ความสามารถในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อยโดยระบบยีสต์ผสมของ *Saccharomyces cerevisiae* M30 และ *Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042

นาย เอกสิทธิ์ เอียดปุ่ม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2552

ETHANOL PRODUCTIVITY FROM CANE MOLASSES BY MIXED CULTURE SYSTEM OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* M30 AND *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* DMKU 3-1042

Mr. Akekasit Eiadpum

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering
Department of Chemical Engineering
Faculty of Engineering
Chulalongkorn University
Academic Year 2009

Thesis Title	ETHANOL PRODUCTIVITY FROM CANE MOLASSES BY MIXED CULTURE SYSTEM OF *SACCHAROMYCES CESEVISIAE* M30 AND *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* DMKU 3-1042
By	Mr. Akekasit Eiadpum
Field of Study	Chemical Engineering
Thesis Advisor	Associate Professor Muenduen Phisalaphong, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Engineering, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

..... Dean of the Faculty of Engineering
(Associate Professor Boonsom Lerdhirunwong, Dr.Ing.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman
(Associate Professor Sarawut Rimdusit, Ph.D.)

..... Thesis Advisor
(Associate Professor Muenduen Phisalaphong, Ph.D.)

..... Examiner
(Associate Professor Bunjerd Jongsomjit, Ph.D.)

..... External Examiner
(Professor Savitree Limtong, D.Eng.)

เอกสิทธ์ เอียดปุ่ม: ความสามารถในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อยโดยระบบยีสต์ผสมของ *Saccharomyces cerevisiae* M30 และ *Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042. (ETHANOL PRODUCTIVITY FROM CANE MOLASSES BY MIXED CULTURE SYSTEM OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* M30 AND *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* DMKU 3-1042) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ. ดร. เหมือนเดือน พิศาลพงศ์, 117 หน้า.

พลังงานหมุนเวียนเอทานอลได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์หลายประการ เช่น เป็นพลังงานสะอาดและผลิตได้จากการหมักชีวมวล อุตสาหกรรมการหมักโดยทั่วไปมักจะใช้เซลล์ยีสต์ในการหมัก ส่วนมากแล้วจุลินทรีย์เหล่านี้จะมีความเหมาะสมในการเจริญเติบโตที่สภาวะอุณหภูมิในช่วง 25 - 35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้การหมักเอทานอลที่อุณหภูมิสูงมีข้อดีหลายอย่างเช่น สามารถทำงานในช่วงอุณหภูมิที่กว้างขึ้น ลดต้นทุนการหล่อเย็น ลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อน ดังนั้นกระบวนการนี้จึงเหมาะสมสำหรับการใช้ในประเทศเขตร้อนที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงตลอดทั้งปี ดังนั้นในงานนี้จึงทำการศึกษาการหมักเอทานอลโดยยีสต์ทนอุณหภูมิสูง *Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042 และ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ในระบบเซลล์เดี่ยวและระบบเซลล์ผสม ทำการตรวจสอบโดยใช้ระบบเซลล์แขวนลอยและระบบเซลล์ตรึงภายในแอลจีเนทเสริมใยบวบ และเซลล์ตรึงบนเส้นใยของรังไหมบางโดยใช้น้ำอ้อยและกากน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานคาร์บอนที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 220 กรัมต่อลิตร พบว่าการหมักเอทานอลโดยระบบเซลล์ผสมที่ถูกตรึงโดยใช้รังไหมบางเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะโดยใช้ขวดเขย่าขนาด 500 มิลลิลิตร พบว่าการตรึงเซลล์ของระบบเซลล์ผสม สามารถผลิตเอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงทั้งจากน้ำอ้อยและกากน้ำตาล ซึ่ง ได้ความเข้มข้นเอทานอลถึง 71.84 - 80.65 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิดำเนินการ 37 - 40 องศาเซลเซียส สำหรับการใช้การตรึงเซลล์ระบบเซลล์ผสมบนรังไหมบางในถังปฏิกรณ์แบบแพคเบดขนาด 1 ลิตร สำหรับการหมักแบบต่อเนื่องภายใต้สภาวะไม่ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าได้ผลผลิตสูงสุดที่ 14.18 ± 0.06 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงที่อัตราการเจือจาง 0.21 ต่อชั่วโมง โดยได้ความเข้มข้นของเอทานอล 70.88 ± 0.31กรัมต่อลิตร และได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด 86.33 ± 1.34 กรัมต่อลิตร เมื่อดำเนินการที่อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง การตรึงเซลล์โดยระบบผสมที่สามารถรักษาเซลล์ให้มีชีวิตและทำงานได้ปกติในขณะที่วัสดุตรึงเซลล์ มีคุณสมบัติเชิงกลที่ดี มีความเสถียรและมีประสิทธิภาพสูงสำหรับการใช้งานในระยะยาว สืบเนื่องจากผลการทดลองจึงควรมีการทดสอบการผลิตในขนาดที่ใหญ่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ภาควิชา.....วิศวกรรมเคมี..... ลายมือชื่อนิสิต.....เอกสิทธ์ เอียดปุ่ม.....

สาขาวิชา.....วิศวกรรมเคมี..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2552.....

5170654421 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING
KEYWORDS : IMMOBILIZED CELL/ CANE MOLASSES/ MIXED CULTURE/ ETHANOL/ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE/ KLUYVEROMYCES MARXIANUS/*

AKEKASIT EIADPUM: ETHANOL PRODUCTIVITY FROM CANE MOLASSES BY MIXED CULTURE SYSTEM OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* M30 AND *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* DMKU 3-1042. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. MUENDUEN PHISALAPHONG, Ph.D., 117 pp.

A renewable energy, ethanol gains more interest because of its benefits such as clean energy and production from biomass fermentation. Industrial fermentation is typically performed using yeast cells. Most of these organisms grow optimally at a temperature range of 25-35°C. On the other hand, ethanol fermentation at high temperature offers many advantages since it can work in a wide temperature range, reduce cooling cost and reduce risk of contamination. The later process, therefore, is suitable for the use in tropical countries, where the average temperature is high throughout the year. Hence, in the present work, ethanol fermentations using thermotolerant yeast, *Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042 and *Saccharomyces cerevisiae* M30 in monoculture and mixed cultures were studied. The cultures in forms of suspended cells and immobilized cells by entrapment within the alginate-loofa matrix (ALM) and adsorption on the fibrous of thin shell silk cocoon were used for the investigation with sugar cane juice/cane molasses as a carbon source at the initial sugar concentration of 220 g/l. The ethanol fermentation by the mixed culture system using thin shell silk cocoon as a carrier was found to be the most effective system. Under batch fermentation in 500 ml Erlenmeyer shaking-flasks, the immobilized mixed culture was found capable of highly efficient ethanol production from both sugar cane juice and cane molasses with the final ethanol concentration of 71.84-80.65 g/l at operating temperature of 37-40°C. Under uncontrolled temperature condition in 1-L continuous packed-bed reactor using the mixed culture immobilized on thin shell silk cocoon fibers, the optimum of productivity (14.18 ± 0.06 g/l h) was obtained at 0.21 h^{-1} of dilution rate with ethanol concentration of 70.88 ± 0.31 g/l, whereas, the maximum of ethanol concentration (86.33 ± 1.34 g/l) was obtained at 0.10 h^{-1} of dilution rate. The immobilized mixed culture was able to remain viable and functioned normally as well as the carrier had good mechanical strength, stability and high potential for the application for long term use. Based on the results of this work, a large scale study is recommended in order to develop an industrial production process.

Department :.....Chemical Engineering.. Student's Signature : Akekasit Eiadpum

Field of Study :...Chemical Engineering.. Advisor's Signature :

Academic Year :.2009.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my earnest gratitude to my advisor, Assoc. Prof. Muenduen Phisalaphong, Ph.D. for her encouragement, support, guidance, and unfailing faith all the way through my thesis work and study.

Special appreciation is addressed to Assoc. Prof. Savitree Limtong, Dr.Eng. (Department of Microbiology, Kasetsart University, Bangkok) for her kind and most gratified support to this thesis work by providing the *Saccharomyces cereviceae* M30 and *Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042 strain.

Thanks to all of my thesis committee, Assoc. Prof. Sarawut Rimdusit, Ph.D., Prof. Savitree Limtong, D.Eng. and Assoc. Prof. Bunjerd Jongsomjit, Ph.D. for their kind advices and recommendations which are invaluable for improving my work.

Many thanks are also addressed to Mrs. Sunee Pakprapan and Mrs. Rujiporn Prateepasin (Scientific and Technological Research Equipment Centre, Chulalongkorn University) for their kind assistance in commencing Gas Chromatography (GC) and Scanning Electron Microscopy (SEM).

A financial support from the National Research Council of Thailand (NRCT) is highly appreciated.

Sincere thanks are given to all members of the Biochemical Engineering Research Laboratory and all my friends and staffs in the Department of Chemical Engineering, Chulalongkorn University for their assistance, support, and warm collaborations.

Finally, I would like to express my highest gratitude to my parents for their affectionate support, blessings, inspiration, and love which guide me all the way throughout my life and study.

CONTENTS

PAGE

CHAPTER **PAGE**

CHAPTER **PAGE**

LIST OF TABLES

TABLE **PAGE**

TABLE **PAGE**

TABLE **PAGE**

LIST OF FIGURES

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**