

半纖維素水解液中木糖之分離及其醱酵

吳俊彥、陳齊聖

E-mail: 9808769@mail.dyu.edu.tw

摘要

農業副產品如稻草含有大量之半纖維素，經酸水解後可得木糖供酵母醱酵成木糖醇。然而水解液中所含之色素成份及為調整pH所產生之鹽類會影響酵母醱酵之效率，故水解液需經前處理後方能用於醱酵。實驗將水解液通過離子交換樹脂以分離色素、鹽份及木糖；結果顯示出，饋料體積為1 mL、沖提流速為3.5 mL/min時於操作溫度45 °C下有較佳之分離效果，其分離率達80 %。本研究還探討稻草顆粒大小、稻草與酸液之固液比對木糖產率之影響。較小顆粒之稻草粉末具有較佳之木糖回收率，但其顆粒大小與木糖回收率並非線性關係，稻草粉末顆粒於60 mesh之後則木糖回收率不再提高。而當固液比為1:4(g:mL)時，可得木糖回收率達95.6 %，但其水解液回收較為困難，而固液比在1:6至1:10間其木糖回收率約為70 %，雖較低30%，但其水解液與稻草殘渣較易分離，容易加工。因此固液比1:6應是較佳的水解選擇條件。此外，本研究以自行篩選出之酵母菌 *Candida subtropicalis* 醱酵木糖生產木糖醇，研究顯示出，當培養基中之氮源僅為Yeast extract及Bacto Peptone時有較高之木糖醇轉化率0.89，且其濃度毋需太高；但若添入無機鹽類，則木糖醇轉化率有降低的情況產生。而木糖濃度為10 %時之木糖醇轉化率較木糖濃度15 %以上時為佳。

關鍵詞：半纖維素；水解；木糖；木糖醇；醱酵

目錄

第一章 緒論.....	1	第二章 文獻回顧.....	1
4.2.1 木糖醇之介紹.....	4	2.1.1 木糖醇之來源及性質.....	9
4.2.1.2 木糖醇之功能介紹.....	9	2.1.2.1 食品添加劑.....	9
2.1.2.2 防止齲齒.....	9	2.1.2.3 醫藥界之應用.....	10
2.2 半纖維素水解液之層析分離.....	11	2.2.1 半纖維素之來源.....	11
2.2.2 半纖維素之水解.....	11	2.2.3 水解液之層析分離.....	12
2.3 木糖醱酵生產木糖醇.....	15	2.3.1 酵母菌代謝木糖之途徑.....	15
2.3.2 影響酵母菌轉化木糖醇的因子.....	16	2.3.2.1 碳源.....	16
2.3.2.2 氮源.....	17	2.3.2.3 溫度.....	17
2.3.2.4 pH值.....	18	2.3.2.5 溶氧量.....	19
2.3.2.6 鹽類之種類濃度.....	19	第三章 稻草半纖維素水解液之製備.....	24
3.1 實驗材料與設備.....	24	3.1 實驗材料與設備.....	24
3.2 實驗方法.....	25	3.2.1 不同固液比製備水解液.....	25
3.2.1 不同固液比製備水解液.....	25	3.2.2 不同稻草粉碎顆粒大小製備水解液.....	25
3.2.2 不同稻草粉碎顆粒大小製備水解液.....	25	3.3 分析方法.....	27
3.3 分析方法.....	27	3.4 結果討論.....	28
3.4 結果討論.....	28	3.4.1 不同固液比製備水解液.....	28
3.4.1 不同固液比製備水解液.....	28	3.4.2 不同稻草粉碎顆粒大小製備水解液.....	28
3.4.2 不同稻草粉碎顆粒大小製備水解液.....	28	第四章 半纖維素水解液中木糖之分離純化.....	34
3.4.2 不同稻草粉碎顆粒大小製備水解液.....	28	4.1 實驗材料與設備.....	34
4.1 實驗材料與設備.....	34	4.2 實驗方法.....	35
4.2 實驗方法.....	35	4.2.1 水解液之製備.....	35
4.2.1 水解液之製備.....	35	4.2.1 水解液之層析分離.....	35
4.2.1 水解液之層析分離.....	35	4.3 分析方法.....	37
4.3 分析方法.....	37	4.3.1 木糖、木糖醇之濃度測定.....	37
4.3.1 木糖、木糖醇之濃度測定.....	37	4.3.2 鹽濃度之分析.....	37
4.3.2 鹽濃度之分析.....	37	4.3.3 色素含量分析.....	37
4.3.3 色素含量分析.....	37	4.3.4 分離率.....	37
4.3.4 分離率.....	37	4.4 結果討論.....	38
4.4 結果討論.....	38	4.4.1 沖提流速對分離效果之影響.....	38
4.4.1 沖提流速對分離效果之影響.....	38	4.4.2 饋料體積對分離效果之影響.....	39
4.4.2 饋料體積對分離效果之影響.....	39	4.4.3 溫度對分離效果之影響.....	40
4.4.3 溫度對分離效果之影響.....	40	第五章 實驗菌株之篩選及鑑定.....	61
5.1 實驗材料與設備.....	61	5.1 實驗材料與設備.....	61
5.1.1 實驗菌株.....	61	5.1.1 實驗菌株.....	61
5.1.2 培養基.....	61	5.1.3 實驗設備.....	62
5.1.3 實驗設備.....	62	5.2 實驗方法.....	62
5.2 實驗方法.....	62	5.2.1 菌種篩選.....	62
5.2.1 菌種篩選.....	62	5.2.1.1 菌液來源.....	62
5.2.1.1 菌液來源.....	62	5.2.1.2 篩菌.....	63
5.2.1.2 篩菌.....	63	5.2.2 菌種鑑定.....	63
5.2.2 菌種鑑定.....	63	5.2.2.1 前培養.....	63
5.2.2.1 前培養.....	63	5.2.2.2 菌種鑑定操作步驟.....	63
5.2.2.2 菌種鑑定操作步驟.....	63	5.3 分析方法.....	64
5.3 分析方法.....	64	5.3.1 木糖、木糖醇之濃度測定.....	64
5.3.1 木糖、木糖醇之濃度測定.....	64	5.3.2 菌體乾重測定.....	64
5.3.2 菌體乾重測定.....	64	5.3.3 菌種鑑定之判讀.....	64
5.3.3 菌種鑑定之判讀.....	64	5.4 菌種保存.....	64
5.4 菌種保存.....	64		

.....66 5.5 結果討論.....	67 5.5.1 篩菌結果.....
.....67 5.5.2 鑑定結果.....	67 第六章培養基組成對Candida sp.木糖醇發酵之影響.....
.....70 6.1 實驗材料與設備.....	70 6.1.1 實驗菌株.....
.....70 6.1.2 培養基.....	71 6.1.3 實驗設備.....
.....71 6.2 實驗方法.....	72 6.2.1 前培養.....
.....72 6.2.2 不同氮源及濃度與鹽類之添加對木糖醇木糖醇之比較.....	72 6.2.3 不同碳源濃度比對木糖醇木糖醇之比較.....
.....72 6.3 分析方法.....	74 6.3.1 木糖、木糖醇之濃度測定.....
.....74 6.3.2 菌體乾重測定.....	75 6.4.1 不同氮源及濃度與鹽類之添加對木糖醇木糖醇之比較.....
.....74 6.4 結果討論.....	75 6.4.2 不同碳源濃度比對木糖醇木糖醇之比較.....
.....76 第七章結論與展望.....	90 7.1 結論.....
.....90 7.1.1 稻草半纖維素水解液製備木糖及其分離純化.....	90 7.1.2 稻草半纖維素水解液中木糖之分離純化.....
.....90 7.1.3 酵母菌之篩選及其鑑定.....	91 7.1.4 培養基組成對Candida sp.木糖醇發酵之影響.....
.....91 7.2 未來展望.....	92 參考文獻.....
.....94	

參考文獻

1. 王三郎。1994。應用微生物學。高立圖書有限公司。
2. 林偉彬。2000。以農產廢棄物生產木糖醇。大葉大學食品工程研究所論文。
3. 苑永弘。1999。大蒜中之含硫氨基酸在肉類香味研發上之應用研究。大葉大學食品工程研究所碩士論文。
4. 莊政道。1994。溶氧對木糖酒精發酵之研究。大葉大學食品工程研究所碩士論文。
5. 莫景棠。1988。各種新構想全靜脈營養液對肝臟功能不全病患之效益。榮民總醫院外科部。
6. 張為憲、李敏雄、呂政義、張永和、陳昭雄、孫璐西、陳怡宏、張基郁、顏國欽、林志城、林慶文。1996。食品化學。華香園出版社。
7. 陳齊聖、劉至一、王偉祺、涂瑞澤。1999。以鈣離子吸附之陽離子交換樹脂層析分離糖蜜色素與糖分。大葉學報。8 (2):121-126。
8. 陳榮耀、許清森。1986。纖維質廢棄物之生化組成及其微生物分解。工業技術。142:60-68。
9. 楊价民、鄭永祥、林育安、吳錦賢。1996。青貯對稻草和稻桿之化學組成變化及其在瘤胃內分解之影響。中國畜牧學會會誌。25 (3):273-286。
10. 趙士慶。1999。木糖醇生產木糖醇之研究。大葉大學食品工程研究所碩士論文。
11. 鄭錫霖。1976。木糖醇的生理作用。科學月刊。7 (4):60-62。
12. Alexander, M.A., Chapman, T. W. 1988. Xylose metabolism by *Candida Sheatae* in continuous culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28:478-486.
13. Antal, M.J. Jr., Leesomboon, T., Mok, W.S., Riehards, G.N., 1991. Mechanism of formation of 2-furaldehyde from D-xylose. *Carbohydr. Res.* 217, 71-85.
14. Azuma M., T. Ikeuchi, R. Kiritani, J. Kato and H.Ooshima. 2000. Increase in xylitol production by *Candida tropicalis* upon addition of salt. *Biomass and Bioenergy* 19. 129-135.
15. Claude Moreau, Robert Durand, Delphine Peyron, Jean Duhamet, Patrick Rivalier. 1998 *Industral Crops and Products.* 7: 95-99.
16. Dahiya, J. S. 1991. Xylitol production by *Petromyces albertensis* grown on medium containing D-xylose. *Can. J. Microbiol.* 37: 8-14.
17. Dominguez, J. M., Cao, N., Gong, C. S., and Taso, G. T. 1997. Dilute Acid Hemicellulose Hydrolysate from Corn Cobs for Xylitol Production by Yeast. *Bioresource Technology* 61: 85-90.
18. Du Toit, P. J., Olivier, S. P., and Van Biljon, P. L. 1984. Sugar Cane Bagasse with Regard to Monosaccharide, Hemicellulose, and Amino Acid Composition. *Biotechnol. Bioeng.* 26: 1071-1078.
19. Eleonora Vandeska, S. Amartey, Slodobanka and T. W. Jefferies. 1996. Fed-Batch Culture for Xylitol Production by *Candida boidinii*. *Process Biochemistry.* Vol.31, No.3.pp. 265-270.
20. Emodi, A. 1978. Xylitol, its Properties and Food Applications. *Food Technology* 32 (1): 28-29, 31-32.
21. Felipe Maria G. A., Vitolo Michele, Ismael M. Maxcilha and Silva S. Silva. 1997. Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: Effect of pH. *Biomass and Bioenergy.* Vol. 13. No 1 2, pp 11-14.
22. Fratzke, A. R., and Reilly, P. J. 1977. Uses and Metabolic Effects of Xylitol, . *Process Biochemistry* 12 (7): 27-29.
23. Gong, C. S., Chen. C. S., and Chen, L. F. 1993. Pretreatment of Sugar Cane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate for Ethanol Production by Yeast. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 39/40: 83-88.
24. Jaffe, G. M. 1978. Xylitol- a Specialty Sweetener. *Sugar y Azucar.* 73 (4): 36-38, 40, 42.
25. Jeffries, T. W. and Sreenath, H.K. 1988. Fermentation of hemicellulosic sugar and sugar mixtures by *Candia Shehate*. *Biotechnol. Bioeng.* 27:302-307.
26. Kontula, P., Wright, A., & Mattila-Sandholm, T. 1998. . Oat bran -gluco- and xylo-oligosaccharides as fermentative substrates for lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology,* Vol. 45,163—169.
27. Kretzl, K., Silbernael, H., and Bassler, K. H. 1963. *Naturwize* 50:154.
28. Lawford, H. G., and Rousseau, J. D. 1992 Effect of Acetic Acid on Xylose Conversion to Ethanol by Genetically Engineered *E. coli*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 34/34: 185-216.
29. Lee, J. (1997) Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *J. Biotechnol.* 56: 1-24.
30. Lee, Y. Y., Yue, T., and Tarrer, A. R. 1976. Acid Hydrolysis of Oak Sawdust. *AIChE National Meeting.*
31. Lee, Y. Y., Lin, L. M., Johnson, T., and Chamber, R. P. 1978. Selective Hydrolysis of Hardwood Hemicellulose by Acid. *Biotechnol. Bioeng.* 8: 75-88.
32. Makinen, K. K. 1978. *Biochemical Principles of the Use of Xylitol in Medicine and Nutrition with Special Consideration of Dental Aspect.* *Exper. Suppl.* 30: 7.
33. Montane Dainel, Joan Salvado, Carles Torras, Xavier Farriol. 2002. High temperature dilute-acid hydrolysis of olive stones for furfural production. *Biomass and Bioenergy.* 22: 295-304.
34. Nolletau, V., Preziosi, Belloy L., and Nararro, J. M. 1995. The Reduction of Xylose to Xylitol by *Candida guilliermondii* and *Candida parapsilosis*: Incudence of Oxygen and pH. *Biotechnol. Lett.* 17(4): 417-422.
35. Onishi, H., and Suzuki, T. 1996. The Production of Xylitol, L-arabinitol and Ribitol by Yeasts. *Agr. Biol. Chem.* 30:1139.
36. Poonam Nigam and Dalel Singh. 1995. Process for fermentative production of xylitol-a sugar substitute. *Process Biochemistry.* Vol.30, No. 2, pp. 117-124.
37. Prior, B. A., Kilan, S. G., and Du Preez, C. 1989. Fermentation of D-xylose by

the Yeast *Candida shehane* and *Pichia stipitis*. *Process Biochemistry*, February, 21-26. 38. Roberto, I. C., Sato, S., Mancilha, I. M. and Taqueda, M. E. S. 1995. Influence of Media Composition on Xylitol Fermentation by *Candida guilliermondii* Using Response Surface Methodology. *Biotechnol. Lett.* 17 (11): 1223-1228. 39. Roberto, I. C., Sato, S., and Mancilha, I. M. 1996. Effect of Inoculum Level on Xylitol Production from Rice Straw Hemicellulose Hydrolysate by *Candida guilliermondii*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 16 (6): 348-350. 40. Roberto, I. C., Silva, Silvo S., Felipe Maria G. A., Mancilha, Ismael M. DE, and Sunao, Sato. 1996. Bioconversion of Rice Straw Hemicellulose Hydrolysate for the Production of Xylitol-Effect of pH and Nitrogen source. *57/58: 339-347*. 41. Sai Ram, M., and Seenayya, G. 1991. Production of ethanol from straw and bamboo pulp by primary isolates of *Clostridium thermocellum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 7: 372-378. 42. Scheinin, A., and Mackinen, K. K. 1975. Turku Sugar studies I-XII. *Acta Odontologica Scandinavica* 33, supplementum 70. 43. Silva Silvo S., Felipe Maria, G. A., and Mancilha, Ismael M. 1998. Factors that Affect the Biosynthesis of Xylitol by Xylose-Fermenting Yeasts-A Review. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 70-72: 331-339. 44. Slininger, P. J., Bothast, R. J., Ladisch, M. R. and Okos, M. R. 1990. Optimum pH and temperature conditions for xylose fermentation by *Pichia stipitis*. *Biotechnol. Bioeng.* 35:727-731. 45. Tammy, P.; Philip, M.O., 1988. Xylitol in sugar Free Confections. *Food Technology*, pp.98-106. 46. Leathers Timothy D. and Dien Bruce S.. 2000. Xylitol production from corn fibre hydrolysates by a two stage fermentation process. *Process Biochemistry*. Vol 35 765-769. 47. Torget, R., Walter, P., Himmel, M. and Gorchmann, K. 1991. Dilute-Acid Pretreatment of Corn Residues and Short —Rotation Woody Crops. *Appl. Biotechnol.* 28/29: 75-86. 48. Tran, A. V., and Chambers, R. P. 1985. Red Oak Wood Derived Inhibitors in the Ethanol Fermentation of Xylose by *Pichia stipitis* CBS 5776. *Biotechnol. Lett.* 7: 841-846. 49. Walther T., Hensirisak P., Agblevor F.A.. 2001. The influence of aeration and hemicellulosic sugars on Xylitol production by *Candida tropicalis*. *Bioresource Technology*. 76. 213-220. 50. Washuttle, J., Riederer, P., and Banchem, E. 1973. Qualitative and Quantitative Study of Sugar-Alcohols in Several Foods. *J. Food Sci.* 38: 1262. 51. Yamagata. 1965. Clinical Effect of Xylitol on Carbohydrate and Lipid Metabolism in Diabetes. *The Lancet*. 2 (7419): 918-921. 52. Ylikahri, R. 1979. Metabolic and nutritional aspects of Xylitol. *Advances in Food Research*. Vol. 25 : 159-180. 53. Yuuichi Yahashi, Hiroyuki Horitsu, Keiichi Kawai, Tohru Suzuki and Kazuhiro Takamizawa. 1996. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. Vol. 81, No. 2, 148-152.