

เอกสารอ้างอิง

1. โกวิท ศตาคี และอิทธิพล ปานงาม, "การวิจัยเพื่อนำเอาแอลกอฮอล์หมักมาใช้เป็นเชื้อเพลิงกับเครื่องยนต์สันดาปภายใน," สถาบันวิจัยและพัฒนา คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร, 2527.
2. บุญจ ภมรสุต และคณะ, "โครงการวิจัยเติมสารเสริมในแอลกอฮอล์เพื่อใช้แทนน้ำมันดีเซล," สภาวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพมหานคร, 2528.
3. Lenz, T.G. and A.R. Mreire, "Economic Evaluation of the Acetone-Butanol Fermentation," Ind. Eng. Prod. Res. Dev. 19, 478-483, 1980.
4. Compere, A.L. and W.L. Griffith, "Evaluation of Substrate for Butanol Production," Dev. Ind. Microbiol. 20, 523-517, 1979.
5. Rogers, P., "Genetic and Biochemistry of Clostridium Relevant to Development of Fermentation Processes," Adv. Appl. Microbiol., (Allen I. Laskin, ed.), vol. 31, pp. 1-60, Academic Press, New York, 1986.
6. Pescott, S.C., and C.G. Dunn, Industrial Microbiology, pp. 250-284, McGraw-Hill Book Co., New York, 3rd. ed., 1985.
7. Walton, M.T., and J.L. Martin, "Production of Butanol-Acetone by Fermentation," Microbial Technology, vol 1, pp. 187-209, Academic Press, New York, 2nd. ed., 1979.
8. Ross, D., "The Acetone-Butanol Fermentation," Prog. Ind. Microbiol., 3, 71-91, 1978.
9. Robson, P.M., and D.T. Jones, "Industrial Production of Acetone-Butanol," Colloque Societe France Microbiol., 169-213, 1982.

10. Saddler, J.N., E.K.C. Yu, M. Mes-Hartree, N. Levitin., and H.N. Brownell, "Utilization of Enzymatically hydrolyzed Wood Hemicelluloses by Micro-Organisms for Production of Liquid Fuels," App. Environ. Microbiol., 45, 153-160, 1983.
11. Ennis, B.M., and I.S. Maddox, "Use of Clostridium acetobutylicum p 262 for Production of Solvent from Whey Permeate," Biotech. Lett., 7, 601-606, 1985.
12. Voget, C.E., C.F. Mignone, and R.J. Ertola, "Influence of Temperature on Solvent Production from Whey," Biotech. Lett., 7(8), 607-610, 1985.
13. Yu, E.K.C., L. Deschatelets, and J.N. Saddler, "The Bioconversion of Wood Hydrolysates to Butanol and Butanediol," Biotech. Lett., 6(5), 627-332, 1984.
14. จีรกานต์ เมืองนาโพธิ์, สุวัทนา พวงเพิกคิก, วรวัฒน์ อรรถยุกติ และ ชัยฤทธิ์ สัตยาประเสริฐ, "กระบวนการหมักอะซิโตน-บิวทานอล จากมันสำปะหลัง," สถาบันวิจัยและพัฒนา คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร, 2528.
15. Ounine, k., H. Petitdemange, G. Raval, and R. Gay, "Acetone-Butanol Production from Pentose by Clostridium acetobutylicum," Biotech. Lett., 7, 255-260, 1985.
16. Pimpa, P., C. Muangnapoh, M. Minier and G. Goma, "Fermentation Acetonobutylique : Observations sur Les Mecanismes d' Inbibition," Colloque Societe France Microbiol., 169-213, 1982.
17. Spivey, M.T., "The Acetone/Butanol/Ethanol Fermentation," Proc. Biochem., 13, 2-5, 1978.
18. Bessch, S.C., "Acetone-Butanol Fermentation of Sugar," Ind. Eng. Chem., 44, 1677,-1682, 1985.

19. Monot, F., J.R. Martin, H. Petitdemange and R. Gay, "Acetone and Butanol Production by Clostridium acetobutylicum in a Synthetic Medium," Appl. Environ. Microbil., 44, 1318-1324, 1982.
20. McNeil, B., and B. Kristiaksen, "Effect of Temperature upon Growth and Solvent Production in Batch cultures of Clostridium acetobutylicum," Biotech. Lett., 7, 499-502, 1985.
21. Gottschall, G., and H. Bahl, "Feasible improvement of the Butanol Production by Clostridium acetobutylicum," Trends in the Biological of Fermentation for Fuels and Chemicals (Hollander, A. ed.), 463-471, Plenum Press, New York, 1981.
22. Monot, F. and J. M. Engasser, "Regulation of Acetone Butanol Production in Batch and Continuouse of Clostridium acetobutylicum," Biotechnol. Bioeng. Sym., 24, 1318-1324, 1982.
23. Martin, J.R., H. Petitdemange, J. Ballong, and R. Gay, "Effect of Acetic Acid and Butyric Acid on Solvent Production by Clostridium acetobutylicum," Biotechnol. Lett., 5, 89-94, 1983.
24. Lin, Y.L., and H.P. Blaschek, Appl. Environ. Microbio. 45, 966-973, 1983.
25. Webster, J.B., S.J. Reid, D.T. Jones, and D.R. Wood, "Purification and Characterization of An Autolysin from Clostridium acetobutylicum," Appl, Environ. Microbiol., 41, 371-374, 1981.

26. Jones, D.T., A. Van Der Westhuizen, S. Long, E.R. Allcock, S.J.Reid, and D.R. Woods, "Solvent Production and Morphological Changes in Clostridium acetobutylicum," Appl. Environ. Microbiol., 44, 1434-1439, 1982.
27. Yerushalmi .L, and B. Volesky, "Importance of agitation in Acetone-Butanol Fermentation," Biotechnol. Bioeng. 27, 1297-1325, 1985.
28. Calam, T., "Isolation of Clostridium acetobutylicum strain Producing Butanol and Acetone," Biotech. Lett., 2, 111-116, 1980.
29. Buchanam, R.E., and N.E. Gibbons, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. The Williams & Wilkins Co., Bartimore, 1957.
30. Maris, G.N., and S. Gatenbeck, "Intermediary Metabolism in Clostridium acetobutylicum Level of Enzymes involved in the Formation of Acetate and Butyrate," Appl. Environ. Microbiol., 47, 1277-1283, 1984.
31. Papoutsakis, E.T., "Equation and Calculations for Fermentations of Bytyric Acid Bacteria," Biotech. Bioeng., 16, 174-187, 1984.
32. หน่วยการเกษตร ฝ่ายวิชาการเกษตร ธนาคารแห่งประเทศไทย "ภาวะสินค้าเกษตรที่สำคัญในรอบปี 2528," 4/1-4/20, กรุงเทพมหานคร, 2528
33. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ "สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2528/2529," เอกสารสถิติการเกษตร เล่มที่ 323, 36-43, กรุงเทพมหานคร, 2529
34. Association of Official Analytical Chemists. "Official Method of Analysis," George Banta Co., Washington, D.C., 1975.
35. Miller, G.L., "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar," Anal. Chem. 31, 426-428, 1959

ภาคผนวก

ก. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารไฟเตโต เด็กโทรส บรอก (Potato Dextrose broth)

| | | |
|---|-------|------|
| มันฝรั่งบด | 250.0 | กรัม |
| กลูโคส (Glucose) | 10.0 | กรัม |
| แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) | 2.0 | กรัม |
| แอมโมเนียมซัลเฟต (NH_4) ₂ SO ₄ | 2.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |
| ปรับระดับความเป็นกรดต่างที่ | 6.0 | |

ซึ่งมันฝรั่ง 250 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ เติมน้ำกลั่นและต้มให้สุก นำมาบดด้วยเครื่องปั่น ใส่องค์ประกอบที่เหลือ ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ออฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 121 องศาเซลเซียส 15 นาที (มาตรฐาน)

2. อาหารไฟเตโต เด็กโทรส อา การ์ (Potato Dextrose Agar)

องค์ประกอบเหมือนภาคผนวก ก. หมายเลข 1. แต่กรองเอาเฉพาะน้ำของมันฝรั่งต้ม และเติมวุ้น 15 กรัม ออฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน

3. อาหารแบ่งมันสำปะหลัง

| | | |
|---|------|------|
| แบ่งมันสำปะหลัง | 50.0 | กรัม |
| ไดโบตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) | 0.5 | กรัม |

| | | |
|---|------|------|
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) | 0.5 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) | 0.2 | กรัม |
| เฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) | 0.01 | กรัม |
| แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 \cdot 3H_2O$) | 0.01 | กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) | 0.01 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) | 6.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |
| ปรับความเป็นกรดต่างที่ | 6.0 | |

เตรียมสารละลายแบ่งมันสำหรับในน้ำกลั่น เตรียมองค์ประกอบที่เหลือละลายในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด ผสมส่วนทั้งสองเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร. อนุว่าเชื้อแบบมาตรฐาน

4. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเก็บคลอสตริเดียม (Reinforced Clostridium medium)

| | | |
|--|------|------|
| สารสกัดจากยีสต์ | 3.0 | กรัม |
| สารสกัดจากเนื้อ (beef extract) | 10.0 | กรัม |
| เปปไทน์ (Peptone) | 10.0 | กรัม |
| แป้งละลายน้ำ (Soluble Starch) | 1.0 | กรัม |
| เดกซ์โทรส (Dextrase) | 5.0 | กรัม |
| ซิสทีอิน ไฮโดรคลอไรด์ (Cystein Chloride) | 0.5 | กรัม |
| โซเดียม อะซิเตต (Sodium acetate) | 5.0 | กรัม |
| วันผง | 2.5 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |

5. แอนเดรด คาร์โบไฮเดรต บรอก (Andrade's Carbohydrate Broth)

ก. อาหารเบซอล (Basal medium)

| | | |
|-----------------|------|------|
| เปปโตน | 10.0 | กรัม |
| สารสกัดจากเนื้อ | 1.0 | กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ | 5.0 | กรัม |

ข. แอนเดรด อินดิเคเตอร์ (Andrade's Indicator)

| | | |
|---------------------------|-----------|------|
| กรดฟูจีน (Acid fuchins) | 0.5 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 00.0 | มล. |
| โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอ้มล | 1.50-18.0 | มล. |

เตรียมอาหารเบซอล ปริมาตร 1.0 ลิตร ปรับระดับความเป็นกรดต่างที่ 7.2
เติมสารคาร์โบไฮเดรตชนิดที่ต้องการทดสอบ 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำตาล ดี-กลูโคส
ดี-ไซโลส ดี-ซูทอล แรพพิโนส ทรีฮาโลส และแลคโตส)

6. นิวเตรียนท์ อาการ์ (Nutrient Agar)

| | | |
|-----------|------|------|
| เนื้อสกัด | 3.0 | กรัม |
| เปปโตน | 5.0 | กรัม |
| วุ้น | 15.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | กรัม |

ปรับความเป็นกรดต่างที่ 6.8 อบอุ่นเชื้อแบบมาตรฐาน

7. นิวเทรียนท์ เจลาติน (Nutrient Gelatin)

| | | |
|--|------|------|
| เปปโติน | 20.0 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 0.3 | กรัม |
| แมงกานีส ซัลเฟต | 0.1 | กรัม |
| เจลาติน | 4.0 | กรัม |
| วุ้น | 15.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |
| ปรับความเป็นกรดค่าที่ 7.0 อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน | | |

8. อาหารทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility test medium)

| | | |
|--|------|------|
| สารสกัดจากเนื้อ | 3.0 | กรัม |
| เปปโติน | 10.0 | กรัม |
| โซเดียม คลอไรด์ | 5.0 | กรัม |
| วุ้น | 4.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |
| ปรับความเป็นกรดค่าที่ 7.3 อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน | | |

9. อาหารแข็ง (Strach medium)

ก. อาหารเบซอล

| | | |
|-----------------|-----|------|
| เปปโติน | 5.0 | กรัม |
| สารสกัดจากเนื้อ | 3.0 | กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ | 5.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |

๗. แป้งละลายน้ำ [Soluble (Potato) Starch] 20.0 กรัม
เตรียมอาหารเบซอล โดยละลายในน้ำกลั่น 500 มล. ต้มให้ความร้อน
ละลายแป้งในน้ำกลั่น 250 มล. ให้ความร้อนพอเดือด ผสมอาหารเบซอลและ
สารละลายแป้งให้เข้ากัน ปริมาณเป็น 1 ลิตร อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน

10. ทริปเปิล ซุการ์ ไอรอน อาการ์ (Triple Sugar Iron Agar)

| | | |
|---|-------|------|
| สารสกัดจากเนื้อ | 3.0 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 3.0 | กรัม |
| เปปโตเน | 20.0 | กรัม |
| แลคโตส | 10.0 | กรัม |
| ซูโคส | 10.0 | กรัม |
| เฟอร์รัส ซัลเฟต | 0.2 | กรัม |
| โซเดียมไดไธโอซัลเฟต ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) | 0.3 | กรัม |
| โซเดียมคลอไรด์ | 5.0 | กรัม |
| วุ้นผง | 12.0 | กรัม |
| ฟีนอล เรด (phenol red) | 0.024 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |
| อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน | | |

11. ทริปติเคส ไนเตรต บรอก (Trypticase nitrate broth)

| | | |
|----------------------|------|------|
| ทริปติเคส | 20.0 | กรัม |
| ไดโซเดียม ฟอสเฟต | 2.0 | กรัม |
| กลูโคส | 1.0 | กรัม |
| วุ้นผง | 1.0 | กรัม |
| โพตัสเซียม ไนเตรต | 1.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1.0 | ลิตร |
| อบฆ่าเชื้อแบบมาตรฐาน | | |

ข. สารเคมี

1. สารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS)

นำกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 10 กรัม ฟีนอล 2 กรัม โซเดียมซัลไฟต์ 0.5 กรัม และ โปรตัสเซียม-โซเดียมตาร์เตต 200 กรัม ละลายใน 2 % สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีชา



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นายเสรี จันทโรสภณ เกิดวันที่ 9 มิถุนายน พ.ศ. 2505 ในจังหวัดมหาสารคาม
ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง
ในปีการศึกษา 2526



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย