ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การผลิตเอทานอลและอาร์-ฟีนิลอะซิติลคาร์บินอล จากตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพชนิดเซลล์รวมที่ใช้แหล่งอาหารคาร์บอนจากลำไยอบแห้ง

ผู้เขียน นางสาวอะมาเลีย สุกมา อากุสตินา

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.นพพล เล็กสวัสดิ์ ประธานกรรมการ

ดร.ชาติชาย โขนงนุช กรรมการ

บทคัดย่อ

การผลิตลำไย (*Dimocarpus Longan* Lour.) ที่มากเกินไป รวมถึงคุณสมบัติที่เน่าเสียได้ อาจได้รับการจัดการโดยใช้ลำไยเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอล และเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอก-ซิเลสในรูปแบบเซลล์รวมจากจุลินทรีย์ผลิตเอทานอล ตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพชนิดนี้มีประโยชน์ในการผลิตสารอาร์-ฟีนิลอะซิติลคาร์บินอล ซึ่งเป็นสารตั้งต้นไครัล สำหรับเอฟีดรินและซูโดเอฟีดริน การทดลองใช้ลำไยอบแห้งอายุ 6 ปี และ 10 เดือน ที่มีการเติมแหล่งอาหารไนโตรเจนเพิ่มเติม ด้วยจุลินทรีย์ผลิตเอทานอล 15 สายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะให้อากาศก่อนเหนี่ยวนำให้มีการผลิตเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส เมื่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในกระบวนการหมักเป็นสารสกัดจากลำไยอบแห้งอายุ 6 ปี พบความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอล และค่ากิจกรรมการทำงานของไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส จาก *Candida utilis* TISTR 5001 (1.26 ± 0.82 กรัมต่อลิตร) และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606 (0.01 ± 0.00 หน่วยต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ ส่วนการใช้สารสกัดจากลำไยอบแห้งอายุ 10 เดือน พบความเข้มข้นเอทานอลระดับสูงสุดเท่ากับ 24.7 ± 3.3 กรัมต่อลิตร โดย *S. cerevisiae* TISTR 5606 และค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลสสูงสุดเท่ากับ 0.05 ± 0.00 หน่วยต่อมิลลิลิตร โดย *C. utilis* TISTR 5198 การประเมินจลนพลศาสตร์การเจริญโดยใช้ลำไยอบแห้งอายุ 10 เดือน เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5606 เป็นสายพันธุ์ที่ใช้น้ำตาลซูโครสและผลิตเอทานอลได้ระดับ ความเข้มข้นสูงสุด ยีสต์ *C. utilis* TISTR 5198 เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้น้ำตาลกลูโคส (11.7 ± 0.7 กรัมต่อลิตร) และผลิตเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส (0.05 ± 0.01 หน่วยต่อมิลลิลิตร) ได้ในระดับสูง กระบวนการผลิตอาร์-ฟี-นิลอะซิติลคาร์บินอล กระทำโดยใช้เอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลสในรูปเซลล์รวมจาก *C. utilis* TISTR 5198 และ *S. cerevisiae* TISTR 5606 ในระบบของเหลวสองชั้น ที่มีสารตั้งต้นเป็นไพรูเวตความเข้มข้น 300 มิลลิโมล่าร์ และเบนซาลดีไฮด์ความเข้มข้น 1.75 โมล่าร์ ในสารอินทรีย์หลายชนิด ที่อุณหภูมิ 6–8 องศาเซลเซียส อัตราเร็วในการเขย่า 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชั่วโมง พบระดับความเข้มข้นสูงสุดของ อาร์-ฟีนิลอะซิติลคาร์บินอล จาก *C. utilis* TISTR 5198 (83.8 ± 6.8 มิลลิโมล่าร์) โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์โนนานอลเป็นชั้นสารอินทรีย์และตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพเซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร การใช้เซลล์รวมของเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลสจาก *S. cerevisiae* TISTR 5606 ผลิตอาร์-ฟีนิลอะซิติลคาร์บินอลได้ระดับสูงสุด (37.4 ± 2.8 มิลลิโมล่าร์) เมื่อใช้ชั้นตัวทำละลายอินทรีย์เป็นสารผสมระหว่างออกทานอลและไดโพรพิลีนไกลคอล ในอัตราส่วน 1:1 ด้วยเซลล์รวมความเข้มข้น 12.24 กรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Production of Ethanol and (*R*)-phenylacetylcarbinol from Whole Cells Biocatalyst Utilizing Carbon Sources from Dried Longan

Author Miss Amalia S. Agustina

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisory Committee Asst. Prof. Dr. Noppol Leksawasdi Chairperson

Dr. Chartchai Khanongnuch Member

ABSTRACT

Overproduction and perishable properties of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) could be managed by using longan as carbon source for ethanol fermentation and whole cell pyruvate decarboxylase PDC derived from ethanol producing microbes. This biocatalyst was used in production of (*R*)-phenylacetylcarbinol (PAC) – the chiral precursor for ephedrine and pseudoephedrine. The experiment employed 6 years and 10 months old dried longan with the addition of nitrogen sources and 15 strains of ethanol producing microbes which were cultivated in the aerated condition prior to the induction of PDC production. By using 6 years old dried longan extract as fermentation medium, the highest level of ethanol and PDC activity were produced by *Candida utilis* TISTR 5001 (1.26 ± 0.82 g/l) and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5606 (0.01 ± 0.00 U/ml), respectively. Meanwhile, the utilization of 10 months old dried longan extract resulted in the highest level of ethanol (24.71 ± 3.34 g/l) by *S.*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

cerevisiae TISTR 5606 and PDC activity of 0.05 ± 0.00 U/ml by *C. utilis* TISTR 5198. The growth kinetic assessment with 10 months old dried longan as cultivation medium of *S. cerevisiae* TISTR 5606 was acknowledged as the strain which consumed sucrose and produced ethanol at the highest level. *C. utilis* TISTR 5198 was the strain which consumed glucose (11.68 ± 0.69 g/l) and capable of producing PDC (0.05 ± 0.01 U/ml) at high level. PAC biotransformation was conducted by using whole cell PDC from *C. utilis* TISTR 5198 and *S. cerevisiae* TISTR 5606 in biphasic system with 300 mM of pyruvate and 1.75 M of benzaldehyde in various organic solvents at 6 – 8°C, 250 rpm for 72 h. The highest level of PAC was produced by *C. utilis* TISTR 5198 (83.8 ± 6.8 mM) with C9 (1-nonanol) as organic solvent and 12.24 g/l whole cells PDC as a biocatalyst. The utilization of whole cell PDC from *S. cerevisiae* TISTR 5606 resulted in the highest level of PAC (37.4 ± 2.8 mM) when the mixture of C8 (1-octanol) and dipropylene glycol (DPG) in 1:1 ratio was used as organic solvent with 12.24 g/l of whole cells PDC concentration.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved