

纖維質廢物的前處理及還原醣的測定
Pretreatment of cellulosic waste and determination of reducing sugar

張傑、徐挺惠
指導老師:詹鴻得
元培醫事科技大學 食品科學系
摘要

農產廢棄物中含大量的纖維質，其中，稻殼中含有約60％的木質纖維素，使用稀硫酸將其水解，可得六碳醣或五碳醣的單醣分子，再經發酵處理，即可產生酒精，此類生質能源在講求永續發展的環境下顯得尤為重要。本試驗將使用經水稀釋後的硫酸在加熱狀態下水解稻殼粉，其濃度包括1％、0.75％、0.5％、0.25％、0.1％，經水解後的稻殼粉能產生還原糖，還原糖將以葡萄糖檢量線定量。試驗將著重於觀察各稀硫酸濃度下，水解稻殼粉的能力。

前言

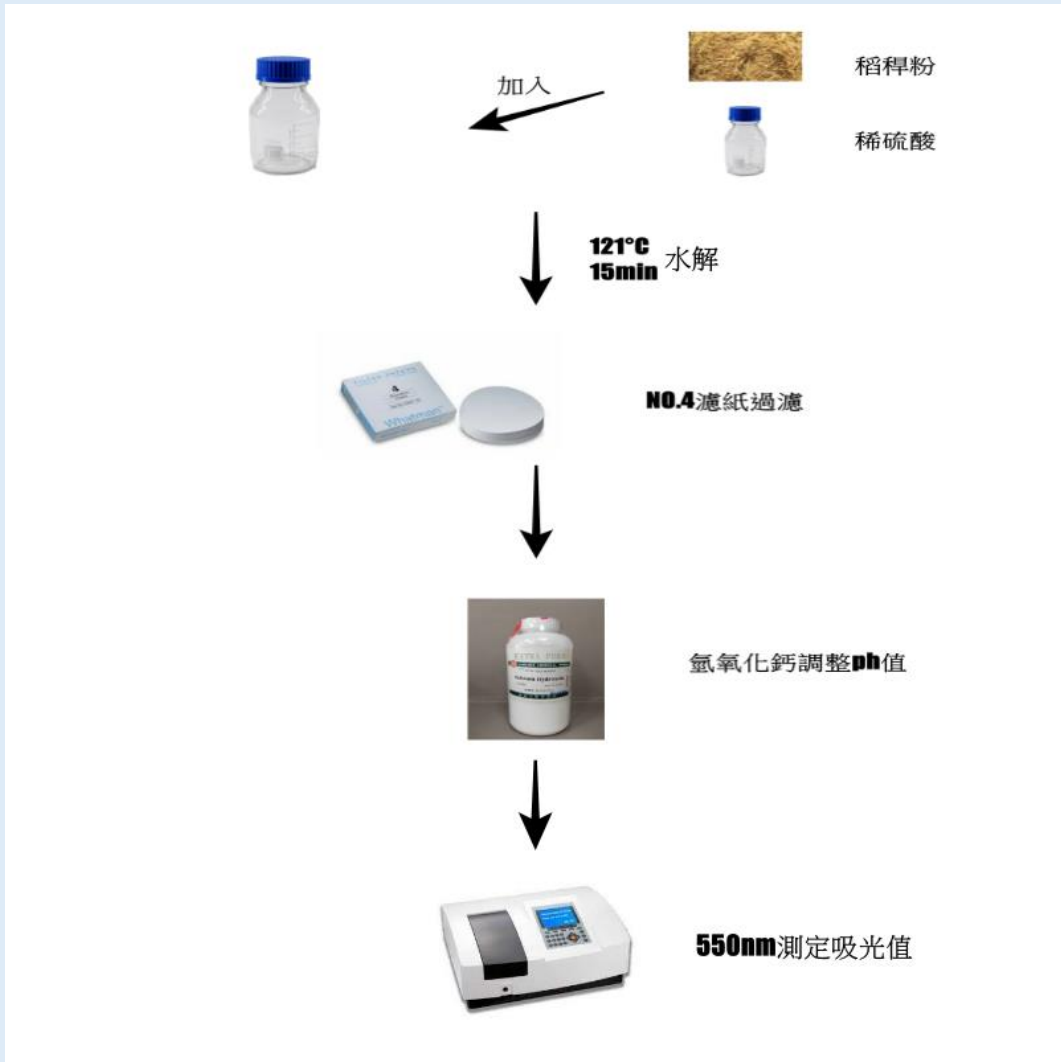
纖維素等。其中，糖類生質酒精以巴西甘蔗是世界最大的生產輸出國；澱粉類以美國玉米酒精即為全球最大生產國。以糖類或澱粉原料生產酒精的技術已趨於成熟發展，不過為了避免與人類糧食競爭，造成爭議以及糧食物價飆漲，木質纖維酒精則成為主要的發展。纖維素轉化成酒精，需先經由前處理，包括物理性(碾磨法、蒸氣爆破法、二氧化碳爆破法、氧纖維爆破法、微波和超音波處理法等)，化學性(酸水解、臭氧處理和鹼水解)及纖維水解酵素的前處理，轉化為單糖或寡糖，再進一步發酵成酒精。將木質纖維轉化成可發酵醣類又稱為醱化，利用DNS具有還原力的特性，讓分解後的碳水化合物中游離的醛基與酮基，在鹼性溶液下產生氧化還原反應以及顏色改變，再以分光光度計在波長550 nm下測定吸光值和定量樣品中還原糖的濃度。本研究主要探討纖維質原料-稻稈經由高溫蒸汽和不同濃度稀酸作用後，比較不同濃度稀酸處理所產生的還原糖含量多寡。

材料與方法

- 1.實驗材料 稻稈以打碎機粉碎後致成粉末備用。
- 2.木質纖維素前處理 秤取10g磨好的稻稈粉，加入10倍體積不同濃度(0.1-1.0%)的稀硫酸與RO水，以121℃、15min高壓蒸汽滅菌後分析還原糖含量，試驗 進行5重覆。
- 3.調整pH值 前處理後的濾液加入氫氧化鈣，用攪拌石攪拌調整至pH 7，過程中需隨時注意pH值的上升與下降避免上升過頭。
- 4.測定吸光值 將樣品調製為pH 7之後，在波長550 nm下進行吸光值的測量。
- 5.還原糖濃度的檢測 取1ml檢液和1ml的RO水混合，加入2ml的DNS試劑(3.5二硝基水楊酸1g、氫氧化鈉1.6g，溶於100mlRO水中，攪拌均勻後加入30 g酒石酸鉀鈉，倒入棕色瓶中於4℃避光保存)混合，於100℃下反應5min，再加入5ml的蒸餾水稀釋，需要用錫箔紙圍住燒杯避光，之後以分光光度計進行吸光值測定。

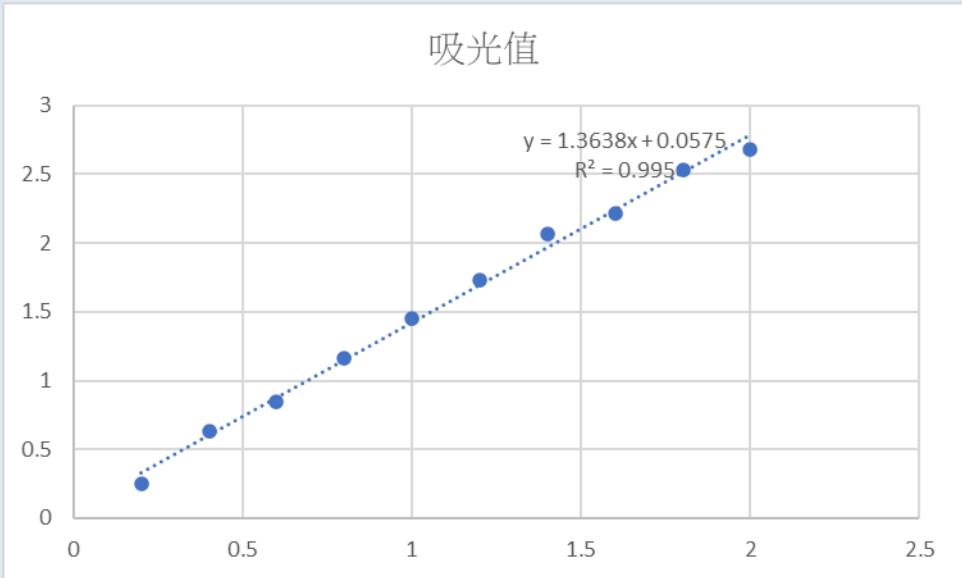
試驗流程

- 1. 秤10g的稻稈粉放入250ml的血清瓶中(要裝5罐各10g)
- 2. 取500ml血清瓶放入396ml的RO水在加入4ml的稀硫酸(過程中需配戴手套並在抽風櫃中吸取稀硫酸溶液)
- 3. 121℃以下高壓殺菌 15 min
- 4. 降溫後用No.4濾紙過濾
- 5. 將5罐的濃度調製pH值7(靜置30 min後加入氫氧化鈣時需用攪拌石邊攪拌邊測pH值)
- 6. 測定吸光值(吸光值為550)



實驗結果

使用DNS法：即二硝基水楊酸法是利用鹼性條件下，二硝基水楊酸（DNS）與還原糖發生氧化還原反應，生成3-氨基-5-硝基水楊酸，該產物在煮沸條件下顯棕紅色，且在一定濃度範圍內顏色深淺與還原糖含量成比例關係的原理，用比色法測定還原糖含量。因其顯色的深淺只與醣類遊離出還原基團的數量有關，而對還原糖的種類沒有選擇性，故DNS方法適合用在多糖，如纖維素、半纖維素和澱粉等。標準檢量線（圖一）：利用以知濃度的標準物質樣品（葡萄糖）建立檢量線後，即吸收度與濃度關係之曲線，利用線性迴歸以求出一條直線（R²），R²愈大，代表此迴歸模式能夠解釋y變異量的比例愈大，因此R²愈接近1.0，代表此模式愈有解釋能力，基本上大於0.99即可適用。再以內插法定量待測樣品，即代入檢量線方程式y=ax+b即可求出樣品還原糖含量。但須注意樣品之濃度不能超過最大濃度之標準液，因此檢測時需使樣本之濃度落於標準液之濃度範圍內，若超出範圍，便需將樣品稀釋以達要求。本試驗樣品為5倍稀釋液。測得吸光值後(表一)帶入(圖一)標準檢量線之公式(y=1.3638x+0.0575)，再經巧回推，即可得出樣品還原醣含量(表二)。



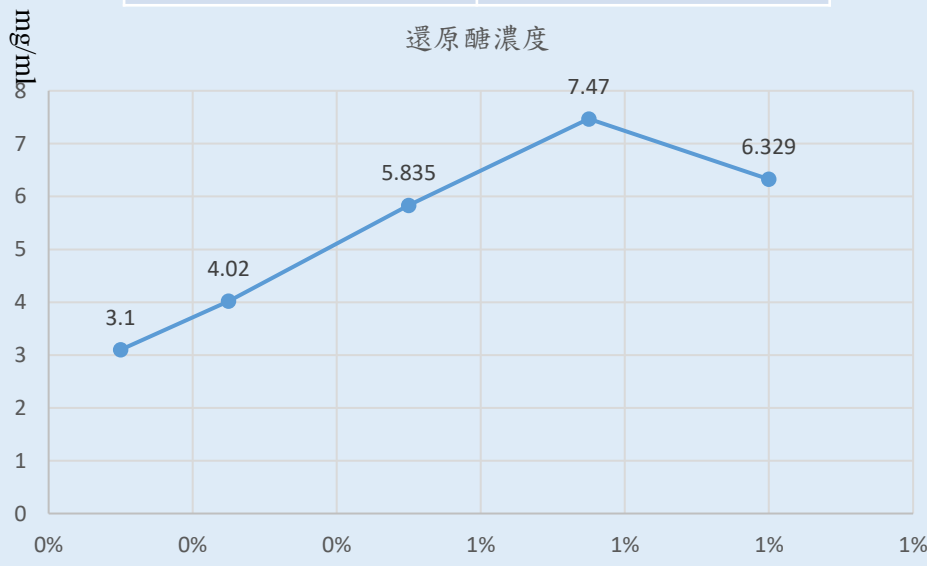
(圖一)不同濃度葡萄糖
波長550nm吸光值檢量線

(表一)不同濃度硫酸處理後的吸光值

稀硫酸	吸光值
1%	1.784
0.75%	2.092
0.5%	1.646
0.25%	1.151
0.1%	0.9

(表二)不同濃度硫酸處理後的還原醣濃度

稀硫酸	還原醣5x mg/ml
1%	6.329(mg/ml)
0.75%	7.47(mg/ml)
0.5%	5.835(mg/ml)
0.25%	4.02(mg/ml)
0.1%	3.1(mg/ml)



(圖二)不同濃度硫酸處理後還原醣的變化

結論

纖維素是地球上最豐富的有機聚合物，是自然界中分布最廣、含量最多的一種多糖，又因其堅固的特性需要破壞其結構以獲得單糖，這樣被稱為前處理的過程當中，方法就顯得尤為重要，其中包含物理、化學、物理化學結合等多種方法，本試驗屬化學法使用稀硫酸，意在0.1%-1%當中觀察各濃度的水解能力。在忽略干擾物的情況下，基本可得出稀硫酸在0.1%-1%範圍中0.75%下水解能力最高。