หัวข้อดุษฎีนิพนธ์	การผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์และไบโอเอทานอลจากซังข้าวโพดโดยวิธีทางเอนไซม์	
ผู้เขียน	นางสาวพินพนิต บุญช่วย	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทนงศักดิ์ ไชยาโส	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ หาญเมืองใจ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	รองศาสตราจารย์ ดร.นพพล เล็กสวัสดิ์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	Professor Dr. Shinji Takenaka	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

ซังข้าวโพดเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ราคาถูกและมีไซแลนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงจึงสามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ได้ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาการผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์จากซังข้าวโพดโดยใช้การแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์แล้วตามด้วยการย่อยด้วยเอนไซม์ ภายหลังจากการแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ พบว่าปริมาณผลผลิตเก็บเกี่ยวกลับคืนเท่ากับร้อยละ 43.69 โดยน้ำหนัก ซังข้าวโพดที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์แล้ว ประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 65.21 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 24.67 และลิกนินร้อยละ 4.29 จากนั้นทำการย่อยซังข้าวโพดที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์โดยวิธีทางเอนไซม์ด้วยเอนโดไซลาเนสทนร้อนที่ผลิตได้เองจากเชื้อ *Streptomyces thermovulgaris* TISTR1948 เพื่อผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์จากซังข้าวโพด เมื่อทำการวิเคราะห์ไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ที่ผลิตได้ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (thin layer chromatography, TLC) และโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ คือ 12 ชั่วโมง จากนั้นจึงศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์โดยใช้หลักการพื้นที่ผิวตอบสนองและการออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลาง ศึกษาผลของแปรอิสระจำนวน 3 ตัวแปร ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ (X_1) ค่าพีเอช (X_2) และอุณหภูมิ (X_3) ต่อการผลิตไซโลโอลิ-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โกแซกคาไรด์ แบบจำลองทางสถิติได้ทำนายสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ไว้ คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 129.43 ยูนิตต่อกรัมสารตั้งต้น อุณหภูมิ 53.80 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 6.17 จากการยืนยันผลการทดลองตามแบบจำลองที่ได้ทำนายไว้ แสดงให้เห็นว่าปริมาณไซโลโอลิโกแซกคาไรด์เพิ่มขึ้นจาก 150.66 เป็น 162.97 มิลลิกรัมต่อกรัมสารตั้งต้น หรือ 752.15 มิลลิกรัมต่อกรัมเฮมิเซลลูโลส โดยไซโลโอลิโกแซกคาไรด์จากซังข้าวโพดที่ผลิตภายใต้สภาวะที่เหมาะสมมีไซโลไบโอสเป็นองค์ประกอบหลัก มีไซโลสและอะราบิโนสในปริมาณน้อย เมื่อทำการศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกส์ของไซโลโอลิโกแซกคาไรด์จากซังข้าวโพดในระดับหลอดทดลอง พบว่าไซโลโอลิโกแซกคาไรด์จากซังข้าวโพดช่วยเพิ่มการเจริญของโพรไบโอติกส์ในกลุ่มแล็กโทบาซิลไล (lactobacilli) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus casei* TISTR1463, *L. lactis* TISTR1464 และ *L. plantarum* TISTR1465 ยิ่งไปกว่านั้นสมบัติการเป็นพรีไบโอติกส์ของไซโลโอลิโกแซกคาไรด์จากซังข้าวโพดในการส่งเสริมการเจริญของแล็กโทบาซิลไลเหล่านั้นยังมีค่าเทียบเท่ากับไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ทางการค้าอีกด้วย

จากการศึกษาการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์และศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์เอนโดไซลาเนสทนร้อนแบบหยาบที่ผลิตได้เองจาก *S. thermovulgaris* TISTR1948 และเพื่อประเมินศักยภาพของเอนไซม์ดังกล่าวต่อการนำไปใช้ผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น โดยขั้นตอนการทำเอนไซม์ไซลาเนสให้บริสุทธิ์มี 4 ขั้นตอน ได้แก่ การทำให้เข้มข้น การไดอะไลซีส โครมาโตกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออน และเจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟี ผลการศึกษา พบว่าเอนไซม์ไซลาเนสมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 15.18 เท่า โดยมีปริมาณผลผลิตเก็บเกี่ยวกลับคืนเท่ากับร้อยละ 13.0 เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วเท่ากับ 46.2 กิโลดาลตัน เอนไซม์มีค่ากิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีค่าครึ่งชีวิตนาน 90 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วเท่ากับ 6.5 เอนไซม์ดังกล่าวยังมีเสถียรภาพสูงต่อค่าพีเอชในช่วงกว้างระหว่าง 3.5–11.5 และทนต่ออุณหภูมิในช่วง 50–70 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่าไอออนของโลหะ Ca^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+} และ Ag^{+} กระตุ้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส ในขณะที่ Fe^{2+} และ Mn^{2+} ยับยั้งค่ากิจกรรมบางส่วนของเอนไซม์ ส่วน Hg^{2+}, Pb^{2+} และ SDS ยับยั้งค่ากิจกรรมเกือบทั้งหมดของเอนไซม์ ค่าจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ไซลาเนสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว ได้แก่ K_m และ V_{max} เมื่อใช้ไซแลนจากไม้บีชเป็นสารตั้งต้นมีค่าเท่ากับ 1.34 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.072 ยูนิตต่อมิลลิกรัมหรือไมโครโมลต่อนาทีต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้น เมื่อนำเอนไซม์ไซลาเนสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วไปใช้ผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นโดยใช้ซังข้าวโพดที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นสารตั้งต้น ทำการวิเคราะห์สารที่ได้จากการทำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปฏิกิริยาด้วยโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบางและโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผลการทดลอง พบว่า ได้ไซโลไบโอสเป็นองค์ประกอบหลักของผลิตภัณฑ์ที่ย่อยได้ในขณะที่มีไซโลสในปริมาณต่ำมาก จากการศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกส์ของไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นในระดับหลอดทดลอง พบว่าไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกส์ *L. plantarum* TISTR1465 ได้ ยิ่งไปกว่านั้นไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ที่ผลิตจากเอนไซม์ไซลาเนสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว สามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกส์ได้ดีกว่าไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ที่ผลิตได้จากเอนไซม์ไซลาเนสแบบทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและเอนไซม์ไซลาเนสแบบหยาบ

จากการศึกษาการผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์และไบโอเอทานอลจากซังข้าวโพดโดยใช้กระบวนการแบบบูรณาการในระดับถังปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยทำการผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ด้วยกระบวนการแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ตามด้วยการย่อยด้วยเอนไซม์เอนโดไซลาเนสทนร้อนที่ผลิตได้เองจากเชื้อ *S. thermovulgaris* TISTR1948 พบว่า ผลผลิตของไซโลโอลิโกแซกคาไรด์เป็น 0.08 กรัมต่อกรัมซังข้าวโพดที่ยังไม่ผ่านการแปรสภาพ หรือ 22.13 กรัมต่อลิตร และผลผลิตของซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลส 0.52 กรัมต่อกรัมซังข้าวโพดที่ยังไม่ผ่านการแปรสภาพ เมื่อนำซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตไบโอเอทานอลโดยใช้ยีสต์ทนร้อนสายพันธุ์ใหม่ *Candida glabrata* KY618709 โดยทำการผลิตไบโอเอทานอลด้วย 2 กระบวนการ คือ กระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นไม่พร้อมกัน (separate hydrolysis and fermentation, SHF) โดยใช้ไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสเป็นสารตั้งต้น และกระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นพร้อมกัน (simultaneous saccharification and fermentation, SSF)โดยใช้ซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสเป็นสารตั้งต้น ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตไบโอเอทานอลด้วยยีสต์ทนร้อนสายพันธุ์ *C. glabrata* KY618709 โดยใช้กระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นไม่พร้อมกันและกระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นพร้อมกันที่อุณหภูมิ 35–42 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบกับ *Saccharomyces cerevisiae* ทางการค้า สำหรับกระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นไม่พร้อมกัน จะทำการผลิตไฮโดรโดรไลเสทจากซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทำนายด้วยการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์–เบนห์เคน คือ เอนไซม์เซลลูเลสความเข้มข้น 22.04 FPU ต่อกรัมซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลส ซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสร้อยละ 7.8 น้ำหนักต่อปริมาตร ค่าพีเอช 5.06 อุณหภูมิ 45.93 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 96 ชั่วโมง ไฮโดรโดรไลเสทจากซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสที่ผลิตได้ประกอบด้วยน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 62.16 กรัมต่อลิตร โดยมีกลูโคส ไซโลส และอะราบิโนสเท่ากับ 51.21, 10.03 และ 0.92 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการผลิตไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยและ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การหมักที่เกิดขึ้นไม่พร้อมกัน พบว่าความเข้มข้นของไบโอเอทานอลที่ผลิตได้จาก *C. glabrata* KY618709 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ มีค่าอยู่ระหว่าง 20.07–21.92 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความเข้มข้นของไบโอเอทานอลที่ผลิตได้จาก *S. cerevisiae* มีค่าลดลงเหลือเพียง 9.64 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 42 องศาเซลเซียส ในขณะที่การผลิตไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นพร้อมกันโดยใช้ *C. glabrata* KY618709 พบว่า สามารถผลิตไบโอเอทานอลได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยมีความเข้มข้นของเอทานอลเป็น 22.35 กรัมต่อลิตร หรือ 0.29 กรัมต่อกรัมซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลส และอัตราการผลิตเอทานอลเป็น 0.31 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง คิดเป็นร้อยละ 95 ของค่าทางทฤษฎี เมื่อทำการศึกษาการขยายขนาดการผลิตไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นพร้อมกัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสโดยใช้ *C. glabrata* KY618709 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำหมัก 3.5 ลิตร โดยผันแปรความเข้มข้นของซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 7.8, 11.7 และ 15.6 น้ำหนักต่อปริมาตร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การผลิตไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นพร้อมกันโดยใช้ซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 7.8, 11.7 และ 15.6 น้ำหนักต่อปริมาตร ให้ปริมาณไบโอเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 21.48, 31.32 และ 36.99 กรัมต่อลิตร และอัตราการผลิตเอทานอลเป็น 0.30, 0.33 และ 0.31 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

การศึกษานี้ได้นำเสนอวิธีการที่มีประสิทธิภาพเพื่อผลิตสารเคมีมูลค่าสูง 2 ชนิด คือ ไซโลโอลิโกแซกคาไรด์และไบโอเอทานอลจากซังข้าวโพดซึ่งอาศัยกระบวนการทางเอนไซม์โดยใช้เอนโดไซลาเนสทนร้อนที่ผลิตได้เองจากเชื้อ *S. thermovulgaris* TISTR1948 เพื่อทำการเปลี่ยนไซแลนในซังข้าวโพดให้เป็นไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ จากผลการศึกษาการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์และศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเอนไซม์ไซลาเนสที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วต่อการนำไปใช้ผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น ซึ่งสามารถเพิ่มการเจริญของโพรไบโอติกส์ในกลุ่มแล็กโทบาซิลไลได้ดีกว่าไซโลโอลิโกแซกคาไรด์ที่ผลิตจากเอนไซม์แบบหยาบ ในขณะเดียวกันซังข้าวโพดที่อุดมไปด้วยเซลลูโลสซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตไซโลโอลิโกแซกคาไรด์นั้นสามารถไปใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตไบโอเอทานอลด้วยกระบวนการย่อยและการหมักที่เกิดขึ้นพร้อมกันโดยใช้ยีสต์ทนร้อนสายพันธุ์ใหม่ที่แยกได้ คือ *C. glabrata* KY618709 ซึ่งข้อดีของวิธีการนี้ คือ ใช้อุณหภูมิสูง ทำให้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการผลิตไบโอทานอลสูงขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Dissertation Title	Enzymatic Productions of Xylooligosaccharide and Bioethanol from Corncob	
Author	Miss Pinpanit Boonchuay	
Degree	Doctor of Philosophy (Biotechnology)	
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Thanongsak Chaiyaso	Advisor
	Asst. Prof. Dr. Prasert Hanmoungjai	Co-advisor
	Assoc. Prof. Dr. Noppol Leksawasdi	Co-advisor
	Prof. Dr. Shinji Takenaka	Co-advisor

ABSTRACT

Corncob, a low-cost agricultural waste with high xylan content can be used as a substrate for the production of xylooligosaccharides (XOs). In this study, the XO production from corncob was investigated by using the consecutive process of KOH pretreatment and enzymatic hydrolysis. After KOH pretreatment, the recovery yield was 43.69% (w/w). The KOH-treated corncob composed of 65.21% cellulose, 24.67% hemicellulose and 4.29% lignin. Then, the KOH-treated corncob was subjected to enzymatic hydrolysis to produce corncob-XOs by an in-house thermostable endo-xylanase from *Streptomyces thermovulgaris* TISTR1948. The results from TLC and HPLC analysis of the produced XOs revealed that the appropriate reaction time for the XO production was 12 h. Then the response surface methodology (RSM) via the central composite design (CCD) was employed to find out the optimal condition for XO production. The effect of three independent variables, including, enzyme concentration (X_1), pH value (X_2) and temperature (X_3) on XO production were examined. The statistical model suggested the optimal conditions for XO production as enzyme concentration 129.43 $U/g_{substrate}$ at 53.80°C and pH 6.17. The validation of the suggested model revealed that the XO content increased from 150.66 to 162.97 $mg/g_{substrate}$ or 752.15 $mg/g_{hemicellulose}$. The corncob-XOs produced from optimal condition contained

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

xylobiose as the main product with a low content of xylose and arabinose. The prebiotic study of corncob-XOs through *in vitro* fermentation found that corncob-XOs were able to enhance the growth of three prebiotics lactobacilli, namely, *Lactobacillus casei* TISTR1463, *L. lactis* TISTR1464 and *L. plantarum* TISTR1465. Moreover, the prebiotics properties of corncob-XOs to promote the growth of those lactobacilli were comparable to the commercial XOs.

A crude in-house thermostable endo-xylanase from *S. thermovulgaris* TISTR1948 was purified and characterized in order to evaluate its potential on high-purity XO production. Xylanase was purified using four consecutive steps of concentration, dialysis, ion-exchange chromatography and gel filtration chromatography. This xylanase was purified to 15.18 folds with a recovery yield of 13.0%. The purified enzyme had the apparent molecular mass of 46.2 kDa by SDS-PAGE and showed maximum activity at 65°C with the half-life of 90 min at 70°C. The optimum pH level of the purified enzyme was pH 6.5. It showed high stability at broad pH range of 3.5–11.5 and was thermostable at the temperature range of 50–70°C. The xylanase activity was enhanced in the presence of metal ions, Ca^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+} and Ag^{+}. Whereas, Fe^{2+} and Mn^{2+} partially inhibited the enzyme activity, and Hg^{2+}, Pb^{2+} and SDS almost completely inhibited the activity. The K_m and V_{max} values of purified xylanase on beech wood xylan were 1.34 mg/mL and 0.072 U/mg (μmol/min/mg), respectively. Moreover, the purified xylanase was applied for the used in a high-purity XO production using KOH-treated corncob as a substrate and the reaction mixtures were analyzed by TLC and HPLC. The results indicated that xylobiose was the main hydrolysis product while very few amount of xylose was observed. An *in vitro* evaluation of high-purity XOs showed that these XOs could enhance the growth of probiotic *L. plantarum* TISTR1465. Moreover, the XOs produced by the purified xylanase resulted in a higher growth of probiotics than the XOs from partially purified and crude xylanases.

An integrated process to produce XOs and bioethanol from corncob in a bioreactor scale was also studied. XOs were produced by a consecutive process of KOH pretreatment and hydrolysis by an in-house thermostable endo-xylanase from *S. thermovulgaris* TISTR1948. The results showed that XO yields of 0.08 $g/g_{raw\ corncob}$ (22.13 g/L) and cellulose-rich corncob (CRC) yields of 0.52 $g/g_{raw\ corncob}$ were obtained. Then, the CRC was

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

used as the substrate for bioethanol production by the new thermotolerant yeast *Candida glabrata* KY618709. The bioethanol production was conducted in two procedures, including, separate hydrolysis and fermentation (SHF) using CRC hydrolysate as substrate and simultaneous saccharification and fermentation (SSF) using CRC as substrate. The effect of temperature on bioethanol production by thermotolerant yeast *C. glabrata* KY618709 via the SHF and SSF were studied at 35–42°C and compared with a commercial *Saccharomyces cerevisiae.* For SHF, the CRC hydrolysate was produced under optimal condition suggested from Box–Behnken design: a cellulase concentration of 22.04 FPU/g_{CRC}, 7.8% (w/v) CRC, pH 5.06 and 45.93°C at 150 rpm for 96 h. CRC hydrolysate contained 62.16, 51.21, 10.03 and 0.92 g/L of total sugar, glucose, xylose and arabinose, respectively. From SHF, bioethanol concentration of 20.07–21.92 g/L from *C. glabrata* KY618709 at various temperatures were not significantly different, while the bioethanol concentration from *S. cerevisiae* decreased to 9.64 g/L when the temperature was elevated to 42°C. Whereas, SSF of *C. glabrata* KY618709 at 40°C showed the highest bioethanol concentration of 22.35 g/L (0.29 g/g_{CRC}) and ethanol productivity of 0.31 g/L/h with 95% theoretical yield. After that, the scaled-up of bioethanol production by *C. glabrata* KY618709 via SSF at 40°C was studied in a 5-L bioreactor with a 3.5 L reaction volume. The concentration of CRC was varied at 7.8, 11.7 and 15.6% (w/v), respectively. The results revealed that SSF with 7.8%, 11.7% and 15.6% (w/v) CRC resulted in a bioethanol concentration of 21.48, 31.32 and 36.99 g/L and ethanol productivity of 0.30, 0.33 and 0.31 g/L/h, respectively

This study represents an effective strategy to produce two kinds of high values chemicals, XOs and bioethanol from corncob. The xylan in corncob is enzymatically converted into XOs using an in-house thermostable endo-xylanase from *S. thermovulgaris* TISTR1948. The purification and characterization studies reveal that the purified xylanase is promising to be applying on the production of high-purity XOs which can enhance the growth of probiotic lactobacilli better than that XOs produced from crude xylanase. Meanwhile, the CRC, a waste from XO production process, can be further used as a substrate for bioethanol production via SSF by a newly isolated thermotolerant *C. glabrata* KY618709. The advantage of this approach is operating at elevated temperature with a shorten fermentation time, resulting an increasing of the efficiency on bioethanol production.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved