ปรมี หวาดด้วงดี: การคัดแยกและการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้ผลิตไซลิทอลจากลิกโนเซลลูโลสไฮโดรไลเสส (ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS FOR XYLITOL PRODUCTION FROM LIGNOCELLULOSIC HYDROLYSATES)
อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ บุญทาวัน, 61 หน้า.

คำสำคัญ: ไซลิทอล/กากมะพร้าวไฮโดรไลเลส/*Meyerozyma guilliermondii*

กระบวนการผลิตไซลิทอลทางชีวภาพ เป็นวิธีการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและง่ายต่อการดำเนินงานเมื่อเทียบกับกระบวนการทางเคมี การศึกษาก่อนหน้านี้มักจะผลิตไซลิทอลจากยีสต์เนื่องจากอัตราการผลิตไซลิทอลสูงกว่าเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นงานวิจัยฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ผลิตไซลิทอลจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย โดยใช้อาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตไซลิทอลในการคัดแยกและการคัดเลือกจุลินทรีย์ ได้แก่ ไซโลสและเปปโทน เพื่อศึกษาความสามารถในการใช้ไซโลสในจุลินทรีย์ งานวิจัยนี้สามารถคัดแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 36 สายพันธุ์ จากนั้นทำการวิเคราะห์อัตราการผลิตไซลิทอลของจุลินทรีย์แต่ละชนิด และเลือก 10 อันดับที่ผลผลิตไซลิทอลสูงที่สุด เพื่อทำการระบุสายพันธุ์โดยการหาลำดับนิวคลีโอไทป์ของ 16S rDNA และ 26S rDNA ผลการทดลองพบจุลินทรีย์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida tropicalis*, *Meyerozyma carpophila* และ *Meyerozyma guilliermondii* หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ที่ใช้ในการปรับสภาพกากมะพร้าว ได้แก่ อัตราส่วนของแข็งและของเหลว, ความเข้มข้นกรด, อุณหภูมิ, และเวลา พบว่าอัตราส่วนของแข็งและของเหลวร้อยละ 12 กรดซัลฟิวริกเจือจางร้อยละ 9 ที่ 120 °C เป็นเวลา 20 นาที จะทำให้ได้ไซโลสที่ความเข้มข้นสูงที่สุดประมาณ 28.65 กรัมต่อลิตร จากนั้นกำจัดสารยับยั้งการผลิตไซลิทอลที่เกิดขึ้นโดยใช้ถ่านกัมมันต์ร้อยละ 3 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยง *M. guilliermondii* C511C ด้วยกากมะพร้าวไฮโดรไลเสสที่ผ่านการกำจัดสารยับยั้งและไม่ผ่านการกำจัดสารยับยั้ง เชื้อนี้สามารถผลิตไซลิทอลได้ 14.61 ± 0.10 และ 12.50 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การหมักแบบกึ่งกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 5 ลิตรด้วยกากมะพร้าวไฮโดรไลเสสที่ผ่านการกำจัดสารยับยั้ง โดยอาหารที่ประกอบด้วยสารสกัดยีสต์ 3 กรัมต่อลิตร, KH_2PO_4 2 กรัมต่อลิตร, กลูโคส 5 กรัมต่อลิตรและ $(NH_4)_2SO_4$ 2 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 °C, pH 5.5, และการกวนที่อัตราเร็ว 300 rpm แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการผลิตไซลิทอลของ *M. guilliermondii* C511C หลังจาก 96 ชั่วโมงของการหมัก พบว่าสามารถผลิตไซลิทอลได้ 28.19 กรัมต่อลิตร ด้วยอัตราการผลิต 0.70 กรัมต่อกรัม เมื่อเทียบกับกระบวนการทางเคมีและพบว่ากระบวนการทางชีวภาพมีประสิทธิภาพในการผลิตไซลิทอลได้มากกว่ารวมทั้งความบริสุทธิ์ของไซลิทอลที่สูงกว่า

M. guilliermondii C511C แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการผลิตไซลิทอลสูง รวมทั้งเป็นยีสต์ที่ไม่ก่อโรค ซึ่งคุณสมบัติเช่นนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งในด้านความปลอดภัยในการใช้งาน เนื่องจากทำให้มั่นใจได้ว่ากระบวนการผลิตจะไม่ก่อให้เกิดความเสี่ยงในด้านสุขภาพต่อบุคลากรที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ รวมทั้ง *M. guilliermondii* C511C มีความสามารถในการใช้เฮมิเซลลูโลสไฮโดรไลเสตจากกากมะพร้าวอ่อน ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการเกษตรโดยเฉพาะกากมะพร้าวได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2565 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

PARAMEE WADDUANGDEE: ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS FOR XYLITOL PRODUCTION FROM LIGNOCELLULOSIC HYDROLYSATES. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. APICHAT BOONTAWAN, Ph.D., 61 PP.

Keyword: Xylitol/Coconut husk hydrolysate/*Meyerozyma guilliermondii*

The biotechnological production of xylitol has gained significant attention as an environmentally friendly and easily manageable alternative to chemical production methods. In this current work, the focus was on isolating xylitol-producing yeast strains from various sources in Thailand. The rationale behind using yeast in xylitol production lies in its ability to achieve high yields, making it a preferred choice for many previous studies. The screening process involved isolating a total of 36 yeast strains and subjecting them to xylitol production tests using enriched medium containing xylose and peptone. The outcome of this screening led to the identification of 10 yeast strains that exhibited the best xylitol production capabilities. Further characterization of these strains revealed that they belonged to three species: *Candida tropicalis*, *Meyerozyma carpophila*, and *Meyerozyma guilliermondii*. To optimize the xylitol production process, various parameters of pretreatment were investigated. These included solid and liquid ratios, acid concentrations, residence temperature, and time. The results showed that by pretreating green coconut husk (GCH) with 9% dilute H_2SO_4 at 120 ℃ for 20 min, a maximum xylose concentration of 28.65 g/L was achieved from 12% GCH. To ensure efficient xylitol production, the GCH hydrolysate underwent detoxification with 3% activated carbon for 1 h. The subsequent fermentation process in a 5-L bioreactor using the fed-batch mode demonstrated the high potential of *M. guilliermondii* C511C for xylitol production. It yielded an impressive 28.19 ± 0.46 g/L of xylitol with a yield of 0.70 g/g when supplemented with 3 g/L yeast extract, 2 g/L KH_2PO_4, 5 g/L glucose, and 2 g/L $(NH_4)_2SO_4$ at 30 ℃, pH 5.5, and 300 rpm of agitation after 96 hours of fermentation time. Comparing this biotechnological approach with chemical processes, it become evident that the former offers significant advantages. The simplified fed-batch fermentation process for xylitol production from xylose-rich hydrolysate not only yields considerable quantities of xylitol but also avoids the complexities and environmental hazards associated with chemical methods.

Furthermore, the use of *M. guilliermondii* C511C, which demonstrated excellent xylitol production capabilities, is noteworthy for its non-pathogenic nature. This characteristic is particularly important from a safety standpoint, as it ensures that the production process does not pose any health risks to the personnel involved.

Additionally, the modified process developed in this study, optimized for upscaling, presents a promising solution to mitigate the pollution problem caused by green coconut husk in the beverage industry. By utilizing green coconut husk as a carbon source for xylitol production, this work offers an innovative approach to valorize agricultural waste and reduce its environmental impact.

In conclusion, the results of this study showcase the high potential of biotechnological xylitol production using *M. guilliermondii* C511C. The simplicity of the fed-batch fermentation process, the non-pathogenic nature of the selected yeast strain, and the effective utilization of agricultural waste as a feedstock underscore the significance of this research in sustainable bioprocess engineering. The findings of this study hold promise for the development of eco-friendly and economically viable xylitol production methods, contributing to a greener and more sustainable future. However, further research and optimization studies are encouraged to explore the full potential of this approach and facilitate its integration into industrial applications.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Biotechnology Student's Signature _____

Academic Year 2022 Advisor's Signature _____