวนเชื้อพบว่า มีการเจริญเติบโตสูงสุดอยู่ที่ชั่วโมง 48 เท่ากับ 1.14×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับ

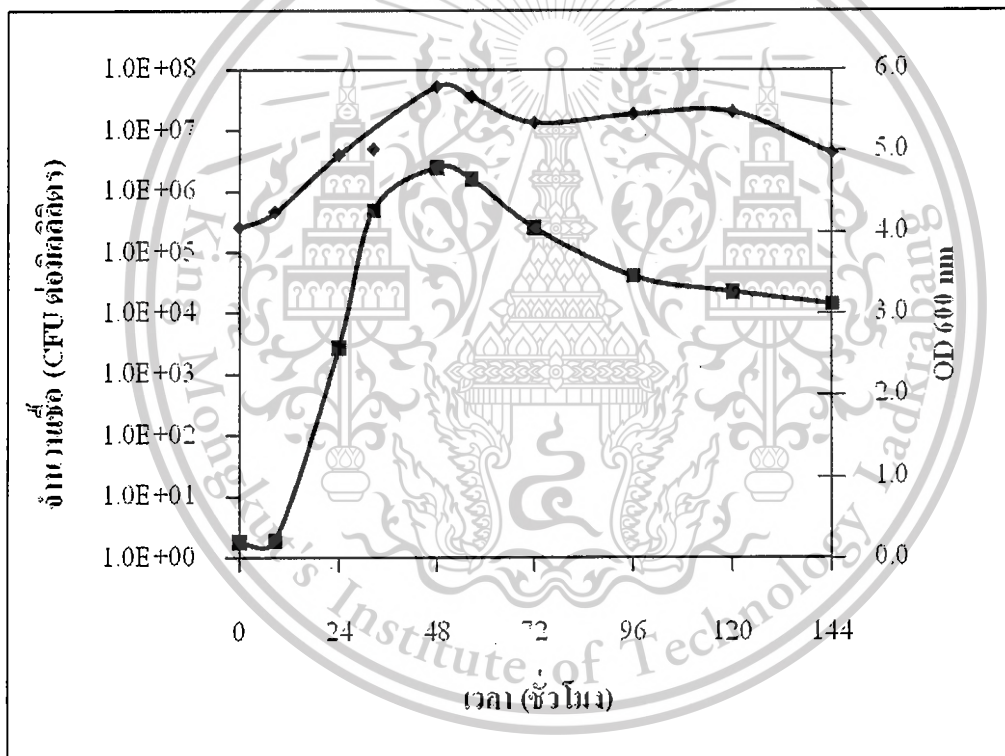
9.62×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตรของการเจริญที่ชั่วโมง 55.5 ของการเพาะเลี้ยง ที่ระดับความเข้มข้น 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
 เพอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสง โดยมีค่าสูงสุดที่ 48 ชั่วโมง (4.337) และ 55.5 ชั่วโมง
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

(4.463) โดยที่ช่วง 8.5 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงมีการเจริญที่ไม่แตกต่างกัน (จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ดังตารางที่ 4.43) ทั้งจำนวนเชื้อที่มีชีวิตและค่าการดูดกลืนแสง จะเห็นได้ว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นมีเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 3.82×10^4 CFU ต่อมิลลิลิตร และเป็น 6.32×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตรใน 8.5 ชั่วโมงถัดมา ส่วนค่าการดูดกลืนแสงของชั่วโมงที่ 0 มีค่าเป็น 0.186 และเป็น 0.226 ในชั่วโมงที่ 8.5 ของการเก็บตัวอย่าง แต่ลดลงเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 24 เหลือ 2.623 จากนั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในชั่วโมงต่อมา (ชั่วโมง 32.5) เป็น 3.567 จนเพิ่มสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 และชั่วโมง 55.5 ต่อมาการเจริญของเชื้อลดลงอีกเหลือ 3.386 ในชั่วโมง 72 และการเจริญมีแนวโน้มที่คงที่ตลอดระยะเวลาของการเก็บตัวอย่าง โดยดูจากผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.43



รูปที่ 4.44 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.44 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(2.57 \pm 0.81)^e \times 10^5$	$0.197^f \pm 0.004$
8.5	$(4.57 \pm 1.22)^e \times 10^5$	$0.213^f \pm 0.005$
24	$(4.03 \pm 2.99)^{de} \times 10^6$	$2.580^e \pm 0.382$
32.5	$(4.95 \pm 1.08)^{de} \times 10^6$	$4.267^{bc} \pm 0.351$
48	$(5.33 \pm 1.78)^a \times 10^7$	$4.790^a \pm 0.104$
56.5	$(3.62 \pm 1.46)^b \times 10^7$	$4.650^{ab} \pm 0.115$
72	$(1.36 \pm 1.14)^{cde} \times 10^7$	$4.053^c \pm 0.276$
96	$(1.86 \pm 0.16)^{cd} \times 10^7$	$3.453^d \pm 0.465$
120	$(2.05 \pm 0.18)^c \times 10^7$	$3.263^d \pm 0.198$
144	$(4.32 \pm 1.80)^{de} \times 10^6$	$3.113^d \pm 0.021$

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวนิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

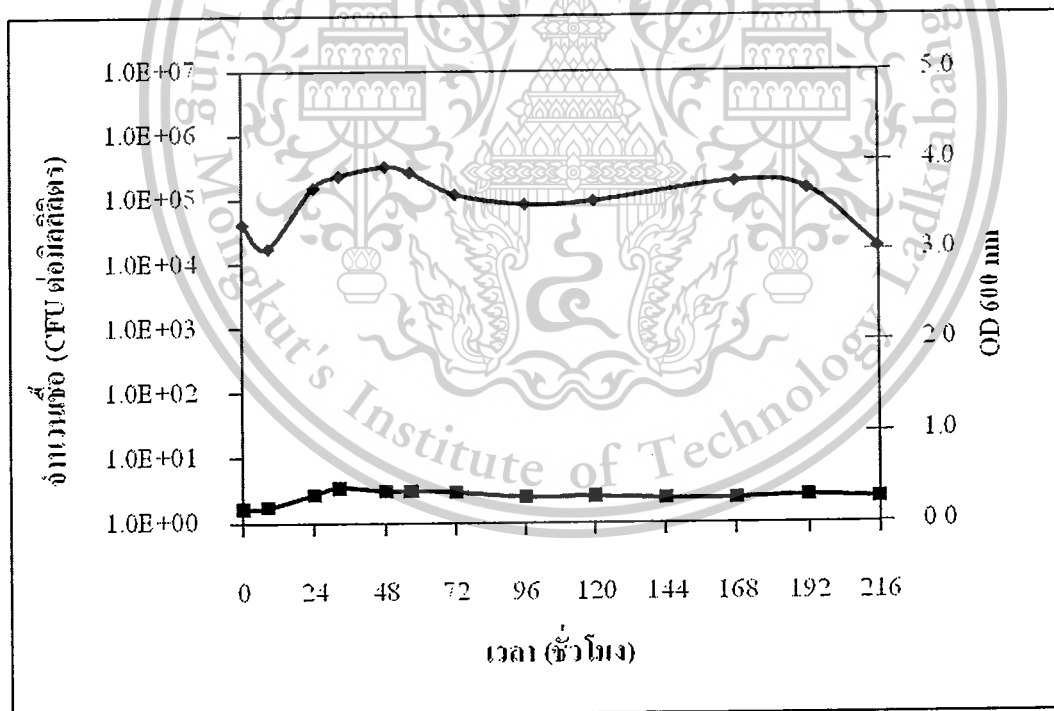
กระบวนการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ *C. acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นรวม 20 กรัมต่อลิตร ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่าง กลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วน 0 ต่อ 1 โดยใช้เฉพาะกลูโคส 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน แสดงผลดังจากรูปที่ 4.44

และตารางที่ 4.44 พบว่า เชื้อมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 48 ชั่วโมงแรกของการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งจาก 2.57 $\times 10^5$ CFU ต่อมีลิลิตรในชั่วโมงที่ 0 เพิ่มขึ้นเป็น 4.57 $\times 10^5$ CFU ต่อไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

มิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 ชั่วโมงที่ 24 เป็น 4.03×10^6 CFU ต่อ มิลลิลิตร และ 4.95×10^6 CFU ต่อ มิลลิลิตร ในการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 32.5 เช่นเดียวกับการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงจากชั่วโมง เริ่มต้นคือ 0.197 ได้เป็น 0.213 ในชั่วโมงที่ 8.5 ซึ่งต่อมาเพิ่มขึ้นเป็น 2.580 ในชั่วโมงที่ 24 ของการ เก็บตัวอย่าง และเท่ากับ 4.267 ในชั่วโมง 32.5 จนกระทั่งในชั่วโมงที่ 48 ที่มีการเจริญเติบโตของเชื้อ สูงที่สุด โดยพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ได้สูงถึง 4.790 จากนั้นลดลงเล็กน้อยเหลือ 4.650 ในชั่วโมงถัด มา (56.5 ชั่วโมง) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นอกจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ชั่วโมง 48 ซึ่งสูงสุดมีค่าเป็น 5.33×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร และการเจริญในชั่วโมงต่อมามีแนวโน้มที่ค่อยๆ ลดลง โดยชั่วโมงที่ 72 เป็น 1.36×10^7 CFU ต่อ มิลลิลิตร มีค่าการดูดกลืนแสง 4.053 และคงที่ในชั่วโมง 96 จากนั้นลดลงอีกในชั่วโมงที่ 144 ของการเก็บ ตัวอย่างเป็น 4.32×10^6 CFU ต่อ มิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มที่คงที่ของค่าการดูดกลืนแสง ตั้งแต่ชั่วโมง 72 (มีค่าเป็น 4.053) จนมีค่าต่ำสุดที่ชั่วโมงสุดท้ายของกระบวนการหมัก มีค่าเป็น 3.1133



รูปที่ 4.45 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่าง

กลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ออกซิเจน (◆ จำนวนเซลล์ ■ OD 600 nm)
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.45 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์ (CFU/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 nm
0	$(4.18 \pm 1.50)^d \times 10^4$	$0.156^f \pm 0.008$
8.5	$(1.76 \pm 0.57)^b \times 10^4$	$0.173^f \pm 0.011$
24	$(1.53 \pm 2.26)^{abcd} \times 10^5$	$0.311^{ed} \pm 0.025$
32.5	$(2.33 \pm 0.10)^{abc} \times 10^5$	$0.384^a \pm 0.004$
48	$(3.09 \pm 0.20)^a \times 10^5$	$0.348^b \pm 0.007$
56.5	$(2.66 \pm 1.70)^{ab} \times 10^5$	$0.349^b \pm 0.011$
72	$(1.20 \pm 3.43)^{abcd} \times 10^5$	$0.333^{bc} \pm 0.005$
96	$(8.38 \pm 1.59)^{bcd} \times 10^4$	$0.282^{de} \pm 0.023$
120	$(9.36 \pm 5.53)^{bcd} \times 10^4$	$0.287^{de} \pm 0.017$
144	nd	$0.266^e \pm 0.022$
168	$(1.90 \pm 2.03)^{abcd} \times 10^5$	$0.268^e \pm 0.021$
192	$(1.45 \pm 0.22)^{abcd} \times 10^5$	$0.294^{de} \pm 0.013$
216	$(1.77 \pm 0.18)^d \times 10^5$	$0.266^e \pm 0.019$

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

nd หมายถึง ค่าที่ได้จากการทดลองเกิดการผิดพลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acetobutylicum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคสในอัตรา 1 ต่อ 0 โดยใช้กลีเซอรอล 20.44 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากชั่วโมงเริ่มต้น คือ 4.18×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร เป็น 1.76×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 8.5 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 48 ซึ่งมีจำนวนเชื้อสูงสุด โดยชั่วโมง 8.5 เป็น 1.76×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร ชั่วโมง 24 ของการหมักเป็น 1.53×10^5 CFU ต่อ มิลลิลิตร และเท่ากับ 2.33×10^5 CFU ต่อ มิลลิลิตร ของการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 32.5 ในทางกลับกันช่วง 8.5 ชั่วโมงแรกค่าการเจริญเติบโตที่วัดจากค่าการดูดกลืนแสงนั้นมีการเจริญที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ จาก 0.156 เป็น 0.173 จากนั้นเพิ่มเป็น 0.311 ใน 24 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง และพบว่าสูงที่สุดในชั่วโมง 32.5 มีค่าเป็น 0.384 ต่อมาลดลงเล็กน้อยเหลือ 0.348 (ชั่วโมง 48) และมีการเจริญคงที่ (ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ) ซึ่งเท่ากับ 0.349 ในชั่วโมง 56.5 ส่วนชั่วโมง 72 ค่าการดูดกลืนแสงเป็น 0.333 จากนั้นลดลงอีกในชั่วโมงถัดมาเป็น 0.282 การเจริญหลังจากชั่วโมง 96 มีแนวโน้มคงที่ตลอดกระบวนการหมักในชั่วโมง 216 แสดงผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4.45

นอกจากนี้ ผลจากรูปที่ 4.45 และตารางที่ 4.45 ยังแสดงให้เห็นว่าการเจริญตั้งแต่ชั่วโมง 24 ซึ่งมีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตสูงที่สุด และยังคงที่ต่อเนื่องไปจนถึงชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยง ดังผลการวิเคราะห์ในตาราง 4.45 และมีจำนวนเชื้อลดลงเล็กน้อยเป็น 8.38×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร ในชั่วโมง 96 และเป็น 9.36×10^4 CFU ต่อ มิลลิลิตร ของการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 120 จากนั้นมีแนวโน้มของการเจริญที่ไม่แตกต่างกันตลอดกระบวนการหมัก โดยในชั่วโมงที่ 168 มีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตเท่ากับ 1.90×10^5 CFU ต่อ มิลลิลิตร ต่อมา มีค่า 1.45×10^5 CFU ต่อ มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 192 และเท่ากับ 1.77×10^5 CFU ต่อ มิลลิลิตร ในเวลาสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง 216)

4.4.2 ผลของอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสต่อการใช้สารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อทราบความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 แล้ว ซึ่งมีค่าความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร จึงนำมาใช้ เป็นความเข้มข้นอ้างอิงเพื่อกำหนดอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนผสม ซึ่งได้แก่กลีเซอรอลและกลูโคส ในการเลี้ยง *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 โดยได้ทำการทดลองโดยเติมกลีเซอรอล และกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นอัตราส่วนโดยคาร์บอนดังนี้ 0:1 1:1 2:1 1:2 และ 1:0 โดยให้ได้

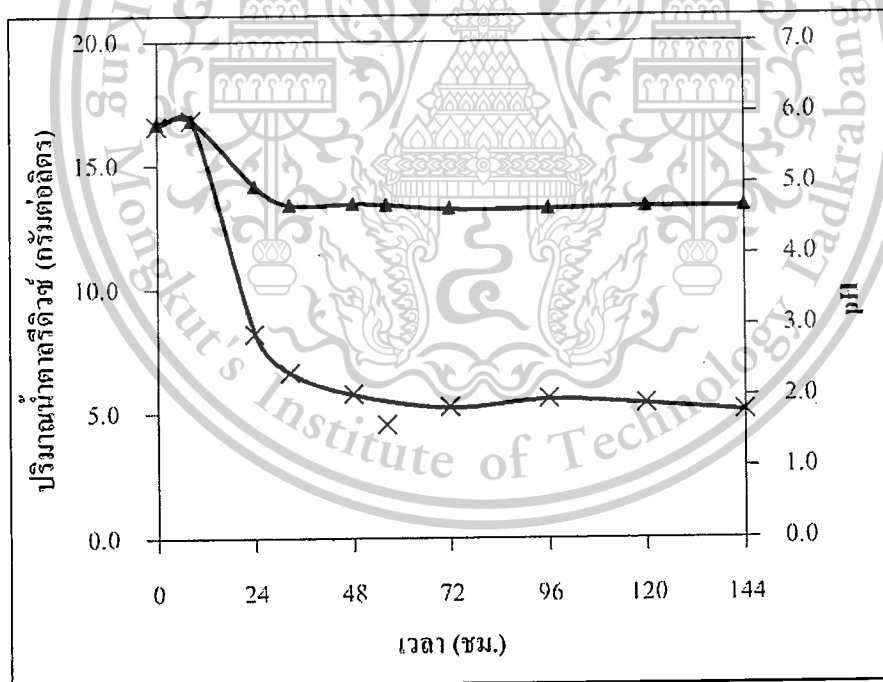
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับศึกษาใช้ความเพื่อการศึกษานานาชาติ ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ในการค้า ความเข้มข้นรวม 20 กรัมต่อลิตร เลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เป็นระยะเวลา 144 ชั่วโมง ยกเว้นสูตรอาหารที่เติมกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวจะใช้เวลาในการบ่มเชื้อ 216 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเพื่อวัดค่าความเป็นกรดต่าง จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงในเครื่องด้วยความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น ทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่เหลือด้วยวิธีดีเอ็นเอส (Miller, 1959) และปริมาณกลีเซอรอลด้วยเครื่อง HPLC

ในการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* ที่มีระดับความเข้มข้นของอัตราส่วนคาร์บอนของกลีเซอรอล และกลูโคสในอัตราส่วน 0 ต่อ 1 โดยใช้กลีเซอรอล 0 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.46 และตารางที่ 4.46 พบว่าเชื้อมีปริมาณความเข้มข้นน้ำตาลน้อยที่สุดในชั่วโมงที่ 56.5 ซึ่งมีปริมาณความเข้มข้นกลูโคส 16.567 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ค่าความเป็นกรดต่างที่ชั่วโมง 72 เป็น 4.63 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 4.64 ในชั่วโมง 96 ของการเพาะเลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์



รูปที่ 4.46 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการเรียนการสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.46 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
0	16.567 ^a ± 1.410	5.84 ^b ± 0.01
8.5	16.810 ^a ± 0.517	5.89 ^a ± 0.02
24	8.220 ^b ± 0.267	4.96 ^c ± 0.05
32.5	6.644 ^c ± 0.214	4.69 ^d ± 0.02
48	5.754 ^{cd} ± 0.269	4.70 ^d ± 0.02
56.5	4.543 ^e ± 0.486	4.69 ^d ± 0.03
72	5.227 ^{de} ± 0.295	4.63 ^e ± 0.02
96	5.569 ^{de} ± 0.660	4.64 ^e ± 0.01
120	5.386 ^{de} ± 0.224	4.67 ^{de} ± 0.01
144	5.090 ^{de} ± 0.281	4.66 ^{de} ± 0.02

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวนองแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p \leq 0.05$)

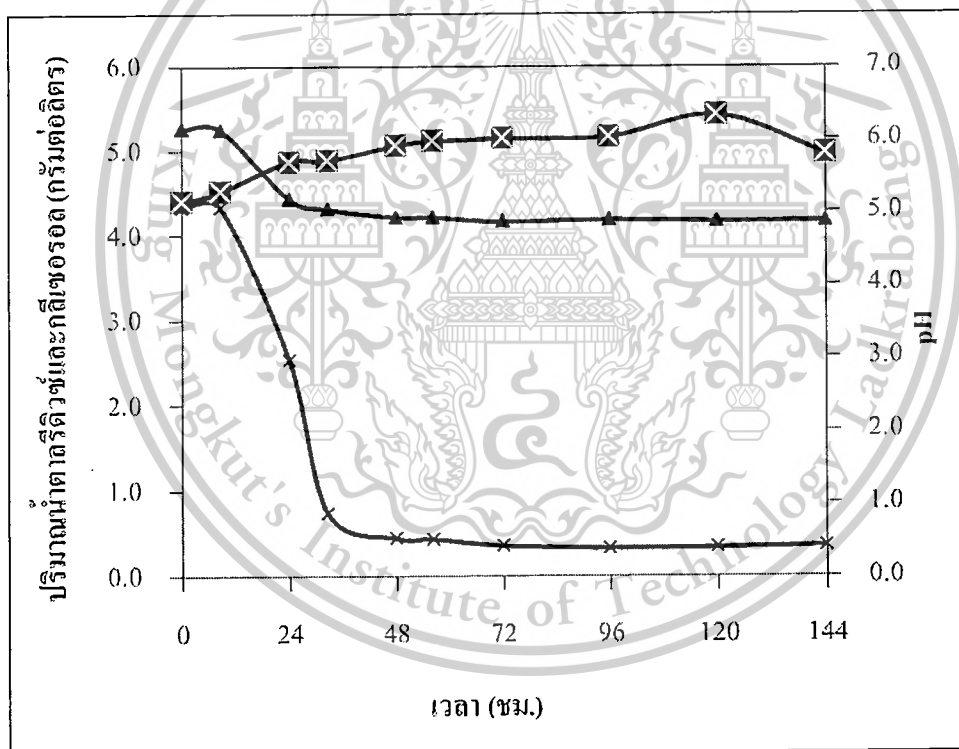
ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

นอกจากนี้ จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารสูตร GYCC ได้ผลดังรูปที่ 4.46 และตารางที่ 4.46 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้โดยเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลีเซอรอลและน้ำตาลกลูโคสผสมกันเป็นแหล่งคาร์บอนรวมในอัตราส่วน 0 ต่อ 1 พบว่าในระยะเวลาเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง เชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือประมาณ 16.689 กรัมต่อลิตร จากนั้นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เชื้อจุลินทรีย์จะมีการใช้น้ำตาลกลูโคสอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 8.5 ที่มีค่า 16.810 กรัมต่อลิตร จนถึงไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ชั่วโมงที่ 24 จะพบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือเพียง 8.220 กรัมต่อลิตร จากนั้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือจะลดลงอีกเล็กน้อย โดยในชั่วโมงที่ 32.5 มีค่าเท่ากับ 6.644 กรัมต่อลิตร ต่อมาลดลงไป เป็น 5.754 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 48 และเป็น 4.543 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 56.5 และเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 56.5 เป็นต้นมาจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก โดยดูผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.22 ซึ่งเท่ากับ 5.227 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 72 มีค่า 5.227 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 96 ส่วนชั่วโมงที่ 120 เป็น 5.386 กรัมต่อลิตรและมีความเข้มข้น 5.090 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง ในขณะที่ค่าความเป็นกรดต่างมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 5.84 ในชั่วโมงที่ 0 เป็น 5.89 แต่หลังจากนั้นค่าความเป็นกรดต่าง มีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมาก โดยลดลงจาก 5.89 ในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 4.96 ในชั่วโมงที่ 24 และเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ในชั่วโมงที่ 32.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.69 จนกระทั่งถึงชั่วโมงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง มีค่าเป็น 4.66



รูปที่ 4.47 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (x ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ X ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.47 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด ต่าง
0	4.332 ^a ± 0.135	4.397 ^c ± 0.011	6.14 ^a ± 0.00
8.5	4.329 ^a ± 0.103	4.521 ^c ± 0.084	6.13 ^a ± 0.01
24	2.528 ^b ± 0.186	4.873 ^b ± 0.070	5.17 ^b ± 0.00
32.5	0.738 ^c ± 0.288	4.885 ^{ab} ± 0.078	5.03 ^c ± 0.02
48	0.441 ^d ± 0.014	5.062 ^b ± 0.047	4.92 ^d ± 0.01
56.5	0.431 ^d ± 0.024	5.112 ^{ab} ± 0.025	4.91 ^d ± 0.01
72	0.354 ^d ± 0.013	5.142 ^{ab} ± 0.044	4.85 ^f ± 0.01
96	0.324 ^d ± 0.080	5.166 ^{ab} ± 0.064	4.88 ^e ± 0.02
120	0.333 ^d ± 0.024	5.242 ^a ± 0.027	4.86 ^f ± 0.00
144	0.357 ^d ± 0.011	4.965 ^{ab} ± 0.485	4.87 ^f ± 0.01

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากรูปที่ 4.47 และตารางที่ 4.47 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้โดยเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่ประกอบไปด้วยกลีเซอรอลและน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ

น้ำตาลกลูโคสภายใน 8.5 ชั่วโมงแรกนั้นมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากชั่วโมงเริ่มต้น 4.332 กรัมต่อลิตร ลดลงเล็กน้อยเป็น 4.329 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 8.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้แก้ไข ปรับปรุง หรือเปลี่ยนแปลงเนื้อหาใดๆ โดยปราศจากการอนุญาตจากเจ้าของเอกสาร หากมีการนำเนื้อหาไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต อาจก่อให้เกิดความเสียหายทางกฎหมายได้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

หลังจากนั้นความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็ว เป็น 2.528 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 และ 0.738 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 32.5 และเริ่มกลายเป็นค่าคงที่จนกระทั่งจบกระบวนการหมักในชั่วโมงที่ 144 โดยชั่วโมงที่ 48 มีค่า 0.441 กรัมต่อลิตร และเป็น 0.431 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 56.5 จากนั้นค่อยๆลดลงเป็น 0.354 กรัมต่อลิตรเมื่อเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 72 และ 0.357 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงการเก็บตัวอย่างสุดท้าย (144 ชั่วโมง)

ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง ความเข้มข้นของกลีเซอรอลมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากชั่วโมงที่ 0 มีค่าเท่ากับ 4.397 กรัมต่อลิตร เป็น 4.521 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 8.5 ซึ่งค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลมีการใช้เพียงเล็กน้อย จาก 4.521 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 4.873 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 24 โดยจะเริ่มคงที่หลังการเพาะเลี้ยงไปแล้ว 24 ชั่วโมงซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ โดยมีปริมาณกลีเซอรอลในชั่วโมงที่ 32.5 เป็น 4.885 กรัมต่อลิตร แล้วค่อยๆเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 48 จาก 5.062 กรัมต่อลิตรไปเป็น 5.112 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 56.5 จากนั้นชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงเซลล์มีปริมาณกลีเซอรอล 5.142 กรัมต่อลิตรในอาหาร ต่อมาในชั่วโมงที่ 96 มีค่า 5.166 กรัมต่อลิตร ซึ่งในการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 120 มีค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็น 5.242 กรัมต่อลิตรและลดลงเหลือ 4.965 ในชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง (144 ชั่วโมง) ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเชื้อจุลินทรีย์มีการใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นกลูโคสได้ดีกว่ากลีเซอรอล ในขณะที่กลีเซอรอลนั้นต้องมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารตัวกลางอื่นก่อนที่จะเปลี่ยนเป็นสารตัวกลางในเมตาบอลิซึม สอดคล้องกับรายงานของ Durre (2008) พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดี จากนั้นจำนวนเซลล์ก็มีปริมาณลดลงตามเวลาที่ผ่านไป โดยที่ 144 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง พบเชื้อจุลินทรีย์ 1.70×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร และนับจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ได้ 2.66×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ที่ 168 ชั่วโมง ส่วนปริมาณกลีเซอรอลก็จะแปรผันตามจำนวนเซลล์ โดยการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ใช้กลีเซอรอลไปเป็นแหล่งพลังงานประมาณ 18.5 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบของกลีเซอรอลนั้นจะมีแนวโน้มการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ไปในทางเดียวกับชุดควบคุมซึ่งมีกลูโคสเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ คือมีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 120

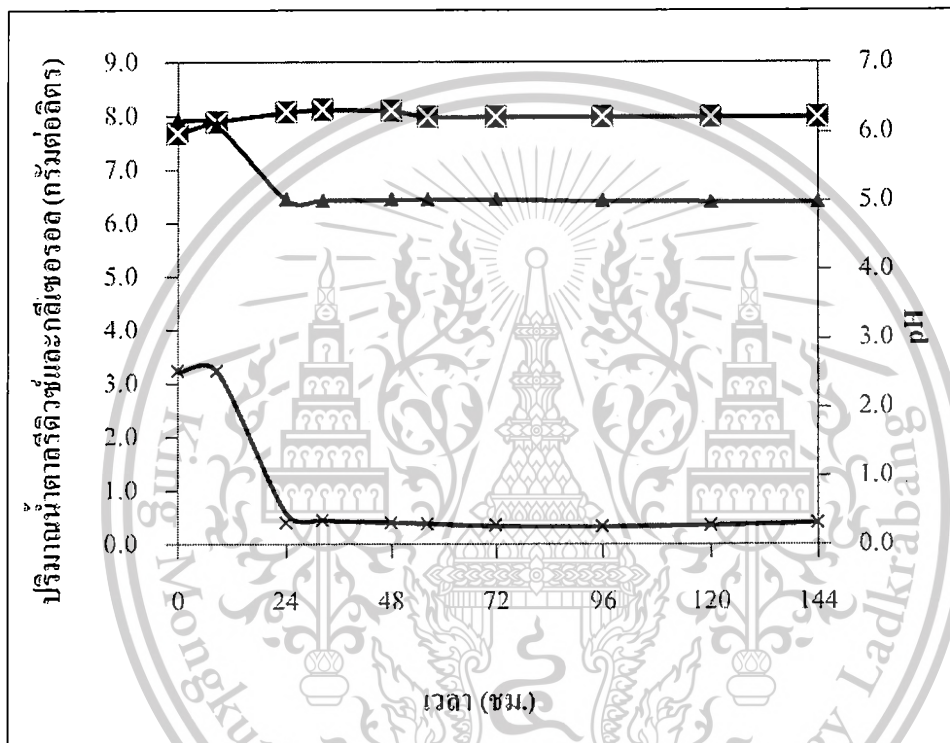
ค่าความเป็นกรดต่างในช่วงแรกนั้นมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างน้อย จากชั่วโมงที่ 0 มีค่าความ

เป็นกรดต่างเท่ากับ 6.14 ลดลงเป็น 6.13 ในชั่วโมงที่ 8.5 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับอาจารย์และงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นค่าความเป็นกรดต่างลดลงเป็นจำนวนมากจาก 6.13 ในชั่วโมงที่
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

8.5 เป็น 5.17 ในชั่วโมงที่ 24 และลดลงเล็กน้อยเป็น 5.03 ในชั่วโมงที่ 32.5 จนเข้าสู่ชั่วโมงที่ 48 มีค่าความเป็นกรดต่างค่อนข้างคงที่เท่ากับ 4.92 ได้เป็น 4.91 ในชั่วโมงที่ 56.5 ต่อมาเชื้อจะมีค่าความเป็นกรดต่างลดลงเล็กน้อยเป็น 4.85 ในชั่วโมงที่ 72 ในขณะที่ 96 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง อาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรดต่างเพิ่มขึ้นเป็น 4.85 และเริ่มมีค่าความเป็นกรดต่างไม่เปลี่ยนแปลงไปจนจบกระบวนการเพาะเลี้ยง โดยในชั่วโมงที่ 120 มีค่า 4.86 และเป็น 4.87 เมื่อเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 144



รูปที่ 4.48 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ป่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (x ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ X ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.48 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด ต่าง
0	3.233 ^a ± 0.110	7.683 ^a ± 0.189	6.17 ^a ± 0.01
8.5	3.247 ^a ± 0.134	7.906 ^a ± 0.247	6.09 ^b ± 0.03
24	0.414 ^{bc} ± 0.015	8.079 ^a ± 0.244	5.02 ^c ± 0.01
32.5	0.462 ^b ± 0.038	8.126 ^a ± 0.319	5.01 ^{cde} ± 0.01
48	0.417 ^{bc} ± 0.005	8.100 ^a ± 0.103	5.01 ^{cd} ± 0.01
56.5	0.394 ^{bc} ± 0.061	7.997 ^a ± 0.042	5.02 ^c ± 0.01
72	0.349 ^{bc} ± 0.011	7.987 ^a ± 0.041	5.01 ^{cde} ± 0.01
96	0.341 ^c ± 0.008	7.978 ^a ± 0.037	4.99 ^{def} ± 0.01
120	0.364 ^c ± 0.032	7.897 ^a ± 0.053	4.98 ^f ± 0.01
144	0.413 ^c ± 0.009	7.981 ^a ± 0.059	4.99 ^{ef} ± 0.00

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า. ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ผลการเจริญเติบโตของการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารสูตร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน โดยใช้กลีเซอรอล 13.45 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 6.55 กรัมต่อลิตร แสดงในรูปที่ 4.48 และตารางที่ 4.48 พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือมีค่อนข้างคงที่ในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง คือจาก 3.233 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงเริ่มต้น เป็น 3.247 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 และมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 24 เป็น 0.414 กรัมต่อลิตร และเริ่มคงที่จนจบกระบวนการหมัก โดยในชั่วโมงที่ 32.5 มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ 0.462 กรัมต่อลิตร ลดลงเป็น 0.417 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 48 ส่วนชั่วโมงที่ 56.5 มีค่า 0.394 กรัมต่อลิตร ต่อมาจึงมีค่าเป็น 0.349 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 72 ส่วนความเข้มข้นของกลูโคสจะมีปริมาณน้อยที่สุดในชั่วโมงที่ 96 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.341 กรัมต่อลิตร โดยในชั่วโมงที่ 120 มีค่า 0.364 กรัมต่อลิตร และเป็น 0.413 กรัมต่อลิตร เมื่อเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 144

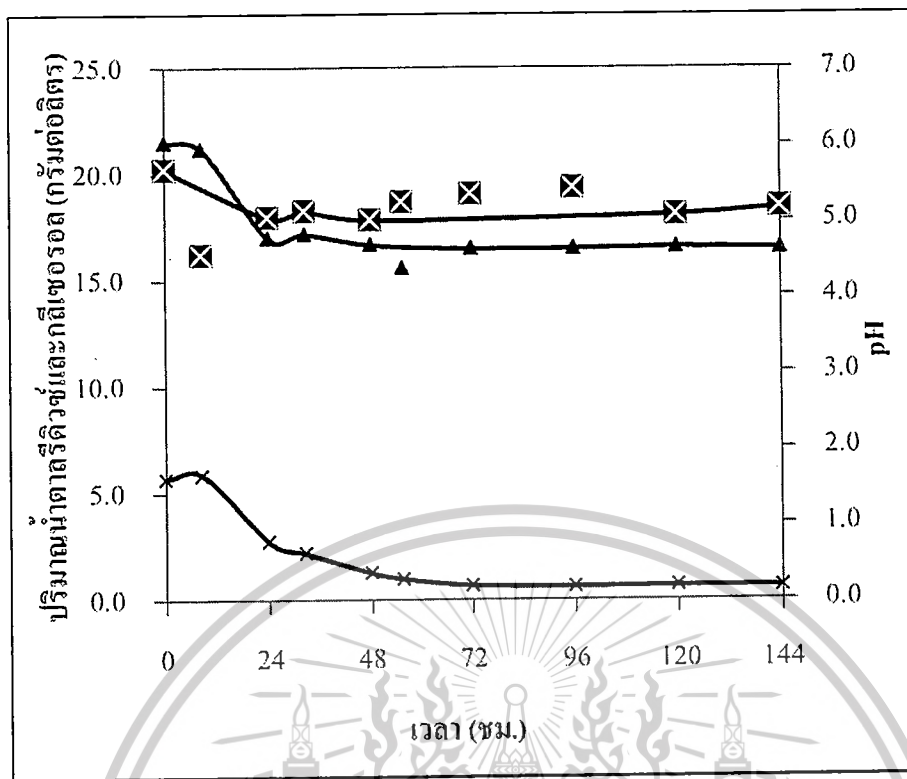
นอกจากนี้ปริมาณกลีเซอรอลที่เหลือมีค่าเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยจากชั่วโมงเริ่มต้น 7.683 กรัมต่อลิตร เพิ่มขึ้นเป็น 7.906 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 เป็น 8.079 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 24 ของการกระบวนการหมักและมีความเข้มข้นของกลีเซอรอล 8.126 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 32.5 และลดลงจาก 8.100 กรัมต่อลิตรไปเป็น 7.997 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และในชั่วโมงที่ 72 เป็นต้นไป มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงจนจบการเพาะเลี้ยงที่ 144 ชั่วโมง

ส่วนค่าความเป็นกรดต่างมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง จากชั่วโมงที่ 0 คือ 6.17 และลดลงในการเก็บตัวอย่างครั้งต่อมา (ชั่วโมง 24) จากนั้นลดลงอย่างรวดเร็วเหลือ 5.02 ในชั่วโมงที่ 24 และเข้าสู่สภาวะคงที่ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือมีค่า 5.01 ในชั่วโมงที่ 32.5 และชั่วโมงที่ 48 จากนั้นมีค่าลดลงจาก 5.02 ในชั่วโมงที่ 56.5 เป็น 5.01 (ชั่วโมงที่ 72) ต่อมา มีค่าเป็น 4.99 ในชั่วโมงที่ 96 ในขณะที่ชั่วโมงที่ 120 ของกระบวนการหมักจะมีค่าความเป็นกรดต่าง 4.98 และมีค่าคงที่ในชั่วโมงที่ 144 ของการเพาะเลี้ยงเป็น 4.99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.49 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (x ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ x ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

นอกจากนี้ รูปที่ 4.49 และตารางที่ 4.49 ยังแสดงให้เห็นถึงปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้โดยเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน โดยใช้กลีเซอรอล 6.75 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 13.25 กรัมต่อลิตร พบว่าในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากชั่วโมงที่ 0 มีค่าความเข้มข้นกลูโคส 5.690 กรัมต่อลิตร เป็น 5.869 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 จากนั้นความเข้มข้นของกลูโคสจะลดลงเป็นอย่างมากโดยในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 2.708 กรัมต่อลิตรและเป็น 2.191 ในชั่วโมงที่ 32.5 ของการเพาะเลี้ยงเซลล์ หลังจากนั้นจะมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือลดลงคือจาก 1.271 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 48 เป็น 0.982 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 55.5 และตั้งแต่ชั่วโมงที่ 72 มีแนวโน้มของความเข้มข้นกลูโคสที่คงที่ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้ว ไม่พบความแตกต่าง

อย่างมีนัยสำคัญ จนถึงชั่วโมง 144 โดยในชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงจะมีค่า 0.664 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ชั่วโมงที่ 96 มีค่าน้อยที่สุดเป็น 0.609 กรัมต่อลิตร และเป็น 0.651 กรัมต่อลิตร เมื่อเก็บตัวอย่างใน
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.49 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรด ต่าง
0	5.690 ^b ± 0.073	20.224 ^a ± 0.311	6.02 ^a ± 0.00
8.5	5.869 ^a ± 0.037	16.177 ^b ± 4.255	5.93 ^b ± 0.02
24	2.708 ^c ± 0.049	17.935 ^{ab} ± 0.932	4.75 ^d ± 0.02
32.5	2.191 ^d ± 0.154	18.258 ^{ab} ± 0.461	4.81 ^c ± 0.00
48	1.271 ^e ± 0.102	17.830 ^{ab} ± 0.389	4.67 ^e ± 0.02
55.5	0.982 ^f ± 0.067	18.702 ^{ab} ± 0.247	4.36 ^h ± 0.01
72	0.664 ^g ± 0.010	19.033 ^{ab} ± 0.289	4.61 ^g ± 0.01
96	0.609 ^g ± 0.009	19.343 ^{ab} ± 0.514	4.62 ^{fg} ± 0.01
120	0.651 ^g ± 0.023	18.105 ^a ± 0.262	4.64 ^f ± 0.02
144	0.633 ^g ± 0.033	18.434 ^{ab} ± 1.775	4.62 ^{fg} ± 0.01

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f, g ในแถวแนวดิ่งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชั่วโมงที่ 120 จนถึงชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง (ชั่วโมง 144) มีค่าความเข้มข้นของกลูโคสคือ 0.633 กรัมต่อลิตร

ส่วนปริมาณกลีเซอรอลที่เหลือในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงมีการลดลงค่อนข้างมากจาก

20.224 กรัมต่อลิตร เป็น 16.177 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 ของกระบวนการหมัก และเริ่มคงที่ใน
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

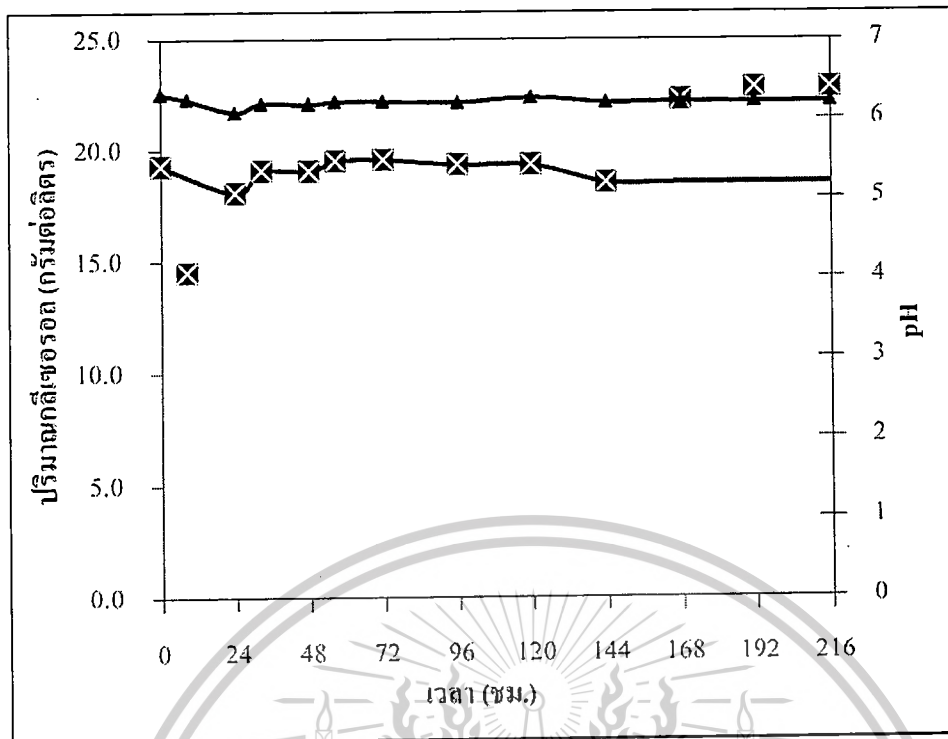
ชั่วโมงถัดมา (ชั่วโมง 24) ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้ว ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จนถึง ชั่วโมง 144 โดยมีค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลเท่ากับ 17.935 กรัมต่อลิตร ไปเป็น 18.258 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 32.5 โดยเพิ่มขึ้นเป็น 18.258 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 32.5 และลดลงเหลือ 17.830 กรัมต่อลิตรในการเก็บตัวอย่างครั้งต่อมา (ชั่วโมง 48) ต่อมาในชั่วโมงที่ 55.5 มีปริมาณกลีเซอรอลที่เหลือเท่ากับ 18.702 กรัมต่อลิตร จากนั้นชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงเซลล์ มีปริมาณกลีเซอรอล 19.033 กรัมต่อลิตร ต่อมาในชั่วโมงที่ 96 มีค่า 19.343 กรัมต่อลิตร ซึ่งในการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 120 มีค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลคือ 18.105 กรัมต่อลิตรและมีค่าเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเป็น 18.434 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง (ชั่วโมง 144) จากการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณของกลีเซอรอลที่เหลือค่อนข้างเหลืออยู่เป็นจำนวนมากอาจเป็นเพราะเชื้อจุลินทรีย์มีการใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นกลูโคสได้ดีกว่ากลีเซอรอล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อังคณา मुखพลอย (2549) ศึกษาส่วนประกอบของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตบิวทานอลโดยใช้วิธี Central Composite Design (CCD) พบว่าส่วนประกอบของอาหารที่ดีที่สุดประกอบด้วยกลูโคสที่มีอยู่ในน้ำคั้นฟางข้าว 70.27 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 7.03 กรัมต่อลิตร และยีสต์สกัด 2.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อศึกษาผลของสภาวะในการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตบิวทานอล ได้แก่ อุณหภูมิในการหมัก พีเอช (pH) เริ่มต้น และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ผลปรากฏว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบกะในสภาวะไร้อากาศที่ทำให้เชื้อ *C. acetobutylicum* สายพันธุ์ JCM 1419 สามารถผลิตบิวทานอลได้สูงที่สุด (2.64 กรัมต่อลิตร) คือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.0 โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 96 ชั่วโมง

นอกจากนั้น ค่าความเป็นกรดต่างของอาหารที่ใช้ในการศึกษานี้ใน 24 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จาก 6.02 ในชั่วโมงเริ่มต้น เป็น 5.93 ในชั่วโมงที่ 8.5 และลดลงเป็นจำนวนมากเป็น 4.75 ในชั่วโมงที่ 24 และเมื่อการหมักผ่านไป 32.5 ชั่วโมง มีค่าความเป็นกรดต่าง 4.81 และมีค่าเท่ากับ 4.67 ในชั่วโมงที่ 48 หลังจากนั้นจะมีค่าเหลือ 4.36 ในชั่วโมงที่ 55.5 และคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 72 เป็นต้นมาโดยไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ คือจาก 4.61 ในชั่วโมงที่ 72 เป็น 4.62 ในการเก็บตัวอย่างครั้งต่อมา (ชั่วโมง 96) มีค่า 4.64 และเท่ากับ 4.62 ที่ระยะสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง 144)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.50 ปริมาณกลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (X ปริมาณกลีเซอรอล ▲ ค่าความเป็นกรดต่าง)

ตารางที่ 4.50 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
0	19.287 ^b ± 0.759	6.31 ^a ± 0.00
8.5	14.507 ^c ± 4.316	6.24 ^c ± 0.01
24	18.087 ^b ± 1.066	6.08 ^s ± 0.01
32.5	19.067 ^b ± 0.601	6.19 ^{ef} ± 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.50 (ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ กลีเซอรอล และค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็นกรดต่าง
48	19.080 ^b ± 0.365	6.18 ^f ± 0.01
56.5	19.529 ^b ± 0.471	6.21 ^d ± 0.01
72	19.575 ^b ± 0.187	6.22 ^d ± 0.01
96	19.347 ^b ± 0.145	6.20 ^{de} ± 0.01
120	19.324 ^b ± 0.287	6.27 ^b ± 0.01
144	18.543 ^b ± 1.687	6.20 ^{de} ± 0.02
168	22.233 ^a ± 0.308	6.22 ^d ± 0.01
192	22.785 ^a ± 0.978	6.21 ^d ± 0.01
216	22.806 ^a ± 0.267	6.22 ^d ± 0.01

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การเจริญเติบโตของเชื้อ *C. acetobutylicum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วน 1 ต่อ 0 โดยใช้กลีเซอรอล 20.44 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 0 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.50 และตารางที่ 4.50 พบว่ามีความเข้มข้นของกลีเซอรอลในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงจากชั่วโมงเริ่มต้น คือ 19.287 กรัมต่อลิตร เป็น 14.507 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 8.5 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 72 โดยชั่วโมง 8.5 เป็น 14.507 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 24 ของการหมักเป็น 18.087 กรัมต่อลิตร และเท่ากับ 19.067 กรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ การนำข้อมูลไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารเป็นการฝ่าฝืนกฎหมายและต้องรับผิดชอบต่อเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ลิตร ของการเก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 32.5 จากนั้นค่อยๆเพิ่มขึ้นเป็น 19.080 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 และคงที่ต่อเนื่องไปจนถึงชั่วโมงที่ 144 ซึ่งแสดงผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4.50 (ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ) โดยในชั่วโมงที่ 56.5 มีค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลเท่ากับ 19.529 กรัมต่อลิตร ถัดมา มีค่าเป็น 19.575 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 ต่อมาในชั่วโมงที่ 96 ของการเก็บตัวอย่าง มีค่า 19.347 กรัมต่อลิตร แล้วค่อยๆลดลง จาก 19.324 กรัมต่อลิตรเป็น 18.543 กรัมต่อลิตร จากนั้นเพิ่มเป็น 22.233 กรัมต่อลิตรใน 168 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง ต่อมา มีค่า 22.785 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 192 และมีค่าสูงที่สุดในชั่วโมง 216 มีค่าเป็น 22.806 กรัมต่อลิตร

นอกจากนี้ ในรูปที่ 4.50 และตารางที่ 4.50 ยังแสดงให้เห็นถึงค่าความเป็นกรดต่างมีค่าลดลง จากชั่วโมงเริ่มต้น คือ 6.31 เป็น 6.24 ในชั่วโมงที่ 8.5 จากนั้นลดลงอย่างรวดเร็วจากชั่วโมงที่ 8.5 ซึ่งมีค่า 6.24 ไปเป็น 6.08 ในชั่วโมงที่ 25 โดยมีการเปลี่ยนแปลงจาก 6.19 ในชั่วโมงที่ 32.5 เป็น 6.18 ในชั่วโมงที่ 48 และคงที่ในชั่วโมงที่ 56.5 ตลอดระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยในชั่วโมงที่ 56.5 มีค่า 6.21 เป็น 6.22 ในชั่วโมงที่ 72 เมื่อเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 96 จะมีค่าความเป็นกรดต่างลดลงเล็กน้อยเป็น 6.20 จนมีค่าเป็น 6.22 และมีปริมาณลดลงเล็กน้อยเป็น 6.21 จนกระทั่งได้เป็น 6.22 เมื่อเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 216

4.4.3 ผลของอัตราส่วนระหว่างกับกลีเซอรอลกลูโคสต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์

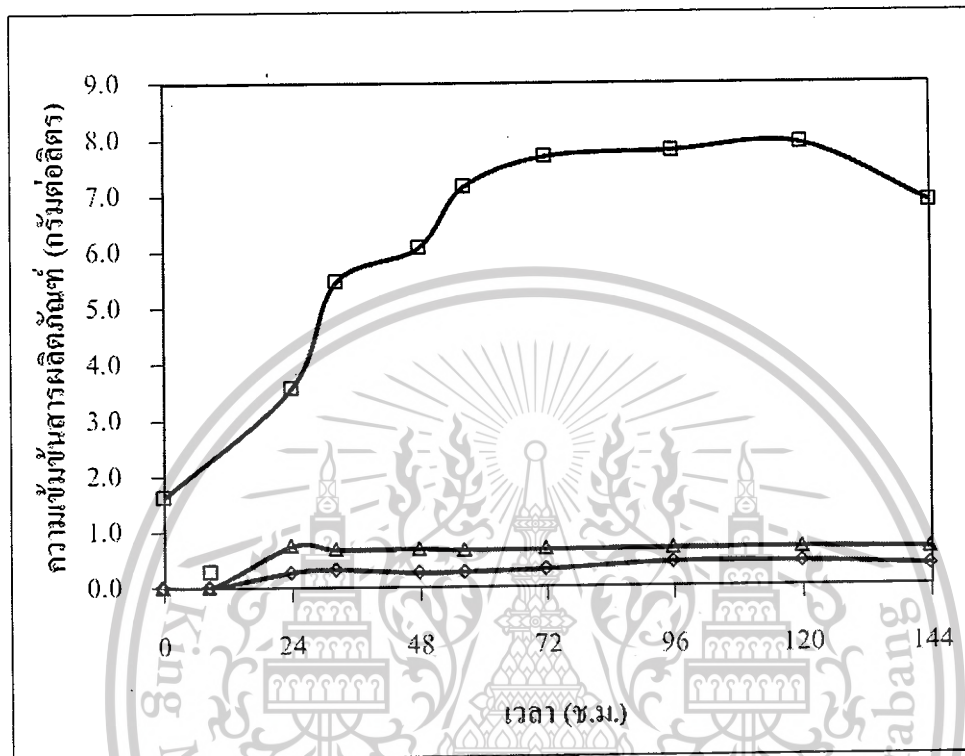
หลังจากได้ระดับความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 แล้วเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร จะนำความเข้มข้นดังกล่าวมาอ้างอิงในการกำหนดอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคสต่อไป ซึ่งอัตราส่วนโดยคาร์บอนของกลีเซอรอลต่อกลูโคสที่ทดสอบเท่ากับ 0 ต่อ 1 1 ต่อ 1 2 ต่อ 1 1 ต่อ 2 และ 1 ต่อ 0 ส่วน เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในสภาวะนิ่งไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 144 ชั่วโมง ยกเว้นสูตรอาหารที่ให้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวจะใช้เวลา 216 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่เก็บในแต่ละช่วงเวลามาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำส่วนใสมาเจือจางด้วยสารละลายกรดซिटริกเข้มข้นร้อยละ 2 และตรวจวัดชนิดและปริมาณสารผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่อง HPLC ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหารสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

GYCC ที่เติมกลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วนของคาร์บอน 0 ต่อ 1 (เติมกลูโคสเพียงอย่างเดียว) นั้น พบว่ามีสารผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นดังแสดงในรูปที่ 4. 51 และตารางที่ 4.51



รูปที่ 4.51 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล ◇ แลคเตท)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.51 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 0 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	แลคเตท	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล
0	0	0	$1.627^e \pm 0.653$
8.5	0	0	$0.283^e \pm 0.491$
24	$0.271^b \pm 0.018$	$0.739^a \pm 0.017$	$3.572^d \pm 0.019$
32.5	$0.315^{ab} \pm 0.032$	$0.670^a \pm 0.003$	$5.469^c \pm 0.308$
48	$0.251^b \pm 0.015$	$0.681^a \pm 0.023$	$6.063^{bc} \pm 0.419$
56.5	$0.270^b \pm 0.100$	$0.656^a \pm 0.028$	$7.152^{ab} \pm 0.450$
72	$0.310^{ab} \pm 0.083$	$0.670^a \pm 0.007$	$7.686^a \pm 0.437$
96	$0.426^a \pm 0.039$	$0.672^a \pm 0.015$	$7.791^a \pm 0.255$
120	$0.426^a \pm 0.009$	$0.682^a \pm 0.002$	$7.912^a \pm 0.186$
144	$0.354^{ab} \pm 0.138$	$0.652^a \pm 0.045$	$6.855^{abc} \pm 2.206$

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

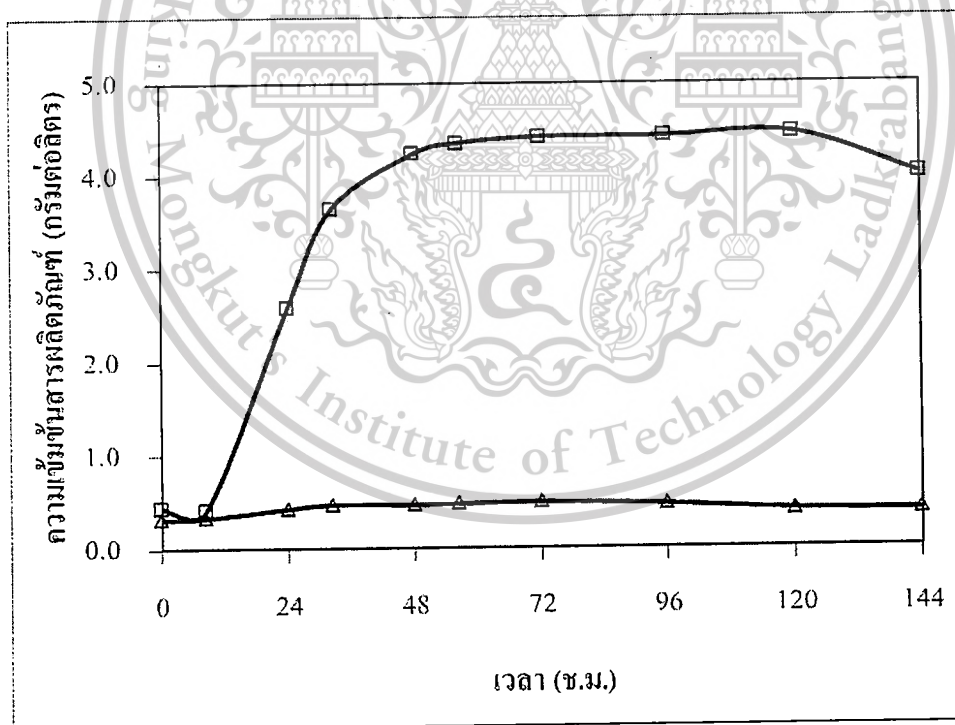
พบว่า เอทานอลเป็นสารผลิตภัณฑ์หลักที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นตลอดกระบวนการหมัก โดยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จากในช่วงเริ่มต้นกระบวนการที่มีปริมาณเพียงเล็กน้อย ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดในช่วงเวลาที่ 120 วัดได้เท่ากับ 7.912 กรัมต่อลิตร ส่วนสารผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่พบในการเจริญของเชื้อชุดนี้ได้แก่ 1,3-โพรเพนไดออลและแลคเตท ซึ่งพบตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง เป็นต้นไป เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับงานวิจัยเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า โดยแลคเตทที่มีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 และชั่วโมงที่ 120 ของกระบวนการหมัก พบความเข้มข้นไม่ต่างกันเท่าไรกัน อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

0.426 กรัมต่อลิตร และ 1,3-โพรเพนไดออลมีปริมาณที่ค่อนข้างคงที่อยู่ที่ในช่วง 0.652 ถึง 0.739 กรัมต่อลิตร ของการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ถึง 144

สำหรับสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร GYCC ที่เติมกลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เป็นแหล่งคาร์บอนลงไปนั้น โดยเติมกลีเซอรอล 9.89 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 10.11 กรัมต่อลิตร ผลที่ได้แสดงตามรูปที่ 4.52 และตารางที่ 4.52 โดยเชื้อแบคทีเรียยังคงสร้างเอทานอลขึ้นเป็นผลิตภัณฑ์หลัก และพบ 1,3-โพรเพนไดออลในปริมาณเล็กน้อยทุกช่วงระยะเวลาการหมัก ซึ่งสามารถวัดปริมาณเอทานอลได้ค่าเพียงเล็กน้อย ในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8.5 จากนั้นเชื้อจุลินทรีย์ผลิตเอทานอลในความเข้มข้นที่สูงขึ้น ซึ่งในชั่วโมงที่ 24 ปริมาณเอทานอลอยู่ที่ 2.586 กรัมต่อลิตร และผลิตเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนเริ่มเข้าสู่ช่วงคงที่ในชั่วโมงที่ 48 พบค่าความเข้มข้น 4.233 กรัมต่อลิตร จากนั้นมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จนถึงชั่วโมงที่ 120 มีเอทานอลอยู่ 4.459 กรัมต่อลิตร จากนั้นปริมาณเอทานอลที่วัดได้จึงมีค่าลดลงเป็น 4.010 กรัมต่อลิตร เมื่อเก็บตัวอย่างครั้งสุดท้ายชั่วโมงที่ 144 ในขณะที่สาร



รูปที่ 4.52 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium*

acetobutylicum TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล) ให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.52 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)	
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล
0	0.318 ^d ± 0.003	0.442 ^e ± 0.012
8.5	0.332 ^d ± 0.021	0.414 ^e ± 0.038
24	0.428 ^{bc} ± 0.006	2.586 ^d ± 0.576
32.5	0.470 ^a ± 0.007	3.651 ^c ± 0.190
48	0.466 ^{ab} ± 0.003	4.233 ^{ab} ± 0.056
56.5	0.475 ^a ± 0.004	4.352 ^{ab} ± 0.106
72	0.489 ^a ± 0.007	4.417 ^{ab} ± 0.013
96	0.465 ^{ab} ± 0.060	4.425 ^{ab} ± 0.019
120	0.405 ^c ± 0.006	4.459 ^a ± 0.013
144	0.394 ^c ± 0.030	4.010 ^{bc} ± 0.346

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

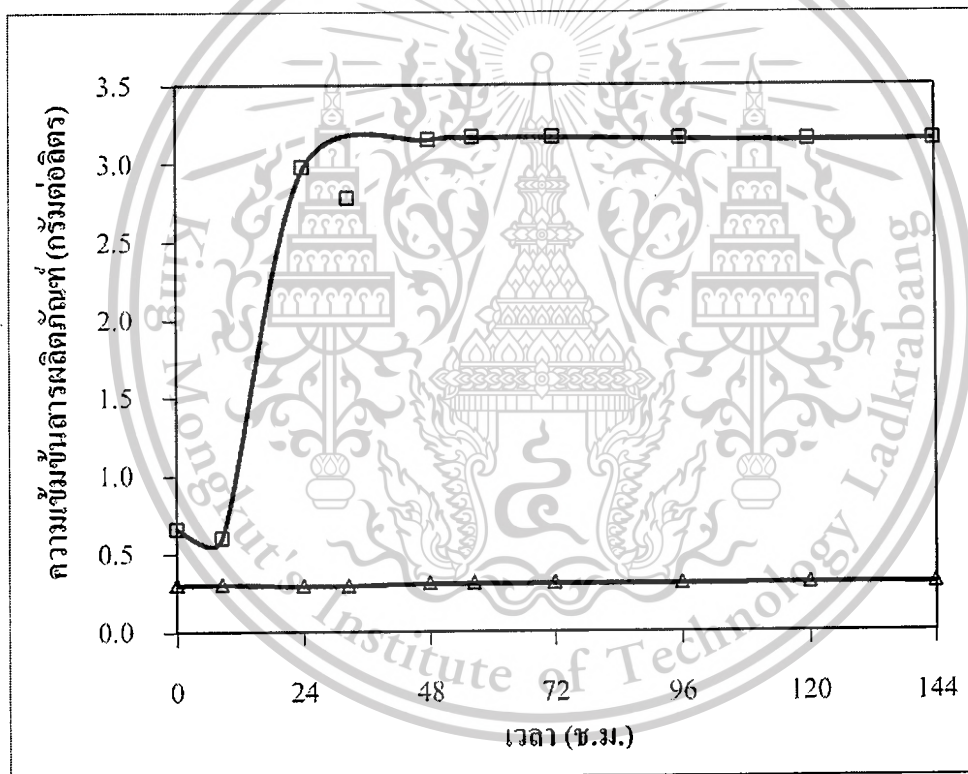
1,3-โพรเพนไดออลนั้น พบว่าจุลินทรีย์ผลิตออกมาเพียงเล็กน้อย และเพิ่มปริมาณขึ้นในชั่วโมงที่ 24 ของกระบวนการหมัก จนสามารถวัดปริมาณ 1,3-โพรเพนไดออลสูงสุดเท่ากับ 0.489 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 จากนั้นปริมาณ 1,3-โพรเพนไดออลที่พบจึงลดลงเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

รูปที่ 4.53 และตารางที่ 4.53 แสดงการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร GYCC ที่มีการเติมกลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วนคาร์บอน 2 ต่อ 1 จากการนำตัวอย่างไปทดสอบหาสารผลิตภัณฑ์ พบว่า ในสภาวะดังกล่าว จุลินทรีย์ยังคงสร้างสารผลิตภัณฑ์หลัก 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอลและ 1,3-โพรเพนไดออล ซึ่งพบในทุกช่วงเวลากการเก็บตัวอย่างอยู่ โดยเอทานอลถือเป็นผลิตภัณฑ์หลัก และสามารถวัดปริมาณได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ดังชั่วโมงที่ 56.5 ตรวจวัดปริมาณเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 3.166 กรัมต่อลิตร แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชั่วโมงที่ 48 ซึ่งพบค่า 3.154 กรัมต่อลิตร จากนั้นมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงไปขณะที่ 1,3-โพรเพนไดออลนั้นมีปริมาณที่ค่อนข้างคงที่และสามารถพบได้เล็กน้อยตลอดระยะเวลาทดลอง โดยค่าที่วัดได้อยู่ระหว่าง 0.292 ถึง 0.313 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.53 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (△1,3-โพรเพนไดออล □ เอทานอล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.53 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 2 ส่วนและกลูโคส 1 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)	
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล
0	0.299 ^{ab} ± 0.006	0.660 ^d ± 0.090
8.5	0.303 ^{ab} ± 0.005	0.598 ^d ± 0.020
24	0.292 ^b ± 0.006	2.976 ^b ± 0.138
32.5	0.295 ^{ab} ± 0.010	2.784 ^c ± 0.055
48	0.306 ^a ± 0.003	3.154 ^a ± 0.015
56.5	0.313 ^a ± 0.002	3.166 ^a ± 0.004
72	0.308 ^a ± 0.005	3.154 ^a ± 0.006
96	0.315 ^a ± 0.001	3.152 ^a ± 0.005
120	0.294 ^a ± 0.011	3.169 ^a ± 0.015
144	0.309 ^a ± 0.013	3.139 ^a ± 0.023

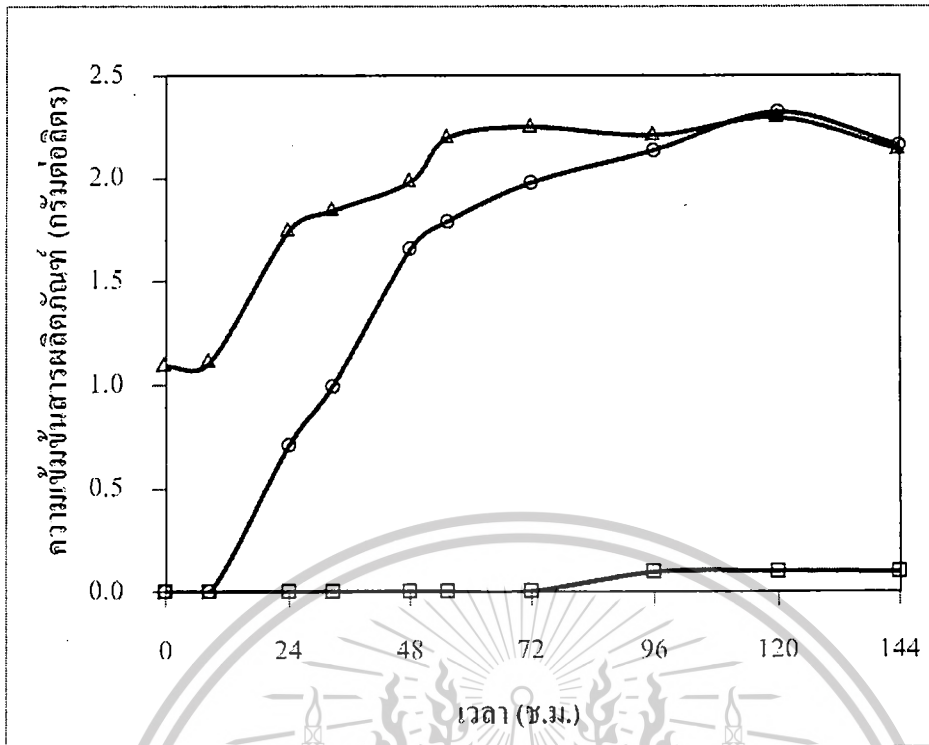
หมายเหตุ a, b, c, d ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 4.54 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล \square เอทานอล \circ อะซิโตน)

เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนได้แก่ กลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วนคาร์บอน 1 ต่อ 2 เป็นสารควบคุมการเจริญและการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYCC พบว่าเชื้อจุลินทรีย์สร้างสารผลิตภัณฑ์ออกมา 3 ชนิด ได้แก่ อะซิโตน เอทานอล และ 1,3-โพรเพนไดออล ดังรูปที่ 4.54 และตารางที่ 4.54 พบว่า สารผลิตภัณฑ์หลักที่เชื้อ *C. acetobutylicum* สร้างขึ้นเป็นอันดับหนึ่งกับสารผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากเชื้อ ซึ่งเลี้ยงในสภาวะที่ใช้กลูโคสเพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งคาร์บอนหรือใช้กลีเซอรอลผสมกับกลูโคสในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 และ 2 ต่อ 1 ส่วน โดยจากรูปที่ 4.54 เชื้อแบคทีเรียสร้าง 1,3-โพรเพนไดออลและอะซิโตนออกมาเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ซึ่ง 1,3-โพรเพนไดออลสามารถวัดได้ในทุกช่วงเวลาการหมัก แต่อะซิโตนถูกตรวจพบเมื่อกระบวนการหมักผ่านไปแล้วประมาณ 24 ชั่วโมง โดยอะซิโตนมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น จนถึงชั่วโมงที่ 120 ของกระบวนการหมักที่มีปริมาณสูงสุด เท่ากับ 2.324 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่ในอินเทอร์เน็ตโดยไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.54 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล	อะซิโตน
0	1.093 ^e ± 0.091	0	0
8.5	1.110 ^e ± 0.196	0	0
24	1.746 ^d ± 0.153	0	0.710 ^f ± 0.110
32.5	1.844 ^{cd} ± 0.061	0	0.995 ^e ± 0.027
48	1.984 ^{bc} ± 0.128	0	1.658 ^d ± 0.074
55.5	2.199 ^{ab} ± 0.082	0	1.793 ^{cd} ± 0.051
72	2.251 ^a ± 0.044	0	1.979 ^{bc} ± 0.052
96	2.210 ^a ± 0.086	0.094 ^a ± 0.006	2.138 ^{ab} ± 0.187
120	2.297 ^a ± 0.072	0.098 ^a ± 0.003	2.324 ^a ± 0.066
144	2.139 ^{ab} ± 0.181	0.094 ^a ± 0.008	2.162 ^{ab} ± 0.174

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สำหรับสาร 1,3-โพรเพนไดออลนั้น พบในปริมาณต่ำ ในชั่วโมงที่ 0 (1.093 กรัมต่อลิตร) ถึง ชั่วโมงที่ 8.5 (1.110 กรัมต่อลิตร) เมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นที่วัดปริมาณ 1,3-โพรเพนไดออลได้ เพิ่มขึ้นและสูงสุดที่ชั่วโมง 120 เช่นเดียวกับอะซิโตน เท่ากับ 2.297 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณลดลง

เล็กน้อยในชั่วโมงที่ 144 ส่วนเอทานอล จุลินทรีย์ยังคงมีการผลิตอยู่ แต่มีปริมาณที่ลดลงจากการ

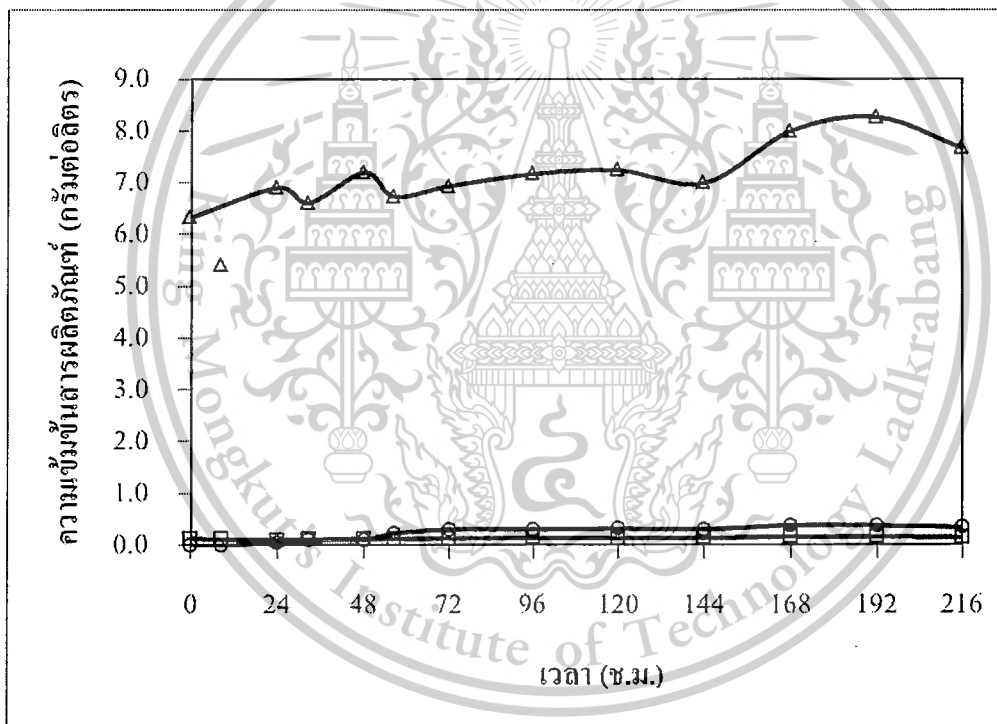
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติในอนาคตในแง่ของการค้า
ทดลองชุดอื่นๆ มาก และพบเอทานอลในช่วงท้ายของกระบวนการเท่านั้น คือตั้งแต่กระบวนการหมัก
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ผ่านไปแล้ว 96 ชั่วโมง ซึ่งสาเหตุนี้มาจากสภาวะที่เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 เจริญอยู่ที่มีทั้งกลูโคสและกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยในน้ำหมักมีกลูโคสอยู่ในปริมาณสูงกว่า จุลินทรีย์จะใช้น้ำตาลกลูโคสในการเจริญและสร้างเซลล์ใหม่ ขณะที่กลีเซอรอลนั้น เชื้อจะนำมาใช้สำหรับสร้างสารผลิตภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์เข้าวิธีการสร้าง 1,3-โพรเพนไดออล (Abbad-Andaloussi และคณะ, 2008) ดังนั้นในสภาวะดังกล่าว จุลินทรีย์จึงมีการเจริญสูงสุดและสามารถสร้างผลิตภัณฑ์หลักได้มีความซับซ้อนในวิถีมากขึ้น

สำหรับอาหารสูตรสุดท้ายที่มีการเติมกลีเซอรอลเพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 พบว่าเชื้อสร้าง 1,3-โพรเพนไดออลเป็นสารผลิตภัณฑ์หลัก ดังรูปที่ 4.55 และตารางที่ 4.55



รูปที่ 4.55 ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ของอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน (Δ 1,3-โพรเพนไดออล \square เอทานอล \circ อะซิโตน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ตารางที่ 4.55 สารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหาร GYCC ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 0 ส่วน เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อใช้การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส สภาวะนิ่งและไร้ออกซิเจน

เวลา(ชั่วโมง)	ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)		
	1,3-โพรเพนไดออล	เอทานอล	อะซิโตน
0	6.325 ^d ± 0.475	0.135 ^{bc} ± 0.006	0
8.5	5.411 ^e ± 0.934	0.112 ^e ± 0.033	0
24	6.904 ^{cd} ± 0.237	0.110 ^e ± 0.005	0.061 ^d ± 0.011
32.5	6.607 ^{cd} ± 0.085	0.115 ^{de} ± 0.003	0.089 ^d ± 0.002
48	7.203 ^{bc} ± 0.090	0.126 ^{cde} ± 0.003	0.111 ^d ± 0.004
56.5	6.731 ^{cd} ± 0.037	0.125 ^{cde} ± 0.002	0.226 ^c ± 0.099
72	6.931 ^{cd} ± 0.169	0.132 ^{bcd} ± 0.003	0.301 ^b ± 0.010
96	7.165 ^{bc} ± 0.232	0.137 ^{bc} ± 0.004	0.304 ^b ± 0.007
120	7.238 ^{bc} ± 0.062	0.135 ^{bc} ± 0.003	0.320 ^b ± 0.004
144	6.989 ^{bcd} ± 0.605	0.141 ^{bc} ± 0.011	0.308 ^b ± 0.012
168	7.993 ^a ± 0.074	0.164 ^a ± 0.001	0.384 ^a ± 0.027
192	8.263 ^a ± 0.310	0.162 ^a ± 0.007	0.377 ^a ± 0.015
216	7.667 ^{ab} ± 0.167	0.147 ^{ab} ± 0.002	0.342 ^{ab} ± 0.013

หมายเหตุ a, b, c, d, e ในแถวแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

จากรูปที่ 4.55 นั้น พบว่าจุลินทรีย์ได้ผลิต 1,3-โพรเพนไดออลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ออกมาเป็นจำนวนมากที่สุดเมื่อเทียบกับปริมาณ 1,3-โพรเพนไดออลที่ได้ในทุกชุดการทดลองที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกันก่อนหน้านี้ โดยเชื้อสามารถผลิตได้มากที่สุดถึง 8.263 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 192 ของระยะเวลาการหมัก อันเป็นการพิสูจน์ให้เห็นแน่นอนว่า เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 จะใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิต 1,3-โพรเพนไดออล ซึ่งก่อนหน้านี้สำหรับสูตรอาหารที่เติมเพียงกลูโคส 1,3-โพรเพนไดออลเกิดจากไดไฮดรอกซีอะซิโตนฟอสเฟต ซึ่งได้มาจากการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสเป็นสารหลักที่จะเปลี่ยนเป็นกลีเซอรอล เพื่อสังเคราะห์ 1,3-โพรเพนไดออลต่อไป ดังรายงานของ González-Pajuelo และคณะ (2005) ที่ทำการศึกษากลไกการย่อยสลายกลีเซอรอลของแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* เพื่อผลิต 1,3-โพรเพนไดออลในระดับอุตสาหกรรม พบว่า เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง เชื้อจะผลิตกรดอินทรีย์ ซึ่งก็คืออะซิเตท บิวทิเรต แลคเตท และไฮโดรเจน แต่หากเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอล เชื้อกลับสร้าง 1,3-โพรเพนไดออลออกมาเป็นผลิตภัณฑ์หลัก และลดอัตราการผลิตกรดอินทรีย์รวมทั้งไฮโดรเจนลง นอกจากนี้ เมื่อเทียบการผลิต 1,3 โพรเพนไดออลของเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* ในการหมักแบบกะ กตศกา นักรูจี และบุษบงษ์ (2553) พบว่า ในการหมักแบบต่อเนื่อง ปริมาณโพรเพนไดออลที่เชื้อผลิตได้จะลดน้อยลงจากการหมักแบบกะ

ส่วนผลของความเข้มข้นกลีเซอรอลที่มีต่อการสร้างผลิตภัณฑ์ Diebi (2001) ได้รายงานว่าการใช้เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* จะผลิต 1,3-โพรเพนไดออลออกมาเป็นผลิตภัณฑ์หลัก เมื่อมีกลีเซอรอลความเข้มข้นต่ำอยู่ในอาหาร (29.5 กรัมต่อลิตร) หากในอาหารมีกลีเซอรอลในปริมาณสูง (114.6 กรัมต่อลิตร) เชื้อกลับผลิตบิวทานอลออกมาเป็นผลิตภัณฑ์หลักแทน โดย *Clostridium acetobutylicum* จะสร้างสารผลิตภัณฑ์ออกมาในรูปของแอลกอฮอล์มากกว่าในรูปกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลวิจัย

5.1.1 สรุปผลวิจัยของการเปรียบเทียบอาหาร 2 สูตร ระหว่างอาหารสูตร GYCC และอาหารของ Andrade และ Vasconcelos (2003)

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อโดยใช้อาหาร Glucose-yeast extract-casein-cysteine (GYCC) และอาหารของ Andrade และ Vasconcelos (2003) มีกลูโคสความเข้มข้น 20 และ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ใน ฟลasks ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่สภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง พบว่าใช้กลูโคสที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เชื้อมีการเจริญได้ดีกว่าใช้กลูโคสที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร โดยเชื้อมีการเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งชั่วโมงที่ 60 ของการเพาะเลี้ยงมีจำนวนเซลล์มากที่สุด คือ 7.44×10^7 CFUต่อมิลลิลิตร ส่วนปริมาณการใช้ น้ำตาลของเชื้อ มีปริมาณการใช้น้ำตาลน้ำตาลเท่ากับ 8.04 กรัมต่อลิตร ตลอดการเพาะเลี้ยงเชื้อ กลับกันกับการทดลองที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มีส่วนประกอบของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร เชื้อมีการเจริญได้ดีกว่าอาหาร Andrade และ Vasconcelos (2003) ที่มี กลูโคส 50 กรัมต่อลิตร โดยในชั่วโมงที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง มีปริมาณเชื้อสูงสุดเท่ากับ 3.02×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนปริมาณการใช้น้ำตาลของเชื้อ พบว่าในชั่วโมงที่ 144 ของการเพาะเลี้ยงมีการ ใช้น้ำตาลไป 1.48 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาพบว่าเชื้อจุลินทรีย์เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร GYCC ได้ดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ Andrade เพราะมีการเจริญเติบโตได้ปริมาณที่มากกว่าจึงนำอาหาร สูตร GYCC ไปทำการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นกลีเซอรอลที่เหมาะสมต่อไป

5.1.2 สรุปผลวิจัยของการหาความเข้มข้นกลีเซอรอลที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นจำเป็นต้องใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ก็ตาม ห้ามมิให้เผยแพร่ข้อมูลใดๆ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สูงสุดในชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 1.51×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร และเมื่อเติมกลีเซอรอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 กรัมต่อลิตร จะมีจำนวนเซลล์มากที่สุดที่ชั่วโมงที่ 168 คือ 3.13×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ดังนั้นอาหารที่เติมกลีเซอรอลปริมาณ 40 กรัมต่อลิตร จึงถือว่าเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด โดยดูจากสถิติสำหรับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium acetobutylicum* สายพันธุ์นี้ และดูจากสถิติที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงพบว่าในช่วงชั่วโมงที่ 72 ถึง 96 เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี ส่วนสารผลิตภัณฑ์ที่พบนั้นคือ 1,3-โพรเพนไดออล อะซิโตน กรดบิวทิริก และบิวทานอล ในปริมาณเล็กน้อย

5.1.3 สรุปผลวิจัยของการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต และการสร้างผลิตภัณฑ์ต่างๆ ระหว่างกระบวนการหมัก โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งผสมลงในอาหารสูตร GYCC ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 10 20 30 40 และ 50 กรัมต่ออาหารหนึ่งลิตร เลี้ยงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตรที่สภาวะนิ่งและไร้อากาศ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 144 ชั่วโมง พบว่าในชั่วโมงที่ 48 สามารถตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตได้มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 5.33×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร จากอาหารที่มีการเติมกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มีกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร พบจำนวนเชื้อสูงสุด 1.98×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร รองลงมาคืออาหารที่เติมกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร มีปริมาณเซลล์สูงสุด 3.92×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร และ 3.67×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร จากอาหาร GYCC ที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร ส่วนในอาหารที่มีกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร นั้นพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสูงที่สุดอยู่ที่ 4.66×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 55.5 ซึ่งการเจริญของจุลินทรีย์นั้นสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือน้อยลงในน้ำหมัก เชื่อจะใช้แหล่งคาร์บอนมากในอาหารที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 และ 30 กรัมต่อลิตร คือ 11.48 และ 14.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญที่ใกล้เคียงกันทั้ง 2 ชุดการทดลอง โดยปริมาณกลูโคสที่เติมลงไปมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของกล้าเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและค่าความเป็นกรดต่างในระบบจะเข้าสู่สภาวะคงที่เมื่อกระบวนการหมักผ่านไปแล้ว 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เมื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC จะพบว่าเชื้อไม่สร้างบิวทานอล แต่จะผลิตเอทานอล 1,3-โพรเพนไดออล แลคเตท และอะซิโตน โดยที่เอทานอลและ 1,3-โพรเพนไดออลเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่พบในอาหารที่เติมกลูโคสทุกความเข้มข้น ซึ่งเอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเติมกลูโคส 20 30 40 และ 50 กรัมต่อลิตร และพบเอทานอลมากที่สุดเท่ากับ 10.941 กรัมต่อลิตรที่ชั่วโมง 96 ในอาหารที่เติมกลูโคสเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร ส่วนในอาหารที่เติมกลูโคส 10 กรัมต่อลิตรพบว่าเชื้อสามารถผลิตเอทานอลและ 1,3-โพรเพนไดออลได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน คือ เอทานอล 4.199 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 96 และ 1,3-โพรเพนไดออล 4.731 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 144

5.1.4 สรุปผลวิจัยของการศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกลูโคสกับกลีเซอรอลที่เหมาะสม

เมื่อทราบว่าการเติมกลูโคสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรส่งผลให้เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 มีการเจริญสูงสุดแล้ว ได้นำค่าดังกล่าวมาใช้อ้างอิงในการหาอัตราส่วนคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการสร้างสารผลิตภัณฑ์ต่อไปนั้น ได้กำหนดอัตราส่วนโดยคาร์บอนระหว่างกลีเซอรอลและกลูโคสไว้ ต่อไปนี้ 0 ต่อ 1 1 ต่อ 1 2 ต่อ 1 1 ต่อ 2 และ 1 ต่อ 0 โดยเลี้ยงเชื้อไว้ในสภาวะเช่นเดียวกัน พบว่าในชั่วโมงที่ 48 สามารถตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์มีชีวิตได้มากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 1.14×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร จากอาหารที่มีการเติมกลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ลำดับต่อมาคืออาหารที่มีอัตราส่วนกลีเซอรอลต่อกลูโคสเป็น 0 ต่อ 1 ได้ปริมาณเชื้อสูงสุด 5.33×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนจำนวนเชื้อสูงสุด 4.19×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร พบจากอาหารที่มีกลีเซอรอลต่อกลูโคสในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 และอันดับสุดท้ายคืออัตราส่วนกลีเซอรอลต่อกลูโคส 1 ต่อ 0 ได้จำนวนเซลล์สูงสุด 3.30×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนในอาหารที่มีกลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 นั้น พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 1.8×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 32.5 ซึ่งพบการใช้กลีเซอรอล 6.55 กรัม และกลูโคส 13.45 กรัมเป็นแหล่งคาร์บอน ส่งผลให้เชื้อ *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 มีการเจริญดีที่สุด ส่วนการใช้น้ำตาลของเชื้อ พบว่าในอาหารที่มีทั้งกลีเซอรอลและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อจะใช้กลูโคสที่มีอยู่ทั้งหมดภายในชั่วโมงที่ 48 ของกระบวนการหมัก ยกเว้นในอาหารที่มีเพียงกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อจะใช้น้ำตาลจนเข้าสู่

เอกสารนี้สถานะคงที่ในชั่วโมงที่ 48 เช่นเดียวกัน เมื่อดูค่าพีเอชในระบบแล้วจะเห็นว่าน้ำหมักจะมีความเป็น

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

กรดเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ในช่วงโมเมนต์ 32.5 สำหรับอาหารทุกสูตรที่มีน้ำตาลกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน แสดงให้เห็นว่าการที่กล้าเชื้อใช้น้ำตาลกลูโคสได้ส่งผลกระทบต่อความเป็นกรดต่างในน้ำหมัก แต่หากกล้าเชื้อใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนแทน พีเอชของน้ำหมักจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก

เมื่อนำตัวอย่างน้ำหมักมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า เชื้อผลิตเอทานอล 1,3-โพรเพนไดออล แลคเตท และอะซิโตนเช่นกัน โดยพบแลคเตทเล็กน้อยในเชื้อที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเท่านั้น ส่วนเอทานอลและ 1,3-โพรเพนไดออลยังสามารถพบได้ในอาหารทุกสูตร สำหรับอาหารที่เติมกลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วน 0 ต่อ 1 1 ต่อ 1 และ 2 ต่อ 1 มีเอทานอลเป็นสารผลิตภัณฑ์หลัก แต่ในอาหารที่มีกลีเซอรอล 1 ส่วนและกลูโคส 2 ส่วน พบว่า เกิดเอทานอลเพียงเล็กน้อยตั้งช่วงโมเมนต์ 96 ของกระบวนการหมัก ขณะที่ 1,3-โพรเพนไดออลและ อะซิโตนเป็นสารผลิตภัณฑ์หลักที่เชื้อผลิตขึ้น โดยเชื้อจะสร้างอะซิโตนหลังจากปรับตัวได้แล้ว สำหรับอาหารที่มีกลีเซอรอลเท่านั้นเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสารผลิตภัณฑ์เกือบทั้งหมด คือ 1,3-โพรเพนไดออล เนื่องจากเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* จะใช้กลีเซอรอลที่มีในน้ำหมักสร้าง 1,3-โพรเพนไดออลแทนการสร้างเซลล์ขึ้นมา ดังนั้น ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนรวมถึงการใช้กลีเซอรอลและกลูโคสในอัตราส่วนต่างๆ จึงมีผลต่อการสร้างสารผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัย มีข้อเสนอแนะในการทดลองดังต่อไปนี้

1. ควรนำเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* สายพันธุ์อื่นมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเช่นเดียวกันด้วย เพื่อดูปริมาณการผลิตสารที่ต้องการ เนื่องจาก เชื้อที่ใช้ในงานวิจัยนี้สามารถผลิตบิวทานอลได้ปริมาณต่ำมากในสภาวะทดลอง แต่กลับผลิตสารผลิตภัณฑ์ตัวอื่นได้มากกว่า จึงควรนำเชื้อ *Clostridium* sp. มาทำการศึกษาค่าการเจริญและการสร้างสารผลิตภัณฑ์เปรียบเทียบกัน
2. หากต้องการต่อยอดงานวิจัยออกไปควรศึกษาการใช้กลีเซอรอลในเชื้อ *Clostridium* สายพันธุ์อื่นๆ ที่สามารถผลิตบิวทานอลได้ เพื่อหาว่าจะนำเชื้อสายพันธุ์ใดมาพัฒนาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เอกสารอ้างอิง

กฤตภา อินทรสุวรรณ นัฏฐจี หมิ่นพราน และ บุษบงษ์ พลเยี่ยม. 2553. การผลิตบิวทานอลจากเชื้อ *Clostridium acetobutylicum*.โครงการพิเศษ. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กองบรรณาธิการวารสารเมืองปศุสัตว์. 2549. ระบบไบโอแก๊สในฟาร์มสุกร.วารสารเมืองปศุสัตว์. การกลั่นน้ำมันดิบ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.lks.ac.th/student/kroo_su/chem15/PITOR2.html (8 กันยายน 2554)

จริยา ชมวารินทร์, กัญญาลักษณ์ ชัยคำภา ,นเรศ วโรภาสตระกูล. 2541. แบททีเรียวิทยาพื้นฐาน. ภาคจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

จिरกานต์ เมื่อนาโพธิ์, สุวัฒนา พวงเพิกศึกษ, วรพัฒน์ อรรถยุกติ, ชัยฤทธิ สัตยาประเสริฐ. 2009. กระบวนการหมักอะซิโตน-บิวทานอล จากมันสำปะหลัง. โครงการวิจัย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. สถาบันวิจัยและพัฒนาของคณะวิศวกรรมศาสตร์ : เลขที่ 91-IR-2527

จिरกานต์ เมื่อนาโพธิ์, เหมือนเดือน พิศาลพงศ์ และพลพร แสงบางปลา. 2544. รายงานโครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต n-butanol จากวัสดุทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์สันดาปภายใน.ทุนอุดหนุนการวิจัยพัฒนาและวิศวกรรม จากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.

จिरกานต์ เมื่อนาโพธิ์. 2009. การวิจัยพัฒนา เทคโนโลยีการผลิต N-butanol จากวัสดุทางการเกษตร เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์สันดาปภายใน. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ชัชวาล คำวงศ์, ณัฐวิทย์ พงศ์พันธุ์, นฤมลกิจ ทุนภาค, วิลาวัลย์ บันอิน, วิไลวรรณ สีนะกุล. 2552. แอลกอฮอล์.โครงการจัดทำระบบฐานข้อมูลพลังงานเพื่อการวิเคราะห์และวางแผนยุทธศาสตร์พลังงานของประเทศ สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานมหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เถลิงเดช พิลาศรี. 2549. ก๊าซชีวภาพ. ศูนย์ส่งเสริมพลังงานชีวมวล มูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม หน้า 12-15.

นวลจันทร์ ช้องสาย,สุวิญา เหลืองวีรชัย.2548.โครงการพิเศษทางเทคโนโลยีชีวภาพเรื่อง การศึกษาการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล จากน้ำคั้นลำต้นข้างฟางหวานโดย *Clostridium acetobutylicum* TISR 1462. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นักวิทย์ตามหา “เอทานอล”สายพันธุ์ใหม่. กรุงเทพธุรกิจ. 10 ธันวาคม 2551. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.bangkokbiznews.com/2008/12/10/news_318973.php. (2 กรกฎาคม 2554)

นันทนา อรุณฤกษ์. 2549. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอนแอโรบ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โอเดียนสไตร. หน้า 63-66.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

บริษัท โมเดิร์นเคมีเคิล จำกัด. N-BUTANOL. [Online]. Available :

http://www.modernchemical.co.th/pdf/NBU_Th.pdf. (13 กรกฎาคม 2554)

ผลิตไบโอดีเซล. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://phoenix.eng.psu.ac.th/chem/Project/12550/menu%20script/13.pdf>. (5 กรกฎาคม 2554)

พงศธร มหาสวัสดิ์ และ อมาวสี รักเรือง. 2550. ผลผลิตที่มีคุณค่าจากกลีเซอรอลดิบที่ได้จาก

กระบวนการผลิตไบโอดีเซล. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://phoenix.eng.psu.ac.th/chem/Project/1-2550/menu%20script/13.pdf>. (5 กรกฎาคม 2554)

พลังงาน สถานเทคโนโลยีก๊าซชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 20.

พัฒนา เหล่าไพบูลย์, ลักขณา เหล่าไพบูลย์, วิชัย สีสาว์ขรมาศ, ประสิทธิ์ ใจศีล. 2549. การผลิตบิวทานอลจากข้าวฟ่างหวานโดยแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* ด้วยวิธีการหมักแบบกะ และกึ่งกะ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาค คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

มณีนารถ สีนุตพงษ์. 2527. อิทธิพลของการเติมบิวทานอลและกรดบิวทีริกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของคลอสตริเดียมที่แยกได้จากดินในประเทศไทย. ปัญหาพิเศษของนักศึกษาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 30-32.

มาตรฐานการผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกลีเซอรินบริสุทธิ์ มอก. 377-2538 (2538)

รติกร พิทักษ์นรเศรษฐ, รัตันณา คงคาทิพย์, ชุตินา นันทเสนา. 2552. การผลิตบิวทานอลจากเชื้อ *Clostridium acetobutylicum*. โครงการวิจัย. คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 121 ตอนที่ 21 ง (11 มี.ค.47) หน้า 7-13 (เอกสารภาษาไทย ชั้น 5)

วิชัย สีสาว์ขรมาศ, ลักขณา เหล่าไพบูลย์ และประสิทธิ์ ใจศีล. 2548. คณะเทคโนโลยี การศึกษา การผลิตบิวทานอลจากข้าวฟ่างหวานโดยแบคทีเรีย *Clostridium acetobutylicum* และ *Clostridium beijerinckii*

วิภา สุโรจนะเมธากุล. คุณสมบัติและประโยชน์ของกลีเซอรอล. วารสารอาหาร. 33 (2): 87-88.

ศิริพร จงผาดิวุฒิ. กลีเซอรอล ผลิตภัณฑ์พลอยได้จากไบโอดีเซล. Technology Promotion Mag. 35 (198): 70-76.

ศูนย์ประสานงานโครงการปฏิบัติการหาร 2. ไบโอบิวทานอล พลังงานชีวภาพแบบใหม่เหนือกว่า เอทานอล. [ออนไลน์]. Available:

<http://www.energyfantasia.com/ef4/pedia/pediashow.php?show=402>. (13 กรกฎาคม 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่ให้ผู้เห็นเข้าใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น หากมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

- สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงาน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. แอลกอฮอล์. [ออนไลน์]. Available: [http:// www.thaienergydata.in.th/econtent/upload_pic/1190688836.pdf](http://www.thaienergydata.in.th/econtent/upload_pic/1190688836.pdf). (1 กรกฎาคม 2554)
- สมใจ ศิริโชค. 2537. เทคโนโลยีการหมัก. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ศูนย์หนังสือกรุงเทพ.
- สมใจ ศิริโชค. 2547. จุลอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ. หน้า 281-285.
- สมชัย จันทร์สว่าง. 2550. รายงานวิจัยเรื่องเทคโนโลยีแก๊สชีวภาพ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร สบพชย์ ใจมา. 2548. รายงานการวิจัยเรื่องการใช้ประโยชน์จากก๊าซชีวภาพ. รายงานวิศวกรรม สุนทร กาญจนเทวี. 2537. ผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตสารละลายอินทรีย์ในกระบวนการหมักแบบกะด้วยเชื้อ *Clostridium acetobutylicum* จากกากน้ำตาล (Effect of Temperature upon solvent production in batch culture of *Clostridium acetobutylicum* cane molasses). รายงานการวิจัย ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุรพล ภาเจริญ. 2530. การผลิตกึ่งอุตสาหกรรมของบิวทานอล-1 และบิวทิลเนเตรตเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ. 2530.
- สุวิมล สวยสม. 2550. ระบบบำบัดน้ำเสียแบบยูเอเอสบี. UASB. วารสารเทคโนโลยีก๊าซชีวภาพ ฉบับที่ 6. หน้า 21-22.
- อังคณา मुखพลอย และ ชรินทร์ เตชะพันธุ์. 2546. ศึกษาการผลิตบิวทานอลจากฟางข้าว. โครงการวิจัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- Andrade, JC and Vasconcelos, I. 2003. Continuous cultures of *Clostridium acetobutylicum*: culture stability and low-grade glycerol utilization. *Biotechnology Letters*. 25: 121-125.
- Andreesen, JR, Bahl, H, and Gottschalk, G. 1989. Introduction to the physiology and biochemistry of the genus *Clostridium*. In: Minton NP, Clarke DJ, editors. *Clostridia*. New York: Plenum Press; p. 27-62.
- Badr, R. Toledo, M.K. and Hamdy, MK. 2000. Continuous acetone-ethanol-butanol fermentation by immobilized cells of *Clostridium acetobutylicum*. *Biomass and Bioenergy*. 20(2): 119-132.
- Bahl H., Andersch W., Gottschalk G. 1982. Continuous production of acetone and butanol by *Clostridium acetobutylicum* in a two-stage phosphate limited chemostat. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 15: 201-205.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

- Ballongue, J, Amine, J, Masion, E, Petitdemange, H, and Gay, R. 1985. Induction of acetoacetate decarboxylase in *Clostridium acetobutylicum*. *FEMS Microbiology Letters*. 29: 273-277.
- Bergmeyer H.U., Grassel M., 1983. Reagents for enzymatic analysis: enzymes- α -amylase. *Methods of Enzymatic Analysis*. vol. 2 Verlag Chemie. Weinheim. Germany, 151-152.
- Biebl, H., K. Menzel, A.-P. Zeng and W.-D. Deckwer. 1999. Microbial production of 1,3-propanediol. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 52 (3): 289-297.
- Bowles, LK and Ellefson, WL. 1985. Effects of butanol on *Clostridium acetobutylicum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 50:1165-1170.
- Cho DH, Lee YJ, Um YS, Sang BI, Kim YH. 2009. Detoxification of model phenolic compounds in lignocellulosic hydrolysates with peroxidase for butanol production from *Clostridium beijerinckii*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 83:1035-43.
- Cynkin, MA and Delwiche, EA. 1958. Metabolism of pentoses by clostridia I: Enzymes of ribose dissimilation in extracts of *Clostridium perfringens*. *The Journal of Bacteriology*. 75: 331-334.
- Durre, P. 2008. Fermentative Butanol Production Bulk Chemical and Biofuel. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1125: 353-362.
- Ezeji T, Qureshi N, Blaschek HP. 2007. Butanol production from agricultural residues: impact of degradation products on *Clostridium beijerinckii* growth and butanol fermentation. *Biotechnol Bioeng*. 97:1460-9.
- Ezeji TC, Qureshi N., Blaschek HP. 2005. Continuous butanol fermentation and feed starch retrogradation: butanol fermentation sustainability using *Clostridium beijerinckii* BA101. *J. Biotechnol*. 115: 179-187.
- Fond, O, Matta-Ammouri, G, Petitdemange, H, and Engasser, JM. 1985. The role of acids on the production of acetone and butanol by *Clostridium acetobutylicum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 22:195-200.
- Formanek J., Mackie R., Blaschek HP. 1997. Enhanced butanol production by *Clostridium beijerinckii* BA101 grown in semidefined P2 medium containing 6 percent maltodextrin or glucose. *App. Environ. Microbiol*. 63: 2306-2310.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

- Fukada, H, Konda, A and Noda, H. 2001. Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 92(5): 405-416.
- Girbal, L and Soucaille, P. 1994. Regulation of *Clostridium acetobutylicum* metabolism as revealed by mixed-substrate continuous cultures: role of NADH/NAD ratio and ATP pool. *The Journal of Bacteriology*. 176: 6433–6438.
- Hugh AG., Chen JS. 1983. Acidic condition are not obligatory for onset of butanol formation by *Clostridium beijerinckii* (Synonym, *C. butylicum*). *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 321-327.
- Johnson, MJ, Peterson, WH, and Fred, EB. 1931. Oxidation and reduction relations between substrate and products in the acetone-butyl alcohol fermentation. *The Journal of Biological Chemistry*. 91: 569-591.
- Jones, DT and Woods, DR. 1986. Acetone-butanol fermentation revisited. *Microbiological Reviews*. 50: 484–524.
- Kell, DB, Peck, MW, Rodger, G and Morris, JGX. 1973. On the permeability to weak acids and bases of the cytoplasmic membrane of *Clostridium pasteurianum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 99: 81–88.
- Kotze, JP. 1969. Glycolytic and related enzymes in clostridial classification. *Applied Microbiology*. 18: 744–747.
- Lee, SY, Park JW, Jang SH, Nielsen LK, Kim J, Jung KS. 2008. Fermentative butanol production by clostridia. *Biotechnol Bioeng*, 101:209-28.
- Lin, YL and Blaschek HP. 1983. Butanol production by a butanol-tolerant strain of *Clostridium acetobutylicum* in extruded corn broth. *Appl Environ Microbiol.* 45: 966-973.
- Liu, SJ, Amidon TE, Wood CD. 2008. Membrane filtration concentration and purification of hydrolyzates from biomass. *J Biobased Mater Bioenergy*. 2:121e34.
- Ljungdahl, LG, Hugenholtz, J, and Wiegel, J. 1989. Acetogenic and acid-producing clostridia. In: Minton NP, Clarke DJ, editors. *Clostridia*. USA, NY: Plenum Press; p. 145–191.
- Maddox IS, Qureshi N, Roberts-Thomson K. 1995. Production of acetone–butanol–ethanol from concentrated substrates using *Clostridium acetobutylicum* in

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่เพื่อเผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

- an integrated fermentation-product removal process. *Process Biochemistry*. 30: 209–215.
- Maintinguer, SI, Fernandes, BS, Duarte, ICS, Saavedra, NK, Adorno, MAT and Varesche, MB. 2008. Fermentative hydrogen production by microbial consortium. *International Journal of Hydrogen Energy*. 33: 4309–4317.
- Makalesi, A. 2008. Enhanced Butanol Production by Mutant Strains of *Clostridium acetobutylicum* in Molasses Medium. *Turkish Journal of Biochemistry*. 33(1): 25-30.
- Mallinckrodt Chemicals, The Columbia Electronic Encyclopedia, 6th ed. 2007,
- McCutchan WN., Hickey RJ. 1954. The butanol acetone fermentations. *Ind. Ferment*. 1: 347-388.
- Miller, GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Anal. Chem.* 426–429.
- Minton NP, Clarke DJ, editors. *Clostridia*. USA, NY: Plenum Press; p. 145–191.
- Monot F., Engasser JM. 1983. Production of acetone and butanol by batch and continuous culture of *Clostridium acetobutylicum* under nitrogen limitation. *Biotechnol. Lett.* 5: 213-218.
- Monot F., Martin J., Petidemange H., Gay R. 1982. Acetone and butanol production by *Clostridium acetobutylicum* in a synthetic medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 1318-1324.
- Moreira, AR, Ulmer, DC and Linden, JC. 1981. Butanol toxicity in the butyric fermentation. *Biotechnology & Bioengineering Symposium*. 11: 567–579.
- Nolling, J, Breton, G, Omelchenko, MV, Makarova, K, Zeng, Q, and Gibson, R. 2001. Genome sequence and comparative analysis of the solvent-producing bacterium *Clostridium acetobutylicum*. *The Journal of Bacteriology*. 183: 4823–4838.
- O'Brien RW., Morris JG. 1971. Oxygen and the growth and metabolism of *Clostridium acetobutylicum*. *J. Gen. Microbiol.* 68: 307-318.
- Ounine, K, Petitdemange, H, Raval, G, and Gay, R. 1983. Acetone-butanol production from pentoses by *Clostridium acetobutylicum*. *Biotechnology Letters*. 5:605–610.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

- Parekh M., Formanek J., Blaschek HP.1998. Development of cost effective glucose-corn steep medium for the production of butanol by *Clostridium beijerinckii*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 21: 187–91.
- Parekh M., Formanek J., Blaschek HP.1999. Pilot-scale production of butanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 using low-cost fermentation medium based on corn steep water. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 51: 152–7.
- Pimpa P., Goma G.1986.The biochemistry of variation of solvent ratios in acetone-butanol fermentation. Open-file report, CHEM 01-001-1986.Faculty of Science, Chiangmai University. Chiangmai, Thailand.
- Qureshi N., Blaschek HP. 1999. Butanol recovery from model solution/fermentation broth by pervaporation: evaluation of membrane performance. *Biomass and Bioenergy*. 17, 175–84
- Qureshi N., Saha BC., Cotta MA. 2007. Butanol production from wheat straw hydrolysate using *Clostridium beijerinckii*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 30: 419–427.
- Qureshi N., Saha BC., Cotta MA. 2008. Butanol production from wheat straw by simultaneous saccharification and fermentation using *Clostridium beijerinckii*: part II – fed-batch fermentation. *Biomass and Bioenergy*, 32(2): 176–183.
- Qureshi N., Saha BC., Dien B., Hector RE., Cotta MA. 2010. Production of butanol (a biofuel) from agricultural residues: Part I – Use of barley straw hydrolysate. *Biomass and Bioenergy*, 34(4): 559 –65.
- Qureshi N., Saha BC., Hector RE., Dien B., Hughes SR., Liu S.2010. Production of Butanol (a biofuel) from agricultural residues: part II - Use of corn stover and switchgrass hydrolysates. *Biomass and Bioenergy*, 34(4): 566–571.
- Qureshi, N, Saha, BC, Hector, RE and Cotta, MA. 2008. Removal of fermentation inhibitors from alkaline peroxide pretreated and enzymatically hydrolyzed wheat straw: Production of butanol from hydrolysate using *Clostridium beijerinckii* in batch reactors. *Biomass and Bioenergy*. 32, 1353-1358.
- Rice, EW, Ann H, FransonM, Greenberg AE, Clesceri LS. 2005. In Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed., 5. American Technical Publishers. p. 48e54.

Robinson GC.1922.A study of the acetone and butyl alcohol fermentation of various carbohydrates. *J. Biol. Chem.* 52: 125-155.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

- Rogers, P. 1986. Genetics and biochemistry of *Clostridium* relevant to development of fermentation processes. *Advances in Applied Microbiology*. 31: 1–60.
- Ruchir PD., Lars KN., Eleftherios TP.1999. Stoichiometric modeling of *Clostridium acetobutylicum* fermentation with non-linear constraints. *J. Biotechnol.* 71,191- 205
- Spivey, MJ. 1978. The acetone/butanol/ethanol fermentation. *Process Biochemistry*. 13: 2–5.
- Tashiro Y., Takeda K., Kobayashi G., Sonomoto K., Ishizaki A., Yoshino S .2004. High butanol production by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 in fed-batch culture with pH-stat continuous butyric acid and glucose feeding method. *J. Biosci*, 98: 263-268.
- Terracciano, JS and Kashket, ER. 1986. Intracellular conditions required for initiation of solvent production by *Clostridium acetobutylicum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 52: 86–91.
- Van Der Westhuizen, A, Jones DT, Woods DR. 1982. Autolytic activity and butanol tolerance of *Clostridium acetobutylicum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 44. 1277-81.
- Van Walsum, GP, Allen SG, Spencer MJ, Laser MS, Antal MJ, Lynd LR. 1996. Conversion of lignocellulosics pretreated with liquid hot water to ethanol. *Appl Biochem Biotechnol.* 57/58:157e70.
- Vollherbst-Schneck, KJA, Sands, A and Montencourt, BS. 1984. Effect of butanol on lipid composition and fluidity of *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824. *Applied and Environmental Microbiology*. 47:193–194.
- Wang, Z, Zhuge, J, Fang, H, Bernard, A. 2008. Glycerol Production by microbial fermentative: A review. *Biotechnology Advances*.19: 201-223.
- [Online]. Available. เข้าถึงได้จาก: <http://msds.pcd.go.th/searchName.asp?VID=1568> (8 ตุลาคม 2554)
- [Online]. Available. เข้าถึงได้จาก: <http://phoenix.eng.psu.ac.th/chem/Project/1-2550/menu%20script/13.pdf> (8 ตุลาคม 2554)
- [Online]. Available. เข้าถึงได้จาก: <http://moomsabuy.exteen.com/20070717/clostridium-spp> (8 ตุลาคม 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และเนื้อหาเป็นของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่ควรแก้ไขหรือดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

http://www.thaienergydata.in.th/econtent/upload_pic/1190688836.pdf

(10/07/2552)

[Online].Available: ภาณุชนาถ คำเหล็กและสมฤทัย ตาใจ

<http://www.geocities.com/beejen26/sheet5.htm> (10/07/2552)

[Online].Available: [www.apcbkk.com/file/thai/Alcohol%20Group/n-Butanol%](http://www.apcbkk.com/file/thai/Alcohol%20Group/n-Butanol%20(NBA).pdf)

[20\(NBA\).pdf](http://www.apcbkk.com/file/thai/Alcohol%20Group/n-Butanol%20(NBA).pdf) (01/04/2554)

[Online].Available: www.biology.clc.uc.edu/courses/bio104/lipids.htm (01/04/2554)

[Online].Available:

www.bpe.wur.nl/UK/Research/Projects/Maximal+butanol+yield+by+directed+engineerin/ (25/03/2554)

[Online].Available: www.butanol.com (01/04/2554)

[Online].Available: www.commons.wikimedia.org/wiki/File:Butanol_flat_structure.png

(01/04/2554)

[Online].Available: www.en.wikipedia.org/wiki/Clostridium_beijerinckii (25/03/2554)

[Online].Available: <http://www.energyfantasia.com/ef4/pedia/pediashow.php?show=402>

(21/09/2553)

[Online].Available:

www.eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap1/chapter1_2.html (22/03/2554)

[Online].Available:

http://www.foodindustrythailand.com/v17/index.php?option=com_content&view=article&id=531&Itemid=132 (21/09/2553)

[Online].Available: www.genome.jgi-psf.org/clobe/clobe_home.html (22/03/2554)

[Online].Available: www.igetweb.com/www/plantscience/index (25/03/2554)

[Online].Available: www.itd.htc.ac.th/st (22/03/2554)

[Online].Available: <http://www.kasetcity.com/ThaiBioenergy/Story/OAview.asp?id=160>

(20/09/2553)

[Online].Available: www.learners.in.th/blog/biochem/171449 (01/04/2554)

[Online].Available: http://www.lks.ac.th/student/kroo_su/chem8/pic/Untitled-35.jpg

(24/09/2553)

[Online].Available: www.manasu.safety-stou.com/page/6/ (22/03/2554)

[Online].Available: Microbewiki[®]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

<http://microbewiki.kenyon.edu/images/e/e8/Clostridium.jpg> (10/07/2552)

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ยกเว้นที่มามีเหตุแห่งข้อยกเว้นที่ และต้องขออนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

[Online].Available: www.msds.pcd.go.th/searchName.asp?VID=1568 (01/04/2554)

[Online].Available: www.neutron.rmutphysics.com/science-glossary/index.php?option=com_content&task=view&id=12495&Itemid=5 (25/03/2554)

[Online].Available: www.phoenix.eng.psu.ac.th/chem/Project/1-2550/menu%20script/13.pdf
(25/03/2554)

[Online].Available:

http://www.phoenix.eng.psu.ac.th/qa/KPR/Thesis/Ref_Study_%202551/%E0%B9%80%E0%B8%84%E0%B8%A1%E0%B8%B5%E0%B8%AA%E0%B8%B8%E0%B8%A3%E0%B8%A8%E0%B8%B1%E0%B8%81%E0%B8%94%E0%B8%B4%E0%B9%8C.pdf (17/10/2553)

[Online].Available: www.phoenix.eng.psu.ac.th/qa/KPR/Thesis/Ref_Study_%202551/เคมี/สรุปคดี.pdf (25/03/2554)

[Online].Available:

http://pikul.lib.ku.ac.th/cgi-bin/agre.exe?rec_id=000221&database=agre&search_type=link&table=mona&back_path=/agre/mona&lang=thai&format_name=TFMON (3/04/2554)

[Online].Available: <http://www.researchgate.net/publication/27807181> (3 เมษายน 2554)

[Online].Available: http://www.researchgate.net/publication/39024712_n-butanol
(21/09/2553)

[Online].Available: <http://www.sakolraj.ac.th/darunee/bbb5.htm> (10/07/2552)

[Online].Available: www.th.wikipedia.org/wiki/glucose (25/03/2554)

[Online].Available:

http://www.thaienergydata.in.th/econtent/upload_pic/1190688836.pdf
(23/09/2553)

[Online].Available:

http://www.thaigoodview.com/library/contest2552/type2/science04/28/P_Untitled-25.html (24/09/2553)

[Online].Available:

<http://thaimisc.pukpik.com/freewebboard/php/vreply.php?user=all&topic=668&page=1> (20/09/2553)

เอกสภา [Online].Available: <http://timnovate.wordpress.com/2009/06/> (23/09/2552) ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆก็ตาม ขอสงวนสิทธิ์ในสิ่งที่ปรากฏ ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

[Online].Available: www.vicharkarn.com/vcafe/35533 (25/03/2554)

[Online].Available: www.weekendhobby.com/offroad/newenergy/Question.asp?ID=1684
(25/03/2554)

[Online].Available: WIKIPEDIA® . Butanol. <http://en.wikipedia.org/wiki/Butanol>.
(20/06/2552).

[Online].Available: www.wtt-lite.nist.gov/cgi-bin/openindex.cgi?cid=78922 (25/03/2554)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล คำนวณแหล่งคาร์บอน และกราฟมาตรฐาน

การทำกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

กราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐานมีขั้นตอนการเตรียมดังนี้ เริ่มจากอบน้ำตาลกลูโคสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วชั่งมา 0.1000 กรัมละลายด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นจึงนำสารละลายข้างต้นมาทำการเจือจางเพื่อเตรียมเป็นสารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0 200 400 600 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายกลูโคสแต่ละความเข้มข้นมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นทันทีแล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ได้ผลดังตาราง

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

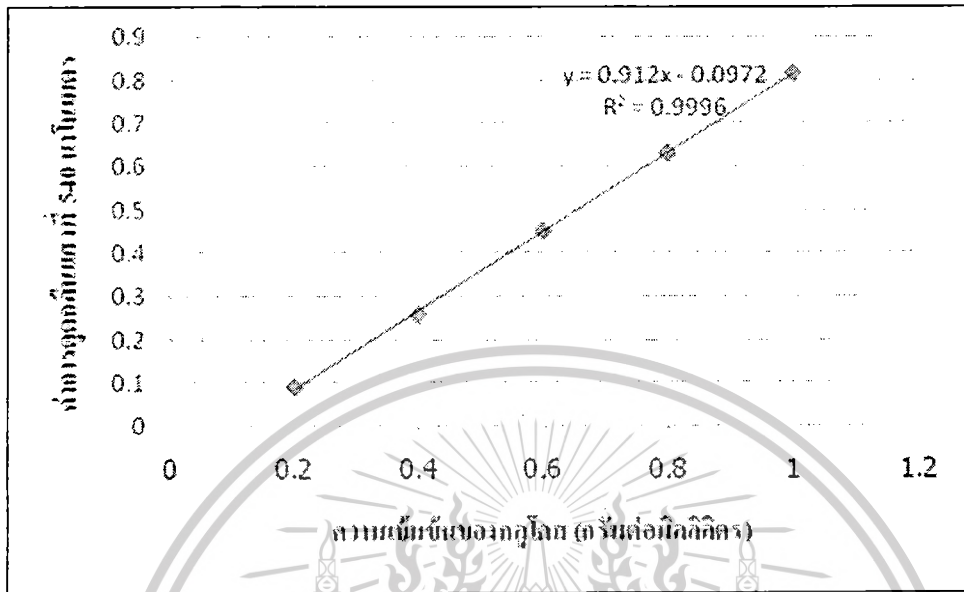
น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง		
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3
0	0	0	0
0.2	0.091	0.105	0.136
0.4	0.259	0.251	0.322
0.6	0.452	0.360	0.504
0.8	0.631	0.501	0.681
1.0	0.817	0.658	0.834

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

นำข้อมูลจากตารางมาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในการทดลองแต่ละชุด ดังนี้



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DNS

การคำนวณแหล่งคาร์บอน

เนื่องจากในงานวิจัยได้ศึกษาถึงอิทธิพลของแหล่งคาร์บอน โดยต้องทำการเทียบอัตราส่วนระหว่างกลีเซอรอลกับกลูโคส ซึ่งไม่สามารถทำการวัดโดยตรงได้ เพราะอะตอมของธาตุคาร์บอนในสารทั้งสองชนิดที่ต้องการศึกษานั้นมีจำนวนไม่เท่ากัน จึงจำเป็นต้องทำการเทียบอัตราส่วนอะตอมคาร์บอนของสารทั้งสองก่อน เพื่อคำนวณหามวลของกลีเซอรอลและกลูโคสที่จะใช้ต่อไป

วิธีการคำนวณนั้นมีดังนี้

- 1) ทำการหาโมเลกุลของกลีเซอรอลและกลูโคส โดยจะได้

มวลโมเลกุลของกลีเซอรอล เท่ากับ 92

มวลโมเลกุลของกลูโคส เท่ากับ 180

- 2) ศึกษาสูตรโครงสร้างของสาร พบว่า

โมเลกุลกลีเซอรอล มีคาร์บอน 3 อะตอม

โมเลกุลกลูโคส มีคาร์บอน 6 อะตอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่มอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

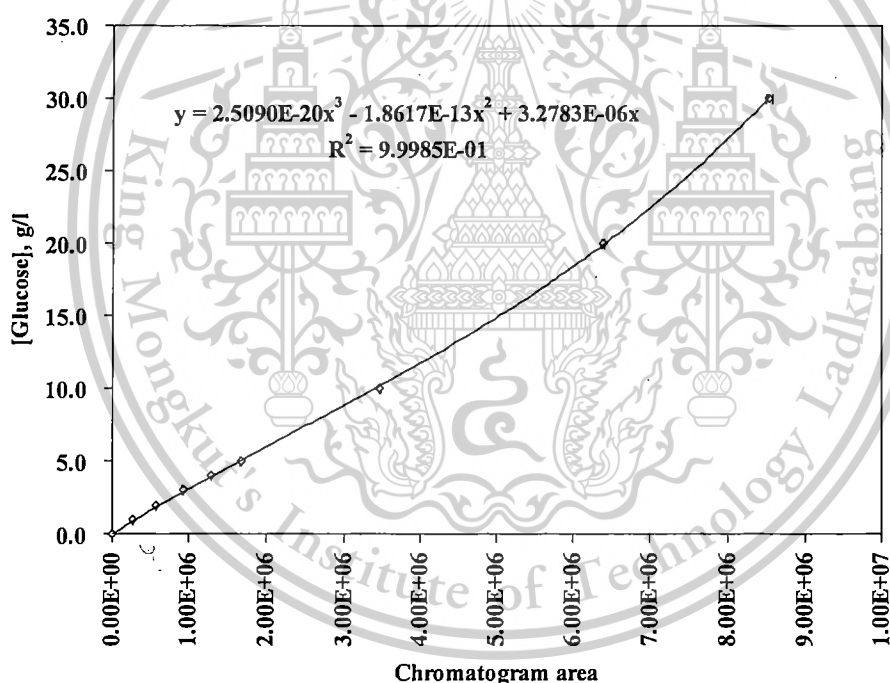
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ซึ่งในสารทั้งสองชนิด พบว่ามีอะตอมของคาร์บอนคิดเป็น 0.3913 (กลีเซอรอล) และ 0.4000 (กลูโคส) โมลในสารตัวอย่าง 1 โมล ซึ่งเราจะใช้ค่าทั้งสองนี้ทำการเทียบหาอัตราส่วนต่อไป

จากงานวิจัยพบว่าต้องชั่งสารทั้งสองให้ได้ปริมาตรรวม 20 กรัม ในอัตราส่วนต่างๆ ซึ่งวิธีการคำนวณจะนำเอาค่าปริมาตรรวมมาแบ่งเป็นสองส่วน และนำค่าแต่ละส่วนคูณกับค่าโมลของอะตอมคาร์บอนที่คำนวณไว้ ซึ่งค่าที่ได้จะเป็นค่าอัตราส่วนโดยโมลระหว่างสารทั้งสอง ตัวอย่าง เช่น ต้องการเตรียมกลีเซอรอล 1 ส่วน และกลูโคส 2 ส่วน สามารถแบ่งค่าปริมาตรรวมออกเป็น 6.75 และ 13.25 กรัม เมื่อคูณด้วยโมลของอะตอมคาร์บอนจะได้ 2.6413 และ 5.3 ซึ่งเป็นค่าอัตราส่วนประมาณ 1 ต่อ 2 (หากต้องการหาอัตราส่วนอื่นๆ จะคำนวณในลักษณะเดียวกัน)

กราฟมาตรฐานของสารผลิตภัณฑ์จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

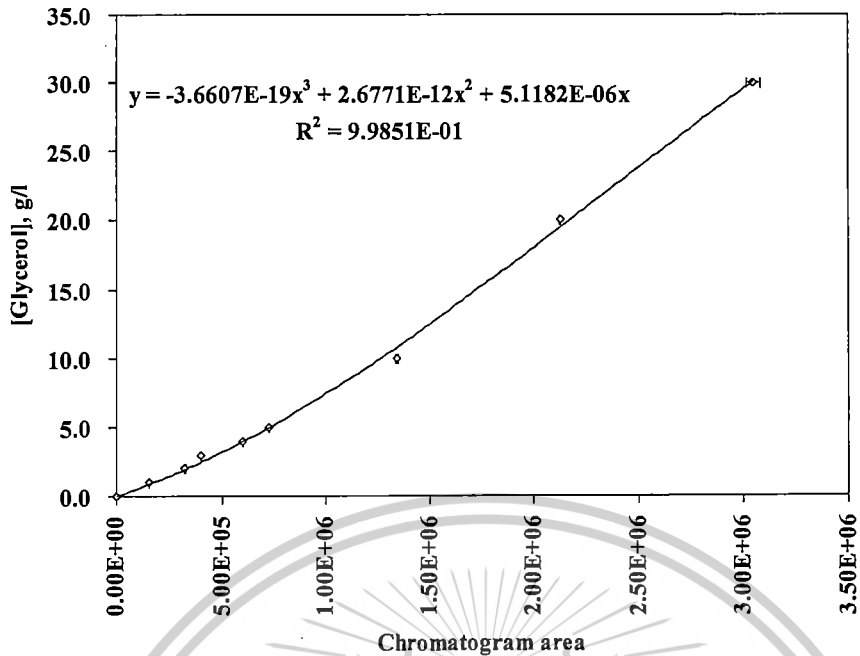


รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของกลูโคสจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

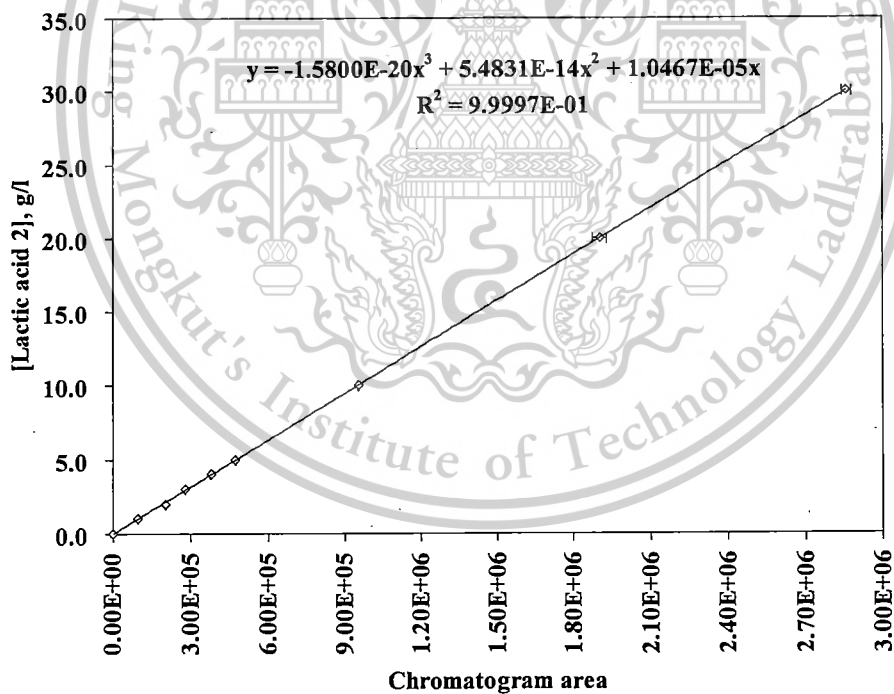
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานของกลีเซอรอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

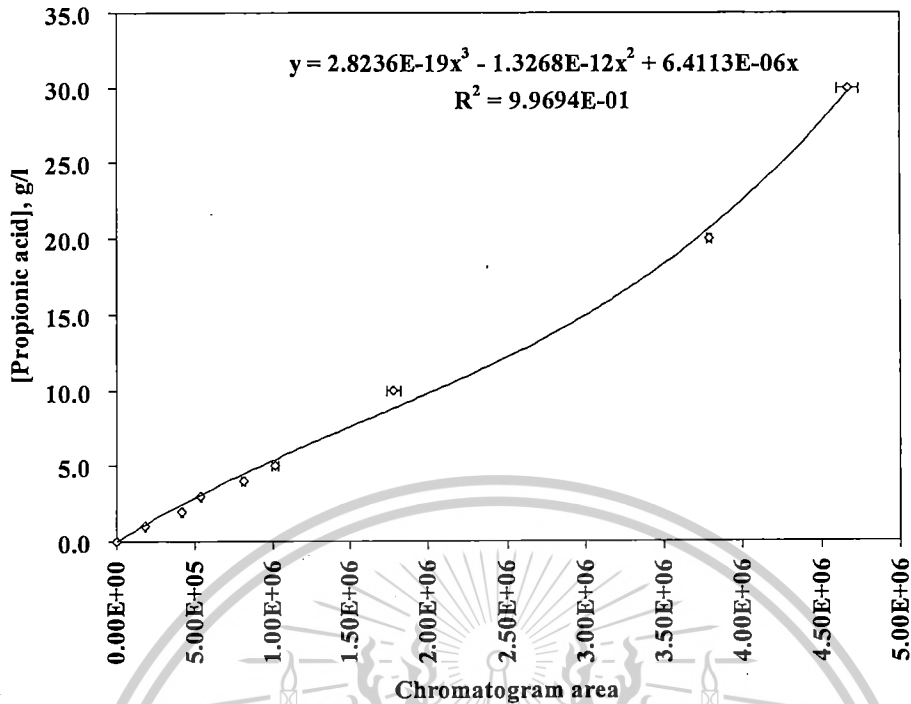


รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานของกรดแลคติกจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

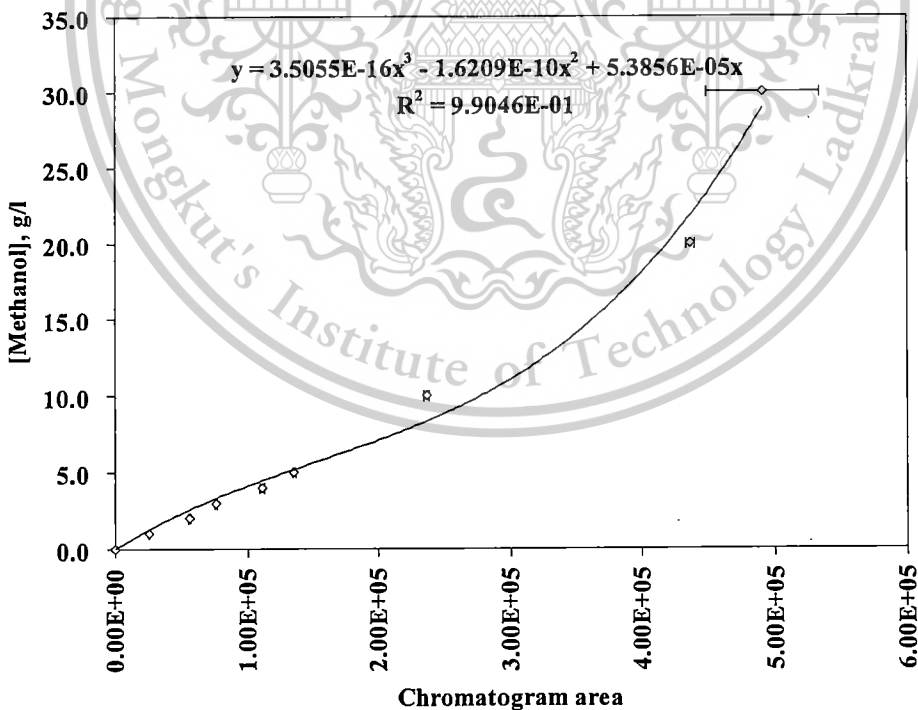
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ ก.5 กราฟมาตรฐานของกรดโพรพิโอนิกจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

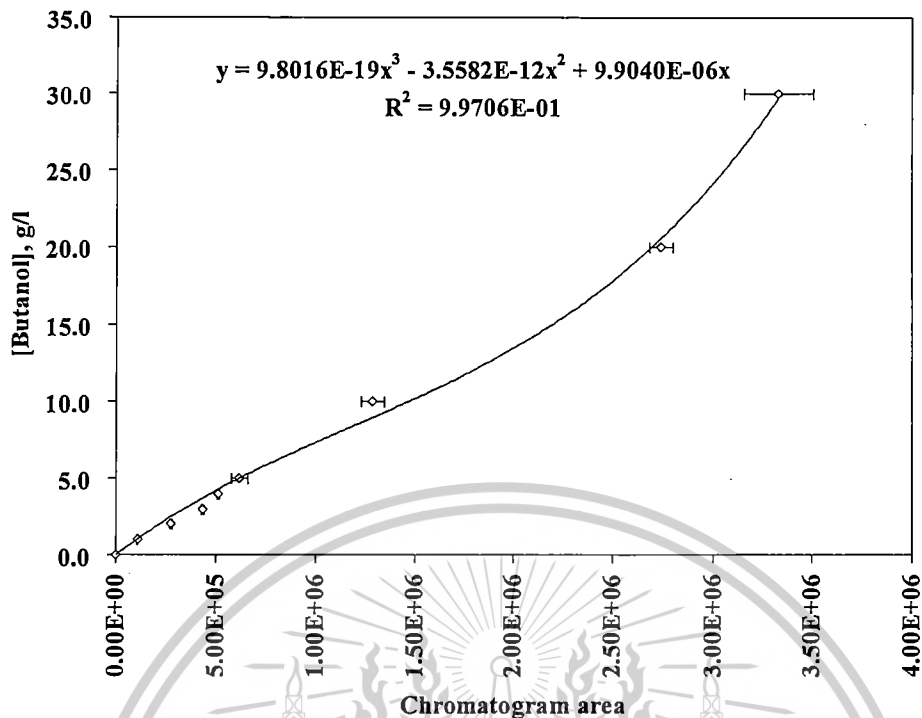


รูปที่ ก.6 กราฟมาตรฐานของเมทานอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

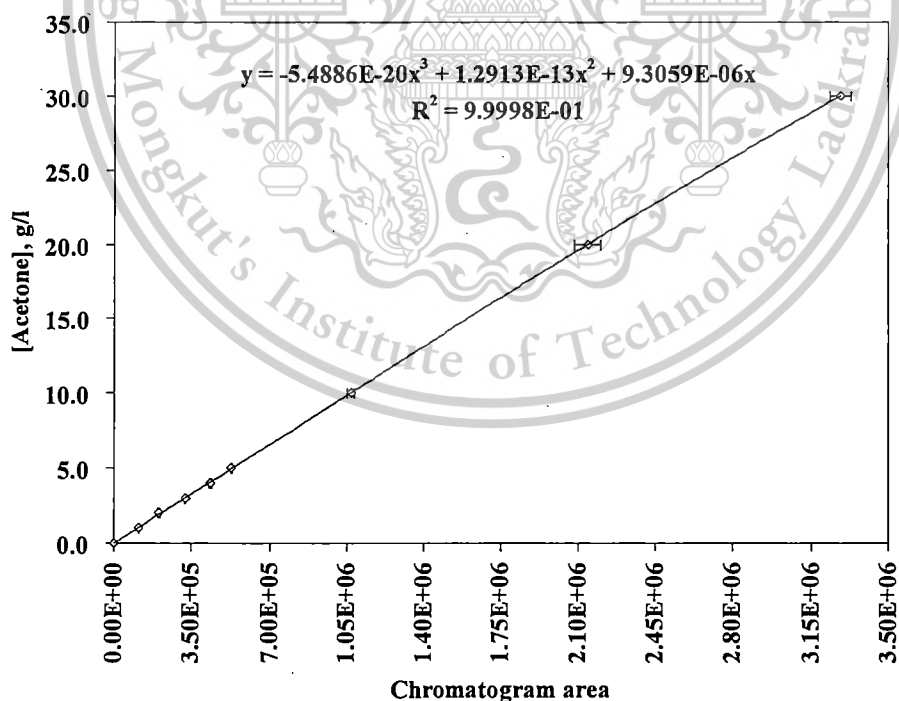
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ ก.7 กราฟมาตรฐานของบิวทานอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

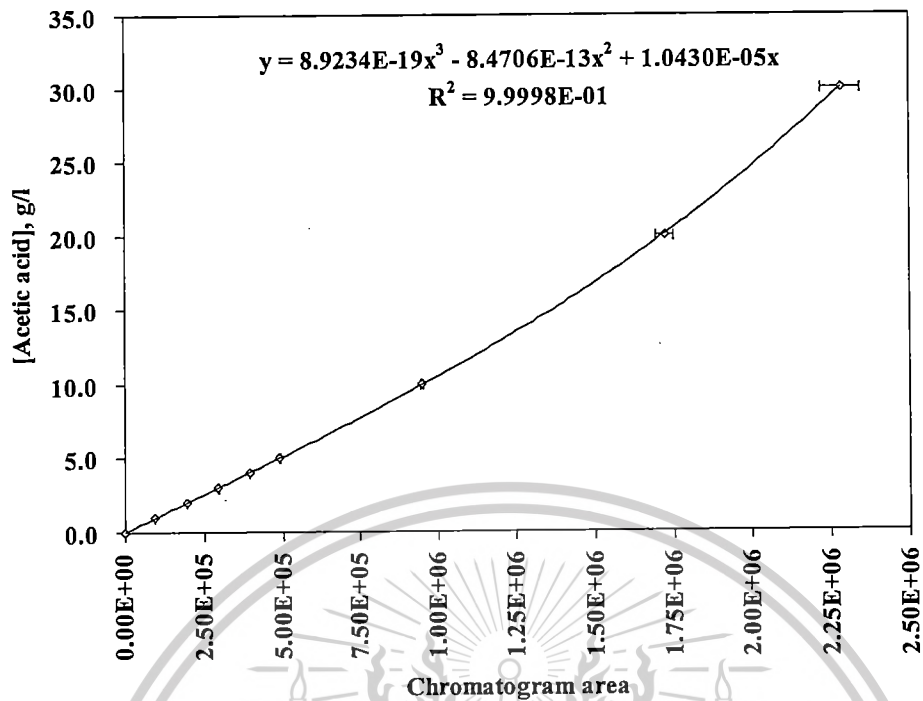


รูปที่ ก.8 กราฟมาตรฐานของอะซิโตนจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

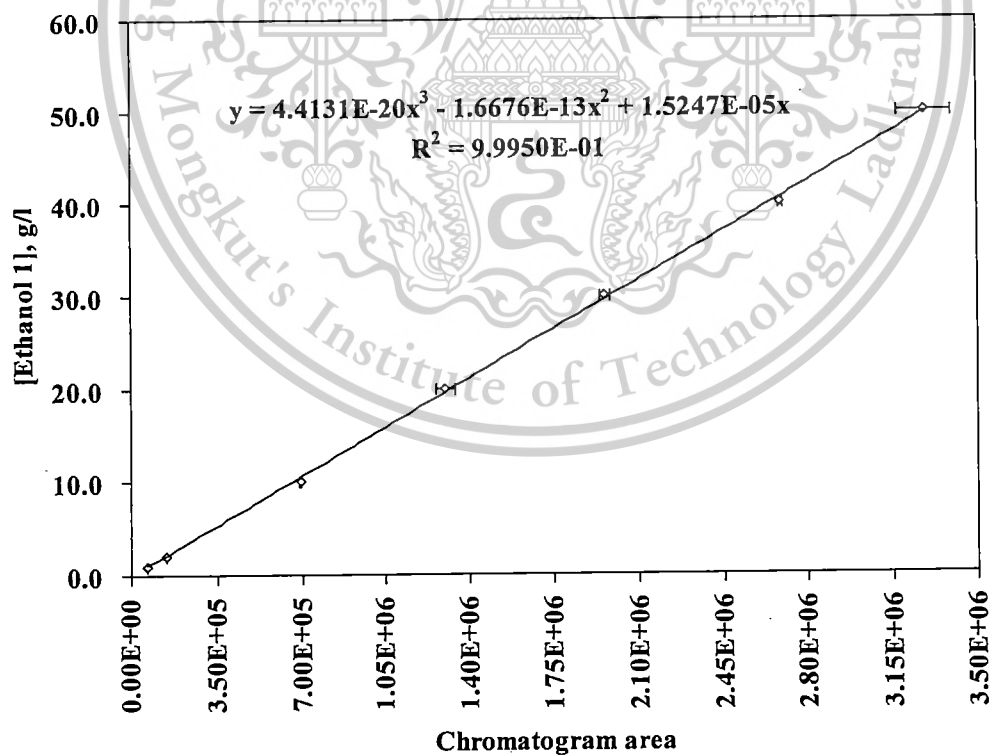
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



รูปที่ ก.9 กราฟมาตรฐานของกรดอะซิติกจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



รูปที่ ก.10 กราฟมาตรฐานของเอทานอลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.