ชนิดของกระบวนการหมัก

การหมักแบบ separate hydrolysis and fermentation (SHF)

Separated (Sequential) Hydrolysis and Fermentation (SHF) (Cantarella และคณะ2004) ในระบบนี้ จะทำการหมักกลูโคสให้เป็นเอทานอลก่อน เซลลูโลสที่ผ่านการพรีทรีตเมนท์ แล้วสามารถทำการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสโดยใช้กรดและเอนไซม์ โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูโลสพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น หอยทากและจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น โปรโตซัว แบคทีเรีย แอคติโนไมซิส และเชื้อรา เป็นต้น ลักษณะการย่อยสลายโดยเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงระหว่างเอนไซม์และเซลลูโลส จะไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ปะปนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรง น้ำตาลกลูโคสจะไม่ถูกสลายต่อไป ส่วนการย่อยสลายด้วยกรด เช่น การใช้กรดซัลฟูริคเข้มข้นร้อยละ 70 หรือมากกว่า กรดไฮโดรคลอริคร้อยละ 40 หรือมากกว่าเครื่องมือจะทนทานต่อการกัดกร่อน ซึ่งเครื่องมือประเภทนี้จะมีราคาแพง นอกจากนี้โครงสร้างที่เป็นผลึกจำเป็นต้องใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูงและต้องใช้อุณหภูมิสูงในการย่อยสลายจึงจะได้น้ำตาลกลูโคส ปฏิกิริยาการย่อยจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 15-20 นาที ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างไม่เฉพาะเจาะจง ดังนั้นบางส่วนที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับกรดต่อไปทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงชนิดอื่น เช่น furfural และกรดยังทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นที่ติดมากับเซลลูโลส ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ จากนั้นเมื่อได้น้ำตาลที่ต้องการจากการย่อยสลายแล้วจึงนำไปใช้ในกระบวนการหมักน้ำตาลเพื่อผลิตเอทานอลต่อไป

การหมักแบบ simultaneous saccharification and fermentation (SSF)

Simultaneous Saccharification and Ferementation (SSF) (Soderstrom และคณะ2005) เป็นการรวมการ hydrolysis กับการหมักเข้าด้วยกัน เพื่อลดจำนวนถังปฏิกรณ์และปริมาณสารยับยั้งที่เกิด และลดความเข้มข้นกลูโคสลงเพื่อไม่ให้เกิดการยับยั้งการหมักโดยกลูโคส การลดเวลาในการhydrolysis ทำให้ต้องใช้เอนไซม์ในปริมาณที่สูงขึ้นและได้น้ำตาลน้อยลง วิธีนี้จึงต้องหาจุดสมดุลระหว่างต้นทุนที่ลดลงจากการยุบรวมถังปฏิกรณ์และต้นทุนที่เพิ่มขึ้นจากเอนไซม์ เนื่องจากอุณหภูมิที่เหมาะสมระหว่างการย่อยเซลลูโลส (45°C)สูงกว่าอุณหภูมิของการหมักเอทานอล (30°C) อุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการ SSF จึงอยู่ที่ 38°Cหรือประมาณกึ่งกลางของทั้งสองจุด แต่ยีสต์หรือแบคทีเรียทั่วไปไม่สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมินี้ จึงจำเป็นต้องมีการปรับปรุงสายพันธุ์ของยีสต์หรือแบคทีเรียให้ สามารถทนอุณหภูมิที่สูงขึ้นได้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากยีสต์ส่วนใหญ่จากสิ่งแวดล้อมมีความปลอดภัย (GRAS, generally regarded as safe) ความสนใจในอะไมโลไลติคยีสต์จึงมีมากขึ้นในระยะหลังนี้เนื่องจากความสามารถในการผลิตเซลล์โปรตีน (single-cell protein) และผลิตเอทานอลได้จากแป้ง (Chi และคณะ, 2001, Gupta และคณะ, 2003) ในปัจจุบันเป็นที่สังเกตว่ายีสต์ที่สามารถผลิตอะไมโลไลติคเอนไซม์ที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์

(extracellular amylolytic enzymes) มีอยู่หลายสายพันธุ์ได้แก่*Arxula adeninivorans*, *Lipomyces*, *Saccharomycopsis*, *Schwanniomyces*, *Candida japonica* และ *Filobasidium capsuligenum* และเอนไซม์ได้ถูกทำการศึกษาคุณสมบัติแล้ว (Gupta และคณะ, 2003, De และ Verachtert 1985)

อะไมเลสหลายชนิดจากเชื้อยีสต์สามารถย่อยแป้งดิบได้ ตัวอย่างเช่นเชื้อยีสต์ Cryptococcus sp.S-2 สามารถย่อยแป้งดิบจากข้าวสาสี แป้งข้าวโพด แป้งข้าว แป้งมันฝรั่ง (Iefuji และคณะ, 1996) กลูโคอะไมเลส จาก *S. fibuligera* และ *Candida antarctica* พบว่าถูกดูดซับโดยแป้งดิบและสามารถย่อยแป้งดิบได้ (Iefuji และคณะ, 1996) Nagasaka และคณะ (1998) พบว่า *Corticium rolfsii* สามารถผลิตกลูโคอะไมเลสได้ 5 ชนิด

Ulgen และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษา *Saccharomyces cerevisiae* strain YPG-AB พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงขึ้น 34 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ปริมาณแป้งเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตรและมีการเติมน้ำตาลกลูโคส 4 กรัมต่อลิตร การผลิตเอทานอลคิดเป็น 0.35, 0.33 และ 0.27 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อพีเอช 4.5, 5.6 และ 6.5 ตามลำดับ การหมักแป้งของ *S. cerevisiae* YPG-AB ทำให้เพิ่มผลผลิตเอทานอลสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อสายพันธุ์อื่น

Liu และคณะ (2004) ได้ศึกษา *Saccharomyces pastorianus* ที่มีกิจกรรมของอะไมโลไลติคเอนไซม์และไม่มีกิจกรรมของ α-acetolactate synthase พบว่ายีตส์สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอน การศึกษาการหมักพบว่ามีปริมาณ diacetyl และโอลิโกแซคคาร์ไรด์ลดลง 70 เปอร์เซ็นต์ และ 25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในขณะที่ผลการผลิตเอทานอลยังคงเดิม

Peres และคณะ (2006) ได้ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ผนังเซลของ Saccharomyces อะไมโลไลติคยีสต์ที่มีคุณสมบัติการทำให้เป็นน้ำตาลและการขบวนการหมักซับสเทรทที่เป็นแป้งโดยเฉพาะเมื่อมีความหนาแน่นของเซลสูง พบว่าจะมีการสร้างชีวมวลลดลงในขณะที่มีปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นเมื่อใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนและทำการย่อยได้เป็นกลูโคสหรือเมื่อเจริญที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 30 องศาเซลเซียสเป็น 38 องศาเซลเซียส แม้ว่าจะมีการสูญเสียการเจริญของ thermotolerant yeast ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส หรือการล้างเซลล์ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60-80 นาทีก่อนการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ และเสนอแนะว่าสามารถใช้สารละลายยีสต์ในการย่อยเร่งสลายแป้งได้

Li และคณะ (2007) ได้ศึกษาการเจริญของ *Aureobasidium pullulans* ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสซึ่งประกอบด้วย 2 หน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 65 และ 33 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์บริสุทธิ์เท่ากับ 4.5 และ 60 องศาเซลเซียสตามลำดับ เอนไซม์ถูกกระตุ้นโดย Ca^{2+}, Ba^{2+}, Na^{+}, Cu^{2+}, Mg^{2+} และ Co^{2+} และมีความคงตัวโดย $CaCl_2$ โดยอีกนัยหนึ่ง Hg^{2+} และAg^{+} ถูกยับยั้งเอนไซม์ และเอนไซม์ยังถูกยับยั้งโดย EDTA, EGTA และ SDS แต่ไม่ถูกยับยั้งโดย iodoacetic acid และ PMSF ค่า K_m และ V_{max} ของเอนไซม์บริสุทธิ์สำหรับแป้งที่ละลายน้ำเท่ากับ 5.75 ± 0.3 mg/มิลลิลิตร และ 0.25 ± 0.2 mg/มิลลิลิตร ตามลำดับ