โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ด)166.54

(การปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลในสภาวะที่มีแรงดันออสโมซิสและความเข้มข้นของเอทานอลสูง)

(Strain improvement of ethanol fermenting yeast for high ethanol production in osmotic and ethanol stresses)

(สุทธิชา ณ ระนอง ธรรมสิทธิรงค์[1] มาลี ศรีสดสุข[1])

(Sutticha Na-Ranong Thammasittirong[1] Malee Srisodsuk[1])

บทคัดย่อ

การผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมต้องการผลิตเอทานอลให้ได้ผลผลิตสูงโดยใช้ต้นทุนต่ำ ยีสต์ที่มีคุณสมบัติทนแรงดันออสโมติก ทนเอทานอลและผลิตเอทานอลในสภาวะที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูงนับเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตเอทานอลได้ ในการศึกษานี้ได้ทำการปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์ที่แยกและคัดเลือกได้จากธรรมชาติให้มีคุณสมบัติในการทนแรงดันออสโมติกและทนเอทานอลโดยใช้การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยรังสีอุลตราไวโอเลตและสารเคมี ethyl methane sulfonate (EMS) งานวิจัยนี้สามารถแยกยีสต์ทนแรงดันออสโมติกและทนเอทานอลได้ทั้งหมด 114 ไอโซเลท โดยพบว่าในสภาวะที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 25% (w/v) และเอทานอลความเข้มข้น 15% (v/v) ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* OA33 สามารถเจริญได้ดีกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่นที่แยกได้ และเมื่อทำการหมักเอทานอล ณ สภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 25% (w/v) ที่อุณหภูมิ 37 °C พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูง 12.3% (v/v) จึงได้นำ *S. cerevisiae* OA33 มาใช้เป็นสายพันธุ์พ่อแม่ในการทำการกลายพันธุ์โดยรังสีอุลตราไวโอเลตและนำยีสต์สายพันธุ์กลายที่ได้ไปทำการกลายพันธุ์ต่อด้วยสารเคมี EMS พบว่ายีสต์สายพันธุ์กลาย *S. cerevisiae* M43OA33 สามารถทนต่อสภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 25% (w/v) และเอทานอลความเข้มข้น 15% (v/v) ได้สูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม และสามารถผลิตเอทานอล ณ สภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30% (w/v) ที่อุณหภูมิ 37 °C ได้ความเข้มข้นเอทานอลและค่าผลผลิตทางทฤษฎีสูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม 8.6% และ 8.4% ตามลำดับ

คำสำคัญ: การทำการกลายพันธุ์โดยรังสีอุลตาไวโอเลต การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยสาร ethyl methane sulfonate ยีสต์ทนแรงดันออสโมติก ยีสต์ทนเอทานอล การผลิตเอทานอล

[1] โครงการจัดตั้งสายวิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ประเทศไทย [1]Department Founding Project of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Sean Campus, Nakorn Pathom, Thailand

ABSTRACT

The major requirements of industrial fuel ethanol production are high ethanol yield and low-cost production. The ability to tolerate osmotic stress and ethanol stress is considering to be a key factor in achieving high ethanol concentration. In this study, UV-mutagenesis and ethyl methane sulfonate (EMS)-induced mutagenesis were performed to improve osmotolerance, ethanol tolerance and ethanol production from high concentration of sugar. Among 114 osmotolerant and ethanol-tolerant yeasts, *Saccharomyces cerevisiae* OA33 showed the best ability to grow in the presence of 25% (w/v) glucose and 15% (v/v) ethanol and produced high concentration of ethanol (12.3% v/v) at 37 °C from 25% (w/v) glucose. This osmotolerant and ethanol-tolerant yeast was subjected to UV-mutagenesis and the selected mutants were then treated with EMS. One mutant, M43OA33, displayed a significantly improved growth tolerance in the presence of 25% (w/v) glucose and 15% (v/v) ethanol comparing to the wild-type. The maximum ethanol concentration and theoretical yield by *S. cerevisiae* M43OA33 mutant from 30% (w/v) glucose at 37 °C was 8.6% and 8.4% higher than the wild-type, respectively.

Key words: UV-mutagenesis, ethyl methane sulfonate-induced mutagenesis, osmotolerant yeast, ethanol-tolerant yeast, ethanol production