ทัชศนนท์ ชาลีวงษ์ : การจำลองสมการจลนศาสตร์สำหรับการผลิตกรดซัคซินิคจากกลูโคสและไซโลสด้วยเชื้อ *ESCHERICHIA COLI* KJ12201 (KINETIC MODELLING OF SUCCINATE PRODUCTION FROM GLUCOSE AND XYLOSE BY *ESCHERICHIA COLI* KJ12201) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.เขมวิทย์ จันต๊ะมา, 89 หน้า.

Escherichia coli KJ12201 เป็นหนึ่งในจุลินทรีย์ผู้ผลิตกรดซัคซินิคที่น่าสนใจ *E. coli* KJ12201ได้ถูกปรับปรุงทางพันธุกรรมเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการผลิตกรดซัคซินิคจากไซโลสและกลูโคส ดังนั้นเพื่อทำการประเมินศักยภาพทางด้านของการเจริญของเซลล์ การบริโภคสารตั้งต้น และการผลิตกรดซัคซินิค *E. coli* KJ12201 จึงถูกเลี้ยงด้วยความเข้มข้นเริ่มต้นที่แตกต่างกันของไซโลสและกลูโคส จากการทดลองพบว่าอัตราการเจริญสูงสุดของ *E. coli* KJ12201 ในไซโลสสูงกว่าในกลูโคส อย่างไรก็ตามกรดซัคซินิคถูกผลิตสูงสุดที่ 0.835±0.028 กรัมต่อกรัมของไซโลสและ 0.850±0.013 กรัมต่อกรัมของกลูโคส ในขณะเดียวกันกรดอะซิติกถูกผลิตสูงสุดที่ 0.154±0.031 กรัมต่อกรัมของไซโลส และ 0.108±0.012 กรัมต่อกรัมของกลูโคส ยิ่งไปกว่านี้เพื่อทำการพัฒนาสมการจลน์ศาสตร์ การยับยั้งการเจริญของ *E. coli* KJ12201 จากความเข้มข้นของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ได้ถูกนำมาศึกษาและประเมิน สมการจลนศาสตร์ของ Haldane-Andrews, Monod, Aiba-Edward, และ Teissier ถูกนำมาใช้สำหรับการประมาณการยับยั้งที่เกิดจากสารตั้งต้น เมื่อพิจารณาการใช้ไซโลสเป็นสารตั้งต้นพบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของไซโลสสูงกว่า 20 กรัมต่อลิตรยับยั้งการเจริญของ *E. coli* KJ12201 อย่างมีนัยสำคัญ ด้วยสมการจลนศาสตร์ของ Monod ซึ่งการทำนายมีความแม่นยำด้วยค่าความแปรปรวนที่ต่ำ ($\sigma^2 = 0.000342$) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่สูง ($R^2 = 0.985$) แต่ในขณะที่เมื่อใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้นไม่พบการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* KJ12201 และสมการจลนศาสตร์ของ Monod ได้ถูกนำมาใช้ในการทำนายค่าอัตราการเจริญของเชื้อได้อย่างแม่นยำด้วยค่าความแปรปรวนที่ต่ำ ($\sigma^2 = 0.000010$) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่สูง ($R^2 = 0.998$) ในส่วนของการยับยั้งการเจริญด้วยกรดซัคซินิคจากการประมาณของสมการจลนศาสตร์ พบว่าความเข้มข้นที่เกิดการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* KJ12201 ได้อย่างสมบูรณ์คือ 68.19 กรัมต่อลิตรและ 81.48 กรัมต่อลิตรสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโลสและกลูโคสตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า *E. coli* KJ12201 สามารถทนทานต่อการยับยั้งการเจริญที่ความเข้มข้นของกรดซัคซินิคสูงเมื่อใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้น เนื่องจาก ATP ที่ได้ถูกผลิตระหว่างกระบวนการไกลโคไลซิสจากการใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้นมีปริมาณมากกว่าจากการใช้ไซโลสเป็นสารตั้งต้น และถูกนำไปใช้เพื่อการเจริญและการดำรงอยู่ของเซลล์อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า ในท้ายที่สุดสมการจลนศาสตร์ได้ถูกพัฒนาเพื่อใช้ทำนายความเข้มข้นของเซลล์ การบริโภคของสารตั้งต้น การสร้างผลิตภัณฑ์ และการยับยั้งการเจริญจากสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ตลอด

กระบวนการหมักที่ความเข้มข้นเริ่มต้นที่แตกต่างกันของไซโลสและกลูโคส ตัวแปรภายในสมการจลศาสตร์ได้ถูกคำนวณจากการลดความแตกต่างระหว่างผลการทดลองและผลลัพธ์จากการทำนายของสมการ หลังจากนั้นสมการจลศาสตร์ได้ถูกนำมาทดสอบยืนยันด้วยชุดข้อมูลอื่นๆ จากการทดลอง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสมการจลศาสตร์สามารถทำนายตัวแปรได้อย่างแม่นยำโดยสอดคล้องกับผลการทดลองจริง ดังนั้นผลลัพธ์จากการทดสอบชี้ให้เห็นว่าสมการจลศาสตร์ที่ได้ถูกพัฒนาขึ้นสามารถนำมาใช้สำหรับทำนายการผลิตของกรดซัคซินิคจากไซโลสและกลูโคสอย่างมีประสิทธิภาพ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อนักศึกษา Tassanon Chaleenoy
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา N. Santama.
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Chanmarong Puchongkawarin

TASSANON CHALEEWONG : KINETIC MODELLING OF SUCCINATE PRODUCTION FROM GLUCOSE AND XYLOSE BY *ESCHERICHIA COLI* KJ12201. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. KAEMWICH JANTAMA, Ph.D., 89 PP.

KINETICS/MODELLING/SUCCINATE/*ESCHERICHIA COLI*

Escherichia coli KJ12201 is one of the promising succinate producers. *E. coli* KJ12201 was genetically modified to improve the succinate production proficiency from xylose and glucose. To evaluate its capability in the case of cell growth, substrate consumption, and succinate, *E. coli* KJ12201 was cultivated with various initial xylose and glucose concentrations. Based on the experimental data, the maximum specific growth rate of *E. coli* KJ12201 in xylose was greater than that of glucose. However, the maximum yield of succinate was 0.835±0.028 g/g for xylose and 0.850±0.013 g/g for glucose. Meanwhile, the maximum yield of acetate was 0.154±0.031 g/g for xylose and 0.108±0.012g/g for glucose. Moreover, the substrate and succinate inhibition were elucidated and assessed for the kinetic model development. Substrate inhibition was examined in the substrate concentrations ranging from 20–80 g/L for xylose and glucose. Haldane-Andrews, Monod, Aiba-Edward, and Teissier models were used for predicting the substrate inhibition. Regrading xylose as a substrate, higher initial concentrations than 20 g/L significantly inhibited the cell growth rate. The Monod model appropriately predicted the xylose inhibition with the lowest variance (σ^2 = 0.000342) and an acceptable coefficient of determination (R^2 = 0.985). Meanwhile, glucose as a substrate had no inhibitory effect on the cell growth rate and the specific growth rate predicted using Monod model with low variance (σ^2 = 0. 000010) and high

coefficient of determination (R^2 = 0.998). For succinate inhibition, the maximum succinate concentrations that completely inhibited the cell growth of *E. coli* KJ12201 were 68.19 g/L and 81.48 g/L in the medium containing xylose and glucose, respectively. These values demonstrated that *E. coli* KJ12201 could tolerate higher succinate concentration in glucose as a substrate than that of xylose since ATP produced from glucose during glycolysis was more than that of xylose and could more efficiently distribute to cell growth and cell maintenance. Finally, the kinetic model was developed to predict the cell concentration, substrate utilization, product formation, and inhibitory effects of substrate and product throughout the fermentation process at various initial xylose and glucose concentrations. The kinetic parameters of the proposed model were determined by minimizing the gap between experimental data and model prediction. Then, the proposed model was validated with another set of experimental data. The results showed that the proposed model precisely predicted kinetic parameters that suited well with experimental measurements. This indicated that the proposed model can be employed for efficiently predicting the succinate production form glucose and xylose.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Biotechnology

Academic Year 2019

Student's Signature Tassanon Chaleenong

Advisor's Signature N. Pantama.

Co-Advisor's Signature Chamarong Puchongkawarin