การผลิตกรดซักซินิกจากแป้งมันและกากมันสำปะหลังด้วยเชื้ออีโคไลที่ผ่านการดัดแปลงกระบวนการสร้างและสลายสายพันธุ์ KJ122

คิริน โม อภิชัย สาวิสิทธิ์ และเขมวิทย์ จันต๊ะมา
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

ซักซิเนตถูกใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมเคมีและการผลิตซักซิเนตจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นทางเลือกที่เป็นที่ต้องการมาก ทั้งนี้ความเป็นไปได้ในการผลิตซักซิเนตด้วยกระบวนการทางชีวภาพในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่นั้น จะขึ้นอยู่กับการใช้ประโยชน์จากแหล่งพลังงานทดแทนที่ราคาถูกกว่า ดังนั้น การนำวัตถุดิบที่ได้จากมันสำปะหลังมาใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตซักซิเนตอาจทำให้สามารถเพิ่มการแข่งขันทางเศรษฐกิจได้มากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการผลิตซักซิเนตจากเชื้อ *E. coli* KJ122 โดยใช้กากมันสำปะหลังและแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนในระหว่างกระบวนการย่อยและการหมักแบบขั้นตอนเดียว (SSF) และการย่อยและการหมักที่แยกออกจากกัน (SHF) จากการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตซักซิเนตโดยเชื้อ *E. coli* KJ122 ที่ผ่านการดัดแปลงวิถีการสร้างและการสลาย ด้วยกระบวนการ SHF ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนอย่างง่าย พบว่าซักซิเนตที่ผลิตได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 41.46±0.05 g/L มีค่าผลได้เท่ากับ 82.33±0.14 g/100 g กากมันสำปะหลังแห้ง และมีอัตราผลผลิตเท่ากับ 0.84±0.02 g/L/h สำหรับการผลิตซักซิเนตด้วยเชื้อ *E. coli* KJ122 โดยการใช้กระบวนการ SSF แบบกะ ซึ่งใช้กากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น12% (w/v) เป็นแหล่งคาร์บอนและใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (AMG) 2% และเอนไซม์เซลลูเลส (Cel) 3% (w/v) ในการย่อย ภายใต้สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5 ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถผลิตซักซิเนตที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 80.86±0.49 g/L มีค่าผลผลิตได้เท่ากับ 70.34±0.37 g/100 g กากมันสำปะหลังแห้ง พร้อมด้วยอัตราการผลิตเท่ากับ 0.84±0.01 g/L/h และเมื่อใช้กระบวนการ SSF แบบกึ่งกะในการผลิตซักซิเนต พบว่าสามารถช่วยทำให้ความเข้มข้นของซักซิเนตที่ผลิตได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 98.63±0.12 g/L มีค่าผลผลิตได้เท่ากับ 71.64±0.97 g/100 g กากมันสำปะหลังแห้ง และมีอัตราการผลิตเท่ากับ 1.03±0.01 g/L/h จากผลการทดลองที่ได้นี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพและความคุ้มทุนในการผลิตซักซิเนตจากกากมันสำปะหลังด้วยกระบวนการ SHF และ SSF โดยเชื้อ *E. coli* KJ122 เมื่อพิจารณาในส่วนของการนำแป้งมันสำปะหลังมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตซักซิเนตจากเชื้อ *E. coli* KJ122 จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตซักซิเนต โดยซักซิเนตที่ผลิตได้จากกระบวนการ SSF แบบกะภายใต้สภาวะในการผลิตที่เหมาะสมที่สุดในถังหมักขนาด 2 ลิตร มีค่าเท่ากับ 70.1±0.10 g/L มีค่าผลได้เท่ากับ 1.00±0.01 g/g กลูโคส และมีอัตราการผลิตเท่ากับ 0.97±0.01 g/L/h เมื่อทำการปรับปรุงการผลิตซักซิเนตต่อไปโดยใช้กระบวนการ SSF แบบกึ่งกะ พบว่าสามารถช่วยทำให้ค่าความเข้มข้นของซักซิเนตที่ผลิตได้ (82.5±0.7 g/L) ค่าผลผลิตได้ (1.03±0.01 g/g กลูโคส) ค่าเฉลี่ยอัตราการผลิต (1.15±0.01 g/L/h) และค่าอัตราการผลิตจำเพาะ (456 mg/g CDW/h) มีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับ เชื้อ *E. coli* KJ122 สามารถผลิตซักซิเนตที่มีค่าผลผลิตได้ทางทฤษฎีสูงสุดเท่ากับ 92% และให้ค่าอัตราการผลิตจำเพาะสูงที่สุดเท่าที่เคยมีรายงานมา ทั้งนี้ค่าผลผลิตได้ของซักซิเนตและค่าอัตราการผลิตจำเพาะที่ได้จากการใช้แป้งมันสำปะหลังในการศึกษานี้มีค่าสูงกว่าค่าที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้านี้เป็นอย่างมาก ฉะนั้น เชื้อ *E. coli* KJ122 อาจสามารถใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในการผลิตซักซิเนตเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพและความคุ้มทุนในทางเศรษฐศาสตร์ได้

Succinic Acid Production from Cassava Starch and Cassava Pulp by Metabolically Engineered *Escherichia coli* KJ122

Kirin Khor Apichai Sawisith and Kaemwich Jantama
School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology
Suranaree University of Technology

Succinate has been widely used in chemical industries and its microbial production is a desirable option. The feasibility of bio-based succinate production on an industrial scale strongly depends on the utilization of cheaper renewable resources. The use of cassava materials may make the fermentation process of succinate more economically competitive. In this study, cassava pulp and cassava starch were used as carbon substrate for succinate production during simultaneous saccharification and fermentation (SSF) and separate hydrolysis and fermentation (SHF) by *Escherichia coli* KJ122. With cassava pulp as the substrate, a metabolically engineered *E. coli* KJ122 was efficiently utilized for succinate production from cassava pulp during batch separate hydrolysis and fermentation (SHF) under simple anaerobic conditions. Succinate concentration of 41.46±0.05 g/L with yield and productivity of 82.33±0.14 g/100 g dry pulp and 0.84±0.02 g/L/h was obtained. In batch simultaneous saccharification and fermentation (SSF), hydrolysis of 12 % (w/v) cassava pulp with an enzyme loading of 2 % AMG + 3 % Cel (v/w) at pH 6.5 was optimized at 39 °C. Succinate concentration of 80.86±0.49 g/L with a yield of 70.34±0.37 g/100 g dry pulp and a productivity of 0.84±0.01 g/L/h was attained using *E. coli* KJ122. Fed-batch SSF significantly enhanced succinate concentration to 98.63±0.12 g/L at yield and productivity of 71.64±0.97 g/100 g dry pulp and 1.03±0.01 g/L/h. This result indicated an efficient and economical succinate production from cassava pulp using SHF and SSF by the use of *E. coli* KJ122. Considering to cassava starch as the substrate, the parameters affecting succinate production from cassava starch by *E. coli* KJ122 were optimized. A succinate concentration of 70.1±0.1 g/L was produced with a yield of 1.00±0.01 g/g substrate and productivity of 0.97±0.01 g/L/h during batch SSF in a 2 L fermenter under optimized conditions. Further improvements in succinate concentration (82.5±0.7 g/L), yield (1.03±0.01 g/g glucose), and average and specific productivities of 1.15±0.01 g/L/h, and 456 mg g CDW/h, respectively, were observed in fed-batch SSF. *E. coli* KJ122 produced a succinate yield of 92% of theoretical maximum and the highest specific productivity ever reported. Succinate production yield and specific productivity from cassava starch in this study are superior to other previously published works. *Escherichia coli* KJ122 may be used as a biocatalyst for cost-effective succinate production.