

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



191043

รายงานการวิจัย

การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เอนไซม์และเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้ง

Ethanol Production from Sweet Potato by Enzyme and

Microorganisms from Look-Pang

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2554

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

๖ ๐๐๒๕๕๖๖๒

2

กิตติกรรมประกาศ

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



191043

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2554 ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความร่วมมือของนักศึกษาปริญญาตรีและปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ และสาขาจุลชีววิทยา อุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สาขาชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนมาในการวิจัย

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

หัวหน้าโครงการวิจัย



หัวข้อโครงการวิจัย การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เอนไซม์และเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้ง
ผู้วิจัย ร.ศ. ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

191043

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการนำมันเทศซึ่งเป็นพืชจำพวกแป้งชนิดหนึ่งทางการเกษตร มาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตเอทานอล และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยมันเทศ เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งมันเทศของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในกระบวนการลิเคอแฟกชัน คือความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใช้ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 16.43 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้น นำมาย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งมันเทศของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน คือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.015 และใช้ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 41.78 กรัมต่อลิตร จากนั้น นำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดในสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น หมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ที่แยกได้จากลูกแป้งกระบวนการหมักเอทานอล โดยการย่อยแป้งมันเทศเป็นน้ำตาลแยกกับกระบวนการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation , SHF) ให้ปริมาณเอทานอล 14.55 กรัมต่อลิตร ในเวลา 72 ชั่วโมง สำหรับกระบวนการย่อยแป้งมันเทศเป็นน้ำตาลพร้อมกับกระบวนการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF) ได้ปริมาณเอทานอล 12.62 กรัมต่อลิตร การผลิตเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล่านี้ ได้แก่ เชื้อรา *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 หมักในสภาวะอาหารเหลว ในการคัดเลือกเชื้อราพบว่า เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงสุด 43.81 กรัมต่อลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศ ร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที และจากการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอล จากกระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (SHF) โดยใช้เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017 หมักต่ออีก 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอล 13.87 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการหมักแบบกระบวนการย่อยสลายและการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอน

191043
เดียวกัน (SSF) โดยเติมเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 9.51 กรัมต่อลิตร ในกระบวนการ SHF และ SSF หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที

Research Project Ethanol Production from Sweet Potato by Enzyme and Microorganisms from Look-Pang

Researcher Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

ABSTRACT

The aim of this work was to utilize sweet potato (starchy tubers) for the production of bio-ethanol. The study of optimal conditions for α -amylase and glucoamylase was carried on. These enzymes hydrolyzed sweet potato starch and the maximum reducing sugars were resulted. The optimum α -amylase concentration and volume were 0.05% (w/v) and 5 ml, respectively at 90 °C for 2 h and provided the concentration of reducing sugar of 16.43 g/l. Followed by the optimum glucoamylase concentration and volume (0.015 (w/v) and 20 ml) at 60 °C for 4 h. The concentration of reducing sugar was 41.78 g/l. After hydrolyzation of sweet potato starch with these two enzymes at optimal conditions and fermented by *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 isolated from Look-pang. The ethanol concentration was 14.55g/l in the case of separate hydrolysis and fermentation process (SHF) in 72 h. For simultaneous saccharification and fermentation process (SSF), the maximum concentration of ethanol was 12.62 g/l. Ethanol production from sweet potato by using the isolates from look-pang including *Rhizopus oryzae* MNT 006, *Amylomyces rouxii* MNT 037, *Aspergillus oryzae* MNT 029 and *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 were carried out liquid state culture. The highest reducing sugar of 2.37 g·l⁻¹ was found when used *A.rouxii* MNT 037 and 6% sweet potato starch medium at 30 °C, 130 rpm and 48 hour fermentation. Separated enzymatic hydrolysis and fermentation (SHF) was then investigated. The cultivation of *A.rouxii* MNT 037 for 48 hour and followed by *S.cerevisiae* YRK 017 for 72 hour. This process resulted 13.87 g·l⁻¹ of ethanol which was more than that produced from simultaneous enzymatic hydrolysis and fermentation (SSF). *A.rouxii* MNT 037 and *S.cerevisiae* YRK 017 were co-cultured for 72 hour and were given 9.51 g·l⁻¹ ethanol concentration. Both SHF and SSF were studied at 30 °C and 130 rpm in shaken flasks.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	2
บทคัดย่อภาษาไทย.....	3
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	5
สารบัญเรื่อง.....	6
สารบัญตาราง.....	7
สารบัญรูป.....	8
บทที่ 1 บทนำ.....	9
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	9
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	11
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	11
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	12
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	13
บทที่ 3 วิธีการทดลอง.....	35
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานและการทดลอง.....	42
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงาน.....	61
บรรณานุกรม.....	63

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการหมักเอทานอล.....	16
ตารางที่ 2.2 แสดงแหล่งคาร์บอนที่ใช้ผลิตเอทานอลของยีสต์จีนิส <i>Saccharomyces</i>	18
ตารางที่ 2.3 แสดงแหล่งคาร์บอนที่ใช้ผลิตเอทานอลของยีสต์จีนิส <i>Schizosaccharomyces</i>	19
ตารางที่ 2.4 แสดงส่วนประกอบในหัวมันเทศน้ำหนัก 100 กรัม.....	27
ตารางที่ 4.1 แสดงผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสม ต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง.....	43
ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสม ต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง.....	45
ตารางที่ 4.3 แสดงผลความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสม ต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง.....	47
ตารางที่ 4.4 แสดงผลปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสม ต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของ แป้งมันเทศ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง.....	49
ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณเอทานอลและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมัก แป้งมันเทศ โดยกระบวนการ SHF และ SSF เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....	51
ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้เชื้อราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะเขย่า- ที่ 130 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....	54
ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเข้มข้นของแป้งมันเทศต่างๆ และระยะเวลาหมัก ที่ต่างกัน โดยใช้เชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล.....	56
ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก แบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation) และกระบวนการหมัก แบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation).....	59

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1	โครงสร้างเคมีของเอทานอล..... 13
รูปที่ 2.2	เซลล์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 18
รูปที่ 2.3	วงจรในการแตกหน่อของยีสต์..... 18
รูปที่ 2.4	เซลล์ <i>Schizosaccharomyces pombe</i> 19
รูปที่ 2.5	ลักษณะของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 20
รูปที่ 2.6	โครงสร้างทางเคมีของอะไมโลส..... 21
รูปที่ 2.7	โครงสร้างทางเคมีของอะไมโลเพคติน..... 22
รูปที่ 2.8	แสดงลักษณะของมันเทศ..... 23
รูปที่ 2.9	การย่อยอะไมโลสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส..... 28
รูปที่ 4.1	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลสในกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ..... 44
รูปที่ 4.2	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลสในกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ..... 46
รูปที่ 4.3	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์ กลูโคอะไมเลสในกระบวนการแซกการิฟิเคชันของแป้งมันเทศ..... 48
รูปที่ 4.4	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ในกระบวนการแซกการิฟิเคชันของแป้งมันเทศ..... 50
รูปที่ 4.5	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้ราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศ ในสภาวะอาหารเหลว เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง..... 54
รูปที่ 4.6	แสดงผลของความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่มีต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เกิดขึ้นจากการหมักของเชื้อ <i>A. rouxii</i> MNT 037 ในระยะเวลาการหมักที่ต่างกัน..... 57
รูปที่ 4.7	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก แบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation)..... 60
รูปที่ 4.8	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก แบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)..... 60