การศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อผสมระหว่าง *Trichoderma reesei* RT-P1 และ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 เพื่อการผลิตเอทานอล

A Study on Morphology of Co - Culture Between *Trichoderma reesei* RT-P1 and *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 for Ethanol Production

ประดับรัฐ ประจันเขตต์[1,*], ผ่องศรี ศิวราศักดิ์[2], จุไรรัตน์ ดวงเดือน[3] และ ณัฐวรรณ คุปตพิทยานันท์[3]

1) สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

2) ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

3) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

บทคัดย่อ งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับสัณฐานวิทยาของเชื้อราสายพันธุ์ *Trichoderma reesei* RT-P1 และยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 ที่นำมาเพาะเลี้ยงร่วมกัน เพื่อการพัฒนาเป็นเชื้อผสมที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอล โดยทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อราสายพันธุ์ *Trichoderma reesei* RT-P1 บนอาหาร PDA และยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 บนอาหาร YMA จากนั้นทำการศึกษาการเจริญร่วมกันของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดบนอาหาร PDA (TY-P) และอาหารเหลว LM-pH5 ที่ใส่กากมันสำปะหลัง (TY-FS) เมื่อนำเชื้อผสมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทั้งสองชนิดมาศึกษาสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ กำลังขยาย 400 เท่า ตรวจวัดขนาดโคนิดิโอฟอร์ของเชื้อผสมมีความกว้าง 3.59 - 5.97 μm และ 3.18 - 4.81μm ยาว 25.60 - 30.29 μm และ 18.39 - 23.04 μm ขนาดก้านชูสปอร์กว้าง 3.03 - 3.07 μm และ 2.05 - 3.07 μm ยาว 12.25 - 14.59 μm และ 10.29 - 11.52 μm และขนาดสปอร์กว้าง 2.88 - 5.23 μm และ 2.73 - 3.75 μm ยาว 4.35 - 5.92 μm และ 3.58 - 4.61 μm ตามลำดับ จากผลการวิจัยพบว่าสัณฐานวิทยาของเชื้อผสมมีการเปลี่ยนแปลง โดยโครงสร้างของโคนิโอฟอร์ก้านชูสปอร์ และสปอร์มีขนาดใหญ่ขึ้น เชื้อผสมมีการเจริญเติบโตบนอาหารทั้งสองชนิดได้ดีกว่าเชื้อบริสุทธิ์ตั้งต้น ส่วนการศึกษาเชื้อผสมภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าไมซีเลียมของเชื้อรามีการเจริญปกคลุมเซลล์ยีสต์ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญร่วมกันของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ จึงมีความน่าสนใจในการทำวิจัยระดับ อณูวิทยา รวมถึงการพัฒนาเป็นเชื้อผสมเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : สัณฐานวิทยา เชื้อผสม *Trichoderma reesei* และ *Saccharomyces cerevisiae*

1. บทนำ

เอทานอลเป็นพลังงานทางเลือกหนึ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในปัจจุบันสำหรับการใช้เป็นพลังงานทดแทน การผลิตเอทานอลเชิงพานิชย์จะต้องมีต้นทุนต่ำ เพื่อแข่งขันกับราคาน้ำมันเชื้อเพลิงจากปิโตรเลียม ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากวัสดุตั้งต้นที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบนั้นต้องผ่านหลายกระบวนการด้วยกัน ซึ่งจำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ร่วมด้วย เช่น การปรับสภาพกากวัสดุทางการเกษตร การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส การแยกเอนไซม์ การย่อยสลายโดยเอนไซม์เซลลูเลสให้ได้น้ำตาล การแยกน้ำตาล และการหมักน้ำตาลให้ได้เอทานอล [1] ซึ่งจากการใช้กระบวนการที่ซับซ้อนดังกล่าว ทำให้การผลิตเอทานอลต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นการผลิตเชื้อผสมระหว่างเชื้อราและยีสต์ เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสและกระบวนการหมักเอทานอลได้ในขั้นตอนเดียว จะช่วยให้ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย ซึ่งเป็นการลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลได้

งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับสัณฐานวิทยาของเชื้อผสมระหว่างเชื้อรา *Trichoderma reesei* RT-P1 และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดให้ดำรงชีวิตอยู่ร่วมกันโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการถ่ายทอดในระดับอณูวิทยาตามธรรมชาติ

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้

เชื้อราสายพันธุ์ *Trichoderma reesei* RT-P1 และยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2 จากห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จ.ปทุมธานี

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) สำหรับ *Trichoderma reesei* RT-P1
- อาหาร Yeast Malt Extract Agar (YMA) สำหรับ *Saccharomyces cerevisiae* RT-P2
- อาหารเหลว LM-pH5 ประกอบด้วย $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ 1 กรัม, $MgSO_4$ 1 กรัม, ปุ๋ยยูเรีย [46% $(NH_4)_2SO_4$] 8 กรัม, ปุ๋ยโมโนโปแตสเซียมฟอสเฟต (N-P-K : 0-52-34) 15 กรัม และน้ำตาลมะพร้าว 10, 20, 30 และ 40 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำมาผสมลงในกากมันสำปะหลัง (Dried Cassava Waste) สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อผสม

* Corresponding author(s); pradabrat@yahoo.com