

## 同步醱化與醱酵製程

《醱酵測試培養基》→《SSF》→《篩選酵母菌》

**Ballesteros, I., M. Ballesteros, A. Cabanñs, J. Carrasco, C. Martín, M. J. Negro, F. Saez, R. Saez. 1991. Selection of thermotolerant yeasts for simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of cellulose to ethanol. Applied Biochemistry and Biotechnology 28/29: 307-315.**

Ballesteros et al. (1991) 從屬於 *Candida*、*Saccharomyces* 與 *Kluyveromyces* 之 27 種酵母菌菌株 (Yeast strains) 中篩選出最有能力在 32~45°C 下成長並具醱酵能力之酵母菌菌株，然後測試篩選出之酵母菌菌株於同步糖化與醱酵製程 (Simultaneous saccharification and fermentation process; SSF) 能力，選出最優之酵母菌。《篩選酵母菌菌株》酵母菌菌株篩選部分，係先於 32、37、40°C 下觀察 27 種酵母菌菌株在瓊脂平板 (Agar plates) 之成長情形，篩選出其中 19 種尚能在 40°C 下成長之酵母菌菌株，然後將這 19 種酵母菌，以含有 2.5 g/L 之 Yeast extract、5.0 g/L 之 Peptone、1.0 g/L 之  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、0.3 g/L 之  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、2.0 g/L 之  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、50g/L 之 Glucose 與 20 g/L 之 Agar 之醱酵測試培養基 (Fermentation test medium)，分別於溫度 40、42°C 下，反應 20、40 小時，篩選出乙醇濃度大於 15 g/L 之 8 種，再進一步以同一醱酵測試培養基，於溫度 45°C 下，反應 8、24、48 小時，最後選出最優之 *Kluyveromyces marxianus* 2713、*Kluyveromyces marxianus* L.G.、*Kluyveromyces fragilis* 2671 與 *Kluyveromyces fragilis* L. G.。《酵母菌接種物之製備》SSF 製程前，先將篩選出之酵母菌以含有 2.5 g/L 之 Yeast extract、5.0 g/L 之 Peptone、1.0 g/L 之  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、0.3 g/L 之  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、2.0 g/L 之  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、50 g/L 之 Glucose 與 20 g/L 之 Agar 之成長培養基 (Growth medium)，使用 170 rpm 之旋轉搖盪器 (Rotary shaker)，於溫度 35°C 下培養 16 小時，以製備出酵母菌接種物 (Yeast inoculum)。《SSF 製程》SSF 製程方面，係於 100 mL 之三角錐形瓶 (Erlenmeyer flask) 中，先加入 50 mL 之醱酵培養基 (含 2.5 g/L 之 Yeast extract、5.0 g/L 之 Peptone、1.0 g/L 之  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、0.3 g/L 之  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、2.0 g/L 之  $\text{NH}_4\text{Cl}$  與 10% 之 Solka-floc)，再加入劑量為 15 FPU/g substrate 之纖維水解酶 (Cellulase) *Trichoerma reesei* enzymes 與 10% (v/v) 之酵母菌接種物，使用 150 rpm 之旋轉搖盪器，於溫度 42、45°C 下進行反應。製程期間，並定期取樣分析乙醇、葡萄糖、還原醣 (Reducing sugar)、殘留物之纖維素含量 (Cellulose content of residue)、纖維雙醣 (Cellobiose) 之濃度與細胞活性 (Cell viability)。《結果》研究結果顯示：在 SSF 製程溫度 42°C 下，*Kluyveromyces fragilis* 2671 之細胞活性在 SSF 製程 50 小時後完全流失，而 *Kluyveromyces marxianus* 2713、*Kluyveromyces marxianus* L.G. 與 *Kluyveromyces fragilis* L. G. 三者之細胞活性則於 78 小時後消失，前者 (*Kluyveromyces fragilis* 2671) 之乙醇濃度為 25.0 g/L、產率為 0.5 g/g，後三者 (*Kluyveromyces marxianus* 2713、*Kluyveromyces marxianus* L.G. 與 *Kluyveromyces fragilis* L. G.) 之乙醇濃度分別為 33.5、37.6 與 37.2 g/L，產率分別為 0.46、0.5、0.5 g/g。若將 SSF

製程溫度提高至 45°C，則這四種酵母菌之細胞活性皆在 20 小時後消失，且乙醇濃度低於 20 g/L。