

## 稻草四氫呋喃醇漿料應用於乳酸製備之開發

何振隆\*、徐光平\*\*、蘇裕昌\*\*\*

### Development of Applying Tetrahydrofurfuryl Alcohol Pulp to Preparation of Lactic Acid

Chen-Lung Ho\*, Kuang-Ping Hsu\*\*, Yu-Chang Su\*\*\*

#### Summary

This paper presents conversion of agricultural waste—rice straw using an organosolv pulping pretreatment of tetrahydrofurfuryl alcohol (THFA) under atmospheric pressure. The rice straw pulp thus obtained was further saccharified and then microbially fermented to produce lactic acid. The microbial fermentation conditions and the amount of lactic acid formed were evaluated. The results indicate that most of the four bacteria applied produced maximum amounts of lactic acid at 72 h after inoculation. The others may require 80 to 96 h. Furthermore, rice straw THFA pulp after saccharification produced the most lactic acid with *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, with glucose conversion rate of 85.9%. This strain also produced the most lactic acid. At a sugar concentration of 60 g L<sup>-1</sup>, 72 h of fermentation produced a maximum 49.57 g L<sup>-1</sup>. Hourly lactic acid production of this strain was the highest as well, at sugar concentration of 60 g L<sup>-1</sup>, the rate reached 0.69 g h<sup>-1</sup>. Due to the high conversion rate of this strain in turning hydrolyzed sugar into lactic acid, applying this strain in the fermentation system should decrease the cost of purifying the lactic acid thus obtained.

**Keyword: Organosolv pulping, Tetrahydrofurfuryl alcohol, Lactic acid**

#### 一、前言

乳酸為一有機酸，發現於許多天然有機物質中，其可廣泛應用在食品、醫藥、化妝品、皮革製造業、紡織工業等領域，其中以食品應用方面，如：緩衝劑(buffering agent)、酸味劑(acidic flavoring agent)、酸化劑(acidulant)及抑制細菌等食品製程上均添加乳酸，為最主要應用方向。乳酸取得可經由碳水化合物之醱酵或化學合成而得(Van Ness, 1981; Benninga, 1990; Datta et al., 1995)。

因此本篇論文，以稻草等廢棄材料，將材料予以有機溶劑THFA/HCl製漿，並以本實驗室於先前所施作之稻草THFA/HCl製漿各參數及最佳製漿條件(Ho et al., 2011; 2012)，一方面除做為製漿用途，另一方面，即以此製漿法做為其他利用(能源)的前處理方法，如將所得漿料，經酸水解分解後所得葡萄糖予以醱酵成乳酸，以決定醱酵乳酸各參數，包括：微生物醱酵條件及乳酸生成量等之評估，以供讀者參考。

#### 二、試驗材料與方法

##### (一) 試驗材料

##### 1. 稻草

稻草(*Oryza sativa*)，取自台灣市售稻草繩，經預切為3 cm左右，並經陰乾後備用，其化學組成：全纖維素含量 68.2 ± 1.8% (纖維素含量 50.2 ± 1.1%及半纖維素含量18.0 ± 0.8%)；木質素含量20.1 ± 0.8%；灰分：12.6 ± 0.5%及抽出成分：2.6 ± 0.2%。

##### 2. 試驗菌株

為水解糖發酵成乳酸時，所使用乳酸菌分別有 *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (ATCC 27216)、*L. rhamnosus* (ATCC 53103)、*L. delbrueckii* (IAM 1928)、*L. vaccinosteraus* (JCM 1716)等4株菌株，均為購自生物資源保存及研究中心(Bioresource Collection and Research Center)。

其培養基均為MRS broth培養基。

### 3. 醱酵基質

所使用的醱酵基質有二種樣品

- a. 稻草經有機溶劑THFA製漿後之漿料，再以酸水解等各步驟後，所得即可得到水解糖產物。
- b. 葡萄糖(Sigma, USA)。

### 4. 培養基

分別為水解糖、葡萄糖發酵成乳酸時，所使用四株乳酸菌之培養基，均為使用MRS Broth (Difco™ Lactobacilli)。

## (二) 試驗方法

### 1. 稻草 THFA/HCl 製漿之脫木質素、碳水化合物溶出動力學及經驗式推導

稻草預切為3 cm長，100 g (o.d.)放入圓底燒瓶內，加入不同含量的催化劑(HCl, 0.010、0.015及0.020 mol L<sup>-1</sup>)的THFA水溶液9.7 mol L<sup>-1</sup>，調整到以液比10 (kg L<sup>-1</sup>)，進行110、120、

130及140°C常壓蒸煮300 min，每30 min取樣一次，所得樣品以水及2% NaOH溶液在70°C充分洗滌後取得漿料，以備後續漿料性質評估。

### 2. 漿料性質評估

製漿後，並予以完成洗滌後之漿料，進行後續之化學成分之分析，包括：紙漿之卡巴值(TAPPI T236 om-85)、灰分(ash)(TAPPI T211 om-93)、醇萃取出物(alcohol-benzene extractives)(TAPPI T204 os-76)、木質素(TAPPI T222 om-88)、全纖維素(holocellulose)(以Wise法進行全纖維素之定量, Japan Wood Association, 1985)、所得之全纖維素，以17.5% NaOH處理分成纖維素及半纖維素，並分別予以定量(Sun and Hughes, 1998)。

### 3. 漿料水解糖製備

將稻草蒸煮至卡巴值為20時之蒸煮條件所得之THFA漿料依照圖1流程之順序進行酸加水分解、脫酸及冷凍乾燥等步驟，即可得水解糖。

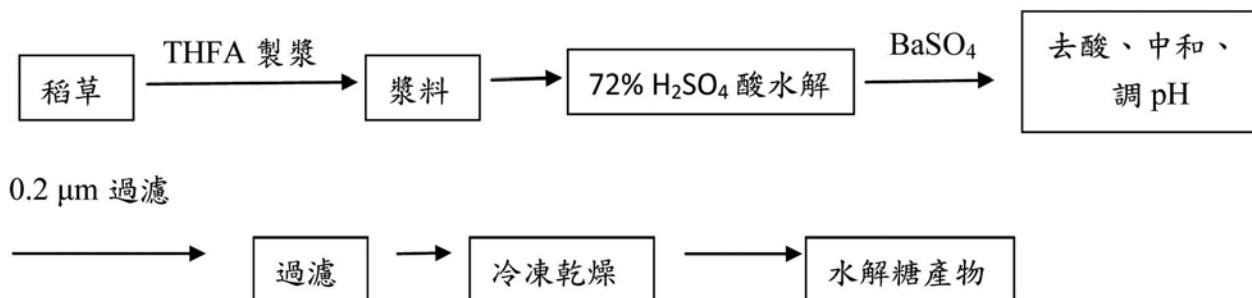


圖 1. 水解糖精製流程圖

## 4. 醱酵及醱酵液的分析

### (1) 乳酸菌醱酵

所有乳酸菌菌株先予以活化，以活化之四菌株為接種菌株。再經滅菌之MRS培養基(包括醱酵基質，其葡萄糖濃度為20、60及100 g L<sup>-1</sup>)分別轉接入經活化之乳酸菌菌株(10%)，置於37°C恆溫培養箱，振盪250 rpm，pH值控制為5.5，每8小時進行自醱酵液取樣，取得樣品，分別經離心(10000 rpm, 15 min)後，取上清液，檢測醱酵液中乳酸及葡萄糖量的分析。

### (2) 醱酵液的分析

#### a. 單醣及乳酸組成分析

##### (a) 單醣組成分析

經離心所得之上清液經TMS衍生化後分析其中單醣組成分析，其法為以GC及GC-MS進行之，分析條件如下。GC為Hewlett-Packard HP6890，管柱為DB-Wax (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness, J&W Scientific)。條件設定：Oven為50°C恆溫2 min，每分鐘升5°C，至220°C，注射孔溫度為270°C，FID溫度為250°C，分流比為1:10，注射量為1 μL。MS為全掃描模式，EI值為70 eV。化合物鑑定為利用標準品及NIST、Wiley等二質譜資料庫予以比對。

(b) 乳酸總量分析

經離心所得之上清液經甲基衍生化後予以分析，其成分分析為以GC及GC-MS進行之，乳酸的定量以檢量線法進行之。GC-MS 分析以Hewlett-Packard HP6890/HP5973，管柱為DB-Wax (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm film thickness, J&W Scientific)。GC條件與上述相同。MS為全掃描模式，EI值為70 eV。化合物鑑定為利用標準品及NIST、Wiley等二質譜資料庫予以比對。

(c) 乳酸光學異構物分析

經離心所得之上清液，以GC及GC-MS進行光學異構物分析。GC-MS分析以HP6890/HP5973，管柱為Chirasil-DEX capillary columns (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm film thickness, Chrompack)。GC條件為：Oven為60°C恆溫3分鐘，每分鐘升10°C，至180°C，注射孔溫度為270°C，FID溫度為250°C，分流比為1:10，注射量為1 μL。MS為全掃描模式，EI值為70 eV。化合物鑑定為利用標準品及NIST、Wiley等二質譜資料庫予以比對。

### 三、結果與討論

#### (一) 稻草 THFA/HCl 製漿

於稻草以THFA/HCl製漿，其漿料化學性質變化及動力學反應等均於Ho et al., (2011; 2012)均有述及，其重點如下：

##### 1. THFA/HCl 蒸煮之脫木質素反應

THFA/HCl蒸煮之稻草漿，其漿料之脫木質素反應可區分成二相，即為phase I及phase II等二相。phase I脫木質素效率與蒸解液中的催化劑HCl濃度有高度依存性。於phase I脫木質素活化能為26.5 kJ mol<sup>-1</sup>，頻率因子為2.72 × 10<sup>3</sup>。故低的活化能，證明其易蒸解之特性。而於phase II脫木質素之活化能為32.2 kJ mol<sup>-1</sup>，頻率因子為5.75 × 10<sup>3</sup>。故由以上結果顯示，此THFA/HCl蒸煮稻草漿之活化能非常低，顯示其易脫木質素之特性。而此法較一般化學製漿法具有較快之脫木質素反應及活化能低，顯示此製漿法具有相當優良蒸煮性質。

於K<sub>L</sub>/K<sub>C</sub>值(脫木質素反應速率/碳水化合物溶出速率)方面，phase I均大於phase II，於phase II時，蒸煮溫度120°C，催化劑濃度為0.020 mol L<sup>-1</sup>可達最大值，而在ΔL/ΔC值(脫木質素量/碳水化合物溶出量)方面，亦為蒸煮溫度120°C，催化劑濃度為0.020 mol L<sup>-1</sup>亦可達最大值，此為顯示蒸煮溫度為

120°C時，蒸煮藥液(催化劑)其主要為攻擊木質素大於碳水化合物；於phase II方面，依據各蒸煮條件，其ΔL/ΔC值介於0.12-0.27，顯示蒸煮過度進而導致碳水化合物量為遠大於脫木質素量，致使呈現收率大幅降低現象之原因。因此，蒸煮至卡巴值為20時，其phase II之ΔL/ΔC值，以蒸煮溫度120°C，催化劑添加量0.020 mol L<sup>-1</sup>時為最大，達0.55，此時收率並未大幅下降(收率為66.5%)，至於其他條件，其ΔL/ΔC值為介於0.20-0.45之間，無論是增加時間、溫度及催化劑量，均為顯示脫碳水化合物量為遠大於脫木質素量，致使收率大幅降低。

此THFA/HCl蒸煮稻草漿之動力方程式：

$$\text{phase I: } -dL_1/dt = 2.72 \times 10^3 \times e^{-26.5/RT} \times [HCl] \times L_{01}$$

$$\text{phase II: } -dL_2/dt = 5.75 \times 10^3 \times e^{-32.2/RT} \times [HCl] \times L_{02}$$

L<sub>01</sub>為phase I之起始木質素含量

L<sub>02</sub>為phase II之起始木質素含量(7.7%)

##### 2. THFA/HCl 蒸煮之碳水化合物反應

稻草以THFA/HCl蒸煮時之半纖維素與纖維素溶出反應，其均為分成二相，半纖維素的溶出在反應初期反應速率快，而纖維素溶出則在反應後期反應速率才會激增，造成此現象之原因為其化學結構所造成的。再者，於纖維素phase I方面，纖維素溶出率非常之少；於phase II方面，當脫木質素量約為85-90%左右，纖維素溶出率有增快之傾向，且隨催化劑〔HCl〕濃度及蒸煮溫度增加時，其纖維素溶出速率愈快，其phase II活化能為24.6 kJ mol<sup>-1</sup>，頻率因子為4.38 × 10<sup>2</sup>。於半纖維素溶出率方面，當隨著催化劑〔HCl〕濃度及蒸煮溫度增加時，半纖維素溶出率有增快之傾向。而phase I之溶出率均較phase II為快，其活化能為分別為52.5及54.8 kJ mol<sup>-1</sup>，頻率因子分別為4.12 × 10<sup>6</sup> 及 3.33 × 10<sup>6</sup>。

再者，以THFA/HCl製漿體系之脫木質素對碳水化合物降解的作用規律中得知，以蒸煮溫度高於130°C之條件，會造成纖維素及半纖維素過度溶出，而造成收率過低及影響紙性現象；若以低溫蒸煮(≤120°C)，可避免碳水化合物過度溶出。

##### 3. 最適條件之探討

探討製漿動力學的目的主要是檢討製漿工程之合理化在控制製漿過程和最適操作條件的掌握，達到低用藥量、短蒸解時間、高漿料品質和高得率之經濟性和操作性等最終要求(Wilson and Kerr, 1976; Su et al., 1995)，因此，本節將討論

本製漿法中，若要得到漂白級紙漿或可作為芯紙及表面紙板時之紙漿，不同蒸煮度的各紙等級的紙漿，如卡巴值20、40或60時紙漿時之最適條件控制。

首先，所求之脫木質素反應動力學方程式中求出紙漿需蒸煮至卡巴值20、40或60時之時間，所求之時間，再以方程式計算於卡巴值20、40或60時之半纖維素及纖維素含量。欲蒸煮至卡巴值20、40或60時之蒸煮時間，隨溫度愈高，蒸煮時間即愈短即可到達所要求之卡巴值，但於高溫蒸煮時( $\geq 130^{\circ}\text{C}$ )，半纖維素及纖維素溶出量多，半纖維素溶出尤為嚴重，而再與較低溫蒸煮( $\leq 120^{\circ}\text{C}$ )時比較，半纖維素及纖維素溶出量較高溫蒸煮者為少。因此，為求最適條件，若需蒸煮至卡巴值40及60時，以THFA  $9.7 \text{ mol L}^{-1}$ 、HCl  $0.020 \text{ mol L}^{-1}$ ，蒸煮溫度 $120^{\circ}\text{C}$ ，蒸煮時間分別為75、49 min，即可達之。但若需蒸煮至卡巴值20時，以THFA  $9.7 \text{ mol L}^{-1}$ 、HCl  $0.020 \text{ mol L}^{-1}$ ，蒸煮溫度 $120^{\circ}\text{C}$ ，蒸煮時間146 min為最適條件。

再者，為比較預測值及實際蒸煮之差異，故以實際蒸煮方式，蒸煮至上述所求之時間，再予以量測木質素、半纖維素及纖維素之實際含量。其實測值與預測值之比較，於實際蒸煮所得之木質素、半纖維素及纖維素之含量與預測值非常相近，其 $r$ 值均為  $> 0.99$ ，故顯示二者差異非常少，因此所推導之公式，可運用於THFA/HCl之製程控制。

## (二) 不同葡萄糖濃度之各菌株產酸

為評估不同乳酸菌菌株於不同濃度之葡萄糖產乳酸情形，分別在葡萄糖濃度(20、60及 $100 \text{ g L}^{-1}$ )進行醱酵，其所得結果如表1所示。表1中，首先可知於此三濃度，此四株菌株

產乳酸量之最大值時之醱酵時間為介於72-96 hr之間，其中葡萄糖濃度於20及 $60 \text{ g L}^{-1}$ 時，除*L. rhamnosus*於葡萄糖濃度 $60 \text{ g L}^{-1}$ 時為80 hr外，其餘均於72 hr的醱酵時間即可達產乳酸最大量。當葡萄糖濃度提高至 $100 \text{ g L}^{-1}$ 時，產乳酸最大量時間為介於72-96 hr。故由以上所述，此四株菌株中，以*L. paracasei* subsp. *paracasei*於葡萄糖濃度20- $100 \text{ g L}^{-1}$ 時，產乳酸最大量時間為最短，均為72 hr可達到。再者，評估葡萄糖轉化率，由表1可知，此四株菌株中，於葡萄糖濃度20、60及 $100 \text{ g L}^{-1}$ ，以*L. paracasei* subsp. *paracasei*的轉換率為最佳，其次依序為*L. rhamnosus*、*L. vaccinosteraus*及*L. delbrueckii*等菌株。於最大產乳酸濃度，此四株菌株均在葡萄糖濃度 $60 \text{ g L}^{-1}$ 時為可達最大量，而其中以*L. paracasei* subsp. *paracasei*於葡萄糖濃度 $60 \text{ g L}^{-1}$ 時高達 $55.64 \text{ g L}^{-1}$ ，其次依序為*L. rhamnosus* ( $50.32 \text{ g L}^{-1}$ )、*L. vaccinosteraus* ( $35.21 \text{ g L}^{-1}$ )及*L. delbrueckii* ( $23.21 \text{ g L}^{-1}$ )等菌株。於每小時產乳酸率同樣為以*L. paracasei* subsp. *paracasei*為最高，在葡萄糖濃度 $60 \text{ g L}^{-1}$ 時為可達最大量達 $0.77 \text{ g h}^{-1}$ ，*L. rhamnosus*次之，為 $0.63 \text{ g h}^{-1}$ 。

再者，評估各菌株中，何種葡萄糖濃度，可使產乳酸量及產乳酸率可得最高，於圖2-4很明顯可得知，各菌株均為於葡萄糖濃度 $60 \text{ g L}^{-1}$ 時可達最佳產乳酸狀態，以*L. paracasei* subsp. *paracasei*為最佳，其次為*L. rhamnosus*。且*L. paracasei* subsp. *paracasei*葡萄糖轉換率最高，表示此菌株於醱酵系統在生產乳酸及純化之成本將可降低許多(Liliana and Aida, 2006)。

表 1. 不同葡萄糖濃度產乳酸之醱酵參數

| Kinetic parameters                                      | $20 \text{ g L}^{-1}$ |       |       |       | $60 \text{ g L}^{-1}$ |       |       |       | $100 \text{ g L}^{-1}$ |       |       |       |
|---|-----------------------|-------|-------|-------|-----------------------|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|-------|
|   | 1*                    | 2     | 3     | 4     | 1                     | 2     | 3     | 4     | 1                      | 2     | 3     | 4     |
| Fermentation time to achieve Pmax (P)                   | 72                    | 72    | 72    | 72    | 72                    | 80    | 72    | 72    | 72                     | 96    | 96    | 88    |
| Glucose conversion (%) <sup>#1</sup>                    | 97.54                 | 90.26 | 65.11 | 77.11 | 96.07                 | 87.20 | 42.02 | 62.02 | 55.2                   | 48.4  | 19.6  | 25.7  |
| Max. lactic acid con. ( $\text{g L}^{-1}$ )             | 11.13                 | 9.67  | 4.64  | 7.04  | 55.64                 | 50.32 | 23.21 | 35.21 | 50.21                  | 43.36 | 14.56 | 20.72 |
| Product yield, Y p/s( $\text{g g}^{-1}$ ) <sup>#2</sup> | 0.86                  | 0.74  | 0.36  | 0.54  | 0.93                  | 0.84  | 0.39  | 0.59  | 0.50                   | 0.43  | 0.15  | 0.21  |
| Lactic acid productivity ( $\text{g h}^{-1}$ )          | 0.15                  | 0.13  | 0.06  | 0.10  | 0.77                  | 0.63  | 0.32  | 0.49  | 0.70                   | 0.45  | 0.15  | 0.24  |

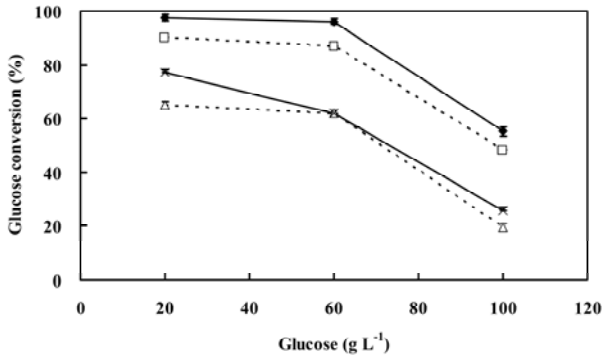
\* : 1. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*、2. *L. rhamnosus*、3. *L. delbrueckii*、4. *L. vaccinosteraus*

#1 : Glucose conversion (%) :  $\text{GC} = (100 - (S_0 - S)) / S_0$  ;  $S_0$ : initial glucose concentration ( $\text{g L}^{-1}$ ) ;

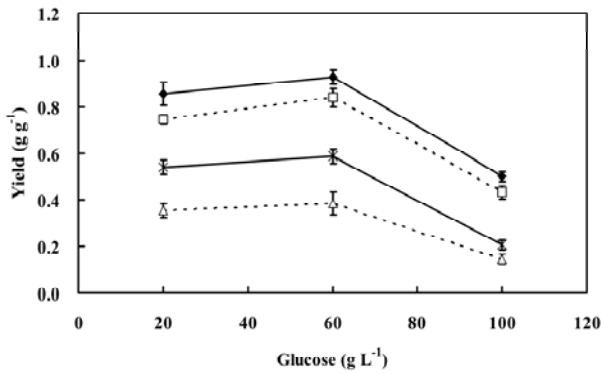
S: final glucose concentration ( $\text{g L}^{-1}$ ), to time when P is maximum

#2 : The yields (Y p/s) in grams per gram, were calculated as the gradient of the curve obtained by plotting product concentration against substrate concentration.

a. Glucose conversion



b. Yield



c. Lactic acid concentration

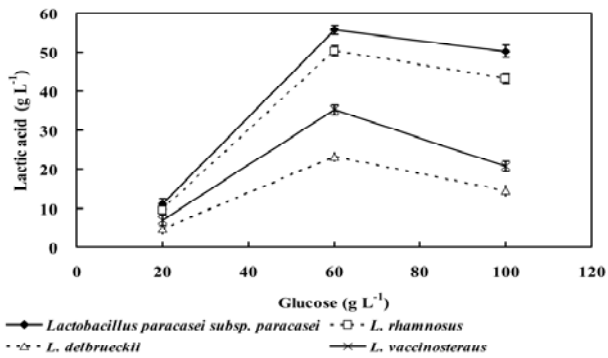
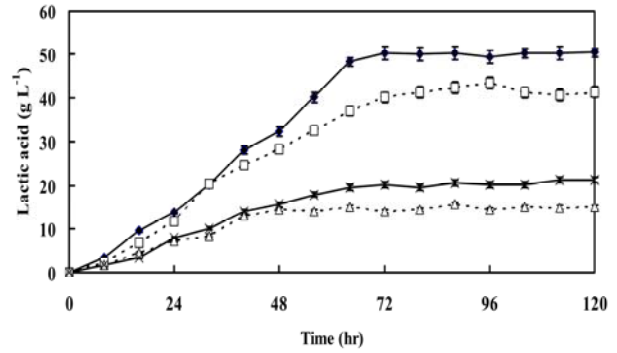


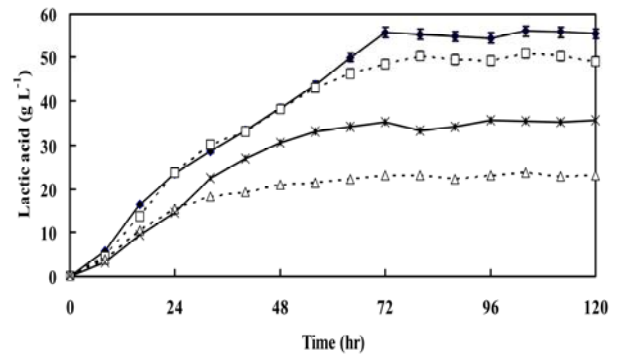
圖 2. 不同葡萄糖濃度於不同乳酸菌株醱酵所產生性質

a. Glucose conversion, b. Yield, c. Lactic acid concentration

a. Glucose = 100 g L<sup>-1</sup>



b. Glucose = 60 g L<sup>-1</sup>



c. Glucose = 20 g L<sup>-1</sup>

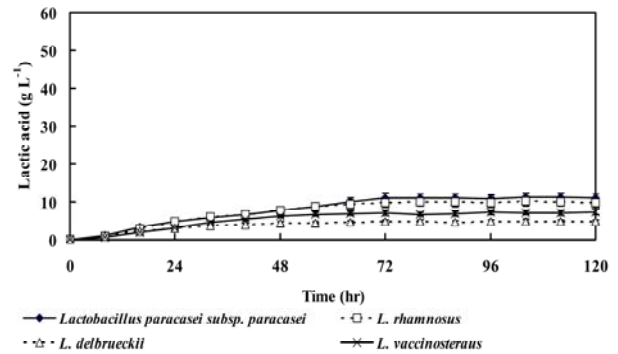
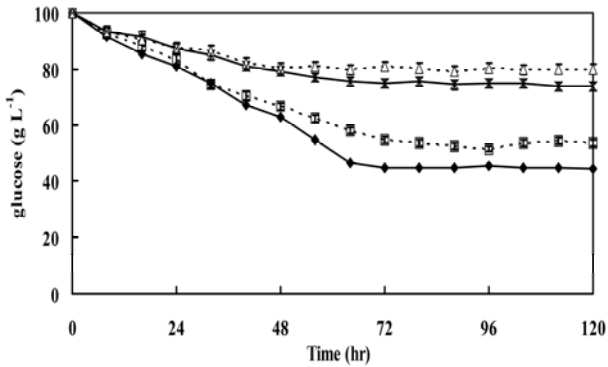
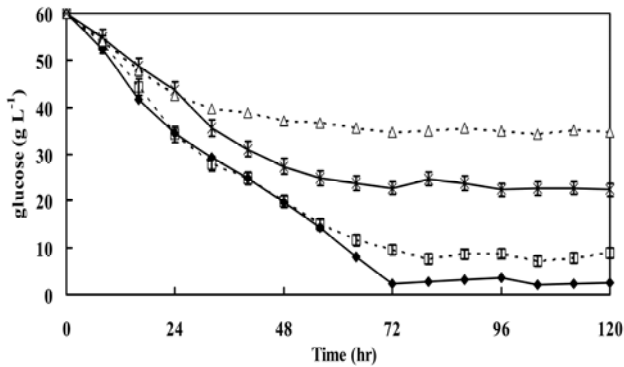


圖 3. 不同葡萄糖濃度於不同乳酸菌株醱酵所產生乳酸量圖

a. Glucose = 100 g L<sup>-1</sup>



b. Glucose = 60 g L<sup>-1</sup>



c. Glucose = 20 g L<sup>-1</sup>

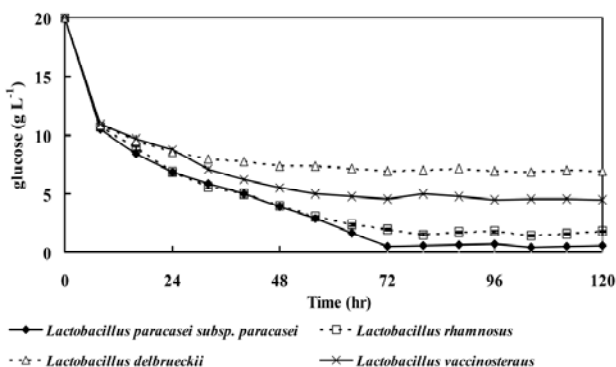


圖 4. 不同葡萄糖濃度於不同乳酸菌株醱酵所產生之葡萄糖殘餘量圖

(二) THFA 漿料之水解糖產乳酸評估

為利用所得之最佳蒸煮條件試驗結果--將稻草蒸煮至卡巴值為20時之蒸煮條件(100 g (o.d.))放入圓底燒瓶內,加入催化劑含量(HCl, 0.020 mol L<sup>-1</sup>)的THFA水溶液9.7 mol L<sup>-1</sup>,調整到以液比10 (kg L<sup>-1</sup>),進行120°C常壓蒸煮146 min),所得之漿料,經酸水解各步驟後,所得水解產物,從去酸、調pH值、過濾膜過濾,過濾後再予以冷凍乾燥,所得即可得到水解糖產物。試驗結果顯示,100 g (o.d.)稻草,可得醱類50.1 ± 0.5 g,且將水解糖經乙醯衍生化處理後,以GC-MS分析其醱類成分,水解產物中glucose佔91.9%、xylose佔7.8%、arabinose、mannose及galactose分別各佔0.1%。

再者,將THFA漿料,水解所得醱類,予以醱酵成乳酸,菌種為使用*L. paracasei subsp. paracasei*及*L. rhamnosus*二菌株,漿料水解糖濃度為60 g L<sup>-1</sup>,其餘醱酵條件均與上述試驗相同。經醱酵後所得結果如表2所示,於THFA漿料水解糖轉化率可知,以*L. paracasei subsp. paracasei*為最佳,達85.9%,而*L. rhamnosus*為76.2%,此結果較Garde等人(2000)以稻草利用*L. salivarius*菌株及Oda等人(1997)以麵包廢棄物,使用*L. amylovorus*菌株醱酵之醱類轉化率均較佳。而於最大產乳酸濃度亦為以*L. paracasei subsp. paracasei*於醱類濃度60 g L<sup>-1</sup>時為可達最大量49.57 g L<sup>-1</sup>,本結果較Luo等人(1997)、Oda等人(1997)、Sreenath等人(2001)及Bulut等人(2004)分別以*L. delbruium*、*L. amylovorus*、*L. plantarum*、*L. delbrueckii*、*Rhizopus oryzae*菌株之產乳酸濃度為佳。至於每小時之產乳酸率同樣為以*L. paracasei subsp. paracasei*為最高,且於水解糖濃度60 g L<sup>-1</sup>時為可達最大量達0.69 g h<sup>-1</sup>,此結果較Xiaodong等人(1997)及Sreenath等人(2001)為佳。以葡萄糖標準品為醱酵基質時為0.77 g h<sup>-1</sup>。

漿料水解糖,經醱酵成乳酸效率,較純粹的葡萄糖標準品為差,此為因水解糖,含有來自半纖維素的五碳醱及六碳醱,而部份的五碳醱如木糖無法經醱酵轉化成乳酸,致使有較低的轉化率。

表 2. 以水解糖濃度(60 g L<sup>-1</sup>)醱酵後所得性質一覽表

| Kinetic parameters                            | 60 g L <sup>-1</sup>                        |                     |
|---|---|---------------------|
|   | <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> | <i>L. rhamnosus</i> |
| Fermentation time to achieve Pmax (P)         | 72  | 80                  |
| Glucose conversion (%) <sup>1</sup>           | 85.94                                       | 76.17               |
| Max. lactic acid con. (g L <sup>-1</sup> )    | 49.57                                       | 43.70               |
| Lactic acid productivity (g h <sup>-1</sup> ) | 0.69  | 0.55                |

#1 : Glucose conversion (%) :  $GC = (100 - (S_0 - S)) / S_0$

S<sub>0</sub>: initial glucose concentration (g L<sup>-1</sup>)

S: final glucose concentration (g L<sup>-1</sup>), to time when P is maximum

### (三) 乳酸光學異構物分析

為確定所醱酵之乳酸之光學異構物，以GC及GC-MS分析，於漿料水解糖濃度於60 g L<sup>-1</sup>，以 *L. paracasei* subsp. *paracasei* 菌株醱酵72 hr後，所生產之乳酸於*l*-lactic acid佔94.7 ± 0.7%，而*d*-lactic acid佔5.3 ± 0.3%；而*L. rhamnosus*菌

株醱酵80 hr後，所生產之乳酸於*l*-lactic acid佔93.3 ± 0.5%，而*d*-lactic acid佔6.7 ± 0.5%；故此二菌株，幾乎為生產*l*-lactic acid化合物，故於選擇為製造成聚乳酸原料之菌株，即選擇*L. paracasei* subsp. *paracasei*菌株醱酵72 hr後，所生產乳酸做為聚合原料。

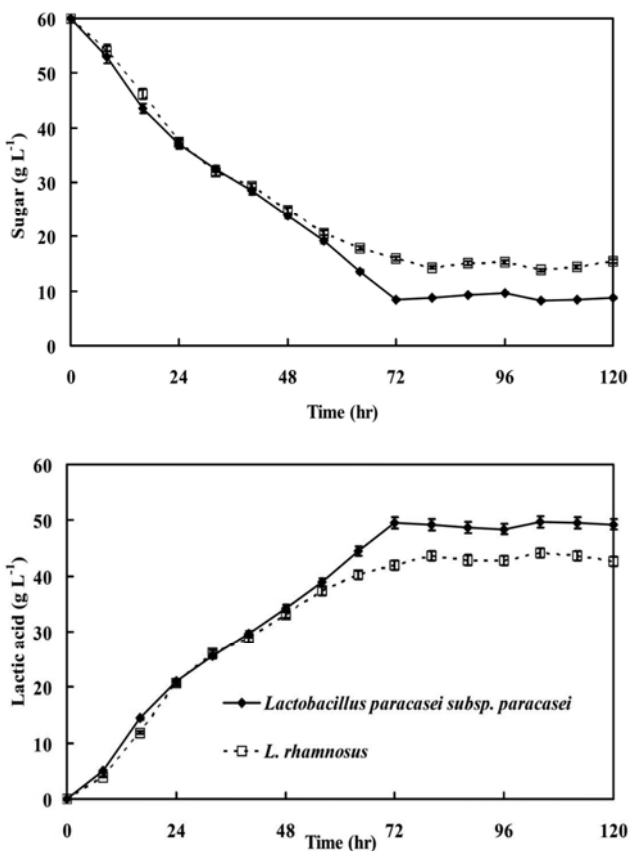


圖 5. 水解糖濃度(60 g L<sup>-1</sup>)於不同乳酸菌株醱酵之水解糖殘餘量及所產生之乳酸經時變化

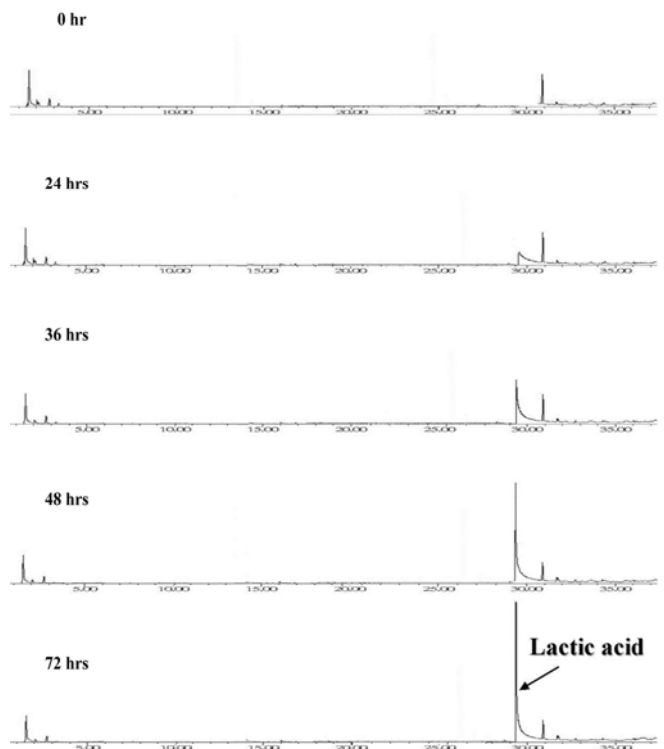


圖 6. 以 *L. paracasei* subsp. *paracasei* 菌株醱酵 0-72 hr，以氣相層析儀檢測乳酸生成量之氣相層析圖

Polysaccharides hydrolysate concentration (60 g L<sup>-1</sup>)

Column: DB-Wax (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness, J&W Scientific); Oven: 50°C (2 mins), 50-220°C (5°C min<sup>-1</sup>); injection temp.: 270°C; FID temp.: 250°C; split ratio: 1:10.

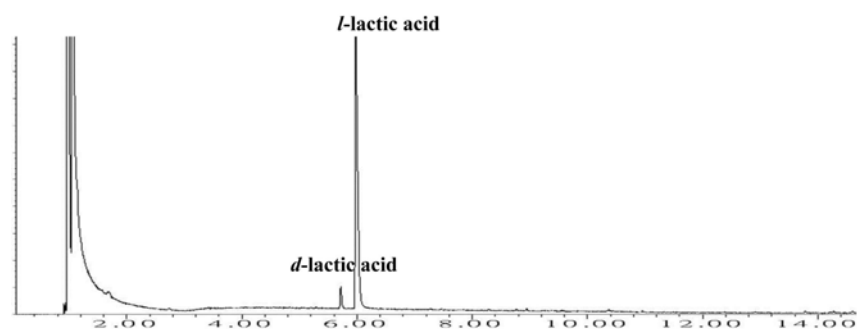


圖 7.以 *L. paracasei* subsp. *paracasei* 菌株醱酵 72 hr 後，以氣相層析儀檢測乳酸光學異構物含量之氣相層析圖  
Polysaccharides hydrolysate concentration ( $60 \text{ g L}^{-1}$ )

Column: Chirasil-DEX capillary columns (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness, Chrompack); oven:  $60^\circ\text{C}$  (3 mins),  $60\text{-}180^\circ\text{C}$  ( $10^\circ\text{C min}^{-1}$ ); injection temp.:  $270^\circ\text{C}$ ; FID temp.:  $250^\circ\text{C}$ ; split ratio: 1:10.

#### 四、結論

本研究為以農林廢棄物如稻草等，以有機溶劑THFA製漿法為前處理法，經製漿所得漿料予以糖化後，再利用微生物進行醱酵並生成乳酸，評估微生物醱酵條件及乳酸生成量等。結果顯示，此四株菌株產乳酸之最大值時間大部分為72 hr，其餘約為80-96小時。再者利用動力學方程式所得之最佳製程條件(卡巴值為20之漿料)，所得漿料予以糖化後，再利用微生物進行醱酵並生成乳酸，以評估微生物醱酵條件及乳酸生成量等。故結果顯示，以*L. paracasei* subsp. *paracasei*為最佳，高達85.9%。最大量產乳酸濃度亦為本菌株，於醱類濃度 $60 \text{ g L}^{-1}$ 時，醱酵72 hr後乳酸產量為可達最大量 $49.57 \text{ g L}^{-1}$ 。於每小時之產乳酸率同樣為以*L. paracasei* subsp. *paracasei*為最高，於水解糖濃度 $60 \text{ g L}^{-1}$ 時為可達最大量達 $0.69 \text{ g h}^{-1}$ 。本菌株於此水解糖轉換成為乳酸產量高，顯示此菌株於醱酵系統中將會使產生乳酸及純化之成本將可降低許多。

#### 五、參考文獻

1. Van Ness, JH. (1981) Hydroxy Carboxylic Acids in: Kirk-Othmer Encyclopedia of Chem Tech, 3rd edn J Wiley & Sons New York,13: 80.
2. Benninga, H. (1990) A history of lactic acid making. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht Boston London.
3. Dattaa, R., S.P. Tsaia, P. Bonsignorea, S.H. Moona, J.R. Frank. (1995) Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives. FEMS. Microbiol. Rev. 16: 221-231.
4. Ho, C.L., K.T. Wu, E.I.C. Wang, Y.C. Su. (2011) Delignification kinetics study on the tetrahydrofurfuryl alcohol (THFA)/HCl pulping of rice straw. Ind. Eng. Chem. Res. 50: 3849-3857.
5. Ho, C.L., K.T. Wu, E.I.C. Wang, Y.C. Su. (2012) Kinetic study of carbohydrate dissolution during tetrahydrofurfuryl alcohol/HCl pulping of rice straw. BioResources. 7: 5719-5736.
6. Wilson, C.A., A.J. Kerr. (1976) The kinetics of kraft pulping - industrial evaluation of a proposed batch digester control method. Appita J. 30: 55-58.
7. Su, Y.C., Y.T. Kuo, H.M. Yu. (1995) Studies on the fast-grown wood species Gmelina arborea (Part III) kinetic study on kraft pulping. Bull. Taiwan Forestry Res. Ins. 10: 525-534.
8. Liliana, S.C., Aida R.S. (2006) Lactic acid production by a strain of Lactococcus lactis subs lactis isolated from sugar cane plants. Electron. J. Biotechnol. 9:40-45.
9. Garde, A., A. Schmidt, G. Jonson, M. Andersen, A.B. Thomsen, B.K. Ahring, P. Kiel (2000) Agricultural crops and residuals as a basis for polylactate production in Denmark. Proc. Food Biopack Conf. Copenhagen, Denmark. pp. 27-29.



10. Oda, Y., B. Park, K. Moon, K. Tonomura. (1997) Recycling of bakery wastes using an amylolytic lactic acid bacterium. *Bioresour. Technol.* 60: 101-106.
  11. Luo, J., L. Xia, J. Lin, P. Cen. (1997) Kinetics of simultaneous saccharification and lactic acid fermentation processes. *Biotechnol. Progr.* 13: 762-767.
  12. Oda, Y., B. Park, K. Moon, K. Tonomura. (1997) Recycling of bakery wastes using an amylolytic lactic acid bacterium. *Bioresour. Technol.* 60: 101-106.
  13. Sreenath, H.K., A.B. Moldes, R.G. Koegel, R.J. Straub. (2001) Lactic acid production by simultaneous saccharification and fermentation of alfalfa fiber. *J. Biosci. Bioeng.* 92: 518-523.
  14. Bulut, S., M. Elibol, D. Ozer. (2004) Effect of different carbon sources on L(+)- lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Biochem. Eng. J.* 21: 33-37.
  15. Xiaodong, W., G. Xuan, S.K. Rakshit. (1997) Direct fermentation of lactic acid from cassava or other starch substrates. *Biotechnol Lett.* 9: 841-843.
- \* 何振隆 行政院農委會林業試驗所木材纖維組副研究員
- \* Chen-Lung Ho, Associate Scientist of Division of Wood Cellulose, Taiwan Forestry Research Institute, Council of Agriculture
- \*\* 徐光平 行政院農委會林業試驗所木材纖維組助理研究員
- \*\* Kuang-Ping Hsu, Assistant Researcher of Division of Wood Cellulose, Taiwan Forestry Research Institute, Council of Agriculture
- \*\*\*蘇裕昌 國立中興大學森林學系教授，通訊作者。
- \*\*\* Yu-Chang Su, Professor of Division of Forestry, National Chung Hsing University. Corresponding Author.