การผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย *Clostri-dium acetobutylicum* TISTR 1462 ด้วยการหมักแบบกะภายใต้สภาวะไร้อากาศได้มีการศึกษา ในขั้นตอนแรกเป็นการศึกษาสภาวะการกระตุ้นด้วยความร้อน โดยทดลอง 5 สภาวะ ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้น คือ นำสารละลายของสปอร์จุ่มลงในน้ำร้อนอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที ขั้นตอนต่อมาเป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรด และตัวทำละลายอินทรีย์ที่ *C. acetobutylicum* TISTR 1462 สร้างขึ้น โดยวิธี Gas chromatography (GC) ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ การใช้โปรแกรมอุณหภูมิควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์เป็น 2 ช่วง คือช่วงแรกเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์จาก 160-180 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร่ง 2 องศาเซลเซียสต่อนาที ช่วงที่สองเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์จาก 180-225 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร่ง 20 องศาเซลเซียสต่อนาที สำหรับการศึกษาการเจริญของ *C. acetobutylicum* TISTR 1462 ในการเลี้งแบบกะในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานแบบไม่ปั่นเหวี่ยงและปั่นเหวี่ยง เมื่อพิจารณาค่าความเข้มข้นของเซลล์ (CFU ml^{-1}) โดยวิธี pour plate technique พบว่าให้ผลการเจริญที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานแบบไม่ปั่นเหวี่ยง เพื่อใช้ในการศึกษาสภาวะพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน โดยแปรผันพีเอชเริ่มต้น 3 ระดับ จากผลการทดลองพบว่า ที่พีเอชเริ่มต้น 6.5 มีความเหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อนำน้ำหมักที่พีเอชดังกล่าวไปวิเคราะห์หาปริมาณผลิตภัณฑ์โดยวิธี GC พบว่า มีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นเพียงอะซิโตนและเอทานอล แต่ไม่พบบิวทานอล ซึ่งจากผลการทดลองสันนิษฐานว่าสารอาหารในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานไม่เหมาะสมต่อการสร้างบิวทานอล ดังนั้นจึงทดลองโดยใช้อาหารสูตรของ Qureshi และอาหารสูตรอุดมที่แตกต่างกัน 6 สูตร ผลการทดลองไม่พบบิวทานอลในอาหารสูตรดังกล่าว สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากอาหารไม่เหมาะสมต่อการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอล ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงควรทดลองโดยใช้อาหารสูตรของ Deutsche Sammlung von Mikroor Ganismen und Zellkulturen (DSMZ) และสูตรอื่นๆ ที่มีผู้รายงานไว้ เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตอะซิโตน-บิวทานอล-เอทานอลโดย *C. acetobutylicum* TISTR 1462 ต่อไป

ส่วนการศึกษาการเจริญและการผลิตบิวทานอลจากอาหารอุดม และน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานในขวดอาหาร 2 ลิตร โดย *Clostridium beijerinkii* JCM 1390 ด้วยการหมักแบบกะภายใต้สภาวะไร้อากาศ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้นสปอร์ของแบคทีเรียด้วยความร้อนคือที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และพบว่าในระหว่างการหมักรูปร่างของ *C. beijerinckii* JCM 1390 มีความสัมพันธ์กับการสร้างผลิตภัณฑ์ เมื่อเลี้ยง *C. beijerinckii* JCM 1390 ในอาหารอุดมพบว่ามีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 1.05 ต่อชั่วโมง และได้ความเข้มข้นและอัตราผลผลิตบิวทานอลเท่ากับ 7.34 กรัมต่อลิตร และ 0.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนเมื่อเลี้ยงในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่ผ่านการปั่นเหวี่ยงและ

เติมอาหารอุดม และน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงและเติมอาหารอุดม พบว่ามีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 1.00 และ 0.81 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่เติมอาหารอุดมทั้งที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงและไม่ผ่านการปั่นเหวี่ยง ไม่สามารถวัดการเจริญได้ นอกจากนี้ พบว่า *C. beijerinckii* JCM 1390 สามารถผลิตบิวทานอลได้ดีที่สุดในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่ผ่านการปั่นเหวี่ยง และเติมอาหารอุดม ที่พีเอชเริ่มต้น 6.5 โดยได้ความเข้มข้นและอัตราผลผลิตบิวทานอลเท่ากับ 4.18 กรัมต่อลิตร และ 0.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อศึกษาการผลิตบิวทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานดังกล่าวในถังหมักขนาด 2 ลิตร พบว่า *C. beijerinckii* JCM 1390 สามารถผลิตบิวทานอลได้เพิ่มขึ้น โดยได้ความเข้มข้นและอัตราผลผลิตบิวทานอลเท่ากับ 8.80 กรัมต่อลิตรและ 0.09 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

C. beijerinkii JCM 1390 ไม่สามารถใช้น้ำตาลในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพียง 10 องศาบริกซ์ ได้หมด ด้วยการหมักแบบกะภายใต้สภาวะไร้อากาศได้หมดและเหลือในปริมาณสูง โดยในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานมีของแข็งที่ละลายได้เพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการหมักแบบกึ่งกะภายใต้สภาวะไร้อากาศจึงไม่สามารถทำได้ สำหรับการกลั่นบิวทานอลโดยควบคุมอุณหภูมิของน้ำหมัก และไอขณะกลั่นที่ 104-105 และ 97-98 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่าความเข้มข้นของอะซิโตน เอทานอล บิวทานอล กรดอะซิติก และกรดบิวทาริกก่อนการกลั่นมีค่าเท่ากับ 1.77, 0.29, 8.80, 1.46 และ 3.09 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากการกลั่นนำส่วนที่กลั่นได้ (distillate) มาวิเคราะห์ปริมาณอะซิโตน เอทานอล บิวทานอล กรดอะซิติก และกรดบิวทาริก พบว่าความเข้มข้นของสารดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 86.15, 64.42, 708.65, 0.00 และ 5.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าการกลั่นด้วยวิธีดังกล่าวสามารถเพิ่มความเข้มข้นของอะซิโตน เอทานอล บิวทานอล และกรดบิวทาริกได้ 97.9, 99.5, 8.8 and 43.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

The study of acetone-butanol-ethanol (ABE) production from sweet sorghum juice (SSJ) under anaerobic batch culture by *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462 was investigated. Under 5 different conditions of heat shocking, the results showed that the optimum condition for heat shocking *C. acetobutylicum* TISTR 1462 spores was 75°C for 1 min. Method development for gas chromatographic peak recognition of organic acids and organic solvents of ABE fermentation was also investigated under different temperature programs. The results revealed that short retention time and fair recognition peak of the compounds were obtained under the following column temperature program: 160 to 180°C at 2°C min^{-1} then 180-225°C at 2°C min^{-1}. In batch culture, growth of *C. acetobutylicum* TISTR 1462 in centrifuged SSJ (C) and non-centrifuged SSJ (NC) indicated that cell concentration (CFU ml^{-1}) by pour plate technique of both substrates was not different. NC was therefore used for further study of ABE fermentation by different initial pH. The results of initial pH showed that the optimum initial pH for growth was 6.5. However, under this condition only acetone and ethanol were produced whereas butanol was not noticed, indicating that SSJ was not a suitable substrate for butanol production. Therefore, Qureshi's medium and 6 different media were investigated for ABE fermentation. The results revealed that butanol was not detected under those media conditions. Thus, other media such as Deutsche Sammlung von Mikroor Ganismen und Zellkulturen (DSMZ) media should be further studied for ABE production by *C. acetobutylicum* TISTR 1462.

The heat shock effects on growth and butanol production of *Clostridium beijerinckii* JCM 1390 in P2 medium and SSJ were investigated in a 2-L media bottle under batch system. The results showed that optimum conditions for heat shock *C. beijerinckii* JCM 1390 spores were 80°C for 10 min and the morphology of *C. beijerinckii* JCM 1390 related to product formation. In P2 medium, the maximum specific growth rate (μ_{max}), butanol production and its productivity of *C. beijerinckii* JCM 1390 was 1.05 h^{-1}, 7.34 g l^{-1} and 0.10 g $l^{-1}h^{-1}$ respectively. When *C. beijerinckii* JCM 1390 was grown in NC, C, NC supplemented with P2 medium (NCP) and C supplemented with P2 medium (CP), μ_{max} of *C. beijerinckii* JCM 1390 in NCP and CP were 1.00 and 0.81 h^{-1} respectively, whereas the growth in NC and C could not be detected. Among the various substrates, NCP at initial pH of 6.5 gave the maximum butanol production with the values of butanol concentration and its productivity being 4.18 g l^{-1} and 0.04 g $l^{-1}h^{-1}$ respectively. When *C. beijerinckii* JCM 1390 was grown in NCP in a 2-L fermentor, butanol concentration and its productivity were increased to 8.80 g l^{-1} and 0.09 g $l^{-1}h^{-1}$ respectively.

Under anaerobic batch culture, *C. beijerinckii* JCM 1390 can not completely utilize sugars in sweet sorghum juice containing only 10% brix of total soluble solids. Therefore, anaerobic fed-batch culture will not be further studied. For butanol distillation by temperature control of fermentation broth and vapor at 104-105°C and 97-98°C respectively, the results showed that acetone, ethanol, butanol, acetic acid and butyric acid concentrations before the distillation were 1.77, 0.29, 8.80, 1.46 and 3.09 g l^{-1} respectively whereas they were 86.15, 64.42, 708.5, 0.00 and 5.50 g l^{-1} respectively after distillation. The results indicated that the concentrations of acetone, ethanol, butanol and butyric acid were increased 97.9, 99.5, 8.8 and 43.8 % respectively under the distillation conditions.