

หัวข้อโครงการวิจัย	การคัดเลือกสายพันธุ์กลายของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> โดยใช้สารเอทิลมีเทนซัลโฟเนตชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ที่ทนอุณหภูมิสูงและความเข้มข้นของน้ำตาลสูงในการผลิตเอทานอลจากมันเทศ
แหล่งเงิน (ระบุแหล่งทุน)	สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช)
ประจำปีงบประมาณ	2557
จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน	220,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย	1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2556 ถึง กันยายน 2557
ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ซึ่งใช้อุณหภูมิในการย่อยที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้นร้อยละ 0.015 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ซึ่งใช้เวลาในการย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ศึกษาเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. cerevisiae* YRK 017 TISTR 5196 TISTR 5202 TISTR 5339 TISTR 5088 และ TISTR 5596 เปรียบเทียบกันที่สภาวะการทนต่ออุณหภูมิสูงที่อุณหภูมิ 30 37 40 42 และ 45 องศาเซลเซียส และการทนต่อความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 0 5 10 15 18 และ 20 โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *S. cerevisiae* TISTR 5339 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และเชื้อ *S. cerevisiae* 3 สายพันธุ์นี้ยังสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 15 โดยปริมาตรต่อปริมาตร จึงคัดเลือกเชื้อ *S. cerevisiae* ทั้ง 3 สายพันธุ์ ทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 โดยการใช้รังสียูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร 30 วัตต์ เป็นเวลา 40 วินาที และการใช้สารเอทิลมีเทนซัลโฟเนตที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยปริมาตร เป็นเวลา 110 นาที ได้อัตราการรอดชีวิตประมาณร้อยละ 5 จากนั้นสุ่มคัดเลือกสายพันธุ์กลายที่มีคุณสมบัติการทนต่ออุณหภูมิสูงและให้ผลผลิตเอทานอลสูง แล้วนำเชื้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง YPD ที่อุณหภูมิ 30 40 42 และ 45 องศาเซลเซียส และอาหารหมัก Yeast Fermentation Medium (YFM) ที่มีหลอดดักก๊าซ พบสายพันธุ์กลายที่ได้จากวิธีการใช้รังสียูวี คือสายพันธุ์ 421 และวิธีการใช้สารเอทิลมีเทนซัลโฟเนต คือสายพันธุ์ 11035 ตามลำดับ นำสายพันธุ์กลายมาศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้กระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF) ในขั้นตอนการหมักใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบประสิทธิภาพการหมักของ *S. cerevisiae* ทั้ง 3 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ดั้งเดิม (YRK 017) สายพันธุ์กลาย 421 และสายพันธุ์กลาย 11035 พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถผลิตเอทานอลได้ 15.46 15.15 และ 15.37 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถผลิตเอทานอลได้ 15.39 15.35 และ 15.55 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ทั้ง 3 สายพันธุ์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

คำสำคัญ : *Saccharomyces cerevisiae*, เอทานอล, กระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก, กระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก, การกลายพันธุ์ รังสียูวี เอทิลมีเทนซัลโฟเนต

Research Title Selection of Mutant Strain of *Saccharomyces cerevisiae* by Ethyl Methane Sulfonate-Induced Mutagenesis on Thermotolerance and Osmotolerance for Bioethanol Production from Sweet Potato

Researcher Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul
Department of Biology, Faculty of Science,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

ABSTRACT

Ethanol production from sweet potato starch hydrolyzed by alpha-amylase concentration of 0.05 % and volume of 5 ml at 90 °C for 2 h and amyloglucosidase concentration of 0.015 % and volume of 20 ml at 60 °C for 4 h was carried on to compare *Saccharomyces cerevisiae* 6 strains (YRK 017 TISTR 5202 TISTR 5196 TISTR 5339 TISTR 5088 and TISTR 5596). The experiment conditions to achieve the thermotolerance yeasts were 30 37 40 42 and 45 °C and the conditions to obtain the ethanol tolerance yeasts (ethanol concentrations of 0 5 10 15 18 and 20 % (v/v)). *S.cerevisiae* 3 strains (YRK 017 TISTR 5339 and TISTR 5088) had good growth at 40 °C and ethanol concentration 15 % (v/v) were selected to the following investigation.

The mutation of *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 was studied using UV Irradiation at 254 nm, 30 watt and 40 seconds and ethyl methansulfonate (EMS) 3 % (v/v) at 110 minutes. The viability of yeast cells was estimated to be approximately 5 %. Then, the randomly selected mutant strains which could tolerate high temperature and give high ethanol production were cultured on YPD agar at various temperatures 30, 40, 42 and 45 °C and fermented on Yeast Fermentation Medium (YFM) with durham tubes. The mutant obtained from the UV irradiation was type 421 and from Ethyl methansulfonate was type 11035. It is followed by the study of fermentation process from sweet potato powder using simultaneous saccharification and fermentation (SSF) with these mutants. Inoculum concentration was 10 % (v/v) for 72 h, at 30 °C and 40 °C. Three strains of *S. cerevisiae* (wild type strain (YRK017), mutant strain were type 421 and 11035 compared the efficiency of fermentation. The results showed that the ethanol concentrations that 3 strains produced were 15.46, 15.15 and 15.37 g/L at 30 °C, respectively. While, at 40 °C the ethanol concentrations were found at 15.39 15.35 and 15.55 g/L, respectively. These 3 yeast strains at two different temperatures could not investigate any significant difference at statistical confidence level of 95 percent.

Key words : *Saccharomyces cerevisiae*, Ethanol, Mutation, UV Irradiation, Ethyl methansulfonate, Simultaneous saccharification and fermentation