ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
242462

การผลิตเอทานอลจากน้ำเวย์เต้าหู้โดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 และ *Zymomonas* sp. TISTR 1102

ศุภรัช ไชยวงศ์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตุลาคม 2553

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
242462

การผลิตเอทานอลจากน้ำเวย์เต้าหู้ โดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 และ *Zymomonas* sp. TISTR 1102

สุภงช์ ไชยวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัยเพื่อเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ตุลาคม 2553

การผลิตเอทานอลจากน้ำเวย์เต้าหู้โดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 และ *Zymomonas* sp. TISTR 1102

สุภงช์ ไชยวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะนุช เนียมทรัพย์

....กรรมการ
รองศาสตราจารย์ อภิญญา ผลิโกมล

....กรรมการ
อาจารย์ ดร. วสุ ปฐมอารีย์

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
รองศาสตราจารย์ อภิญญา ผลิโกมล

....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
อาจารย์ ดร. วสุ ปฐมอารีย์

21 ตุลาคม 2553

© ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก รองศาสตราจารย์อภิญญา ผลิโกมล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งกรุณาให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในการทำวิจัย และได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. วสุ ปฐมอารีย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ให้คำแนะนำเป็นอย่างดีตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะนุช เนียมทรัพย์ ที่กรุณารับเป็นประธานสอบวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ทุกท่าน ที่คอยให้ความรู้ ตลอดจนคำแนะนำต่างๆในระหว่างที่ศึกษา

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำสาขาวิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ซึ่งเป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์

กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ และคุณแม่ สำหรับความรัก ความห่วงใยและกำลังใจที่มีให้กับลูกคนนี้ และพี่สาว สำหรับกำลังใจ ความช่วยเหลือ และคำแนะนำที่ดีตลอดมา

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ประจำสาขาวิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้อำนวยความสะดวกในการเบิก ยืมอุปกรณ์ และสารเคมี

ขอขอบคุณคุณเจตพงศ์ วิภาวีราษฎร์ เจ้าของบริษัท เต้าหู้คุณประเสริฐอุตสาหกรรมอาหาร ที่ได้อนุเคราะห์น้ำเวย์เต้าหู้เพื่อใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย และ รองศาสตราจารย์ ดร. นริทธิ์ สีตะสุวรรณ หัวหน้าโครงการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนส่วนหนึ่งการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆสาขาจุลชีววิทยาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ไม่สามารถเอ่ยนามได้ทั้งหมด ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจเสมอมา

สุภงช์ ไชยวงศ์

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การผลิตเอทานอลจากน้ำเวย์เต้าหู้โดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 และ *Zymomonas* sp. TISTR 1102

ผู้เขียน นายสุภงช์ ไชยวงศ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. อภิญญา ผลิโกมล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
อ.ดร. วสุ ปฐมอารีย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

242462

จากปัญหาราคาน้ำมันของโลกสูงขึ้น จำเป็นต้องหาพลังงานทดแทน เอทานอลเป็นพลังงานสะอาด ช่วยลดการขาดดุลและแก้ปัญหาสภาวะโลกร้อนได้ กระบวนการผลิตเต้าหู้ก้อนโบราณใช้น้ำสะอาดปริมาณมากในการตกตะกอนโปรตีน ทำให้มีน้ำเวย์เต้าหู้เป็นของเหลือทิ้งปล่อยลงสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดปัญหามลพิษ ในน้ำเวย์เต้าหู้ยังคงมีสารอาหารเพียงพอสำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ดังนั้นเพื่อเป็นการแก้ไขปัญหา จึงได้ทำการผลิตเอทานอลจากน้ำเวย์เต้าหู้ โดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* V1116 กับ *Zymomonas* sp. TISTR 1102 จากการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* V1116 เทียบกับ *Zymomonas* sp. TISTR 1102 ในน้ำเวย์เต้าหู้ 1.5 ลิตร เพาะเลี้ยงในขวด 2.5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 25±5°C เป็นเวลา 20 วัน พบว่า *S. cerevisiae* V1116 ผลิตเอทานอลได้ 4.73 g/l ในขณะ *Zymomonas* sp. TISTR 1102 ไม่สามารถผลิตเอทานอลได้ ทำการผลิตเอทานอลในน้ำเวย์เต้าหู้ที่เติมน้ำตาลซูโครส 24 %Brix (w/v) ปริมาตร 1.5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 25±5°C เป็นเวลา 20 วัน โดย *S. cerevisiae* V1116 พบว่า *S. cerevisiae* V1116 ผลิตเอทานอลสูงสุด 108.09 g/l ในวันที่ 20 จึงนำ *S. cerevisiae* V1116 มาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำเวย์เต้าหู้ที่ 0, 25, 50, 75 และ 100% (v/v) ใช้น้ำตาลซูโครสและกากน้ำตาล 15, 18, 21, 24 %Brix (w/v) ระยะเวลาการหมักที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

242462

ออกแบบการทดลองแบบ full factorial experimental design พบว่าที่น้ำเวย์เต้าหู้ 100% (v/v) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 24 %Brix (w/v) หมักวันที่ 20 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ 109.67±0.3 g/l มีค่า Viable count ก่อนและหลังการหมักที่ 2.3 x 10^7 CFU/ml และ 4.7 x 10^7 CFU/ml ตามลำดับ ปริมาณ Total protein 7.1 mg/ml และ 0.77 mg/ml จากการขยายขนาดการทดลองในถังหมักขนาด 200 ลิตร ใช้น้ำเวย์เต้าหู้ปริมาตร 100 ลิตร ได้ปริมาณ เอทานอล 101.78 g/l

Thesis Title	Ethanol Production from Soybean Curd Whey by *Saccharomyces cerevisiae* V1116 and *Zymomonas* sp. TISTR 1102
Author	Mr. Supong Chaiwong
Degree	Master of Science (Biology)
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Abhinya Plikomol Advisor Lect. Dr. Wasu Pathom-aree Co-advisor

Abstract

242462

There is a need for alternative energy due to an increasing world oil price. Bioethanol is regarded as an alternative renewable energy and green fuel, a potential replacement for gasoline. After protein precipitation of traditional tofu production, a large amount of soybean curd whey (SBW) is discarded which caused environmental problem. However, SBW still certain some nutrients that can be uesd for culturing microorganisms. Therefore, ethanol production from SBW by *Saccharomyces cerevisiae* V1116 and *Zymomonas* sp. TISTR 1102 was evaluated. It was found that only *S. cerevisiae* V1116 could produced 4.73 g/l ethanol in 1.5 l fermentor at 25±5°C for 20 days. Ethanol production of *S. cerevisiae* V1116 was improved by the addition of 24 %Brix (w/v) of sucrose, the yield was 108.09 g/l after 20 days incubation at 25±5°C. Optimization of ethanol production by *S. cerevisiae* V1116 was carried out by varying a) concentration of SBW at 0, 25, 50,75 and 100% (v/v) b) sucrose and molasses concentration at 15, 18, 21 and 24 %Brix (w/v) c) fermentation time of 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 and 20 day.

The fermentation was carried out at 25±5°C. All factors were analyzed using full factorial experimental design, the best combination was SBW 100% (v/v) supplemented with 24 %Brix (w/v) of sucrose at 25±5°C for 20 days which yielded 109.67±0.3 g/l ethanol, viable count before and after fermentation were 2.3 x 10^7 CFU/ml and 4.7 x 10^7 CFU/ml, respectively total protein were 7.1 mg/ml and 0.77 mg/ml. Upscale fermentation in 100 l fermentor using optimal condition yielded 101.78 g/l ethanol.

สารบาญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบาญ	ซ
สารบาญตาราง	ฌ
สารบาญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	20
บทที่ 4 ผลการทดลอง	30
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง	41
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	47
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก	55
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม	56
ภาคผนวก ข การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสารเคมี	59
ภาคผนวก ค การเตรียมสารละลาย Standard McFarland	61
ภาคผนวก ง การใช้เครื่องมือในการทดลองและการตรวจสอบคุณภาพน้ำเวย์เต้าหู้	62
ภาคผนวก จ ผลวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	65
ประวัติผู้เขียน	68

สารบาญตาราง

ตาราง		หน้า
1	เปรียบเทียบความขุ่นของ McFarland เบอร์ต่างๆ กับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย	61
2	ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเอทานอลที่ทดสอบปัจจัยทั้ง 4 ที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	65
3	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 ในน้ำเวย์เต้าหู้ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	66
4	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 ของแต่ละระดับน้ำตาล	66
5	ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 จากระยะเวลาหมักต่างๆ	66
6	ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า total soluble solid ที่ทดสอบปัจจัยทั้ง 4 ที่มีผลต่อค่าการละลายได้ของของแข็ง	67

สารบาญภาพ

ภาพ	หน้า
1 ปริมาณการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์แต่ละพื้นที่	5
2 ปริมาณการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงของแต่ละพื้นที่ทั่วโลก	6
3 น้ำเวย์เต้าหู้ที่ได้หลังจากตกตะกอนโปรตีนถั่วเหลือง	7
4 ไดอะแกรมขั้นตอนการผลิตเต้าหู้จากถั่วเหลือง	7
5 โครงสร้างน้ำตาลซูโครส	10
6 ลักษณะกากน้ำตาล	11
7 กระบวนการสังเคราะห์เอทานอล	15
8 ถังหมัก ขนาด 200 ลิตร	29
9 ปริมาณเอทานอลที่ผลิตจากน้ำเวย์เต้าหู้ที่ไม่เติมน้ำตาลซูโครส *Saccharomyes cerevisie* V1116 และ *Zymomonas* sp. TISTR 1102	30
10 ค่า total soluble solid จากน้ำเวย์เต้าหู้ที่เติมน้ำตาลซูโครส 24% Brix (w/v) และปริมาณเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	31
11 ค่า total soluble solid จากน้ำเวย์เต้าหู้ที่เติมน้ำตาลซูโครส 24% Brix (w/v) และปริมาณเอทานอลโดย *Zymomonas* sp. TISTR 1102	31
12 ความเข้มข้น SBW ที่มีผลต่อปริมาณเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	32

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
13 น้ำตาลซูโครสและกากน้ำตาลที่มีผลต่อปริมาณเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	33
14 ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีผลต่อปริมาณเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	34
15 ระยะเวลาการหมักที่มีผลต่อปริมาณเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	34
16 ความสัมพันธ์ความเข้มข้นของ SBW กับชนิดน้ำตาล ที่มีผลต่อปริมาณเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	35
17 ความสัมพันธ์ชนิดของน้ำตาลกับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีผลต่อปริมาณ เอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	36
18 ความสัมพันธ์ชนิดของน้ำตาลกับระยะเวลาการหมักที่มีผลต่อปริมาณเอทานอลโดย*Saccharomyces cerevisiae* V1116	36
19 ความสัมพันธ์ระยะเวลาที่มีผลต่อค่า total soluble solid จากชุดการทดลองที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด โดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116	37
20 ค่า viable count และปริมาณเอทานอล ของ *Saccharomyces cerevisiae* V1116 จากน้ำเวย์เต้าหู้ที่เติมน้ำตาลซูโครส 24% Brix (w/v)	38
21 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือจากการฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่างๆ	40

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพ **หน้า**

22 เครื่องวัดปริมาณเอทานอล (Ebulliometer) 62