

利用連續式雙槽發酵提升Pichia stipitis之生殖酒精產能

黃重睿、王維麒

E-mail: 345518@mail.dyu.edu.tw

摘要

為避免糧價提升造成通貨膨脹，第二代生質燃料酒精之生產多捨棄糧食作物，而採用富含生質纖維之非糧食作物或農業廢棄物為原料。生質纖維經前處理水解而生之醱類，利用生物法發酵可以得到酒精，此種原料所取得的醱有五碳與六碳兩大類。為充分利用這些還原醱，開發共發酵程序為一項重要課題。能夠利用五碳糖發酵的菌株在自然界相當稀少，因此利用基因重組開發新菌株為一重要工作，此外，五碳糖的發酵速率相當緩慢，因此效率的提升亦是重要的研究。本研究以先前建構之Pichia stipitis發酵模式，分析連續式雙槽發酵葡萄糖與木糖混合溶液酒精生產的效率問題。連續式雙槽使用的基質來源，依前處理可分為50 g/L的純葡萄糖與8 g/L葡萄糖 / 24 g/L木糖混合液兩種。因此，本研究設計了個別由一、二槽流進一種基質與第一槽同時流進兩種基質等多種操作方式，以探討酒精生產速率、酒精生成率與基質使用率等在各種組合下的變化，並分析其酒精生產速率。連續雙槽與連續單槽相比，雙槽的酒精生產速率未必較高，但基質使用率卻比較高。以純葡萄糖進料為例，單槽在稀釋速率0.06 1/hr時酒精生產速率為0.24 g/L/hr、基質使用率0.265；雙槽第一、二槽稀釋速率分別為0.06 1/hr與0.30 1/hr時，酒精生產速率為0.232、基質使用率為0.306。而連續雙槽的第一槽進料混合液與第二槽進料純葡萄糖液的這組，混合液稀釋速率0.015 1/hr至0.1 1/hr、純葡萄糖液為0.050 1/hr，第一槽流入第二槽的稀釋速率為0.0005 1/hr，相當於第二槽的體積為第一槽的至少30倍時，可得到最理想的酒精生產速率0.267 g/L/hr，但酒精的生成率0.323與基質的使用率0.34兩者均不理想。因稀釋速率低時，酒精生成速率雖然較低，但酒精生成率與基質使用率較高。亦即為取得最高的酒精生產速率，必須犧牲酒精生成率與基質使用率。

關鍵詞：連續發酵、Pichia stipitis、生質酒精、操作決策

目錄

封面內頁 簽名頁 中文摘要	iii	英文摘
要	v	誌謝
錄	viii	圖目錄
錄	xiii	1. 前言
顧	3	2.1 共發酵
子	4	2.3 共發酵之動力模式
式	6	2.3.1 Monod模
式	7	2.3.2 Contois模
式	7	2.3.4 動力模式之應用
究	10	3. 研究方法
生長模式	12	3.2 單槽動態模式
立	20	3.3.1 僅第一槽單進料之雙槽串聯連續式發酵之公式
式	21	3.3.1.1 第一槽公
式	21	3.3.1.2 第二槽公式
式	24	3.3.2 第一槽雙進料之雙槽串聯連續式發酵之公
式	24	3.3.2.1 第一槽公式
式	24	3.3.2.2 第二槽公式
式	25	3.3.3 分別於一、二槽
式	25	3.3.3.1 第一槽公式
式	26	3.3.3.2 第二槽公
標	26	3.4 生產指標
標	28	3.4.1 單槽連續式發酵之生產指
標	28	3.4.2 雙槽串聯連續式發酵之生產指標
標	28	3.4.2.1 第一槽單進料
標	29	3.4.2.2 第一槽雙進料
標	29	3.4.2.3 分別於一、二槽之雙進料
入	30	3.5 參數與初始值的代
入	30	3.6 模擬實驗
入	32	3.6.1 單槽批次實
入	32	3.6.2 單槽連續式實驗
入	34	3.6.3 雙槽連續式實驗的方
法	34	4. 結果與討論
果	40	4.1 批次發酵的模擬結
果	40	4.2 單槽的連續式發酵的模擬結果
果	44	4.3 雙槽的連續式發酵的模擬結
果	46	4.3.1 第一槽單進料混合液而第二槽不進料 (case A)
果	51	4.3.2 第一槽單進料純葡萄糖液而第二
果	51	4.3.3 第一槽進料混合液與純葡萄糖液而第二槽不進料 (case C)
果	56	4.3.4 第
果	61	4.3.5 第一槽進料純葡萄糖液與第二槽進料混合液
果	64	4.4 討論
論	64	5. 結
論	72	參考文獻
論	74	參數符號

說明-----	76 附錄-----	78 圖目錄	
圖3.1 僅第一槽單進料之串聯雙槽連續式發酵之示意圖-----	22	圖3.2 第一槽雙進料之串聯雙槽連續式發酵之示意圖-----	22
圖3.3 分別於一、二槽進料之串聯雙槽連續式發酵之示意圖-----	22	圖4.1 模擬批次混合液發酵時各項濃度與時間之關係-----	41
圖4.2 模擬批次混合液發酵時各項指標與總時間的關係-----	42	圖4.3 模擬批次純葡萄糖液發酵時各項濃度與時間之關係-----	43
圖4.4 模擬批次純葡萄糖液發酵時各項指標與總時間之關係-----	43	圖4.5 模擬單槽連續式混合液中各項濃度與稀釋速率的關係-----	45
圖4.6 模擬單槽連續式純葡萄糖液中各項濃度與稀釋速率的關係-----	45	圖4.7 模擬混合液單槽曲線圖，X軸為單槽稀釋速率，part 1-----	47
圖4.8 模擬混合液單槽曲線圖，X軸為單槽稀釋速率，part 2-----	48	圖4.9 模擬純葡萄糖液單槽曲線圖，X軸為單槽稀釋速率，part 1-----	49
圖4.10 模擬純葡萄糖液單槽曲線圖，X軸為單槽稀釋速率，part 2-----	50	圖4.11 模擬雙槽case A的等高線圖，X軸與Y軸為第一槽與第二槽之稀釋速率，part 1-----	52
圖4.12 模擬雙槽case A的等高線圖，X軸與Y軸為第一槽與第二槽之稀釋速率，part 2-----	53	圖4.13 模擬雙槽case B的等高線圖，X軸與Y軸為第一槽與第二槽之稀釋速率，part 1-----	54
圖4.14 模擬雙槽case B的等高線圖，X軸與Y軸為第一槽與第二槽之稀釋速率，part 2-----	55	圖4.15 模擬case C的第一槽等高線圖，X軸與Y軸為兩個進料稀釋速率，part 1-----	57
圖4.16 模擬case C的第一槽等高線圖，X軸與Y軸為兩個進料稀釋速率，part 2-----	58	圖4.17 模擬雙槽case C的等高線圖，X軸與Y軸為兩個進料稀釋速率，當DII = 0.7 1/hr，part 1-----	59
圖4.18 模擬雙槽case C的等高線圖，X軸與Y軸為兩個進料稀釋速率，當DII = 0.7 1/hr，part 2-----	60	圖4.19 模擬雙槽case D的等高線圖，X軸與Y軸為兩個進料稀釋速率，當DII1 = 0.0005 1/hr，part 1-----	62
圖4.20 模擬雙槽case D的等高線圖，X軸與Y軸為兩個進料稀釋速率，當DII1 = 0.0005 1/hr，part 2-----	63	圖4.21 模擬雙槽case E的等高線圖，X軸與Y軸為兩個進料稀釋速率，當DII1 = 0.5 1/hr，part 1-----	65
圖4.22 模擬雙槽case E的等高線圖，X軸與Y軸為兩個進料稀釋速率，當DII1 = 0.5 1/hr，part 2-----	66	表目錄	
表3.1 王 (2008) 研究所得到的參數數據-----	31	表3.2 一些初始值與變數的輸入-----	33
表3.3 批次的一些初始值與變數的輸入-----	35	表3.4 第一種單槽連續式的一些初始值與變數的輸入-----	36
表3.5 第二種單槽連續式的一些初始值與變數的輸入-----	36	表3.6 五種雙槽連續式的進料基質情形-----	38
表4.1 比較混合液發酵的批次、單槽連續式與雙槽連續式之最佳結果-----	69	表4.2 比較純葡萄糖液發酵的批次、單槽連續式與雙槽連續式之最佳結果-----	69
表4.3 比較雙進料的雙槽連續式之最佳結果-----	70		

參考文獻

1. 王子興。2008。以cybernetic模式建構Pichia stipitis菌之酒精發酵模式與操作策略分析。國立臺灣科技大學化學工程系碩士論文。
2. 王周芳、陳明、王冰冰、夏黎明。2007。基因重組酵母發酵木糖產酒精的研究。林產化學與工業。27(3):33-36。
3. 沈志忠、張聖明。2009。MATLAB程式設計與應用。全華出版社。台北，台灣。
4. 宋昕磊、張鵬。2007。不同條件對木糖酒精發酵菌種發酵性能的影響。釀酒。34(1):40-43。
5. 林志達。2004。酵母菌在混合糖醱酵之模式建立。國立中正大學化學工程研究所碩士論文。
6. 莊政道。1994。溶氧對木糖酒精發酵影響之研究。大葉大學食品工程研究所碩士論文。
7. 張為憲等。1995。食品化學。華香園出版社。台北，台灣。
8. 曾勝賢。2009。生質柴油發電機排放多環芳香烴碳氫化合物特性之研究，國立屏東科技大學環境工程與科學研究所碩士論文。
9. 葉倍宏。2009。MATLAB 7程式設計基礎篇。全華出版社。台北，台灣。
10. C. Ben Youssef, V. Guillou, A. Olmos-Dichara. 2000. Modelling and adaptive control strategy in a lactic fermentation process. Control Engineering practice. 8:1297-1307.
11. Frank K. A., Guillermo CK, Mads TS, Kevin S. W. 2006. Fermentation of glucose/xylose mixtures using Pichia stipitis. Process Biochemistry. 41:2333 – 2336.
12. Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. 2005. Microbiology, Brief Edition. Pearson Benjamin Cummings.
13. H. R. Horton, Laurence A. Moran, K. Gray Scrimgeour, Marc D. Perry, J. David Rawn. 2006. Principles of Biochemistry, Fourth Edition. Pearson Education, Inc.
14. James C. du Preez, Machiel Bosch, Bernard A. Prior. 1986. Xylose fermentation by Candida shehatae and Pichia stipitis: effects of pH, temperature and substrate concentration. Enzyme and Microbial Technology. 8(6):360-364.
15. Jared L. H., Michael A. H., Radhakrishnan M. 2007. Genome-Scale Analysis of Saccharomyces cerevisiae Metabolism and Ethanol Production in Fed-Batch Culture. Biotechnology and Bioengineering. 97:1190-1204.
16. J. P. Delgenes, R. Moletta, J. M. Navarro. 1989. Communications to the Editor Fermentation of D-xylose, D-glucose, L-arabinose Mixture by Pichia stipitis: Effect of the Oxygen Transfer Rate on Fermentation Performance. Biotechnology and Bioengineering. 34:398-402.
17. Keikhosro Karimi, Giti Emtiaz, Mohammad J. Taherzadeh. 2006. Production of ethanol and mycelial biomass from rice straw hemicellulose hydrolyzate by Mucor indicus. Process Biochemistry. 41:653-658.
18. Lei Zhao, Xu Zhang, Tianwei Tan. 2008. Influence of various glucose/xylose mixtures on ethanol production by Pachysolen tannophilus. Biomass and Bioenergy. 32, 1156-1161.
19. Masayuki Taniguchi, Toshihiro Tohma, Takahiro Itaya, Michihiro Fujii. 1997. Ethanol Production from a Mixture of Glucose and Xylose by Co-Culture of Pichia stipitis and a Respiratory-Deficient Mutant of Saccharomyces cerevisiae. Journal of Fermentation and Bioengineering. 83(4):364-370.
20. P. J. Slininger, R. J. Bothast, M. R. Ladisch, M. R. Okos. 1990. Optimum pH and Temperature Conditions for Xylose Fermentation by Pichia stipitis. Biotechnology and Bioengineering. 35:727-731.