

私立東海大學化學工程與材料工程研究所

碩士論文

指導教授：喬緒明 博士

固態萃取法應用於 ABE 發酵中分離丁醇研究

Solid Extraction of n-Butanol in ABE Fermentation

研究生：蕭惠珊 撰

中華民國 101 年 6 月

碩士學位論文指導教授推薦書

化學工程與材料工程研究所 蕭惠珊 君所提供之論文

固態萃取法應用於 ABE 發酵中分離丁醇研究

係由本人指導撰述，同意提付審查

此致

化學工程與材料工程研究所所長

指導教授：

日期：101年6月28日

(註：本頁可依個人意願是否貼附，可自行繕打後，列印出給指導老師、系主任簽名)

碩士學位論文口試委員會審定書

化學工程與材料工程研究所 蕭惠珊 君所提供之論文

固態萃取法應用於 ABE 發酵中分離丁醇研究

經本委員會審定通過，特此證明。

論文口試委員會

委員：

楊怡寬
林其昌
黃達銘

徐武軍

指導教授：

翁明

中華民國 101 年 6 月 28 日

致謝

能順利完成此篇論文，最感謝的就是指導教授 喬緒明老師在研究和學術課業上悉心指導，並給予鼓勵與指教，感謝 顏宏偉老師在發酵實驗部分給我許多建議與指導，讓我獲益良多；感謝口試委員 楊怡寬老師、徐武軍老師、黃建銘老師、林其昌老師細心對我的論文進行審查，並在口試時給予許多建議，使我的論文內容更趨完善。

在研究所生涯中，要感謝實驗室學長姐資婷、毓琳、天偉、敬惟，好同學旭典，學弟華嚴、煜智在實驗室討論互相指教給予意見，感謝研究所學長姐文騰、佳學、嘉玲、于萱、永長，研究所朋友雅婷、紹秦、證雄、才女、皓緯、于菁、令惠、方瑋、尚甫、采蓉、瑞真、文啟、靖涵、鵬仁、郁雅，學弟欣培、志恆、偉誠、欣嶸在實驗上給予許多幫助，在生活上陪伴與鼓勵，讓我能順利完成學業並增添許多美好回憶；感謝各個求學時期朋友何儀、浥竹、涵雯、介筠、怡君、亭綾、冠英、昀秦、郁榮、仲緯、柔伊、怡嫻、俊名、鈺苓、思賢、秉毅、國恩、純華在實驗遇到瓶頸抽空聽我訴苦並邀約外出郊遊，排解苦悶；感謝少時豐富我的實驗生活，讓實驗室生活精采許多。

最後感謝我的家人們，在生活中給予我最大的支持與鼓勵，由於你們的關懷與照顧，讓我能無後顧之憂完成研究與論文，在此獻上最真誠的感謝，愛你們，謝謝。

摘要

近年由於人口急速增加，石化能源快速消耗且受到開採地區限制，尋找替代新能源成為重要課題，其中生質能是相當乾淨的綠色能源，而生質丁醇是非常受到矚目的新能源，因為其可經由農業廢棄物轉換產生，應用方面也因其安全性高，性質與石油相似，無須經過太多加工即可使用；ABE 發酵法則為目前最為廣泛生產生質丁醇的方法，其使用菌株 *Clostridium acetobutylicum* 進行生產丁醇、丙酮、乙醇，但過高丁醇濃度則會抑制細胞生長；本研究將均聚物 PBA 與 BA-co-AA 共聚物做為萃取劑，並以固態萃取法在 ABE 發酵中分離丁醇，降低丁醇抑制作用。

實驗於丁醇模擬溶液中，PBA 丁醇選擇率可達 1332.06，BA-co-AA 共聚物丁醇分配係數最高可達 4.28；此外，PBA 和 BA-co-AA 共聚物萃取率分別可達 40% 和 50%，脫附率為 75% 和 70%；在重複萃取-脫附實驗中丁醇總收率無降低，且經由 SEM、TGA、FT-IR 分析萃取前後性質無明顯變化，證明此萃取劑能重複使用。

實際應用 ABE 發酵，添加 PBA 可成功降低發酵槽丁醇濃度，並提高葡萄糖消耗，而脫附丁醇濃度最高可達 93.69 g/L，丁醇產量則可達 0.367 g，相較於未添加 PBA 為 0.318 g 可高出 15.4%。

關鍵字: ABE 發酵、*Clostridium acetobutylicum*、丁醇、固態萃取。

Abstract

Searching for renewable energy sources has become imperative due to the limitation of fossil fuel as well as the booming of human populations. Among the many choices, biofuel is no doubt the most potent one for it is very green and versatile. Among the choices, n-butanol attracts more attention for it is stable and safe; it has high energy density, and it is flexible for applications.

The most widely-used method in producing n-butanol is the ABE fermentation, which uses strains of *Clostridium Acetobutylicum* to produce butanol, acetone, and ethanol. Unfortunately, high butanol concentration inhibits cell growth and functioning. In this work, we used acrylic copolymers as solid extractants, and used solid-liquid extraction method was chosen to separate butanol from the fermentation broth.

When polymers were used in a simulated butanol solution at 1:2 ratio, selectivity of PBA can reach 1332.06, and the largest butanol distribution coefficient obtained was 4.28 for p(BA-co-AA). Up to 50% of the n-Butanol can be extracted with p(BA-co-AA) extractant. When these extractant were reused the total yield did not change and SEM, TGA and FT-IR analysis confirmed that no significant changes were observed when these polymer were used repeatedly.

PBA was further used in the shake flask ABE fermentation processes, butanol concentration in the fermentation broth were successfully reduced such that the inhibition *Clostridium Acetobutylicum* was delayed. The butanol concentration obtained in the extractant reached 93.68 g/L, and total butanol yield could be 15% more than the extractant -free process.

目錄

摘要.....	I
Abstract.....	II
目錄.....	III
表目錄.....	VIII
圖目錄.....	X
壹、緒論.....	1
1.1 研究背景與動機.....	1
1.2 研究目的.....	2
貳、文獻回顧.....	3
2.1 生質能源介紹.....	3
2.2 丁醇介紹.....	5
2.3 微生物發酵程序產丁醇.....	7
2.4 丁醇分離方法.....	10
2.4.1 氣提(gas stripping).....	10
2.4.2 吸附(adsorption).....	11
2.4.3 透析蒸發(pervaporation).....	13
2.4.4 液液萃取(liquid-liquid extraction).....	15

2.5 不同分離技術對丁醇回收比較	17
2.5.1 耗能比較	17
2.5.2 近年成果比較	18
2.6 固相萃取法	20
參、實驗方法	22
3.1 實驗藥品	22
3-2 實驗儀器	26
3.3 菌種保存	27
3.3.1 種子培養基配製(Seed medium, SM).....	27
3.3.2 發酵培養基配置(Fermentation medium, FM)	28
3.4 實驗架構	30
3.5 實驗方法	31
3.5.1 不同高分子材料對丁醇水溶液萃取能力測試	31
3.5.1.1 基質探討	31
3.5.1.2 聚合材料選擇探討	31
3.5.1.3 丙烯酸添加量探討	32
3.5.1.4 共聚物於純丁醇與純水系統萃取探討	33
3.5.2 丙烯酸丁酯與丙烯酸共聚物動態萃取實驗	33
3.5.2.1 丁醇水溶液系統	33

3.5.2.2 ABE 水溶液系統.....	34
3.5.2.3 建立萃取平衡數學模式	34
3.5.3 高分子萃取劑脫附實驗	35
3.5.4 高分子萃取劑性質測試	35
3.5.4.1 SEM 測試	35
3.5.4.2 TGA 測試	36
3.5.4.3 FT-IR 測試.....	36
3.5.5 ABE 發酵搖瓶實驗.....	36
3.5.5.1 葡萄糖添加量探討	36
3.5.5.2 萃取劑添加時間探討	37
3.5.6 ABE 發酵萃取-脫附實驗	37
3.5.6.1 ABE 發酵添加 PBA 動態萃取實驗.....	37
3.5.6.2 ABE 發酵添加 PBA 動態萃取-脫附產量探討 ..	38
3.5.7 BA-co-AA 共聚物改善研究	38
3.6 分析方法	40
3.6.1 GC 分析方法	40
3.6.2 Biomass 分析法.....	40
肆、結果與討論	41
4.1 不同高分子材料在模擬丁醇溶液萃取測試結果	41

4.1.1	高分子基質選擇探討	41
4.1.2	聚合材料選擇探討	43
4.1.3	丙烯酸添加比例探討	45
4.1.4	共聚物於純丁醇與純水系統萃取探討	47
4.2	高分子萃取劑動態萃取實驗	48
4.2.1	丁醇水溶液	48
4.2.2	ABE 水溶液動態萃取實驗	51
4.2.3	建立萃取平衡數學模式	57
4.3	高分子萃取劑脫附實驗	60
4.3.1	PBA 均聚物在丁醇水溶液中萃取-脫附實驗	61
4.3.2	BA-co-AA 聚合物在丁醇水溶液中脫附實驗	68
4.4	丙烯酸丁酯(BA)與丙烯酸(AA)聚合物性質測試	74
4.4.1	熱場發射掃描式顯微鏡 (SEM)	74
4.4.2	熱重分析儀(TGA)	77
4.4.3	傅立葉轉換紅外線光譜儀(IR).....	84
4.5	ABE 發酵搖瓶實驗.....	86
4.5.1	碳源添加量探討	86
4.5.2	ABE 發酵添加萃取劑時間探討	95
4.6	ABE 發酵萃取-脫附實驗	102

4.6.1 ABE 發酵添加 PBA 動態萃取實驗.....	102
4.6.2 ABE 發酵添加 PBA 動態萃取-脫附產量探討	108
4.7 BA/AA 共聚物改善研究.....	114
伍、結論.....	119
陸、參考文獻	120
柒、附錄.....	126

表目錄

表 2-1 生質能源比較	4
表 2-2 butanol 之應用	6
表 2-3 gasoline、ethanol 和 butanol 的性質比較.....	6
表 2-4 不同吸附劑對丁醇之吸附能力	12
表 2-5 常見滲透蒸發膜比較.....	14
表 2-6 不同萃取劑的丁醇分配係數與選擇率比較.....	16
表 2-7 不同分離技術對丁醇回收之能源需求比較.....	17
表 2-8 由設計參數和回收效能估計的不同分離方法所需能量.....	17
表 3-1 RCM 培養基	28
表 3-2 FM 培養基	29
表 3-3 Mineral salt solution 組成.....	29
表 4-1 PBA 與 PBR 丁醇萃取實驗結果比較.....	42
表 4-2 BA 與不同材料進行聚合之丁醇萃取實驗結果比較	44
表 4-3 不同比例 BA-co-AA 丁醇溶液萃取結果比較	46
表 4-4 不同比例 BA-co-AA 在純丁醇/水系統萃取結果	47
表 4-5 不同比例 BA-co-AA 聚合物分配係數與選擇率結果	50
表 4-6 不同比例 BA-co-AA 聚合物在 ABE 水溶液的分配係數比較	55

表 4- 7 不同比例 BA-co-AA 聚合物在 ABE 水溶液選擇率比較.....	56
表 4- 8 高階動態萃取行為擬合結果.....	59
表 4- 9 PBA 萃取前後 TGA 結果.....	81
表 4- 10 BA-co-AA 共聚物萃取前後 TGA 結果.....	83
表 4- 11 PBA 動態萃取丁醇收量和估計產量結果.....	110
表 4- 12 PBA 動態萃取丙酮收量和估計產量結果.....	113
表 4- 13 ABE 培養基添加單體和起始劑培養結果.....	115
表 4- 14 ABE 發酵添加 AA 並調控不同 pH 值結果.....	115
表 4- 15 ABE 發酵加入不同比例共聚物結果.....	116
表 4- 16 PBA 與 BA/AA 共聚物於發酵液調控 pH 值發酵實驗.....	118
表 4- 17 PBA 與 BA : AA=9 : 1 丁醇產量結果.....	118

圖目錄

圖 2- 1 butanol 結構式	5
圖 2- 2 <i>C. acetobutylicum</i> .發酵途徑	9
圖 2- 3 氣提裝置圖	10
圖 2- 4 吸附裝置圖	11
圖 2- 5 滲透蒸發裝置圖	13
圖 4- 1 不同比例 BA-co-AA 聚合物丁醇濃度與時間變化結果	50
圖 4- 2 BA:AA=5:5 共聚物在丁醇模擬溶液和 ABE 溶液之丁醇萃取結果比較	53
圖 4- 3 不同比例 BA-co-AA 聚合物 ABE 溶液動態萃取丁醇結果...	54
圖 4- 4 不同比例 BA-co-AA 聚合物 ABE 溶液動態萃取丙酮結果...	54
圖 4- 5 不同比例 BA-co-AA 聚合物 ABE 溶液動態萃取乙醇結果...	55
圖 4- 6 實驗點與推導動態方程式之一階及高階擬合結果比較.....	58
圖 4- 7 高階系統擬合動態萃取結果	59
圖 4- 8 萃取實驗前後 PBA 外觀比較	64
圖 4- 9 PBA 萃取-脫附實驗水溶液丁醇剩餘濃度結果比較.....	64
圖 4- 10 PBA 萃取-脫附實驗丁醇萃取總重比較.....	65
圖 4- 11 PBA 萃取-脫附實驗丁醇萃取率比較.....	65
圖 4- 12 PBA 萃取-脫附實驗丁醇脫附濃度比較.....	66

圖 4- 13 PBA 萃取-脫附實驗丁醇脫附總重比較.....	66
圖 4- 14 PBA 萃取-脫附實驗丁醇脫附率比較.....	67
圖 4- 15 PBA 萃取-脫附實驗丁醇總收率比較.....	67
圖 4- 16 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗水溶液丁醇剩餘濃度結果比較	70
圖 4- 17 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗萃取丁醇總重比較.....	70
圖 4- 18 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗萃取率比較.....	71
圖 4- 19 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗脫附丁醇濃度比較.....	71
圖 4- 20 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗脫附丁醇總重比較.....	72
圖 4- 21 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗脫附率比較.....	72
圖 4- 22 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗總收率比較.....	73
圖 4- 23 不同 BA-co-AA 比例 SEM 圖	75
圖 4- 24 PBA 和 BA : AA=7 : 3 萃取後 SEM 比較	76
圖 4- 25 PBA TGA 分析圖	78
圖 4- 26 PAA TGA 分析圖.....	78
圖 4- 27 不同比例 BA-co-AA 重量損失圖	79
圖 4- 28 不同比例 BA-co-AA 重量損失對溫度一次微分圖	79
圖 4- 29 PBA 萃取實驗前後重量損失圖	80
圖 4- 30 PBA 萃取實驗前後重量損失對溫度一次微分圖	81
圖 4- 31 BA-co-AA 共聚物萃取實驗前後重量損失圖	82

圖 4- 32 BA-co-AA 共聚物實驗前後重量損失對溫度一次微分圖	83
圖 4- 33 PBA 萃取實驗進行前後 IR 比較圖	85
圖 4- 34 BA-co-AA 共聚物萃取實驗進行前後 IR 比較圖	85
圖 4- 35 不同葡萄糖濃度 ABE 搖瓶實驗發酵情形(80 g/L).....	88
圖 4- 36 不同葡萄糖濃度 ABE 搖瓶實驗產物生產情形(80 g/L)	88
圖 4- 37 不同葡萄糖濃度 ABE 搖瓶實驗發酵情形(100 g/L).....	90
圖 4- 38 不同葡萄糖濃度 ABE 搖瓶實驗產物生產情形(100 g/L)	90
圖 4- 39 不同葡萄糖濃度對 ABE 發酵的生產情形影響.....	92
圖 4- 40 不同葡萄糖濃度丁酸和丁醇生產情形比較.....	93
圖 4- 41 不同葡萄糖濃度乙酸、乙醇和丙酮生產情形比較.....	94
圖 4- 42 萃取劑 PBA 添加時間對 ABE 發酵影響	97
圖 4- 43 萃取劑 PBA 添加時間對丁酸和丁醇生產影響.....	97
圖 4- 44 萃取劑 PBA 添加時間對乙酸、乙醇和丙酮生產影響	98
圖 4- 45 萃取劑 BA : AA=7 : 3 添加時間對 ABE 發酵影響	99
圖 4- 46 萃取劑 BA : AA=7 : 3 添加前後葡萄糖結果比較	99
圖 4- 47 萃取劑 BA : AA=7 : 3 添加時間對丁酸和丁醇生產影響 ..	100
圖 4- 48 萃取劑 BA : AA=7 : 3 添加時間對乙酸、乙醇和丙酮生產影 響	101
圖 4- 49 PBA 動態萃取之 glucose 結果	105

圖 4- 50 PBA 動態萃取之 biomass 結果	105
圖 4- 51 PBA 動態萃取之 SEM 結果	106
圖 4- 52 PBA 動態萃取之 pH 結果	106
圖 4- 53 PBA 動態萃取之 ABE 生產結果	107
圖 4- 54 PBA 動態萃取之丁醇脫附濃度結果	109
圖 4- 55 PBA 動態萃取之丁醇產量結果	109
圖 4- 56 PBA 動態萃取丙酮脫附濃度結果	112
圖 4- 57 PBA 動態萃取丙酮之產量結果	112

壹、緒論

1.1 研究背景與動機

能源是文明活動的原動力，人類的發展與非再生能源有極密切的關聯，非再生能源包括石油、煤炭、天然氣等。二次世界大戰以來，人類對能源的依賴隨著工業化的時代而日益加深，但急遽膨脹的人口數量使得能源快速消耗，能源蘊藏量日益枯竭；所以，解決能源問題除了開源節流外，研發新能源已經是勢在必行；而生質能正是目前眾所矚目的新能源，其是以有機物如農作物殘渣、動物排泄物、製糖副產物、工業廢水等，經由自然或人為化學處理成液體、氣體、固體燃料儲存使用。

生質丁醇 (butanol) 為其中開發的主流之一，因為丁醇的碳數是乙醇 (ethanol) 的兩倍，可比乙醇多產生 25% 的能量；此外，丁醇的碳鏈較長，極性較低，性質比乙醇更接近汽油，而且已有直接以丁醇為燃料應用於車子運轉的案例，且不需更換車輛的引擎系統。

ABE 發酵為目前最為人知以發酵產丁醇的方法，它是利用菌株 *Clostridium acetobutylicum* 產生丙酮(acetone)、丁醇(butanol)、乙醇(ethanol)，主要產物為丁醇，比例大約是 A : B : E = 3 : 6 : 1；但當

丁醇濃度超過 4-6 g/L 就會開始影響菌株，影響發酵程序，導致丁醇產率偏低，濃度過高會抑制菌株生長。

1.2 研究目的

由於發酵槽內過高的丁醇濃度會抑制發酵進行，進而造成丁醇的產率偏低，因此本研究將利用壓克力系單體以總體聚合做為軟質固態萃取劑，希望能在發酵槽中快速且大量的萃取丁醇，降低丁醇濃度，進而提高丁醇產率，並使發酵能持續進行。

貳、文獻回顧

2.1 生質能源介紹

由於近年石油價格動盪不安，加上石化產業造成的環境問題，包含全球暖化、溫室效應等等，使得能源問題日趨嚴重並且成為國際化的議題，因此，在 1997 年簽訂京都議定書規定各國的碳排量，希望能有效減緩溫室效應，因此以可永續生產的生質能源替代石化能源降低污染成為全球熱門議題。

早期的生質能源是指將都市垃圾、工業廢水、製糖副產物、牲畜排泄物、林業廢棄木屑與農作物殘渣等有機物，藉由自然或人為化學處理成液體、氣體或固體燃料，這種能源就是生質能源；而根據原料不同，可將生質能源分為四大類（表 2-1）[1]。

表 2-1 生質能源比較

	第一代	第二代	第三代	第四代
原料	農作物中的澱粉成分，以及樹、草中的纖維素	稻桿、麥桿、甘蔗渣等農業廢棄物的木質纖維素	微藻、巨藻等低階的單細胞群體植物	基因重組的細菌
處理方法	水解、發酵處理	醱類發酵	油脂萃取、水解	捕捉二氧化碳
產生能量	生質乙醇、生質丁醇、生質柴油、甘油	生質乙醇、生質丁醇、生質柴油	生質柴油、酒精、甲烷、氫氣、合成氣	仍屬研究階段
量產	已有量產	纖維素前處理成本太高、尚未量產	藻類培養成本太高、尚未量產	仍屬研究階段

生質能還具有多項優點，如提供低硫燃料，可降低空氣汙染；使用廢棄物、家畜糞便生產能量，可減輕廢棄物處理的負擔，減少環境公害；利用農村附近的生物資源來製造燃料，既可減少原料的運輸費用，殘渣又可充當農田肥料；工業廢料與城市垃圾轉換成熱能或電力，可維護環境品質，同時減少堆置掩埋所需的土地；與原有的礦物燃料相比更具有高燃點、高含氧、潤滑性佳與燃燒性能佳之特質；生物可降解性亦對土壤及水的汙染傷害低[1]；由此可見，生質能源對於環境保護以及能源替代的效果極佳，是相當具有潛力的新能源。

2.2 丁醇介紹

丁醇 (*n*-butanol)，學名為 *n*-butyl alcohol，分子式為 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ，分子量為 74.12 g/mol，為透明無色液體，具臭味，可溶於醇、醚及其他有機溶劑之中，且微溶於水，是重要的化工原料；分子結構式如圖 2-1 所示。

丁醇可做為印刷油劑和有機染劑的溶劑，可以溶解油類、樹脂、臘質等；另外也用於生產鄰苯二甲酸二丁酯 (DBP)、鄰苯二甲酸苯基丁酯 (BBP) 等增塑劑，此外也可製造醋酸丁酯、丙烯酸丁酯等化學品；在塗料、有機合成和塑膠工業等都有廣泛的應用(表 2-2)[2]。

丁醇的碳數是同屬醇類燃料乙醇的兩倍，可比乙醇多產生 25% 的能量；且丁醇與汽油的混和比高，碳鏈較長，極性較低，無需對車輛改造，即可使用濃度幾乎 100% 的丁醇，目前已有直接以丁醇為燃料應用於車子運轉的案例；此外，相較於乙醇，丁醇還具有能源含量高、揮發性低、對水的溶解度和吸收度低，可直接使用現有燃料供應管運輸等，使丁醇被歸為優於乙醇的替代能源(表 2-3)[3]。



圖 2-1 butanol 結構式

表 2- 2 butanol 之應用

Applications	Used/Methods
solvents	for paints, varnishes, resins, gums dyes, camphor, fats, waxes, rubbers and alkaloids
plasticizers	to improve how a plastic material processes
coatings	as a solvent for a variety of applications, such as curable lacquers and cross-linked baking finishes
chemosynthesis	for producing many other chemicals and plastics, including safety glass, hydraulic fluids and detergent formulations
textiles	as a swelling agent and manufacturing garments from coated fabric
cosmetics	for eye makeup, foundations, lipsticks, nail care products, personal hygiene products and shaving product
medicines	drugs and antibiotics, hormones, and vitamins
fuels	gasoline (as an additive) and brake fluid (formulation component)
others	flotation agents, cleaners, and floor polishes

表 2- 3 gasoline、ethanol 和 butanol 的性質比較[4]

Properties	gasoline	ethanol	butanol
Energy density (MJ/L)	2	19.6	29.2
Energy content (Btu/gal)	125000	84,000	105,000
Energy density (MJ/L)	2	19.6	29.2
Boiling point (°C)	<200	78	117.7
Solubility (ml/100 ml H ₂ O)	<0.1	∞	9.1
Air-fuel ratio	14.6	9.0	11.2
Mileage (mpg)		17.6	25
Reid value (psi)	4.5	2.0	0.33
Corrosive	lower	higher	lower
Shipment	fuel pipelines	rail, barge or truck	fuel pipelines

2.3 微生物發酵程序產丁醇

採用微生物發酵方式生產丁醇，早在1861 年就由Pasteur 所發表，同時也被世界各地的學者們持續研究及探討。因丁醇具有相當廣泛之用途，可做為化學合成中間物、溶劑、萃取劑和增塑劑等，更有其他企業將之工業化生產[1]；1930 年代Weizmann 於Manchester 大學發展出了可量化生產丁醇的發酵製程[5]。但在石油化工合成技術迅速發展的1960年代，由於發酵生產所需原料成本高、程序複雜且產物回收不便，因此丁醇發酵程序則逐漸被較具經濟效應的化學合成法取代，造成以生物方式生產丁醇之研究停滯，僅剩南非、蘇聯等國因受到國際禁運而缺乏石油，所以仍持續進行發酵製程。而在1973 年能源危機發生，隨著石油資源日益緊缺造成原油價格竄升，使得世界各地紛紛投入利用可再生資源來取代石油原料之研究，進一步促使以各種微生物發酵研究重新顯示出其優勢並再次興起。

一般而言，透過微生物發酵程序來生產丁醇的發酵製程又稱為 ABE 發酵，主要原因就在於其代謝產物包含丙酮(Acetone)、丁醇(Butanol)以及乙醇(Ethanol)；若以厭氧菌*Clostridium* 為生產菌種，其標準的ABE 產量比例約為3：6：1 [6]。

丁醇反應代謝路徑如圖2-2所示，主要依其生成之產物不同而分為兩階段；首先，於發酵前期*Clostridium acetobutylicum* 利用glucose

經由 glycolysis 路徑產生 pyruvate，並進一步生成大量的有機酸 (acidogenic phase) 包括 acetate, butyrate, lactate 等，這產酸過程同時會釋放出 CO_2 和 H_2 ，由於大量的酸性物質生成進而導致此階段的發酵液 pH 值有迅速下降之趨勢。

在第二階段溶劑生產期 (solventogenesis) 的開始涉及碳代謝由產酸途徑向產溶劑途徑的轉變，這種轉變機制目前尚未研究透徹；早期的研究認為，這種轉變和 pH 值的降低以及酸的積累是密不可分的；在產酸期產生大量的有機酸，不利於細胞生長，所以產溶劑期的酸利用被認為是一種減毒作用；當有機酸的酸含量超過一定值，尤其是在 butyric acid 的濃度大於 2 g/L 且 pH 值下降至低於 5 時，便開始正式進入發酵後期的溶劑生產期 (solventogenic stage)，此時期的主要代謝路徑是先藉由 acetoacetyl-CoA 轉變成 acetone 之反應途徑，促使前發酵產物 acetic acid 與 butyric acid 還原成 acetyl-CoA 及 butyryl-CoA，再進一步利用 butyraldehyde dehydrogenase (BYDH) 和 丁醇 dehydrogenase (BDH) 之催化，讓中間產物 butyryl-CoA 還原成主產物—丁醇[6]。

但 ABE 發酵會因為丁醇濃度過高抑制厭氧菌的成長，在丁醇濃度 4-6 g/L 就會開始影響菌株並抑制生長，20 g/L 會對發酵造成顯著影響，達到 60 g/L 將使成長中止[7]，導致 ABE 產率不高；因此如何將丁醇從

發酵程序中快速分離，是目前相當受到重視的議題。

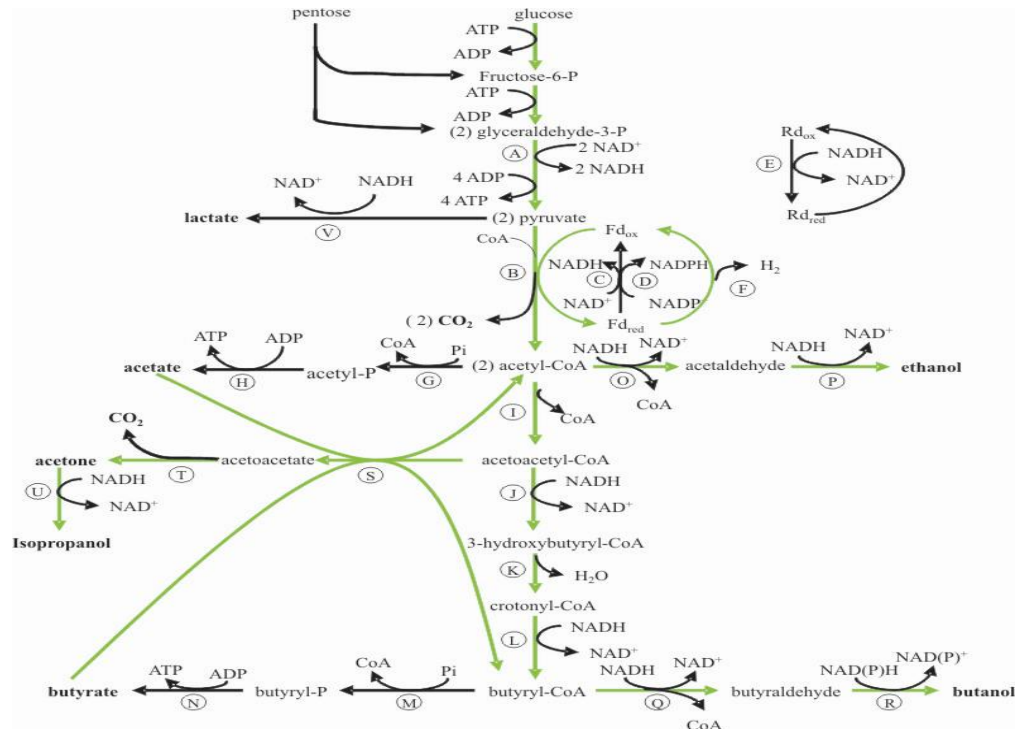


圖 2- 2 *C. acetobutylicum*. 發酵途徑[5]

Enzymes are indicated by letters as follows:

- (A)glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase (B)pyruvate-ferredoxin oxidoreductase (C)NADH-ferredoxin oxidoreductase (D)NADPH-ferredoxin oxidoreductase (E)NADH rubredoxinoxidoreductase; (F)hydrogenase (G)phosphate acetyltransferase (phosphotransacetylase) (H)acetatekinase; (I)thiolase (acetyl-CoA acetyltransferase); (J)3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase (K)crotonase (L) butyryl-CoA dehydrogenase (M)phosphate butyltransferase (phosphotransbutyrylase) (N) butyrate kinase (O)acetaldehyde dehydrogenase (P)ethanol dehydrogenase (Q)butyraldehydedehydrogenase (R)butanol dehydrogenase (S)acetoacetyl-CoA:acetate/butyrate:CoA transferase (T)acetoacetate decarboxylase; (U)phosphoglucomutase (V)ADP-glucose pyrophosphorylase (W)granulose (glycogen) synthase (X)granulose phosphorylase.

2.4 丁醇分離方法

近幾年來許多研究都著重在醇類發酵產品回收步驟的整合，期望能以低耗能的方法，取代傳統較耗能的蒸餾法，將醇類產品分離，期望能開發低成本的酒精產品；方法包含有氣提(gas stripping)、吸附(adsorption)、滲透蒸發(pervaporation)和液-液相萃取(liquid-liquid extraction)[7,9]。

2.4.1 氣提(gas stripping)

氣提是利用丁醇的高揮發性，以氮氣(或 CO_2)沖提發酵槽，將發酵液中的液態丁醇轉成氣態丁醇後，並經由冷凝器壓縮收集，當溶液被濃縮後，氣體重新回收進入發酵槽中獲取更多溶劑[10]，反應裝置如圖2-3。

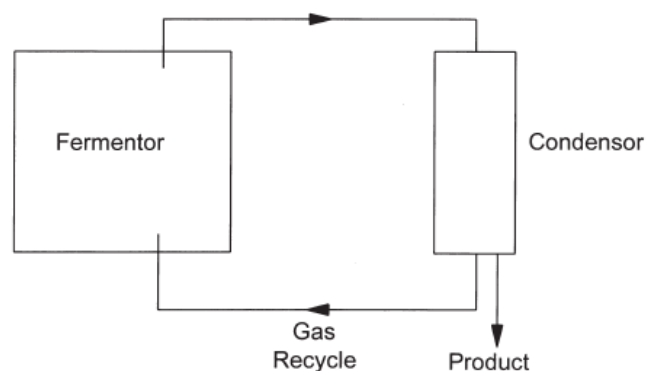


圖 2-3 氣提裝置圖

2.4.2 吸附(adsorption)

將固體置入於特定液體溶液或是混合氣體當中，其固體重量逐漸增加，同時溶液或是混合氣體當中的特定成分逐漸降低時，此時可以宣稱液體或氣體中的該成分被固體吸附(adsorb)；該固體稱為吸附劑(adsorbent)，而其液體或是氣體中的某成分稱之為吸附質(adsorbate)。

吸附現象是來自於吸附質與吸附劑之間的分散力不同，造成彼此間電子的快速移動進而產生偶極矩(dipole moment)；吸附的機制會因吸附質與吸附劑間之作用力的不同而分為兩種：物理吸附以及或學吸附。

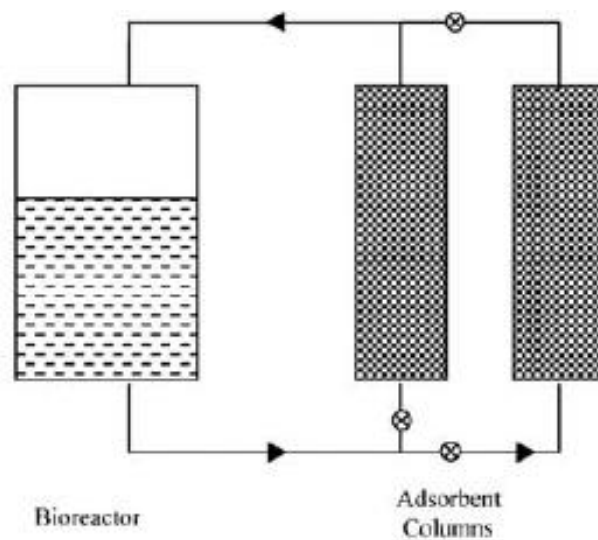


圖 2-4 吸附裝置圖[7]

表 2-4 不同吸附劑對丁醇之吸附能力[7]

Adsorbent	Component spresent in feed	Butanol in feed solution (g/L)	Butanol adsorption capacity(mg /g)
Silicalite	BE [*]	21.5	97
Activated Charcoal (granular)	Butanol	5.0–30.0	130
Bone Charcoal	Butanol	5.0–30.0	206
Silicalite	ABEHaHb ^{**}	10	48
Activated Carbon	Butanol	15	252
Resins(XAD-4)	Butanol	14.4	100
Resins(XAD-2)	Butanol	16.5	78
Resins(XAD-8)	Butanol	15.5	66
Amberlite (XAD-7)	Butanol	20	69
Amberlite(XAD-4)	Butanol	20	83
Bonopore	Butanol	20	74
Bonopore – nitrated	Butanol	20	55
Polyvinylpyridine	Butanol	14.9	68

^{*}butanol ethanol mixture

^{**}acetone, butanol, ethanol, acetic acid and butyric acid mixture

2.4.3 透析蒸發(pervaporation)

滲透蒸發(pervaporation)是近幾年來常被學者研究的薄膜分離程序之一，結合的滲透(permeation)及蒸發(vaporation)兩種不同分離程序。其混合物進料是以液體形式與膜材接觸，下游利用抽真空降壓的方式提供驅動力，使進料透過膜材，並在下游以氣體形式離開薄膜，利用混合物在膜材內擴散及吸附性的差異來達到成分選擇的目的。

滲透蒸發的質傳機制研究中，許多學者主要都引用吸收擴散機制[11]，其基本理論為透過物分為下列三大步驟完成質傳機制：第一部分為液體進料吸收進入薄膜，第二部分為透過物吸附至薄膜內擴散，第三部分為透過物在下游以氣體的形式脫附離開膜材。

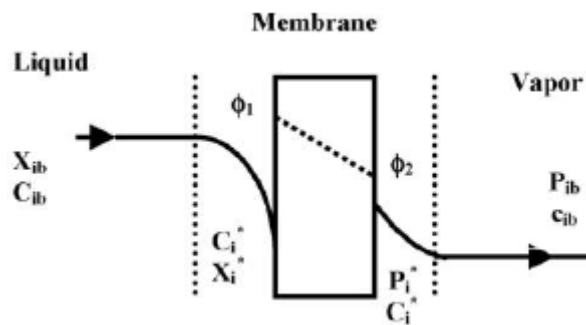


圖 2-5 滲透蒸發裝置圖[7]

滲透蒸發膜材效能有兩個重要的指標，一通量(flux)，二為選擇比(separation factor)。通量越大表示膜材在單位時間內所收集到的透過物越多，而選擇比越大表示單位時間內收集到的透過物中含欲選擇

的成分越多。因此，研究如何提高膜材之通量和選擇比是研究滲透蒸發程序中最重要之課題。

(1) 通量(flux):

$$J = \frac{W}{A \times t}$$

其中J為通量(g/m²/h)，W 為物質透過薄膜之重量(g)，A 為薄膜面積(m²)，t 為操作時間(h)。

(2) 選擇比(separation factor):

$$\alpha = \frac{Y_i/(1 - Y_i)}{X_i/(1 - X_i)}$$

其中 α 為選擇比， X_i 與 Y_i 分別為欲選擇物在進料端與滲透端之重量分率[7]。

表 2-5 常見滲透蒸發膜比較[12-16]

Membrane type	Feed solution	Butanol flux (g/m ² /h)	Separation factor
PDMS (PERVAP-1060)	ABE solution	18	18.9
PDMS (PERVAP-1070)	ABE solution	16	21.7
Silicalite filled PDMS	ABE solution	414(48) *	49(97.3)
Liquid membrane	ABE solution	54(31) *	245(197)
PEBA	ABE solution	6.6	12.4
PDMS/ceramic	ABE solution	181(163) *	18.4(16.2)

*括號內表示在 ABE 發酵槽內的通量和選擇率

2.4.4 液液萃取(liquid-liquid extraction)

液-液萃取原理是將非水溶性有機萃取劑與含有待分離液體的溶液混合，待分離液體在萃取劑中的溶解度較原溶液大，因此待分離液體將溶在有機萃取劑中形成分相，再進一步藉由蒸餾分離。

評估萃取劑的好壞是根據分配系數(*distribution coefficient; D*)與選擇率(*selectivity; S*)來界定。

$$\text{distribution coefficient} = \frac{\text{mass fraction in organic phase}}{\text{mass fraction in aqueous phase}}$$

$$\text{selectivity} = \frac{\text{distribution coefficient for butanol}}{\text{distribution coefficient for water}}$$

好的萃取劑需具備有下列優點[17]：

- (1) 高容量；本實驗指的即是高丁醇分配系數
- (2) 高選擇率
- (3) 在發酵時，對菌體無毒性
- (4) 低黏度
- (5) 不同於水的密度
- (6) 低成本

表 2-6 為不同萃取劑丁醇分配系數和選擇率比較，醇類(alcohols)有最高分配系數，但多數具有毒性；烷類(alkanes)有最佳選擇率，但

分配係數大多偏低；而油醇(oleyl alcohol)為目前最常應用在 ABE 發酵中的液-液萃取劑，它無毒性，且丁醇分配係數可達到 3.8，選擇率可以達到 330，缺點是沸點(360°C)太高，增加蒸餾分離的耗能，且丙酮和乙醇的分配係數分別只有 0.34 和 0.28[16]。

表 2-6 不同萃取劑的丁醇分配係數與選擇率比較[17]

extractant	toxicity	D	S
Hexane	non-toxic	0.5	2700
Heptane	non-toxic	0.5	3300
Octane	non-toxic	0.3	4100
Decane	non-toxic	0.3	4300
Gasoline	non-toxic	0.3	ND*
Hexanol	toxic	12	160
Heptanol	toxic	11	180
Octanol	toxic	10	130
Decanol	toxic	8	200
Dodecanol	toxic	6	140
Castor oil	non-toxic	2.6	270
Soy oil	non-toxic	0.7	440
Corn oil	non-toxic	0.7	440
Butyl acetate	toxic	3	ND*
Hexyl acetate	non-toxic	3.6	5
Oleyl alcohol	non-toxic	3.8	330

*ND-not determined

2.5 不同分離技術對丁醇回收比較

2.5.1 耗能比較

選擇節能的分離技術應用在丁醇回收，對於未來在工業上應用具有相當大的競爭力。因此評估對不同分離技術對丁醇回收的能源需求，這些技術包括：蒸餾(steam stripping distillation)、氣提(gas stripping)、吸附(adsorption)、滲透蒸發(pervaporation)和液-液相萃取(liquid-liquid extraction)。

表 2-7 不同分離技術對丁醇回收之能源需求比較[9]

方法	所需能量 (Kcal/Kg)
steam stripping distillation	5789
gas stripping	5220
pervaporation	3295
liquid-liquid extraction	2119
adsorption	1948

表 2-8 由設計參數和回收效能估計的不同分離方法所需能量[7]

方法	估計所需能量(mJ/Kg)
stripping	21
adsorption	33
extraction and perstraction	14
pervaporation	9

表 2-7、表 2-8 是分別根據實驗以及設計參數估算獲得丁醇所需能量結果，從表中可發現液液萃取與其他方法相比，都是屬於耗能較

低者，但液態萃取劑可能會溶於發酵液中，影響菌體活性，此外，有機溶劑還可能造成環境汙染；為了改善液液萃取的缺點，本研究改採固相萃取法，將壓克力系高分子以聚合的方式，製成固態萃取劑在發酵液中萃取丁醇，降低丁醇濃度使 ABE 發酵能夠持續進行。

2.5.2 近年成果比較

近年中東戰爭頻繁，導致石油價格不穩，而可替代能源發展並不如預期順利，因此 ABE 發酵產丁醇更受到重視，不僅由於其主產物丁醇可直接替換汽油應用在車上，且 ABE 發酵的醱類可直接由農業廢棄物或廢水中提供，沒有原料匱乏的問題；但 ABE 發酵最主要的缺點就是丁醇會抑制菌體生長，導致生產中止，所以近幾年除了嘗試更改發酵條件藉此提高生產率外，就是直接將丁醇從發酵液中移除最廣受討論，根據前面所提出常用於移除丁醇的方法加以改善，在吸附方面，2010 年 Shrivanan 提出用高矽氧比(Si/Al ratio)的 Zeolite-5 做為吸附劑，在 1 wt% 的丁醇溶液中，可成功將丁醇將降至 0.04 wt%，且脫附濃度可達 84.3 wt% [18]。

在滲透蒸發方面研究成果相當多，2010 年 Li 使用 PMDS/PE/Brass support composite membrane 做三層薄膜，利用多孔的 PE，並借由其疏水性增加丁醇通量，在 2 wt% 丁醇溶液中，可得丁醇通量 132 g/hm^2 ，

選擇比則為 32 [19];2011 年 Liu 以 PDMS/ceramic 做為滲透蒸發薄膜，在丁醇模擬溶液中丁醇通量可達 0.67 Kg/hm^2 ，選擇比則為 16.7 [20]；2011 年 Liu 則以 silicalite/PDMS 的奈米複合膜，在 0.2-0.3 wt% 丁醇溶液，丁醇通量可達 $5-11.2 \text{ kg/hm}^2$ ，選擇比為 25-41.6 [21];2011 年 Yen、Pan 在 PEBA 加入 10% 奈米碳管(CNTs)，丁醇通量可達 52 g/hm^2 ，此薄膜也成功應用在 ABE 發酵中，使用 PEBA+10% CNTs 滲透蒸發膜，可比純 PEBA 膜多移除 20% 丁醇[22、23]。

在液-液萃取部份，2010 年 Ha 將離子液體做為萃取劑，其中 $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ 的選擇率可達 132，在 30°C 萃取率達 74% [4]；2011 年 K. Kremer 以三甲苯(mesitylene)做為萃取劑，其在水中溶解度只有 7.8 E-6 ，使選擇率可達 1650 [24]；2012 年 Dhamole 使用介面活性劑 L62 作為萃取劑，利用霧點萃取法(cloud point extraction；CPT)在發酵中分離丁醇，可使發酵產量提高 225%，不過由於介面活性劑的選擇還會受到疏水-親水平衡值(hydrophilic-lipophile balance；HLP)對發酵的影響，目前還未廣泛使用[25]。

2.6 固相萃取法

固相萃取法在 1970 年代就被廣泛的使用，並在 1978 年正式商業化應用，而近年來發展成為一種樣品預處理技術，透過固相萃取除去樣品不純物或者提高樣品純度，其具備有機溶劑使用量少、便捷、安全、高效等特點，目前在血液濃度測試以及檢測作物農藥含量皆有應用[26]。

固相萃取法是利用固相萃取劑對分離物的吸附力比溶解分離物的溶劑更佳，當待測溶液通過固態萃取劑，將分離物濃縮留在萃取劑內，而其於液體則通過萃取劑繼續流動；最常見的方法是使用拋棄式固相萃取管柱吸附溶液中待測分離物而通過不純物，吸附後再以少量適當溶劑沖提所吸附之待測物，藉以達到濃縮及純化目的之樣品製備方法，所得溶液再經適當儀器分析濃度。

利用固相萃取法萃取，其干擾物較液相-液相萃取法少，並且可提高分析物濃度及回收率，而液液萃取法則因需濃縮萃取液容易造成分析物之流失，另外液液萃取法需使用大量有機溶液，易造成環境上的污染，固相萃取法通常只需要數毫升左右的溶劑[26]；固相萃取法具有純化、濃縮、操作方便、溶劑使用少、可快速處理樣品、回收率高、裝置簡單等優點，因此利用固相萃取法於微量物質之萃取目前已相當普遍化；固相萃取法(solid-phase extraction；SPE)和液相萃取法

(Liquid-Liquid extraction ; LLE)都是相當常見的樣品預處理方式，但其中 SPE 可減少較多萃取時間，另外在自動處理少量樣品(50–100 μ l)，也消耗較少溶劑[27]。

本研究將選用疏水性強，且與丁醇相容性佳的丙烯酸丁酯單體 (butyl acrylate)，並以起始劑過氧化二苯甲醯(benzoyl peroxide ; BPO)以及交聯劑二乙烯苯(Divinylbenzene ; DVB)進行總體聚合成 PBA，以及在 BA 添加親水性佳的丙烯酸(acrylic acid ; AA)單體進行共聚，以此兩種聚合物做為萃取劑，並以固態萃取法嘗試直接在溶液中萃取丁醇降低濃度；實驗將分為在模擬丁醇溶液以及實際應用在 ABE 發酵中進行萃取來分別探討。

參、實驗方法

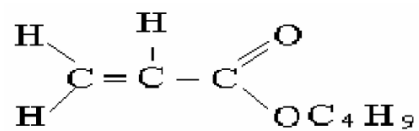
3.1 實驗藥品

1. 丙烯酸丁酯(Butyl acrylate ; BA) , stabilized 99%

來源：Acros , HPLC 級

分子量：128.17

結構式：

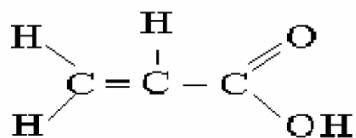


2. 丙烯酸(Acrylic acid ; AA) , stabilized 99%

來源：Acros , HPLC 級

分子量:72

結構式：

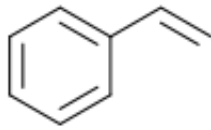


3. 苯乙烯(styrene)

來源：Acros , HPLC 級

分子量：104.15

結構式：

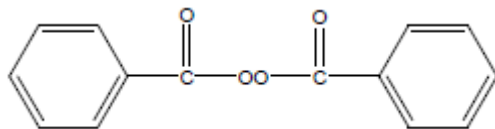


4. 過氧化二苯甲醯(Benzoyl peroxide ; BPO) , 75%with water

來源：Lancaster

分子量：242.23

結構式：



5. 二乙烯苯(Divinylbenzene ; DVB)

來源：東京化成 stabilized with TCB

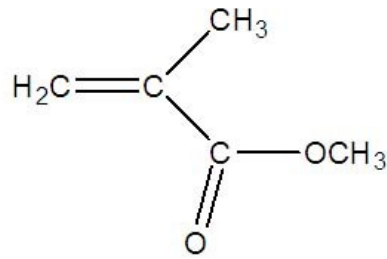
分子量：130.19

6. 甲基丙烯酸甲酯(methyl methacrylate ; MMA) stabilized 99%

來源:Acros

分子量:100.1

結構式:



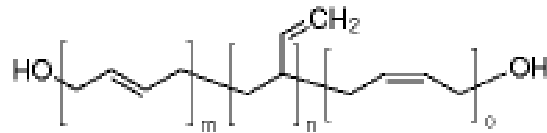
8. 聚丁二烯末端羥基(Hydroxy terminated Poly butadiene ; PBR)

型號:60% trans1,4, 20% cis 1,4, 20% vinyl 1,2,

來源:Scientific Polymer Products

分子量:1200

結構式:



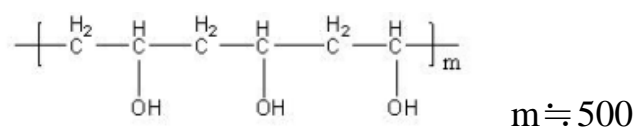
9. 聚乙 烯醇(poly vinyl alcohol ; PVA)

型號:NL-05

來源:長春化工

分子量:22000

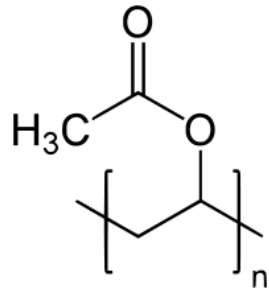
結構式:



10. 聚醋酸乙烯酯(polyvinyl acetate ; PVAc)

來源:第一化工

結構式:



3-2 實驗儀器

1. 氣相層析儀(Gas Chromatography ; GC)

廠牌：Thermo

型號：Focus GC

2. 熱重分析儀(Thermogravimetric Analyzer ; TGA)

廠牌：TA Instruments

型號：Q50

3. 熱場發射掃描式顯微鏡(Thermal type Field Emission Scanning
Electron Microscope ; TFSEM)

廠牌：JEOL

型號：JSM7000F

4. 分光光度計(Spectrophotometer)

廠牌：Thermo

型號：GENESYS 10UV

3.3 菌種保存

將購自菌種中心的 *Clostridium acetobutylicum* BCRC 10639 (同等於 ATCC 824) 之冷凍乾燥管，接至 RCM(reinforced clostridial medium) 液態培養基活化，並放入含有厭氧產氣包之厭氧罐中，在 37 °C 恆溫培養箱內進行厭氧培養 72 hr。取 0.8 ml 菌液和 0.2 ml 甘油於微量離心管中均勻混合，通入含有 50 % CO₂ 和 50 % N₂ 之混合氣體後，放至 -20 °C 冰箱保存。

3.3.1 種子培養基配製(Seed medium, SM)

配製濃度為 38 g/L 的 RCM (reinforced clostridial medium；表 3-1) 液態培養基 50 ml，攪拌均勻且調至 pH 6.8 後，置入玻璃試管並用通氣栓將瓶口塞緊，再以紙杯覆蓋其上，放到滅菌釜中殺菌 20 min (操作壓力為 1.2 kg/cm²，溫度為 121 °C)。待培養基滅菌完取出，以 75 % 酒精噴灑殺菌後，放到無菌操作台中靜置冷卻；取保存於 -20 °C 的冷凍種菌進行 heat-shocked (70 °C，2 min)，將其倒至培養基並放入含有厭氧產氣包之厭氧罐中，送至恆溫培養箱以 37 °C 進行厭氧培養 30 小時。

表 3- 1 RCM 培養基

Compounds	Concentration(g/L)
Lab-lemco powder	10
Peptone	10
Soluble starch	1
Glucose	5
Cysteine · HCl	0.5
NaCl	5
CH ₃ COONa	3
Agar	0.5
Yeast extract	3

3.3.2 發酵培養基配置(Fermentation medium, FM)

依表3.2 藥品比例配置好所需的培養基，均勻攪拌且以1N HCl 調整pH 至4.8 後，各取25 ml 倒入玻璃試管中，用通氣栓將瓶口塞緊，再以紙杯覆蓋其上，放至滅菌釜中殺菌20分鐘，待培養基滅菌完取出，並以75 %酒精噴灑殺菌後，放到無菌操作台中靜置冷卻。

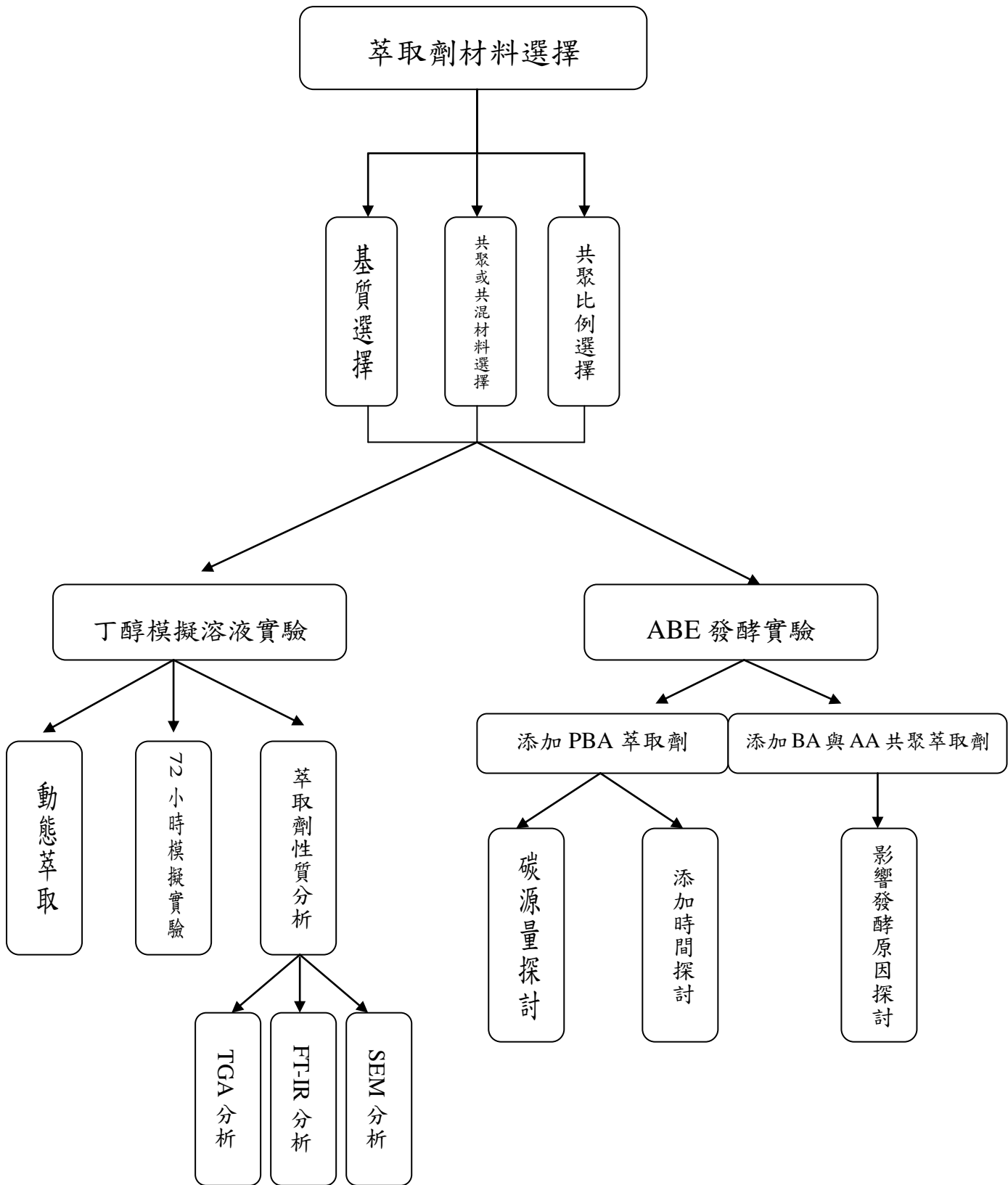
表 3- 2 FM 培養基

Compound	Concentration(g/L)
Tryptone	1
Yeast extract	5
Glucose	80
Biotin	0.01
p-aminobenzoic acid	0.01
Na ₂ SO ₄	0.18
K ₂ HPO ₄	0.175
Mineral salt solution	1 mL

表 3- 3 Mineral salt solution 組成

Compound	Concentration(g/L)
NaMoO ₄ · 2H ₂ O	0.24
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.24
CaCl ₂ · 2H ₂ O	1.5
FeCl ₃	16.2
CuSO ₄	0.159
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.516
MnSO ₄ · H ₂ O	1.7
MgSO ₄ · 7H ₂ O	24.6
H ₂ SO ₄ (6M)	28 mL

3.4 實驗架構



3.5 實驗方法

3.5.1 不同高分子材料對丁醇水溶液萃取能力測試

3.5.1.1 基質探討

1. 單體的純化：以減壓蒸餾法去除單體中的安定劑。
2. 起始劑：過氧化二苯甲醯(Benzoyl peroxide ; BPO)
交聯劑：二乙烯苯(Divinylbenzene ; DVB)
3. 將單體、起使劑和交聯劑震盪 30 分鐘，在溫度 85°C 下進行總體聚合 2.5 小時。
4. 根據文獻加入適當溶劑於聚合物中，將未交聯單體洗淨。
5. 放入水浴中，在 100°C 煮沸 6 小時，去除殘留的起始劑。
6. 在 100°C 真空烘箱中放置 24 小時，去除殘餘的溶劑，即可得高分子萃取劑。

3.5.1.2 聚合材料選擇探討

1. 將 BA 與欲添加入材料以 9：1 比例混和。
2. 加入起始劑過氧化二苯甲醯 1 phr，交聯劑二乙烯苯 2 phr。
3. 將單體、起使劑和交聯劑震盪 30 分鐘，在溫度 85°C 下進行總體

聚合 2.5 小時。

4. 根據文獻加入適當溶劑於聚合物中，將未交聯單體洗淨。
5. 放入水浴中，在 100°C 煮沸 6 小時，去除殘留的起始劑。
6. 在 100°C 真空烘箱中放置 24 小時，去除殘餘的溶劑，即可得高分子萃取劑。

3.5.1.3 丙烯酸添加量探討

1. 將 BA 與欲添加的丙烯酸(acrylic acid ; AA)以不同比例混和。
2. 加入起始劑過氧化二苯甲醯 1 phr，交聯劑二乙烯苯 2 phr。
3. 將單體、起使劑和交聯劑震盪 30 分鐘，在溫度 85°C 下進行總體聚合 2.5 小時。
4. 根據文獻加入溶劑乙酸乙酯(ethyl acetate ; EA)於聚合物中，將未交聯單體洗淨。
5. 放入水浴中，在 100°C 煮沸 6 小時，去除殘留的起始劑。
6. 在 100°C 真空烘箱中放置 24 小時，去除殘餘的溶劑，即可得高分子萃取劑。

以上實驗皆在丁醇濃度 20 g/L 下進行，萃取劑與丁醇水溶液比例為 1：2，將萃取劑與溶液放入 sample 瓶中，在恆溫水槽 37°C 下放置

一天，將水溶液以 GC 分析濃度，萃取劑則是擦乾秤重；最後根據濃度以及萃取劑前後重量差計算分配系數與選擇率。

分配系數與選擇率計算公式

$$\text{distribution coefficient} = \frac{\text{mass fraction in organic phase}}{\text{mass fraction in aqueous phase}}$$

$$\text{selectivity} = \frac{\text{distribution coefficient for butanol}}{\text{distribution coefficient for water}}$$

3.5.1.4 共聚物於純丁醇與純水系統萃取探討

1. 將不同比例 BA-co-AA 聚合物在純丁醇與純水系統進行萃取實驗
2. 高分子與溶劑重量比例改為 1：10，進行一天萃取。
3. 進行萃取前後重量比較。

3.5.2 丙烯酸丁酯與丙烯酸共聚物動態萃取實驗

3.5.2.1 丁醇水溶液系統

1. 配置濃度為 20g/L 的丁醇水溶液。
2. 將不同比例的 BA-co-AA 聚合物，以萃取劑與丁醇水溶液比為 1:2 進行萃取實驗，放置在 37°C 恆溫水槽。

3. 分別在不同時間(0、10、20、30、60、90、180、360、720、1440、2880、4320、7200、10040、14000 min)的丁醇溶液取樣，並以 GC 分析濃度。
4. 將表面擦乾的高分子以 TGA 燒至 150°C，觀察重量變化。
5. 根據濃度以及萃取劑前後重量變化計算分配係數與選擇率。

3.5.2.2 ABE 水溶液系統

1. 根據文獻配置丙酮：丁醇：乙醇=3：6：1 為比例的水溶液。
2. 將不同比例的 BA-co-AA 聚合物，以萃取劑與 ABE 水溶液比為 1:2 進行萃取實驗，放置在 37°C 恆溫水槽。
3. 分別在不同時間(0、10、20、30、60、90、180、360、720、1440、2880、4320、7200、10040、14000 min)的 ABE 溶液取樣，並以 GC 分析濃度。
4. 將高分子取出擦乾秤重。
5. 根據濃度以及萃取劑前後重量差計算分配係數與選擇率。

3.5.2.3 建立萃取平衡數學模式

1. 將動態萃取實驗結果配合萃取平衡公式，以 Sigma-plot 進行模擬。

2. 可得萃取平衡濃度、速率常數。

3.5.3 高分子萃取劑脫附實驗

1. 將萃取劑以與溶液 1:2 的比例分別放入丁醇水溶液 5、10、15、20 g/L，並在 37°C 恆溫水槽中放置三天後取出。
2. 取丁醇水溶液並以 GC 分析濃度，計算萃取率。

$$\text{萃取率(\%)} = \frac{\text{初始丁醇總重(g)} - \text{剩餘丁醇總重(g)}}{\text{初始丁醇總重(g)}}$$

3. 將萃取劑以針筒擠壓，擠出液秤重後以 GC 分析濃度。
4. 將萃取劑以真空幫浦在 150°C 下脫附 10 分鐘，冷凝液體以收集瓶收集，再以 GC 分析濃度，計算丁醇回收率。
5. 重複上面步驟 2 次，確認其脫附率。

$$\text{丁醇脫附率(\%)} = \frac{\text{脫附丁醇總重(g)}}{\text{丁醇萃取總重(g)}}$$

6. 根據加入丁醇總重，計算總收率

$$\text{丁醇總收率(\%)} = \frac{\text{真空液體丁醇總重(g)}}{\text{初始丁醇總重(g)}}$$

3.5.4 高分子萃取劑性質測試

3.5.4.1 SEM 測試

測試條件：將不同比例 BA-co-AA 聚合物放入真空烘箱，70°C 下 烘

一天，觀察其表面。

3.5.4.2 TGA 測試

測試條件：分別將萃取前與萃取後的不同比例 BA-co-AA 聚合物萃取劑，由室溫以升溫速度 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速度升至 600°C 。

3.5.4.3 FT-IR 測試

測試條件：分別將萃取前與萃取後的不同比例 BA-co-AA 聚合物進行 IR 掃描。

3.5.5 ABE 發酵搖瓶實驗

3.5.5.1 葡萄糖添加量探討

1. 將菌種置於 50 ml SM 培養基進行前培養，時間 30 小時。
2. 以 10 % 接菌量將 SM 接至 30 ml FM 培養基中，碳源為葡萄糖，濃度為 80 和 100 g/L。
3. 通入混和氣體(50 % CO_2 和 50 % N_2)形成厭氧環境，於 37°C 培養箱中培養 72 小時。
4. 分別在 0、12、24、36、48、60 小時進行發酵液取樣，並測其葡萄糖含量、pH 值、biomass 量以及丁醇生產濃度。

3.5.5.2 萃取劑添加時間探討

1. 前培養 50 ml SM 培養基，培養 30 小時。
2. 以 10 % 接菌量將 SM 接至 30 ml FM 培養基中，碳源為葡萄糖濃度 80 g/L。
3. 通入混和氣體(50 % CO₂和 50 % N₂)形成厭氧環境，分別在 0、12、24、36、48 小時添加萃取劑 PBA 和 BA-co-AA 聚合物，萃取劑與重量比為 1：2，發酵時間總共為 72 小時。
4. 發酵時間 72 小時後進行取樣，測其葡萄糖含量、pH 值、biomass 量以及丁醇生產濃度。

3.5.6 ABE 發酵萃取-脫附實驗

3.5.6.1 ABE 發酵添加 PBA 動態萃取實驗

1. 前培養 50 ml SM 培養基，培養 30 小時。
2. 以 10 % 接菌量將 SM 接至 30 ml FM 培養基中，碳源為葡萄糖濃度 100 g/L。
3. 萃取劑 PBA 分別在 0、24 小時添加進發酵液中，在 24、48、72 小時分別進行取樣，分析葡萄糖、biomass、pH 值，發酵液濃度，萃取劑與重量比為 1：2。

3.5.6.2 ABE 發酵添加 PBA 動態萃取-脫附產量探討

1. 將 0、24 小時添加 PBA，在發酵到達 24、48、72 小時後，將 PBA 取出，以針筒將表面發酵液擠出，在 150°C 油浴接真空幫浦進行脫附。
2. 脫附液體以 GC 測其濃度，並根據脫附重量算其收量，以模擬溶液脫附率估計其總產量。
3. 分別對丁醇、丙酮進行收量、產量比較。

3.5.7 BA-co-AA 共聚物改善研究

1. 單體與起始劑殘留影響
 - (1)將單體 BA 與 AA 以及起始劑 BPO 分別添加入培養基進行接菌培養三天
 - (2)單體添加量：0.3 mL 起始劑添加量：0.003 g
2. AA 單體過酸影響
 - (1)添加單體 AA 0.3 mL 至發酵液中，分別將 pH 值調製 2、3、4、5、6 進行接菌培養三天
3. BA-co-AA 共聚物過多影響
 - (1)將共聚物與發酵液添加比例降至 1：5 進行接菌培養三天
4. BA-co-AA 共聚物釋放 H⁺ 離子影響

- (1)將 BA-co-AA 比例 9：1 與 7：3 直接添加至培養基中
- (2)每三天進行一次 pH 值調控，將 pH 值調回 4.8，直到 pH 值不再變動進行接菌培養三天

3.6 分析方法

3.6.1 GC 分析方法

將溶液經離心機離心後所得澄清液取出，並以二次去離子水做適當稀釋，使用氣相層析儀 (Thermo model Focus GC series with FID detector) 並藉由毛細管柱SEG BP20(25 m × 0.22 mm, 0.25 μm) ，起始溫度120 °C ，維持3分鐘後以16 °C /min 之速率升溫至200 °C ，維持5 min；注射孔(injector)溫度200 °C；偵測器為火焰離子偵測器(FID detector) 溫度250 °C；運送氣體(carrier gas)為氮氣，氣體流量 25 ml/min。注射體積為 1 μl。

波峰面積和代謝產物濃度作圖，獲得檢量線：

丙酮 (acetone) 檢量線方程式： $\text{Concentration(g/l)}=\text{area}/913358$ (附錄 1-1)

乙醇 (ethanol) 檢量線方程式： $\text{Concentration(g/l)}=\text{area}/1080801$ (附錄 1-2)

丁醇 (butanol) 檢量線方程式： $\text{Concentration(g/l)}=\text{area}/1565899$ (附錄 1-3)

乙酸 (acetic acid) 檢量線方程式： $\text{Concentration(g/l)}=\text{area}/335517$ (附錄 1-4)

丁酸 (butyric acid) 檢量線方程式： $\text{Concentration(g/l)}=\text{area}/1022913$ (附錄 1-5)

3.6.2 Biomass 分析法

將發酵液以適當濃度稀釋後，利用分光光度計在波長620 nm 下測量其光學密度(Optical density, O.D.)。

肆、結果與討論

4.1 不同高分子材料在模擬丁醇溶液萃取測試結果

實驗主要目的為選定材料做為萃取劑，並以模擬丁醇溶液進行發酵實驗的前測試，本實驗的丁醇濃度配置為 20 g/L，由於文獻指出在 20 g/L 的環境下，丁醇對於菌株的抑制作用就會相當明顯[7]；此外，實驗皆在恆溫水槽 37°C 下進行一天的萃取，此溫度是 ABE 發酵進行最適溫度[6]，最後以 GC 分析水溶液丁醇濃度，高分子則擦乾秤重，測量重量變化，結合兩種結果計算分配係數與選擇率。

4.1.1 高分子基質選擇探討

一開始高分子單體的選擇為丙烯酸丁酯(butyl acrylate；BA)和羥基丁二烯(alcohol-terminated butadiene；BR)；BA 單體可溶於丁醇，與丁醇溶解度參數相近，因此選擇其做為萃取劑；BR 則是因為其是軟質橡膠，又有兩個-OH 官能基，希望能提高與丁醇的親和力；此外，曾嘗試苯乙烯(styrene)單體，其為良好吸附材料，但聚合後產物聚苯乙烯(poly styrene；PS)為一硬質材料，與目標開發的軟質材料有很大差距，因此不做考慮。

實驗結果如表 4-1 所示，丁醇剩餘百分比為萃取實驗進行一天後，

溶液剩餘丁醇濃度與初始丁醇濃度比例，由表可知 PBA 與 PBR 經過萃取實驗後，剩餘丁醇百分比分別為 59.5 % 與 58.3 %，即是萃取約 40 % 丁醇，而 PBA 與 PBR 的丁醇分配係數(distribution coefficient of butanol ; Db)分別是 1.31 和 1.42，水的分配係數(distribution coefficient of water ; Dw)為 0.068 和 0.049，顯示兩者具有良好的疏水性，而選擇率(selectivity ; S)為 19.26 和 28.96；但由於 PBR 在聚合過程中，在低量交聯劑和起始劑情況下，無法進行聚合，必須將量加到 10 phr 才能聚合，在兩者結果無太大差異情形下，將選擇以添加起始劑 BPO 1 phr 和交聯劑 dvb 2 phr 進行總體聚合之 PBA 進行實驗探討。

表 4- 1 PBA 與 PBR 丁醇萃取實驗結果比較*

聚合物	剩餘丁醇百分比(%)	Db	Dw	S
PBA	59.20	1.310	0.068	19.26
PBR	58.30	1.421	0.049	28.96

初始丁醇濃度：20 g/L 萃取劑與丁醇溶液重量比=1：2

* 萃取時間為 24 小時

4.1.2 聚合材料選擇探討

從前面實驗結果可得知，萃取經過一天後，PBA 能萃取丁醇量低，可能由於丁醇溶液只有 20 g/L，BA 與丁醇相容性佳效果並不明顯，為了增加 PBA 丁醇萃取能力，實驗將幾種材料與 BA 進行共聚，以此共聚物做為萃取劑，期望能提高丁醇分配係數及選擇率；而在此共聚實驗中，BA 與其他單體的比例將固定為 9：1 以進行比較。

實驗結果為表 4-2，首先嘗試在 BA 單體內加入聚乙烯醇 (Polyvinyl alcohol；PVA)，由於 PVA 為水溶性高分子，期望藉由此特性增加丁醇分配係數，實驗結果發現添加 10 wt% 的 PVA 水溶液中剩餘丁醇百分比沒有下降，且丁醇分配係數也沒有上升，推測原因為 PVA 為一直鏈高分子，將其溶於高溫水裡並直接與 BA 聚合結果可能不佳；另外嘗試在 BA 中加入聚醋酸乙酯 (polyvinyl acetate；PVAc)，但加入後水溶液剩餘丁醇百分比和分配係數一樣都沒有明顯變化。

另外在 BA 中添加 styrene，styrene 是吸附丁醇所用的吸附劑之一，是一種疏水性相當高的材料，希望藉由此兩種特性，提高丁醇分配係數並降低水分配係數，因而提升丁醇選擇率，但由實驗結果發現，加入 styrene 剩餘丁醇百分比有下降，因此丁醇分配係數上升至 1.572，但水分配係數卻上升，推測為 BA 在水中溶解度為 0.12wt% 低於 styrene 的 1 wt% [36]，BA 疏水性較佳，相比較下，選擇率則無明顯

改變。

接著添加丙烯酸(acrylic acid; AA)於 BA 單體, AA 單體溶於水, 且聚丙烯酸也是一種吸水性強的高分子材料, 可以藉由此特性將水溶液中的丁醇帶入製備的高分子萃取劑, 實驗結果發現, 剩餘丁醇百分比下降至 47.80%, 丁醇分配係數有明顯上升至 2.860, 水分配係數也有些微上升, 可知添加 AA 是有助於在模擬丁醇水溶液中提升萃取出丁醇的能力, 因此之後實驗將以丙烯酸丁酯和丙烯酸的共聚物做為固態萃取劑進行實驗探討。

表 4-2 BA 與不同材料進行聚合之丁醇萃取實驗結果比較

添加材料*	剩餘丁醇百分比(%)	Db	Dw	S
None	59.50	1.310	0.068	19.26
PVA	60.20	1.273	0.035	36.37
PVAc	63.70	1.107	0.067	16.46
Styrene	53.25	1.572	0.081	19.41
Acrylic acid	47.80	2.860	0.084	34.00

* BA 與添加材料比例為 9 : 1

4.1.3 丙烯酸添加比例探討

從前面實驗可得知，當選擇 BA-co-AA 做為萃取劑，可有較佳的效果，但由於 AA 的吸水性過強，且 PAA 材質屬硬型，添加過多將不利於實驗，所以將對 AA 添加量進行探討；實驗選擇 BA：AA 比例分別為 9：1、7：3、5：5、3：7、1：9，其中 3：7 與 1：9 在萃取實驗進行一天後，會將水溶液幾乎吸光，無法將水溶液進行 GC 濃度分析，因此將去除此兩種比例進行討論。

由表 4-3 為不同比例 BA-co-AA 進行萃取實驗結果，隨著 AA 量的添加，丁醇濃度有明顯下降，當 BA：AA 比例為 9：1、7：3、5：5，剩餘丁醇百分比分別降至 47.8 %、41.8 %、37.70 %，丁醇分配係數隨 AA 量增加而上升，分別可達 2.860、3.104、3.641，但水分配係數上升情況更為明顯，分別上升至 0.084、0.123、0.272，所以選擇率則隨 AA 上升而些微下降，分別降至 34.00、25.18、13.39；此結果顯示當 AA 含量過高，其高吸水性會遮蔽 BA 對丁醇的萃取能力，將會降低丁醇在分子萃取劑的濃度，使後續純化步驟需耗費更多能量。

表 4-3 不同比例 BA-co-AA 丁醇溶液萃取結果比較*

BA:AA	剩餘丁醇百分比(%)	Db	Dw	S
1:0	59.50	1.310	0.068	19.26
9:1	47.80	2.860	0.084	34.00
7:3	41.80	3.104	0.123	25.18
5:5	37.70	3.641	0.272	13.39

* 萃取時間為 24 小時

4.1.4 共聚物於純丁醇與純水系統萃取探討

將 BA-co-AA 共聚物放入純丁醇溶液與純水溶液進行萃取探討，實驗將高分子與溶液重量比 1:10 比例進行萃取實驗，表 4-4 為每單位高分子可萃取重量結果，隨 AA 比例增加，萃取丁醇量也增加，當 BA:AA 比例為 1:0、9:1、7:3、5:5，單位萃取丁醇量分別 3.199、3.623、5.355、5.687 g，添加 AA 明顯增加萃取丁醇能力，在純水系統中，隨 AA 比例增加，水萃取能力也將上升，因為 AA 具有良好親水性，當 BA:AA 比例為 1:0、9:1、7:3、5:5，每克萃取水量為 0.069、0.099、0.142、0.456 克，可發現共聚物 AA 比例由 7:3 升高至 5:5，單位萃取水量由 0.142 g 升至 0.456 g，提高 3 倍，但萃取丁醇量卻無明顯提升，此結果可能造成脫附丁醇時，脫附丁醇濃度偏低，之後共聚物萃取-脫附實驗將選擇 BA:AA=7:3 進行實驗。

表 4-4 不同比例 BA-co-AA 在純丁醇/水系統萃取結果

BA:AA	純丁醇(g/g)	純水(g/g)
1:0	3.199	0.069
9:1	3.623	0.099
7:3	5.355	0.142
5:5	5.687	0.456

* 萃取時間為 24 小時

4.2 高分子萃取劑動態萃取實驗

本實驗主要觀察高分子在模擬丁醇溶液中隨時間增加，丁醇溶液中濃度變化的情形，丁醇溶液選定為 20 g/L，溫度選擇為 37°C，選擇萃取 4320 分鐘後以 TGA 測其前後重量變化，計算分配係數與選擇率進行比較，選擇 4320 分鐘即是三天做為計算依據，因為之後將把高分子萃取劑直接加入 ABE 發酵實驗中，而其中發酵皆以三天作為一個循環；本實驗萃取劑將取 BA 與 AA 進行共聚，比例分別為 1:0、9:1、7:3、5:5 四種比例進行比較。

4.2.1 丁醇水溶液

根據圖 4-1 將不同比例 BA-co-AA 聚合物進行動態萃取比較，發現 PBA 在丁醇水溶液經過 720 分鐘萃取後趨於平衡，最後在實驗時間達 28800 分鐘時，丁醇濃度可降至 10.97 g/L，且隨著 AA 量的增加，可以看到丁醇濃度都有明顯下降，當時間達到 28800 分鐘時，共聚物 BA:AA=9:1、7:3、5:5 的丁醇濃度可分別降至 7.94、7.28、5.23 g/L，由此顯示在 BA 中添加 AA 可萃取更多水溶液中的丁醇。

比較分配係數與選擇率，為了更精確的得知水溶液進入萃取劑的總重，我們將萃取丁醇後的高分子萃取劑進行 TGA 實驗，將溫度範圍設定在 25-150°C，因為丁醇和水的沸點分別為 117.5 和 100°C，且

由未萃取 TGA 圖可發現在溫度 150°C 後，才開始有明顯重量損失，因此根據 TGA 重量損失變化做為其在丁醇水溶液中總萃取量，並進一步計算丁醇的分配係數和選擇率，在此一章節，將選擇以 TGA 進行萃取前後重量損失結果，由於擦乾秤重由於無法完全除去殘留於表面間水溶液，由於水溶液中大多為水，因此直接擦乾秤重結果對水分分配係數以及選擇率影響大，為了減少計算誤差，實驗將以 TGA 結果做為計算準則。

表 4-5 的分配係數和選擇率是以萃取劑進行萃取實驗三天後的溶液剩餘丁醇濃度做為依據，從表可以發現，PBA 的丁醇分配係數到三天只能達到 1.37，雖然水分配係數只有 0.001，依舊使選擇率達到 1332.06，但我們所希望達到的是丁醇分配係數和選擇率都要相對高的結果，因此，當添加 AA 進入 BA 的比例增加，丁醇的分配係數明顯上升，在比例為 9:1、7:3、5:5 分別可以達到 2.53、3.51、4.28，與 PBA 相比都有明顯成長，不過水分配係數也會因為 AA 的高吸水性，分別達到 0.015、0.047、0.068，使得選擇率下降至 168.85、74.86、62.88。

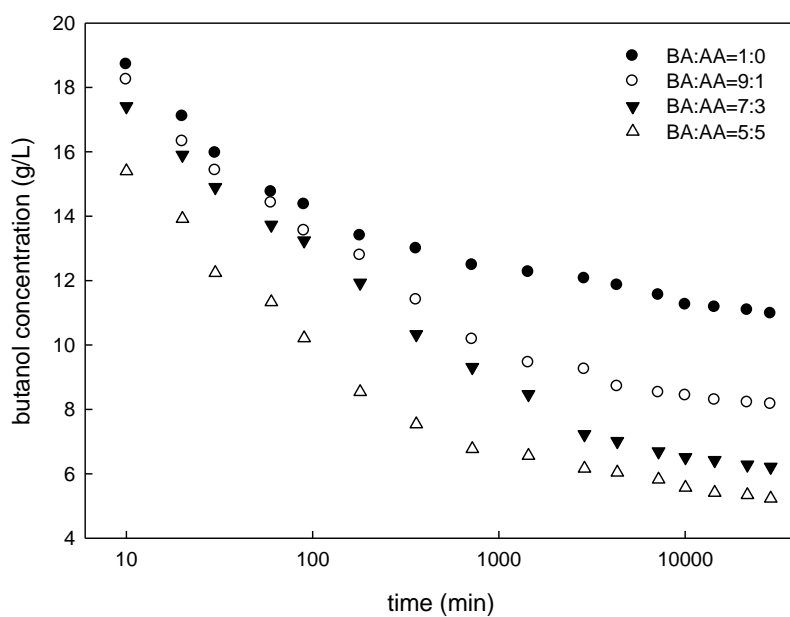


圖 4-1 不同比例 BA-co-AA 聚合物丁醇濃度與時間變化結果

表 4-5 不同比例 BA-co-AA 聚合物分配係數與選擇率結果*

BA : AA	Db	Dw	Sb
1 : 0	1.37	0.001	1332.06
9 : 1	2.53	0.015	168.85
7 : 3	3.51	0.047	76.88
5 : 5	4.28	0.068	62.88

* 萃取時間為 4320 分鐘=72 小時=3 天

4.2.2 ABE 水溶液動態萃取實驗

2007 年 Ezeju 等人研究結果[6]可知 ABE 發酵產量比例為丙酮：丁醇：乙醇=3:6:1，因此本研究嘗試以此比例配製丁醇濃度 20 g/L，而丙酮、丁醇濃度分別是 10、3.33 g/L 的水溶液，觀察 ABE 溶液濃度變化。

首先觀察丁醇水溶液與 ABE 溶液中丁醇萃取情形差異，結果為圖 4-2，此圖以 BA:AA=5:5 為例，黑色點代表共聚物在丁醇水溶液中丁醇萃取行為，白色點代表在 ABE 水溶液中丁醇萃取行為，兩條線幾乎沒有太大的差異，可判定在純丁醇水溶液和 ABE 水溶液中丁醇萃取能力其實相差不大的，尤其是當萃取時間達到 720 分鐘開始趨於平緩後現象更為明顯，接下來將高分子分別對丙酮、乙醇、丁醇的萃取行為獨立討論。

首先圖 4-3 探討 ABE 水溶液中丁醇動態萃取行為，由圖可知隨著 AA 量增加，丁醇濃度降低越多，並且也在萃取時間達 720 分鐘後，濃度變化趨於平緩；表 4-6 和 4-7 為萃取劑在 ABE 溶液中萃取三天後分配係數與選擇率結果，研究數據顯示 PBA 的丁醇分配係數為 1.26，相較於丁醇水溶液略低，水分配係數為 0.006，較丁醇水溶液略高，導致選擇率下降至 208.09；將 AA 加入後，當 BA:AA 比例為 9:1、7:3、5:5，則丁醇分配係數會上升至 2.56、3.87、4.37，且水的分

配係數都有些微上升，分別達到 0.020、0.051 和 0.096，與 PBA 有相同結果，這是由於在水溶液加入丙酮和乙醇，高分子萃取劑對其也有一定吸引能力，在溶劑進入高分子的同時，也會增加對水的相容性，因此水分配係數上升，造成 BA：AA 比例為 9：1、7：3、5：5 選擇率些微下降至 126.04、75.50、45.63。

圖 4-4 是在 ABE 水溶液中丙酮的動態萃取結果，可以發現，隨著 AA 量的上升，丙酮濃度下降的越少，研判是由於 AA 和丙酮相容性較丁醇差，當 AA 加入 BA 的比例越多，則丙酮進入高分子的量將減少；當高分子 BA：AA 比例為 1：0、9：1、7：3、5：5，表 4-5 險是丙酮分配係數分別為 1.20、0.83、0.62、0.48，表 4-6 丙酮選擇率則分別為 196.72、40.78、12.08、4.97，添加 AA 將不利丙酮的萃取。

圖 4-5 則是在 ABE 水溶液中乙醇的動態萃取結果，可發現隨著 AA 添加在 BA 中的比例增加，乙醇濃度下降得越多，但沒有明顯趨於平緩的時間，推斷由於乙醇在溶液中的量較少，達到平衡的趨勢較為不明顯；當 BA：AA 比例分別為 1：0、9：1、7：3、5：5 時，乙醇分配係數分別可以達到 0.54、0.76、0.87、1.01(表 4-5)，而丁醇選擇率則可達到 88.65、37.44、16.95、10.57(表 4-6)。

目前在液液萃取最常用的就是油醇(oleyl alcohol)，其丁醇、丙酮、乙醇的分配係數分別為 3.8、0.34、0.28，而丁醇的選擇率可以達到

330[24]；我們所用的固態萃取劑，當 BA：AA 的比例為 7：3、5：5 時，丁醇分配係數可達 3.8-4.4 左右，且丙酮和乙醇的分配係數都明顯高於油醇，雖然選擇率不及油醇，我們還是認為此共聚物對於丁醇分離有良好能力，可以嘗試應用在 ABE 發酵上。

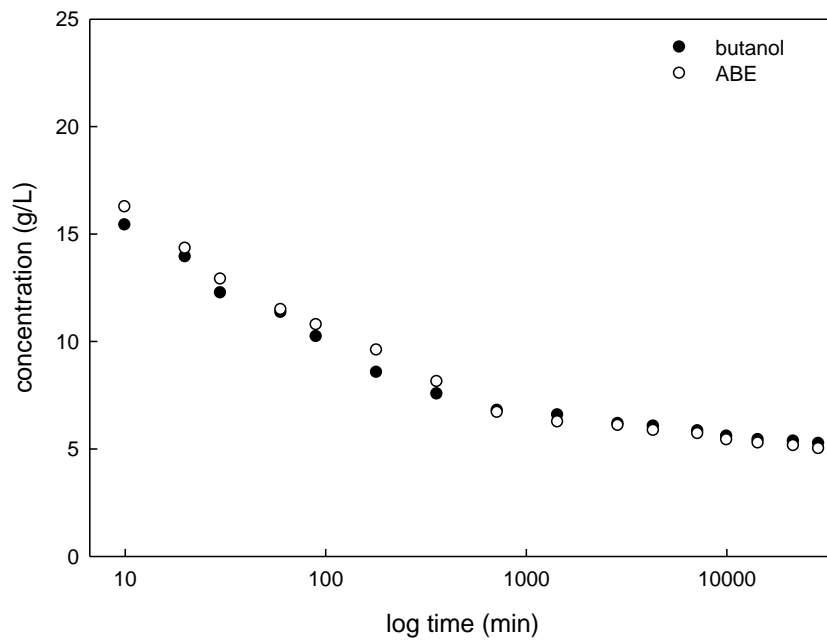


圖 4- 2 BA:AA=5:5 共聚物在丁醇模擬溶液和 ABE 溶液之丁醇萃取結果比較

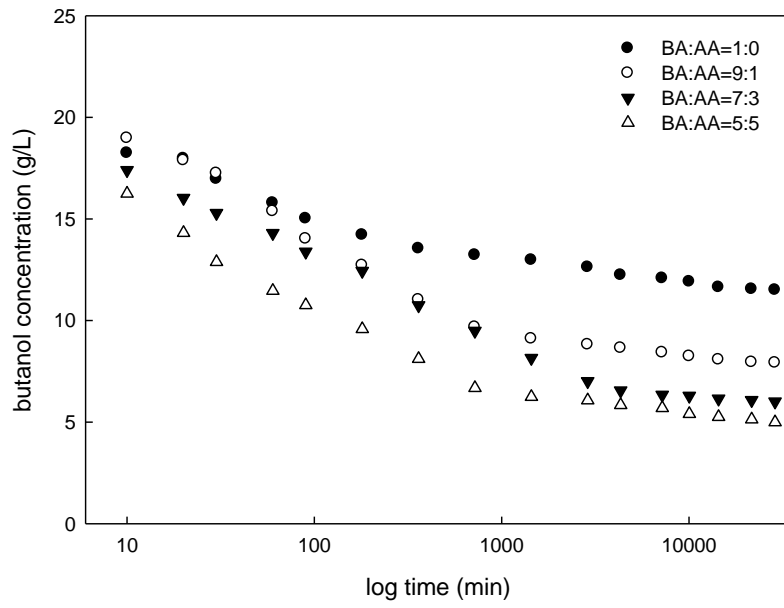


圖 4-3 不同比例 BA-co-AA 聚合物 ABE 溶液動態萃取丁醇結果

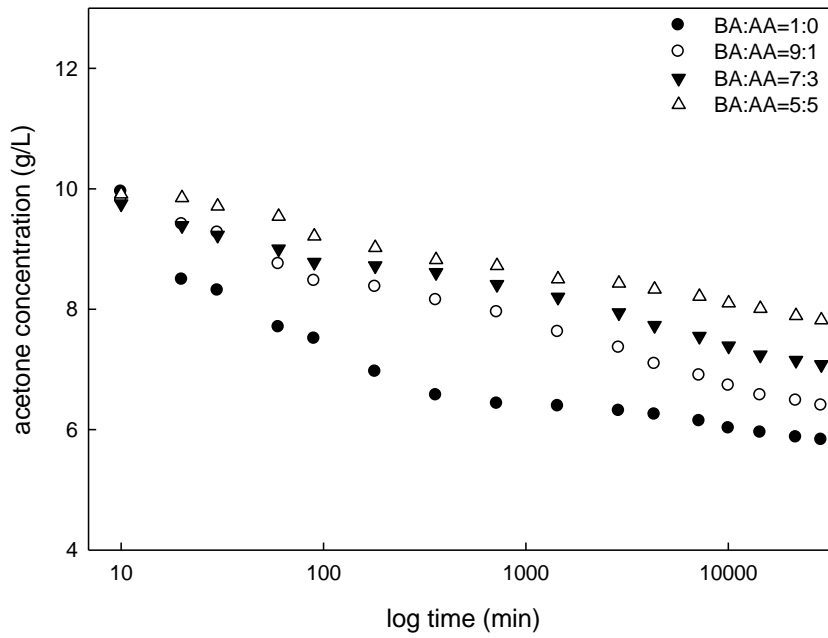


圖 4-4 不同比例 BA-co-AA 聚合物 ABE 溶液動態萃取丙酮結果

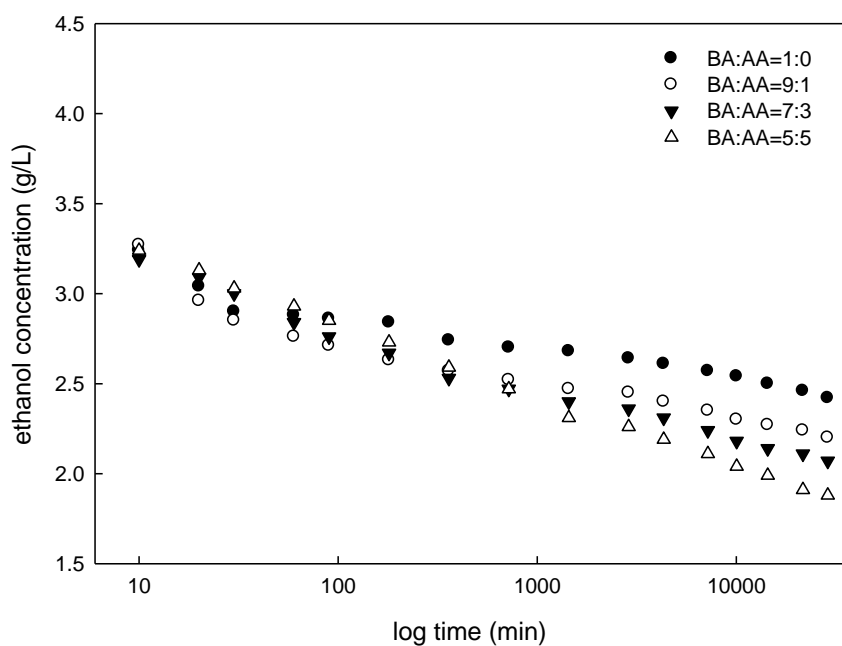


圖 4-5 不同比例 BA-co-AA 聚合物 ABE 溶液動態萃取乙醇結果

表 4-6 不同比例 BA-co-AA 聚合物在 ABE 水溶液的分配係數比較

BA : AA	Db	Da	De	Dw
1 : 0	1.26	1.20	0.54	0.006
9 : 1	2.56	0.83	0.76	0.020
7 : 3	3.87	0.62	0.87	0.051
5 : 5	4.37	0.48	1.01	0.096

Db : 丁醇分配係數

Da : 丙酮分配係數

De : 乙醇分配係數

Dw : 水分配係數

表 4-7 不同比例 BA-co-AA 聚合物在 ABE 水溶液選擇率比較

BA : AA	Sb	Sa	Se
1 : 0	208.09	196.72	88.65
9 : 1	126.04	40.78	37.44
7 : 3	75.50	12.08	16.95
5 : 5	45.63	4.97	10.57

Sb : 丁醇選擇率

Sa : 丙酮選擇率

Se : 乙醇選擇率

4.2.3 建立萃取平衡數學模式

此節將藉由丁醇水溶液動態萃取實驗結果，根據不同時間點取樣分析的水溶液濃度，配合萃取平衡公式推導，並利用 Sigma plot 軟體分析數據以及曲線擬合，模擬萃取劑在溶液中萃取行為，由於缺乏適當的界面濃度性質來模擬質傳過程，因此我們以萃取劑內丁醇濃度與其平衡濃度的差作為驅動力，因此以式(1)做為萃取的動態方程式。

$$\frac{dC^P}{dt} = K(C_{eq}^P - C^P)^n \quad (1)$$

其中 C^P 為高分子內丁醇濃度， C_{eq}^P 是高分子內達萃取平衡的濃度，而 t 為萃取時間， K 是速率常數， n 則是方程式階數；數學模式推導請見附錄 2，此常微分方程式一階解為式(2)，高階解為式(3)。

當 $n=1$ 方程式解為 $C^P = \frac{C_{eq}^P K t}{1 + K t}$ (2)

當 $n \neq 1$ 方程式解為 $C^P = C_{eq}^P \left[1 - (K t + 1)^{\frac{1}{1-n}} \right]$

其中 t 、 C^P 可由動態萃取實驗得知，代入即可得 K 、 C_{eq}^P 、 n 值，推導模式選擇一階與高階做比較，將實驗點與一階和高階結果進行可得圖 4-6 比較，明顯高階擬和結果較優於一階，因此推斷高階數學模式較能擬合此動態萃取行為，之後將以高階模式進行結果討論。

各種萃取劑擬合結果為圖 4-7，其上面點為實驗點，而推算出的參數結果則為表 4-8，可知 C_{eq}^P 將隨著添加 AA 量上升，當 BA : AA

比例為 1:0、9:1 和 7:3 時， C_{eq}^P 分別為 0.0176、0.0247 和 0.0303，原因為添加 AA 有助於高分子萃取劑的丁醇萃取行為，不過當比例下降至 5:5 時， C_{eq}^P 將下降至 0.0271，從圖 4-7 擬合結果發現，7:3 在萃取時間達 21800 後，尚未達到萃取平衡，其擬合 n 值也高於其他萃取劑，因此達萃取平衡時間較晚，導致其 C_{eq}^P 較高；速率常數 K 則隨 AA 比例增加，PBA 為 0.066，而當 BA:AA 為 9:1、7:3、5:5 時，則分別增加至 0.071、0.104、0.122，顯示 AA 添加能幫助固態萃取劑快速進行萃取；而 n 值與 Rsqr. 值則可說明在高階系統擬合較符合實驗結果。

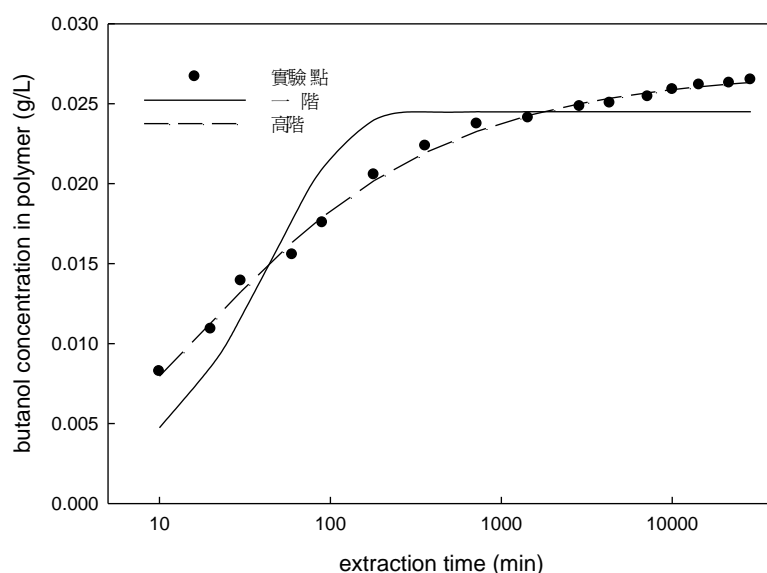


圖 4-6 實驗點與推導動態方程式之一階及高階擬合結果比較

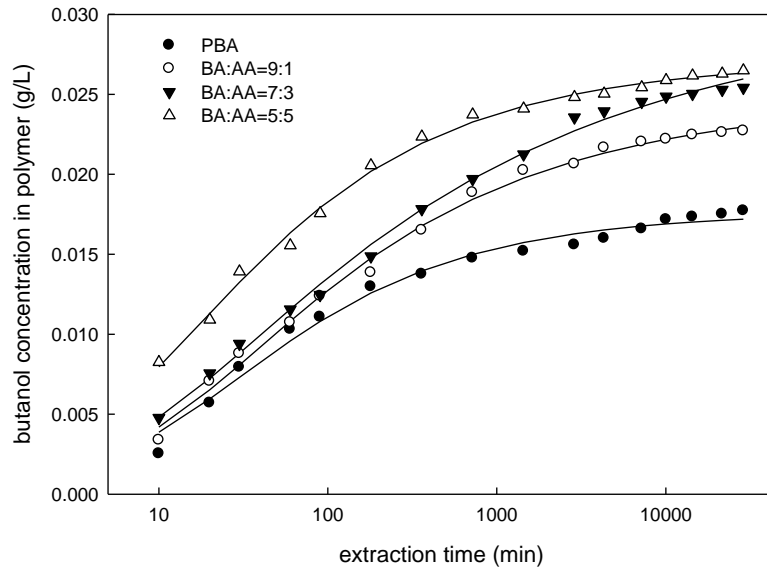


圖 4-7 高階系統擬合動態萃取結果

表 4-8 高階動態萃取行為擬合結果

BA : AA	C_{eq}^P	K	N	Rsqr.
1 : 0	0.0176	0.066	3.05	0.9900
9 : 1	0.0247	0.071	3.88	0.9965
7 : 3	0.0303	0.104	5.10	0.9969
5 : 5	0.0271	0.122	3.29	0.9974

4.3 高分子萃取劑脫附實驗

將高分子萃取劑與丁醇水溶液以重量比 1：2 進行萃取實驗，此實驗取萃取劑 15 g 與丁醇水溶液 30 mL 進行實驗，在 37°C 下萃取三天，再進行脫附實驗，三天為 ABE 發酵進行批次搖瓶實驗時間；而脫附步驟則是先將高分子放入針筒內，以擠壓的方式將表面的水溶液擠出，實驗嘗試將擠出溶液以 GC 分析濃度，結果與水溶液丁醇濃度相同，因此推斷為丁醇水溶液附著於萃取劑表面，不屬於萃取劑萃取部份；接著將萃取劑放入 150°C 下的油浴，接以真空幫浦，收集端放置液態氮進行冷凝，使高分子內的物質快速脫出；將收集溶液與萃取後剩餘溶液以 GC 進行濃度分析，並藉由脫附溶液體積和初始丁醇總重進行萃取率、脫附率、總收率計算。

實驗選用的高分子之一為均聚物 PBA，希望借由其具備良好疏水性，能夠得到濃度較高的脫附丁醇溶液，而根據前面實驗可以知道添加 AA 有助於在溶液中萃取更多丁醇，此外再選用 BA：AA=7：3 共聚物進行實驗；脫附實驗將會進行三次重覆的實驗，觀察萃取劑的可再利用性，而初始丁醇濃度則會分別配製 5、10、15、20 g/L，觀察不同丁醇濃度萃取效果。

4.3.1 PBA 均聚物在丁醇水溶液中萃取-脫附實驗

圖 4-8 為萃取前的高分子與進行第一次萃取-脫附後的高分子外觀比較，圖(1)為未進行萃取之高分子，外觀為塊狀，當進行第一次萃取-脫附實驗後，萃取劑外觀為圖(2)呈顆粒狀，推測因為經過擠壓、高溫脫附後，使其強度下降，因而呈顆粒狀聚集。

圖 4-9 為溶液剩餘濃度比較，圖中黑色柱狀是第一次萃取後丁醇溶液濃度結果，淺灰色和深灰色分別代表同一萃取劑第二次和第三次萃取後結果；剩餘濃度隨初始濃度上升而增加，因為 PBA 在溶液中會萃取固定比例的丁醇；而第一次萃取所剩餘的濃度皆會低於第二次和第三次，推測原因可能當進行第一次萃取-脫附丁醇的步驟後，丁醇無法從高分子萃取劑中完全脫附，有丁醇水溶液殘留在萃取劑內，因此降低第二次和第三次萃取丁醇的能力。

圖 4-10 為高分子萃取劑中萃取丁醇量比較，由圖可發現隨著丁醇初始濃度增加，萃取丁醇量也會增加，因為丁醇量多，PBA 對其良好親和作用將更為明顯，根據此結果，之後實際進行 ABE 發酵萃取實驗時，我們可以考慮在丁醇累積濃度偏高但還不至於明顯影響發酵時，添加 PBA 來進行萃取實驗。

接著進行萃取率比較，萃取率是將高分子丁醇萃取總重除上初始丁醇總重，由圖 4-11 結果可看出萃取率與初始濃度幾乎無關，第一

次萃取的萃取率都能達到 35-40 % 左右，第二次和第三次萃取率都略低於第一次，在 25-35% 左右，推斷丁醇無法完全從高分子脫附，當進行第二次和第三次萃取-脫附實驗時，先前殘留在高分子的丁醇將會降低之後實驗的萃取能力。

圖 4-12 則是經由真空幫浦進行脫附後所收集溶液之丁醇濃度比較，隨著初始丁醇溶液濃度增加，脫附丁醇濃度也越高，由於在越高丁醇濃度下，高分子所能萃取的丁醇量較多，且 PBA 為疏水性材料，因此脫附丁醇濃度也較高，第二次和第三次脫附也是此結果；但很明顯第二次和第三次脫附濃度都會低於第一次，推測原因當進行完第一次脫附後，高分子 PBA 將會由原本的塊狀，轉變為小顆粒狀，可從圖 4-8 看出，此結果可能造成高分子間隙間殘留的水溶液增加，影響丁醇脫附濃度。

圖 4-13 則為脫附丁醇總重之比較，此為根據脫附丁醇溶液體積與濃度所得結果，隨著丁醇初始濃度上升，所得脫附丁醇量也會上升，根據前面萃取總量結果，初始丁醇濃度上升，則萃取量也會上升，因此可得較高丁醇脫附濃度；而第一次脫附量也比第二次和第三次來的高，但第二次和第三次的差異並不明顯，因為第一次萃取丁醇能力較佳，萃取丁醇也較多。

圖 4-14 則為脫附率的比較，脫附率為脫附丁醇總量與萃取丁醇

總量比值；結果發現，脫附率與初始濃度無關，第一次脫附率可達 75%，而第二次和第三次的脫附率皆可達 80% 以上，第一次脫附率偏低原因為無法脫附殘留在萃取劑內的量，佔據高分子內較多位置，第二次和第三次脫附率高則因第一次殘留為較難脫附部份，因此第二次和第三次殘留情形少。

圖 4-15 則為丁醇總收率比較，總收率為脫附丁醇總重除上初始丁醇總重，也就是高分子經由萃取-脫附實驗後，所能真正回收的丁醇比較；由於 PBA 在丁醇水溶液中的萃取率大約在 40% 左右，因此即便脫附率可達 80%，總回收率還是會呈現偏低的情況，從結果來看，隨著初始濃度增加，總收率將有些許上升，但差異不大，總收率大約在 25-30%。

由 PBA 萃取-脫附實驗結果可知，PBA 萃取率雖不及 5 成，但脫附率可達 8 成，且由於其良好疏水性，第一次脫附丁醇濃度也相當高，而第二次和第三次萃取能力雖略低於第一次，但其實相差不大，且脫附率也高於第一次，因此，可以判定 PBA 為可重複使用的萃取劑。

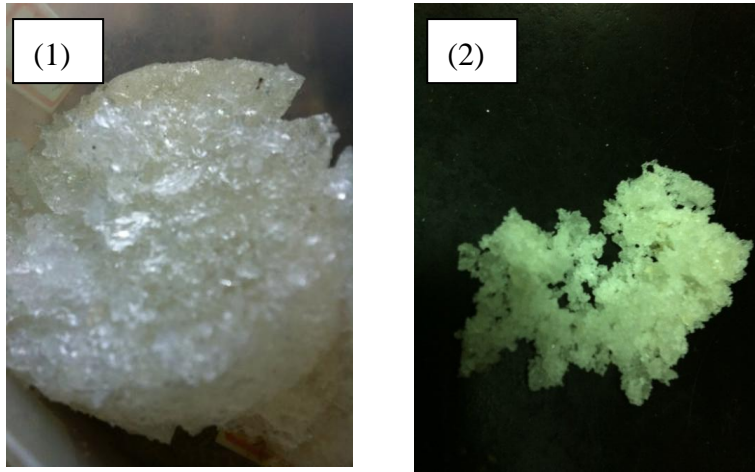


圖 4-8 萃取實驗前後 PBA 外觀比較

(1) 第一次萃取實驗前

(2) 第二次萃取實驗前

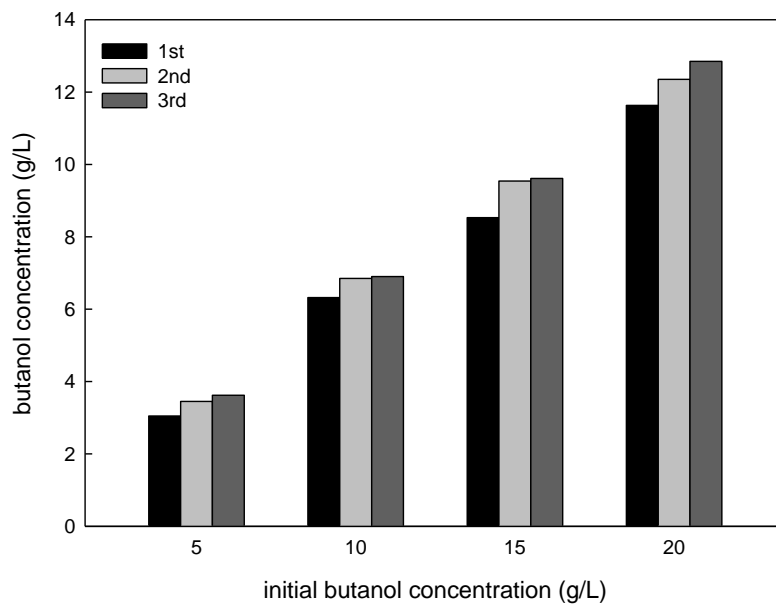


圖 4-9 PBA 萃取-脫附實驗水溶液丁醇剩餘濃度結果比較

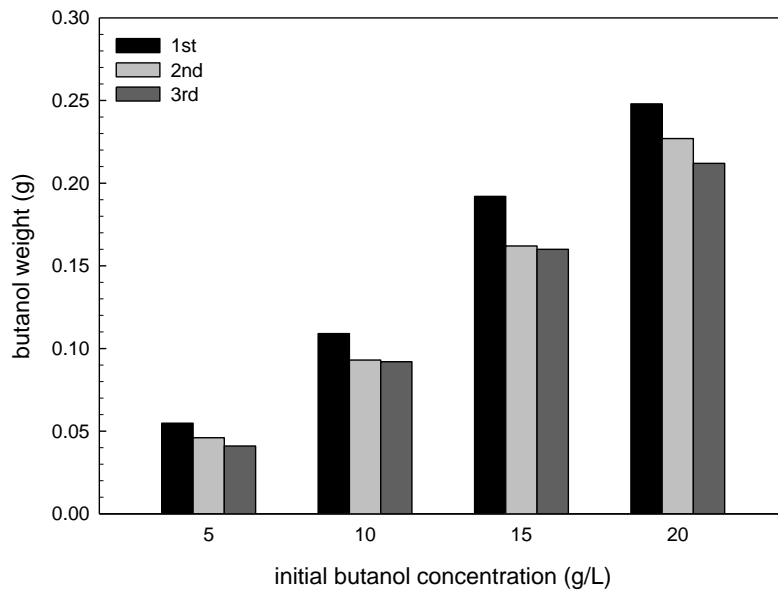


圖 4- 10 PBA 萃取-脫附實驗丁醇萃取總重比較

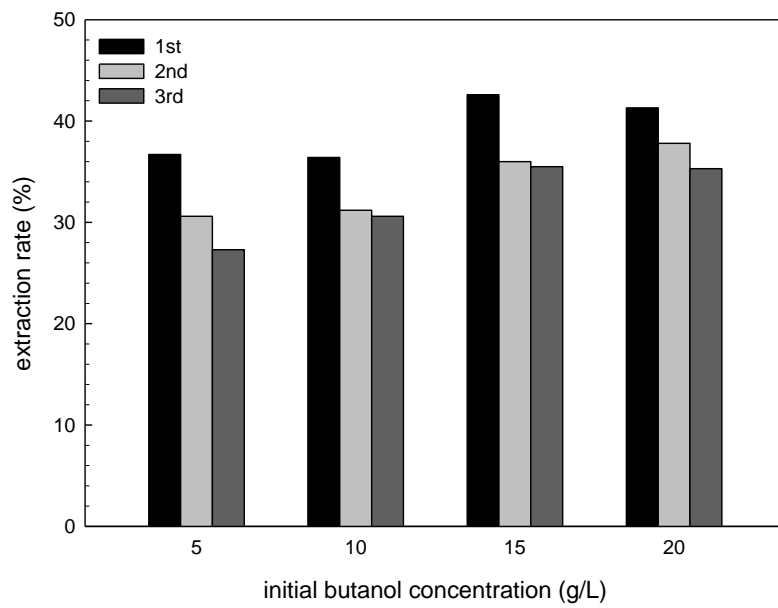


圖 4- 11 PBA 萃取-脫附實驗丁醇萃取率比較

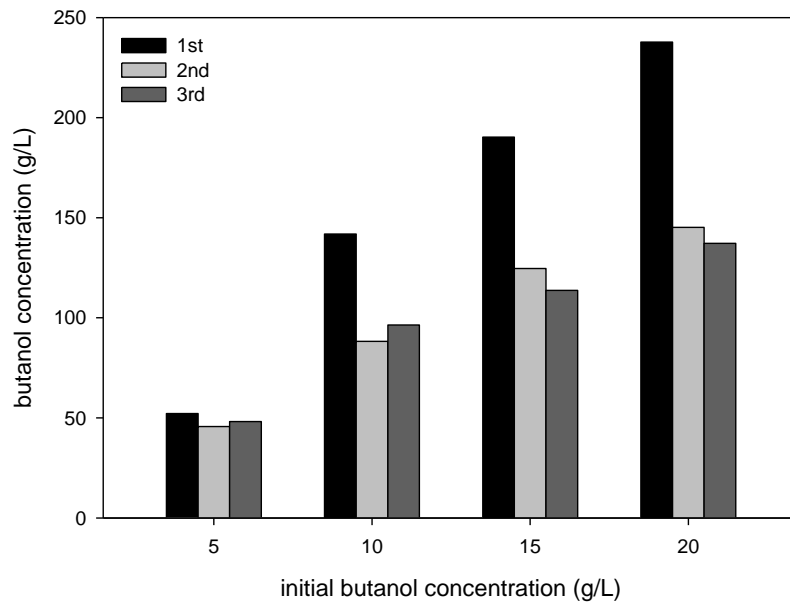


圖 4- 12 PBA 萃取-脫附實驗丁醇脫附濃度比較

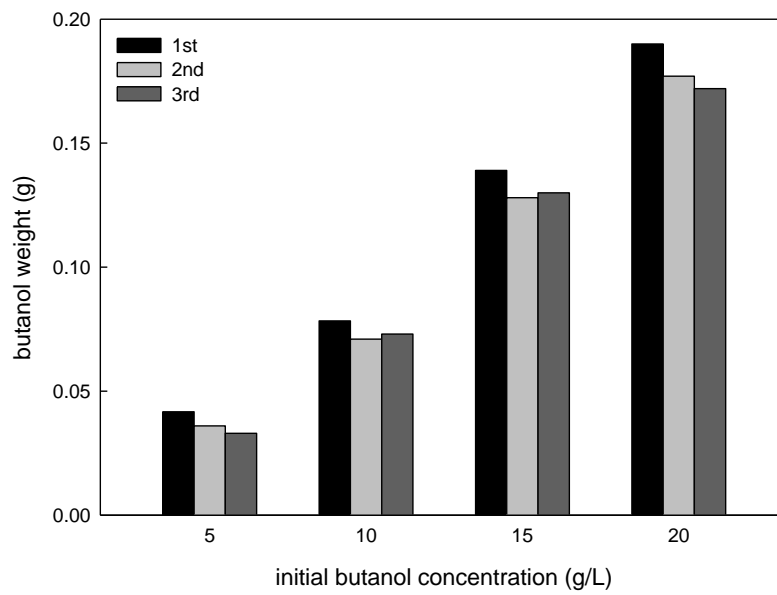


圖 4- 13 PBA 萃取-脫附實驗丁醇脫附總重比較

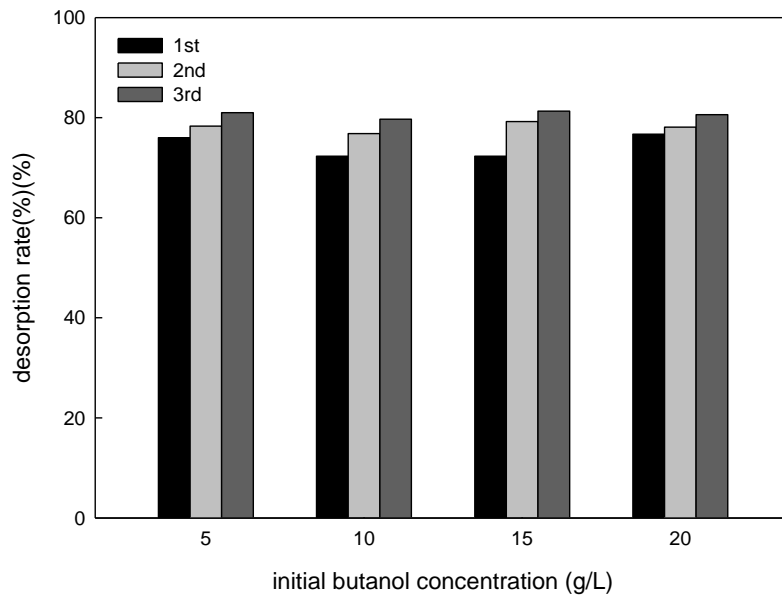


圖 4- 14 PBA 萃取-脫附實驗丁醇脫附率比較

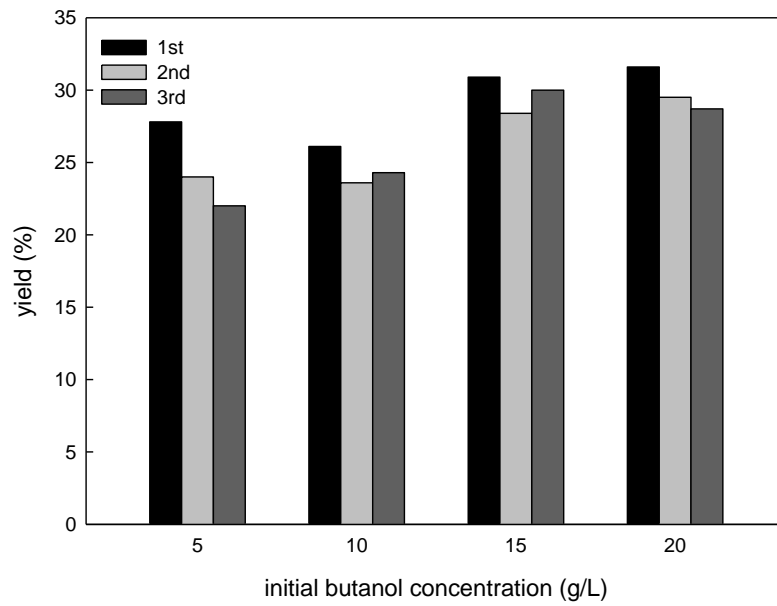


圖 4- 15 PBA 萃取-脫附實驗丁醇總收率比較

4.3.2 BA-co-AA 聚合物在丁醇水溶液中脫附實驗

實驗選擇 BA:AA=7:3 共聚物進行實驗，此共聚物萃取前後外觀無明顯改變，因為添加 AA 可增加共聚物強度；而圖 4-16 為剩餘溶液濃度比較，當初始濃度為 5、10、15、20 g/L 時，第一次萃取完的溶液濃度可分別降至 2.08、3.92、6.06、7.26 g/L，萃取能力較 PBA 佳，與 PBA 一樣隨著初始丁醇濃度增高，剩餘丁醇溶液濃度也較高，而第一次萃取的能力也比第二次和第三次為佳，也是因為進行第一次脫附時，脫附不完全造成水溶液殘留在共聚物內，影響之後的萃取實驗。

圖 4-17 為共聚物萃取丁醇總重比較，由於第一次萃取能力大於第二次和第三次，因此所萃取的丁醇總量也會較多，而初始濃度越高的丁醇溶液，則萃取丁醇量也會較濃度低的多。

圖 4-18 為共聚物萃取率比較，萃取率與初始濃度並無關聯，約在 45-55% 左右，較 PBA 的 35-40% 高，添加 AA 有助於丁醇的萃取；而第一次萃取會優於第二次和第三次，第二次萃取也優於第三次萃取，但差異不大，推斷共聚物進行萃取時，會因前次未脫附累積於共聚物的丁醇溶液，降低當次萃取能力，而第三次萃取受到第一次脫附和第二次脫附未完全殘留影響，導致萃取能力下降將較多前兩次實驗多。

接著進行脫附實驗，圖 4-19 為脫附丁醇濃度比較，隨著初始丁

醇濃度上升，脫附丁醇濃度也較高，因為在高濃度中，萃取丁醇量較多，脫附濃度相對高；另外，脫附濃度會隨著脫附次數有逐漸上升的趨勢，推斷原因可能由於殘留在萃取劑不只是丁醇，水也會同時殘留，且由於 AA 親水性佳，殘留於共聚物大多為水，因此當共聚物進行重覆萃取-脫附實驗時，吸水能力降低，造成脫附時丁醇濃度較高；但與 PBA 相比，脫附濃度較低，因為 AA 為吸水性良好的材料，吸水率高將造成脫附丁醇濃度較低。

圖 4-20 將脫附丁醇量進行比較，可發現結果和 PBA 一樣，隨著丁醇初始濃度上升，丁醇脫附總重也上升，不過丁醇總量會隨著脫附次數而增加，因為 AA 有良好親水性，導致未脫附殘留於共聚物大多為水，丁醇量較少，因此未脫附丁醇殘留於共聚物的量將逐次減少。則脫附丁醇量則會逐漸增加。

圖 4-21 為共聚物脫附率比較，從上面脫附量結果可知，脫附率第二次和第三次的結果將會優於第一次，無論初始濃度高低，第一次脫附之脫附率約為 70% 左右，第二次和第三次脫附皆能達到 80%，此與 PBA 結果相同。

圖 4-22 是共聚物總收率比較，總收率就是高分子經由萃取-脫附實驗後，真正回收的丁醇比值，雖然第一次萃取率會高於第二次和第三次，但脫附率則剛好相反，因此總收率皆能維持在 40% 左右。

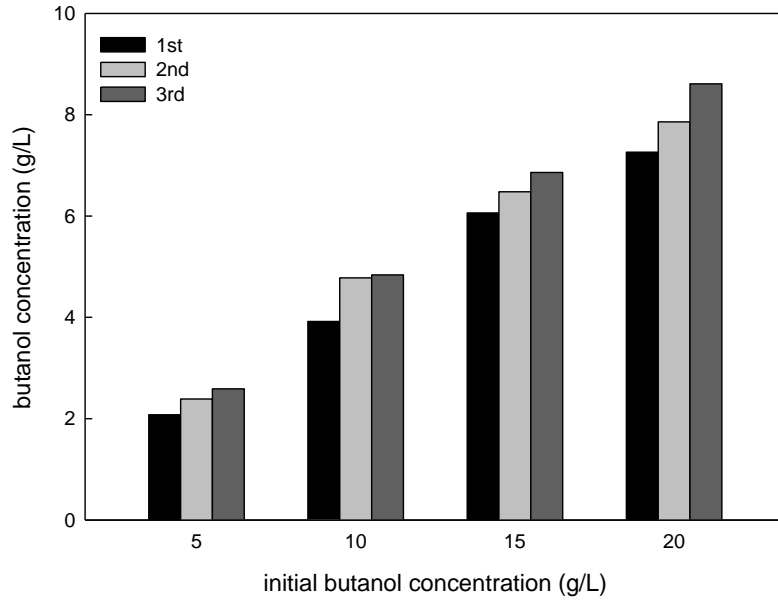


圖 4- 16 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗水溶液丁醇剩餘濃度結果比較

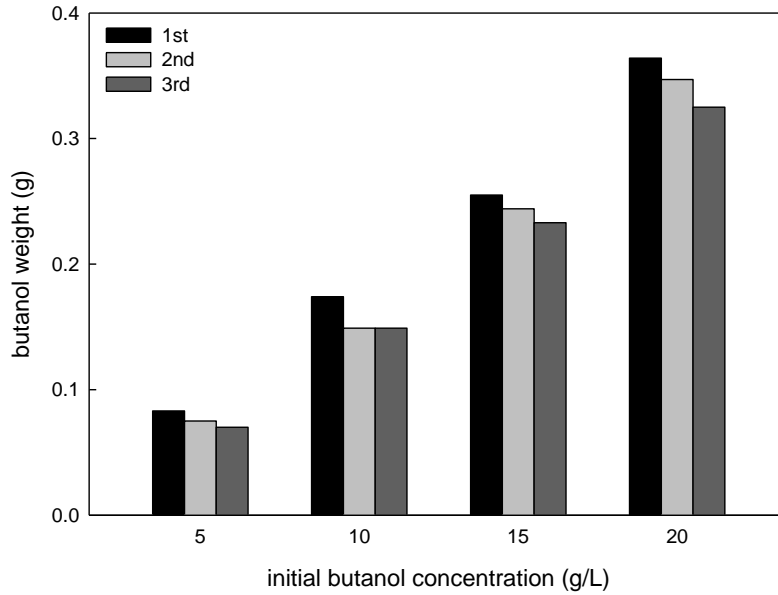


圖 4- 17 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗萃取丁醇總重比較

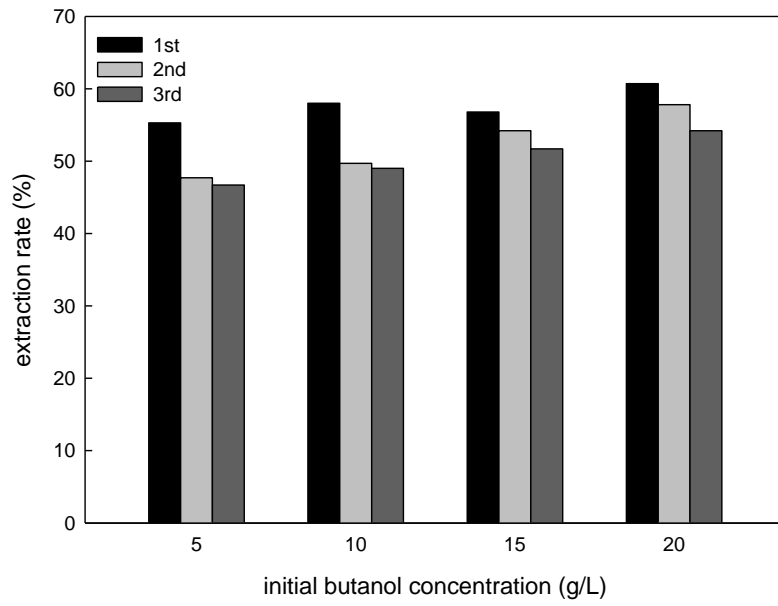


圖 4- 18 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗萃取率比較

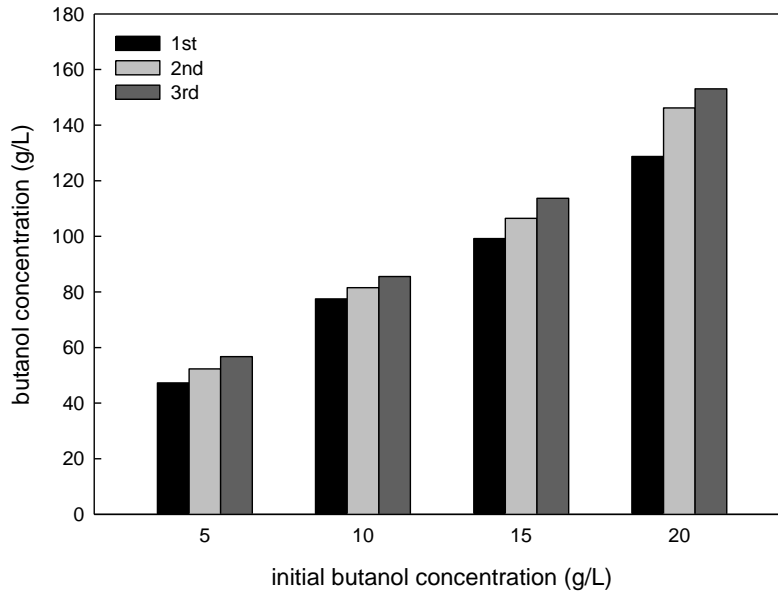


圖 4- 19 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗脫附丁醇濃度比較

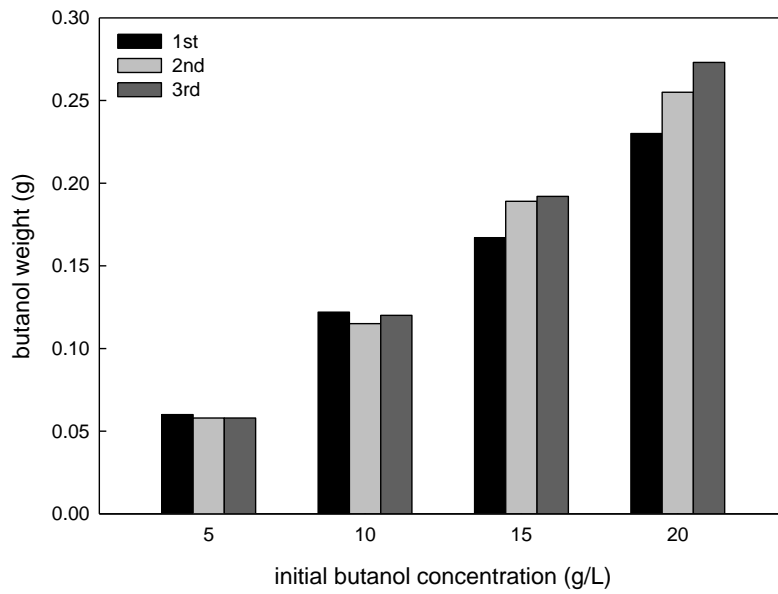


圖 4- 20 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗脫附丁醇總重比較

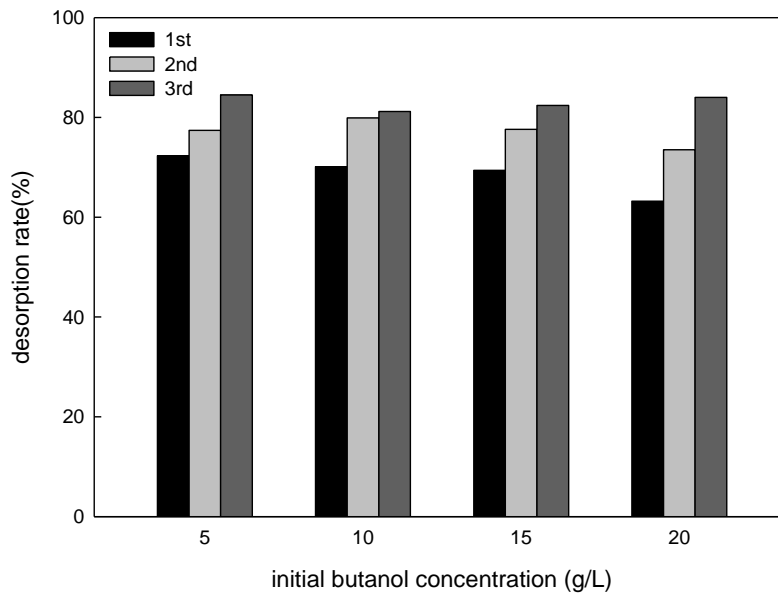


圖 4- 21 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗脫附率比較

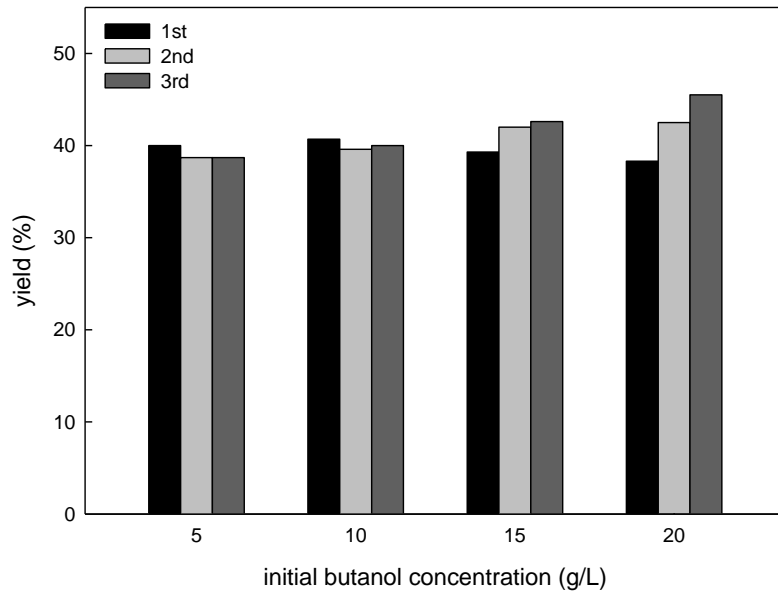


圖 4- 22 BA : AA=7 : 3 萃取-脫附實驗總收率比較

均聚物 PBA 萃取率不及 BA-co-AA 聚合物，但在第一次萃取-脫附後有較高的丁醇回收濃度，在初始濃度 20 g/L，可得脫附丁醇濃度最高為 240 g/L，而 BA-co-AA 聚合物則可萃取較多丁醇，降低丁醇濃度效果較好，但由於親水特性強，脫附丁醇濃度則較低，因此當選擇萃取劑時，需要考量期望結果以進行挑選。

4.4 丙烯酸丁酯(BA)與丙烯酸(AA)聚合物性質測試

4.4.1 熱場發射掃描式顯微鏡 (SEM)

SEM的主要工作原理為電子鎗透過熱游離或是場發射原理產生高能電子束，經過電磁透鏡組後，可以將電子束聚焦至試片上，利用掃描線圈偏折電子束，在試片表面上做二度空間的掃描。當電子束與試片作用時，會產生各種不同的訊號，如二次電子、背向散射電子、吸收電子、歐傑電子、特徵X光...等。在一般掃描式電子顯微鏡偵測系統上，主要為偵測二次電子及背向散射電子成像，這些訊號經過放大處理後即可成像觀察。

由圖 4-23(1)可以看到 PBA 為一個光滑的表面，隨著 AA 添加，表面會逐漸有一些突起，這是由於 PAA 在 SEM 下呈現一個不平滑的表面，從圖 4-23(5)可見皺褶相當多，因此隨著 AA 在 BA 中的比例增加，這些突起的現象也會更加明顯，可以判定 BA 與 AA 為有效聚合。

圖 4-24 則為 PBA 與共聚物 BA:AA=7:3 進行萃取-脫附實驗後，以 SEM 觀察表面結果，從圖 4-24(1)PBA 的 SEM 圖可看出，萃取後表面平滑，與萃取前相同；而圖 4-24(2)共聚物經過萃取後，表面皺摺依舊存在，因此可判斷萃取-脫附實驗，並不會對萃取劑性質造成影響。

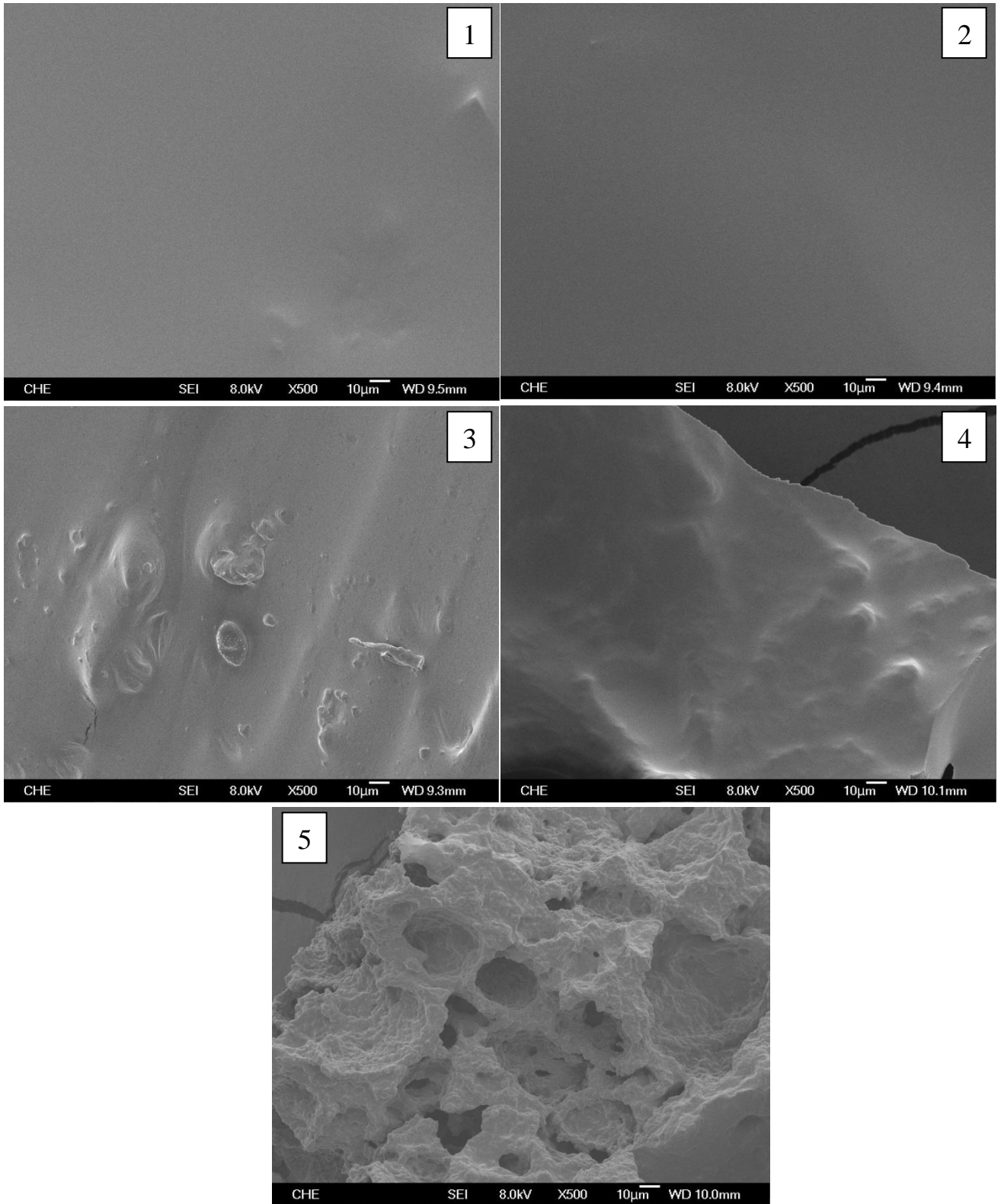


圖 4- 23 不同 BA-co-AA 比例 SEM 圖

(1)PBA (2)BA:AA=9:1 (3)BA:AA=7:3 (4)BA:AA=5:5 (5)PAA

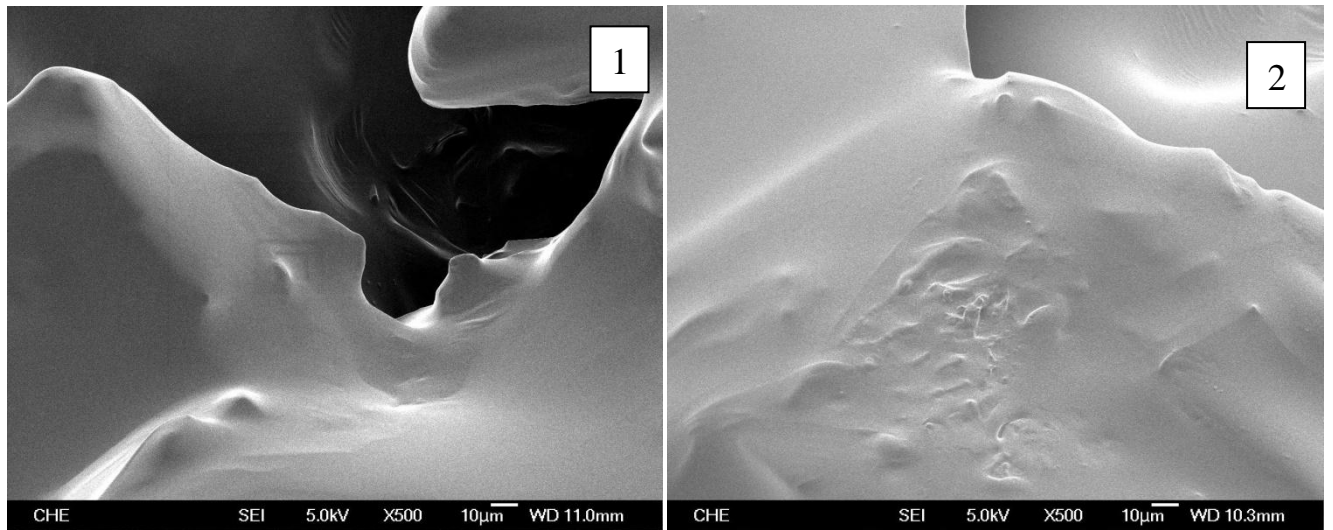


圖 4- 24 PBA 和 BA : AA=7 : 3 萃取後 SEM 比較

(1)PBA (2)BA : AA=7 : 3

4.4.2 熱重分析儀(TGA)

熱重量分析儀(Thermogravimetric Analyzer ; TGA)是用於測量樣品材料在特定溫度條件下的重量變化情形的儀器；其主要原理是將樣品置於一個可透過程控式升溫、降溫或恆溫的加熱爐中，通入固定的環境氣體條件下(例如：氮氣或氧氣)，當溫度上升至樣品中某一材料成分的蒸發溫度、裂解溫度、氧化溫度時，樣品會因為蒸發、裂解、氧化而造成重量損失，記錄樣品隨溫度或時間的重量變化，即可判定材料的裂解溫度、熱穩定性、成分比例、樣品純度、水分含量、還原溫度及材料的抗氧化性等特性；本實驗使用的是氮氣環境條件。

由圖 4-25 是 PBA 的 TGA 分析圖，可以知道 PBA 最大裂解溫度為 413.20°C，到 600°C 重量損失為 97.60%；而圖 4-26 是 PAA 的 TGA 分析圖，由於聚丙烯酸含有大量的羧基(-COOH)，所以 PAA 在一百多度下，其中少量的羧基會形成酸酐脫去水造成重量的損失，而在兩百多度下時，大量的羧基脫去水而形成酸酐，而在三百多度時會形成酮類，最後當溫度高於 350°C 時主鏈也會進行瓦解而進一步完全裂解 [33]，因此可以發現其在 322.76°C 和 429.62°C 都有明顯裂解情形。

圖 4-27 與圖 4-28 分別為不同 BA 與 AA 比例的重量損失圖和重量損失對溫度的一次微分圖，由圖 4-3 可以發現，隨著 AA 量的添加，裂解溫度有逐漸上升的趨勢，共聚物 BA:AA=9：1、7：3、5：5，裂

解溫度分別可以達 414.60°C 、 418.04°C 、 421.64°C ，所以添加 AA 有助裂解溫度的提升。

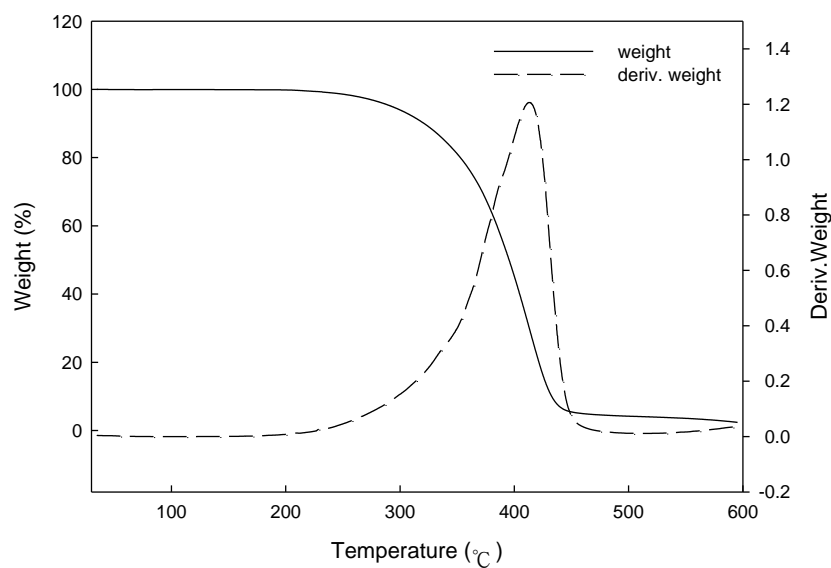


圖 4- 25 PBA TGA 分析圖

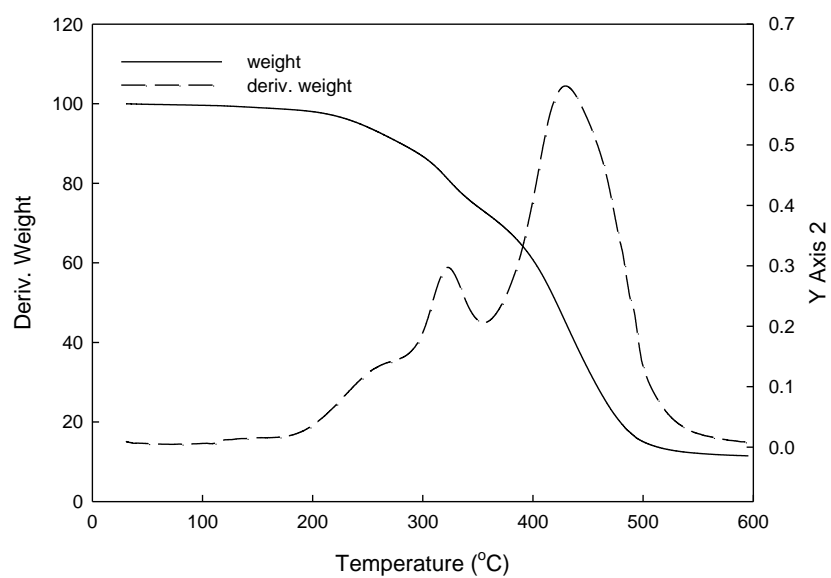


圖 4- 26 PAA TGA 分析圖

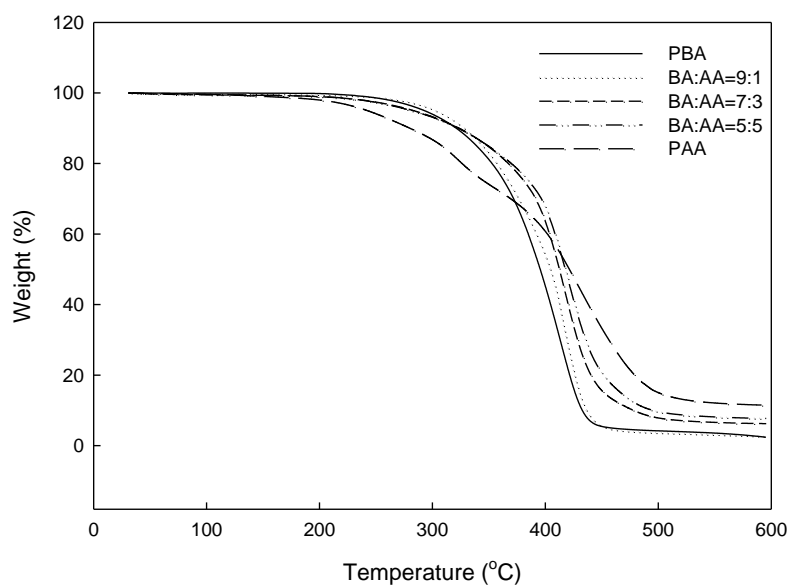


圖 4-27 不同比例 BA-co-AA 重量損失圖

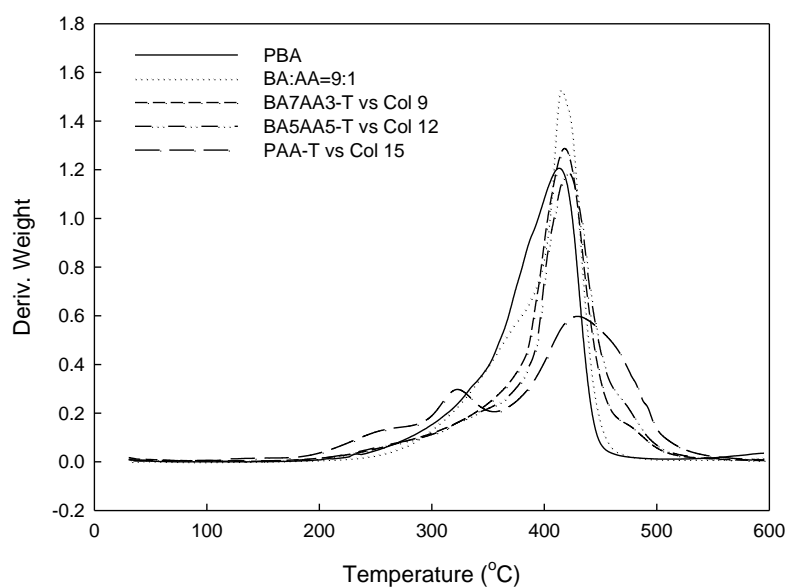


圖 4-28 不同比例 BA-co-AA 重量損失對溫度一次微分圖

接著探討高分子萃取前後重量損失的情形，首先測試均聚物 PBA，本實驗將未進行萃取，以及進行一次、二次、三次脫附-萃取實驗後

的 PBA，分別以 TGA 分析，觀察其變化；圖 4-29 為重量損失比較，可發現萃取前後的圖形幾乎完全重疊，圖 4-30 是重量損失對溫度一次微分圖，發現在進行萃取-脫附實驗後的 PBA，在 300°C 左右會多一個峰，推測其與為酯基水解後產生的羧基有關；另外，實驗還以 TGA 觀察脫附後丁醇水溶液殘留情形，由於脫附溫度設在 150°C，因此表 4-9 為 TGA 溫度至 150°C 高分子萃取劑重量損失比較，發現進行萃取-脫附實驗後，萃取劑損失的總量都比未萃取高，因此判定水溶液會殘留在萃取劑中，無法完全脫附，與脫附實驗結果符合；且萃取-脫附實驗進行到第二次和第三次，重量損失也會增加，研判丁醇水溶液會在高分子內累積，將影響重覆實驗萃取能力。

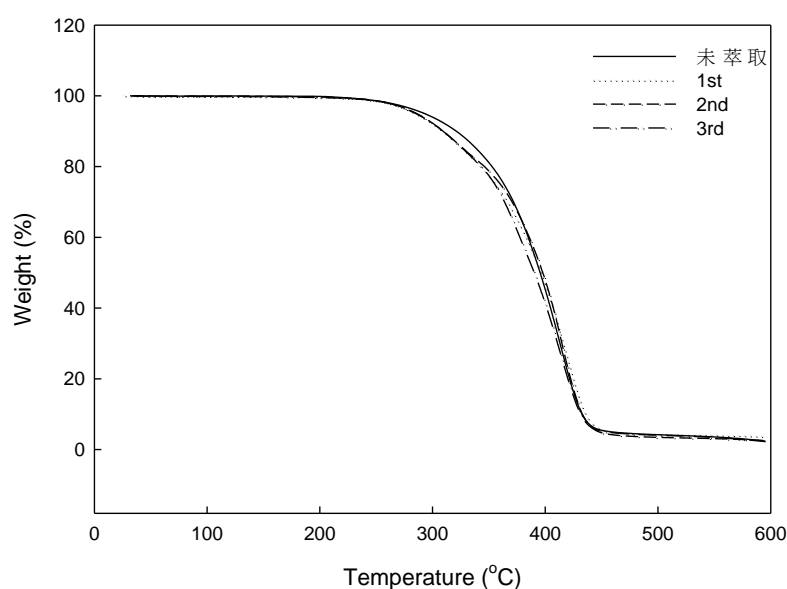


圖 4- 29 PBA 萃取實驗前後重量損失圖

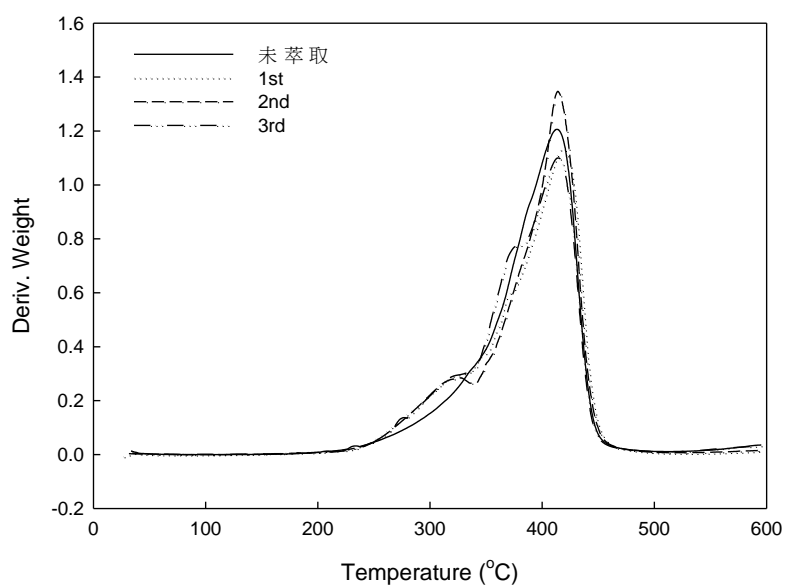


圖 4- 30 PBA 萃取實驗前後重量損失對溫度一次微分圖

表 4- 9 PBA 萃取前後 TGA 結果

PBA	萃取劑 150°C 損失重量 (%)
未萃取	0.0564
萃取-脫附 1 st	0.0910
萃取-脫附 2 nd	0.1531
萃取-脫附 3 rd	0.2550

接著將 BA:AA=7:3 共聚物的比較，本實驗將未進行萃取，以及進行一次、二次、三次脫附-萃取實驗後的共聚物，分別以 TGA 分析，觀察其變化；圖 4-31 為重量損失圖，發現未萃取、第一次萃取-脫附、第二次萃取-脫附、第三次萃取-脫附，四條線幾乎重疊；圖 4-32 則為一次微分圖，其裂解溫度也無太大變化，可推斷進行萃取-脫附實驗並不會影響共聚物熱裂解溫度；表 4-10 為 TGA 溫度至 150°C 共聚物重量損失比較，萃取次數愈多，重量損失越多，推測丁醇水溶液將累積在共聚物內，而與 PBA 相較，重量損失都增加，因為 AA 的強吸水性，導致進入共聚物內溶液較多，可能造成殘留在內的水也多。

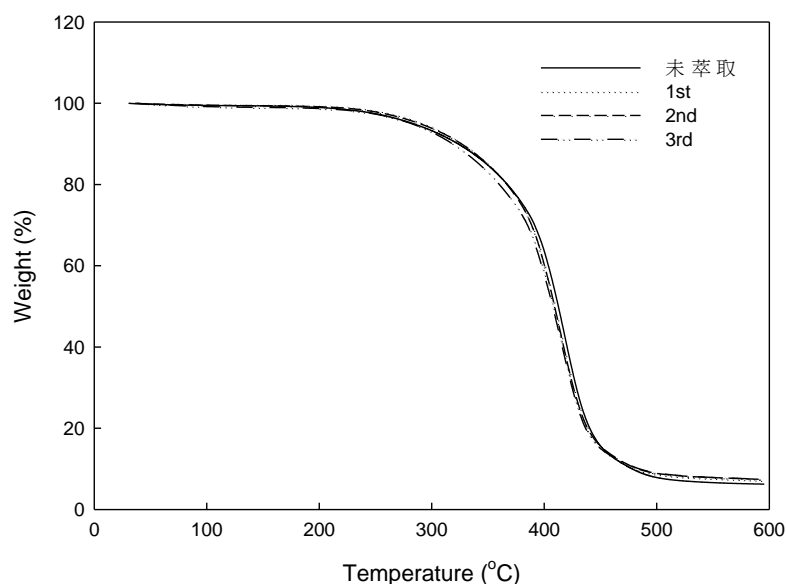


圖 4-31 BA-co-AA 共聚物萃取實驗前後重量損失圖

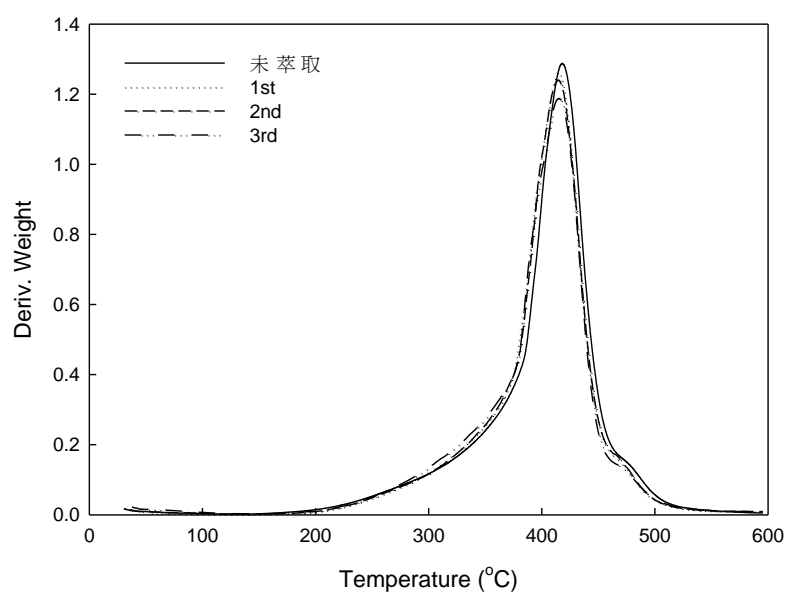


圖 4- 32 BA-co-AA 共聚物實驗前後重量損失對溫度一次微分圖

表 4- 10 BA-co-AA 共聚物萃取前後 TGA 結果

BA : AA=7 : 3	萃取劑 150°C 損失重量 (%)
未萃取	0.2151
萃取-脫附 1 st	0.3540
萃取-脫附 2 nd	0.6291
萃取-脫附 3 rd	1.0323

4.4.3 傅立葉轉換紅外線光譜儀(IR)

紅外線光譜儀原理是當分子中的原子間發生振動或轉動時，會吸收特定的能量，一般而言，分子轉動及振動所吸收的能量範圍在紅外線的範圍，即形成 IR 光譜。由於每一特定的分子振動或轉動時，均會有特定波長的吸收，因此可藉由 IR 光譜做為鑑定分子結構的工具。

圖 4-33 分別為 PBA 未萃取前以及同一萃取劑分別進行一次、二次、三次脫附-萃取實驗後進行 FT-IR 分析；從結果可發現，萃取前後的官能基無太大變化，在波長 $1700-1800\text{ cm}^{-1}$ 有明顯酯基，經過萃取-脫附實驗後，此峰略為向右偏移，推測原因為若干酯基水解後產生羧基，而羧基在波長 $1627、1710\text{ cm}^{-1}$ 有特徵峰[34]，此結果可驗證 TGA 推斷酯基水解產生酸的結果；在波長 3500 cm^{-1} 為 OH 基，從圖上可看出，隨著萃取次數增加，OH 基吸收度也會變大，證明丁醇水溶液將會累積在高分子內，與脫附實驗結果相符。

圖 4-34 則是共聚物 BA：AA=7：3 未萃取前以及同一萃取劑分別進行一次、二次、三次脫附-萃取實驗後進行 FT-IR 分析結果，由圖可發現特徵峰並無明顯變化，推測萃取-脫附實驗不會對共聚物鏈結產生破壞。

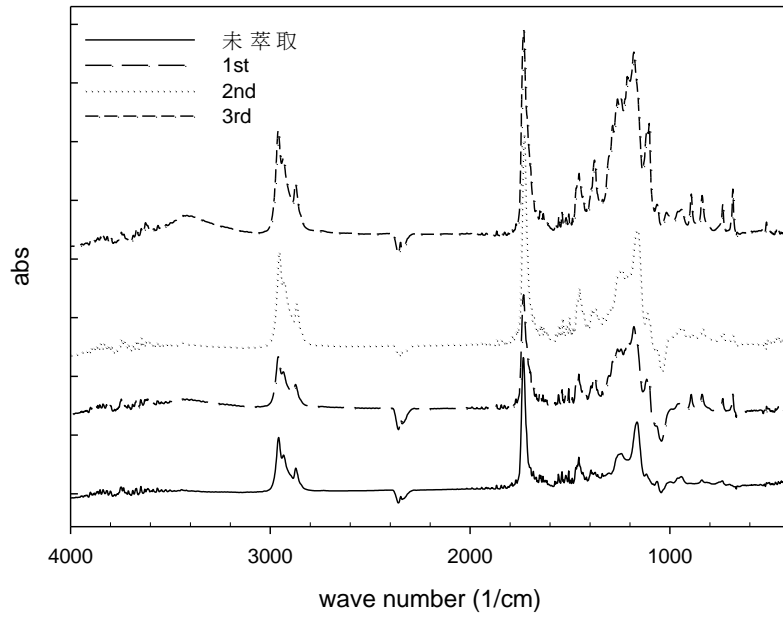


圖 4- 33 PBA 萃取實驗進行前後 IR 比較圖

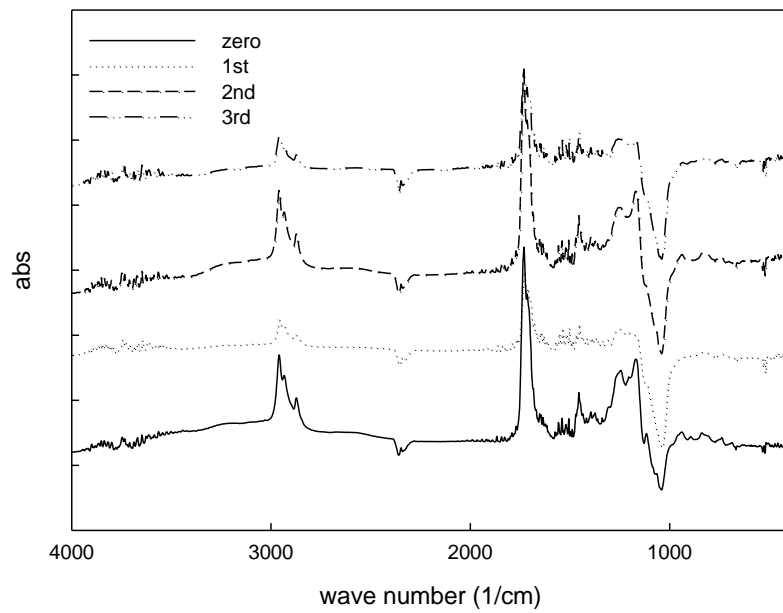


圖 4- 34 BA-co-AA 共聚物萃取實驗進行前後 IR 比較圖

4.5 ABE 發酵搖瓶實驗

4.5.1 碳源添加量探討

ABE 發酵實驗是與系上生物實驗室共同合作，發酵將以葡萄糖做為碳源，本實驗將探討不同葡萄糖濃度對發酵影響，觀察葡萄糖消耗情形以及丁醇生產對菌株抑制影響，以確定之後添加萃取劑實驗條件，根據文獻[35]，實驗用菌株 *Clostridium acetobutylicum* 在葡萄糖為碳源 80 g/L，發酵實驗進行 3 天將會用完，而為了驗證添加萃取劑是否能夠減低丁醇抑制作用，使發酵持續進行，實驗將以 80 和 100 g/L 濃度葡萄糖進行比較。

圖 4-35 和 4-36 為葡萄糖 80 g/L 發酵情形，發現葡萄糖隨著發酵進行逐漸下降，當發酵達 60 小時葡萄糖濃度剩 3.2 g/L，接著幾乎不再消耗，推測原因為此時發酵液丁醇濃度已達明顯抑制濃度，導致葡萄糖消耗緩慢；而 biomass 則在發酵時間 0 到 24 小時快速生長，之後將伴隨著丁醇濃度增高，抑制作用導致菌株受到毒化，沉降至底部或分解，因此 biomass 緩慢下降；pH 值由發酵培養基一開始設定的 pH 4.8，當發酵開始進行，初期先產生丁酸、乙酸等中間產物，造成 pH 下降，當發酵進入產溶劑期，pH 值又會開始上升，由圖中可以看出，產酸期和產醇期的分界大約在 24 小時，此時 biomass 量快速增

加，有機酸濃度最高，葡萄糖消耗快速，而丁醇產量也急速增加。

圖 4-36 為 80 g/L 葡萄糖 ABE 發酵溶劑生產情形，其中丁酸和乙酸分別為丁醇、丙酮和乙醇前產物；當發酵開始進行時，丁酸和乙酸會先產出，發酵時間達 24 小時，酸產量達到最高，之後開始下降，發酵時間達 60 小時後，碳源用完也將不再產酸；丁醇則是此發酵程序最主要產物，伴隨丁酸的產生，酸轉醇程序也會開始，丁酸在 24 小時濃度達到最高，此時丁醇濃度也快速累積，發酵進行至 60 小時，丁醇濃度達到 10 g/L，之後趨於平緩，根據文獻，丁醇濃度過高在發酵程序中會對菌株 *Clostridium acetobutylicum* 有毒化作用，發酵受到抑制[6]，使丁醇生產緩慢或不再生產；而乙酸則是丙酮和乙醇的前產物，由圖可發現當發酵進行至 24 小時濃度最高，此與丁酸相同，當乙酸消耗完畢，丙酮和乙醇濃度也不再增加；由最後發酵 72 小時產量來看，丁醇：丙酮：乙醇約為 6：3：1，也與文獻相符[6]。

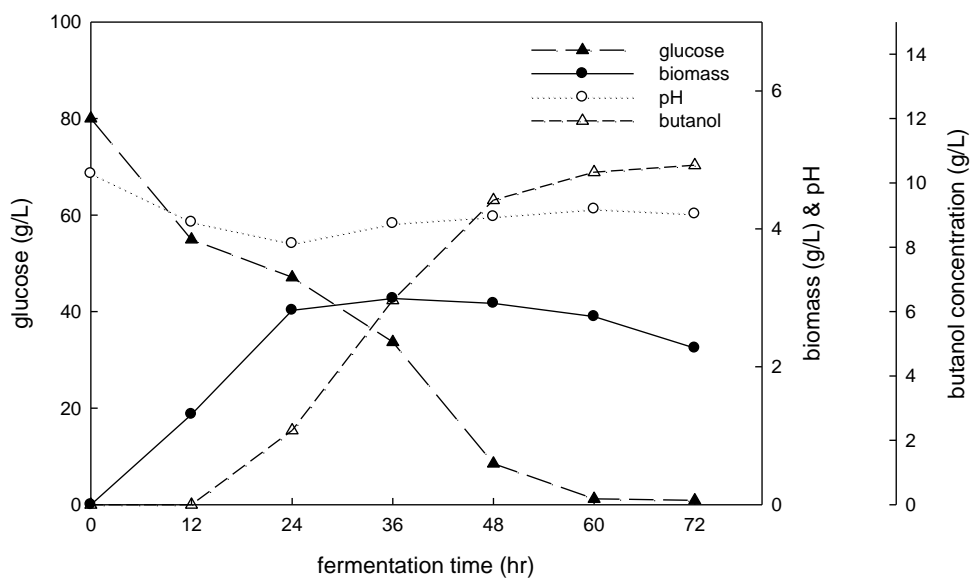


圖 4- 35 不同葡萄糖濃度 ABE 搖瓶實驗發酵情形(80 g/L)

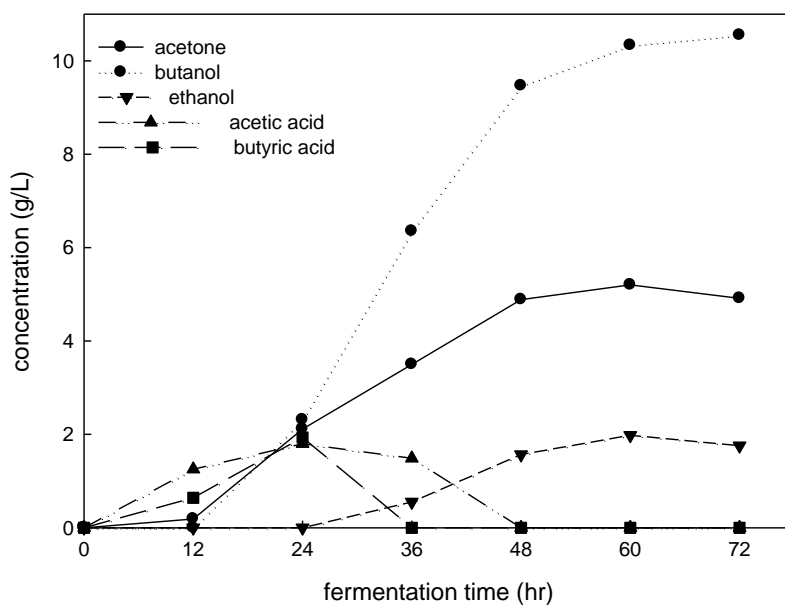


圖 4- 36 不同葡萄糖濃度 ABE 搖瓶實驗產物生產情形(80 g/L)

此實驗結果發現 80 g/L 葡萄糖在發酵進行 60 小時幾乎用光，此時葡萄糖濃度到達 10 g/L，為了進一步確認發酵中止原因，主要是受到丁醇濃度抑制影響或是無碳源使得發酵不再進行，因此將進行 100 g/L 葡萄糖的實驗。

圖 4-37 和 4-38 是添加 100 g/L 葡萄糖為碳源進行 ABE 發酵結果，由於碳源增加，因此將發酵時間拉長至 96 小時進行觀察；葡萄糖在發酵時間 0-24 小時快速消耗，之後消耗速度開始減緩，情形與 80 g/L 相同，而當發酵達 72 小時，葡萄糖約剩 20 g/L 不再消耗，此刻丁醇濃度也達到最高，推測原因此時菌株受到抑制作用影響，導致發酵速度緩慢；而 biomass 在發酵進行 24 小時達到最高，之後伴隨著菌株失去活性、分解，導致 biomass 下降；pH 值則因為發酵初期為產酸期，由培養基設定 4.8 下降至 4.2，轉為產醇期後將會上升至 4.45。

圖 4-38 是 100 g/L 葡萄糖溶劑生產情形，乙酸和丁酸在發酵開始先產出，在 24 小時達到最高，進入產醇期後，酸逐漸消耗，因此濃度下降，發酵時間達 72 小時，乙酸和丁酸皆不再下降，推斷原因為丁醇濃度已達到最高，丁醇抑制作用明顯，因此酸不再轉為醇；丁醇為發酵主產物，伴隨著丁酸產生快速累積，但濃度到 10 g/L 後，丁醇生產緩慢，而丙酮和乙醇也有相同情形，與丁酸結果一樣，因為過高

丁醇濃度對菌株 *Clostridium acetobutylicum* 有毒化作用，造成菌株活性降低或分解死亡，影響 ABE 發酵進行。

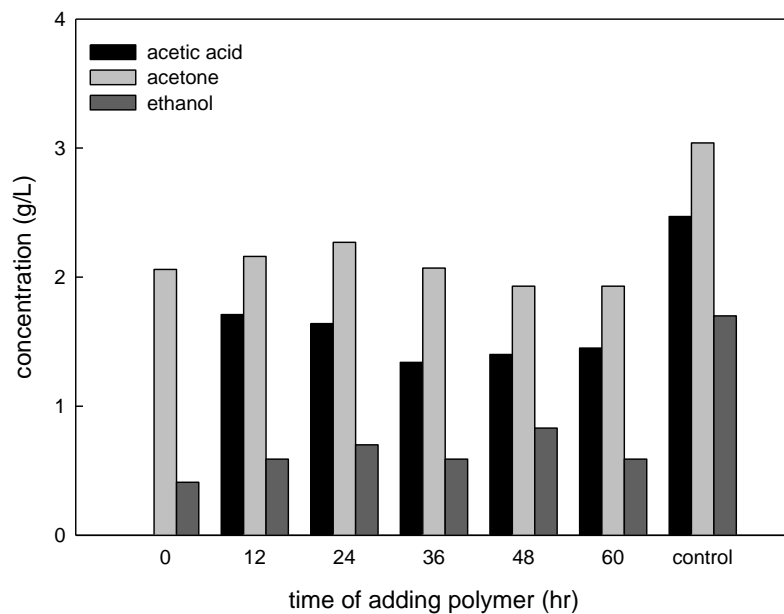


圖 4- 37 不同葡萄糖濃度 ABE 搖瓶實驗發酵情形(100 g/L)

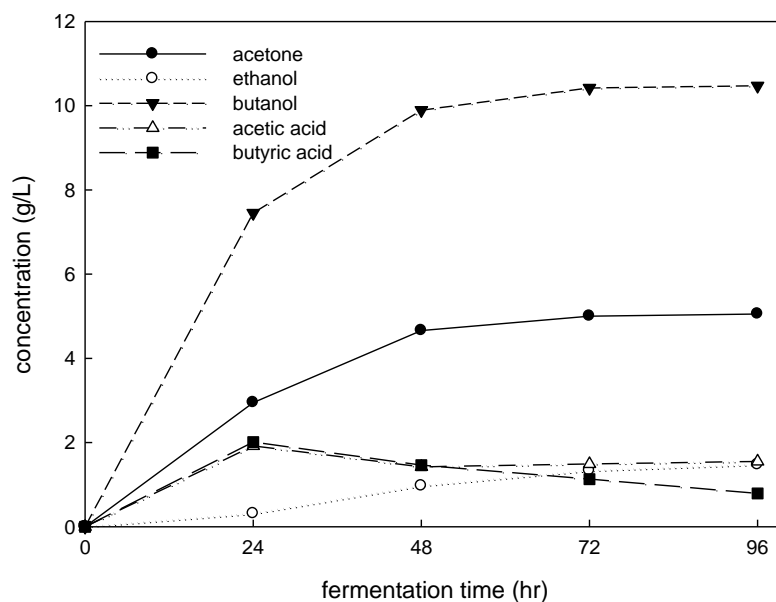


圖 4- 38 不同葡萄糖濃度 ABE 搖瓶實驗產物生產情形(100 g/L)

將兩種不同濃度葡萄糖生產情形進行比較，結果為圖 4-39 至 4-41，圖 4-39 首先進行葡萄糖比較，當發酵進行到 24 小時，葡萄糖濃度 100 g/L(高碳源)下降速度較 80 g/L(低碳源)快，發酵進行至 48 小時，80 g/L 低碳源幾乎消耗完畢，高碳源則降至 25 g/L，當發酵進行至 72 小時，兩種不同濃度碳源幾乎不再消耗，推斷原因是丁醇濃度已達對菌株產生抑制和毒化效果；兩種不同碳源濃度的 biomass 在發酵時間 0 到 24 小時皆快速生成，其中高碳源在發酵時間過 24 小時後明顯下降，研判由於葡萄糖消耗快速，丁醇累積濃度較快，因此抑制作用明顯，biomass 下降明顯，低碳源則因生成較為緩慢，產丁醇速度也較慢，則抑制作用較不明顯，biomass 呈緩慢下降，且根據葡萄糖消耗速度低碳源較高碳源慢，生產丁醇速度則相對慢，biomass 受到丁醇濃度抑制作用較小，因此低碳源 biomass 整體將高於高碳源；pH 值兩者不同碳源濃度皆從培養基設定的 4.8 開始下降，但高碳源初期消耗較快，產醇速率也加快，酸轉醇較多，高碳源累積丁醇速率較低碳源快，因此 pH 值也較高。

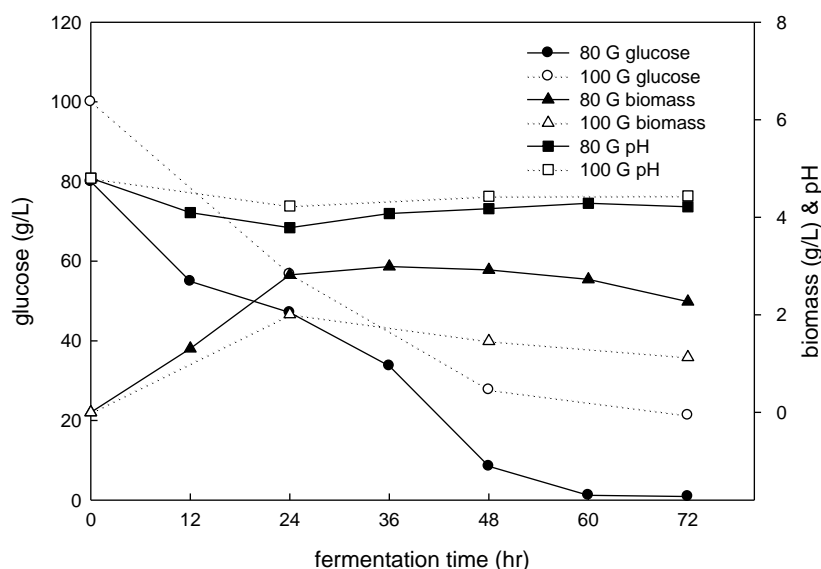


圖 4-39 不同葡萄糖濃度對 ABE 發酵的生產情形影響

ABE 發酵主產物為丁醇，而丁酸為丁醇前產物，圖 4-40 為不同葡萄糖濃度進行發酵，丁酸和丁醇生產情形，當發酵達 24 小時，兩種碳源濃度丁酸皆達到最高，高碳源略高於低碳源，且根據圖 4-36 可發現高碳源在發酵時間 0-24 小時消耗速率較快，因此丁醇濃度累積也高於低碳源，當發酵進行到 48 小時後，低碳源由於葡萄糖消耗完畢，不再生產丁酸，丁醇濃度也幾乎不再上升，維持在 10 g/L，而高碳源則從一開始快速生產，當發酵進行到 48 小時，濃度累積在 10 g/L 左右，此時丁醇抑制效果明顯，導致葡萄糖消耗遲緩，丁酸轉丁醇速率慢，產量也受到影響呈緩慢上升。

乙酸則為乙醇和丙酮前產物，圖 4-41 討論不同碳源濃度下其生產情形；乙酸在發酵時間 0-24 小時快速生成，24 小時濃度達到最高，

與丁酸一樣，高碳源會略高於低碳源，因為高碳源發酵初期葡萄糖消耗速率較快，產酸速率也加快，發酵進行 48 小時，低碳源葡萄糖用光不再產酸，乙醇和丙酮也不再生成，高碳源則由於此時丁醇毒化效應明顯，導致此時酸轉醇速率變慢，乙酸轉乙醇和丙酮也受到影響，在發酵時間 48-72 小時，乙酸緩慢消耗，則乙醇和丙酮濃度則慢速增加。

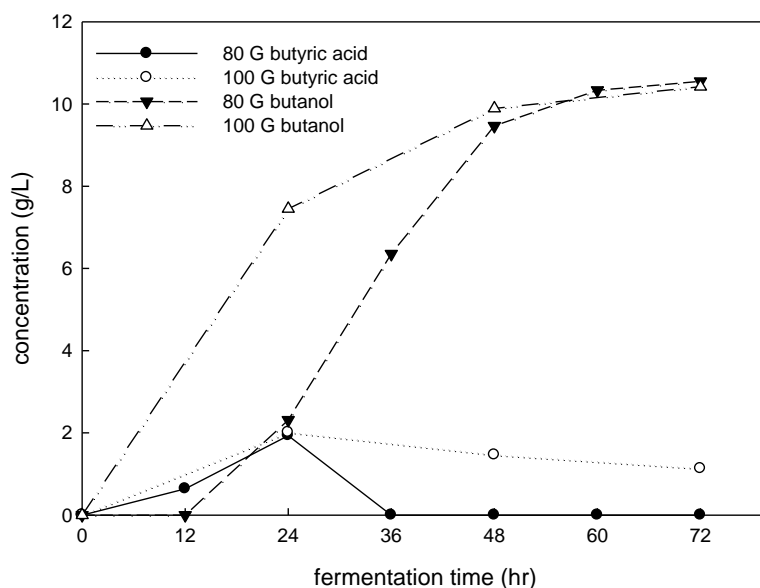


圖 4-40 不同葡萄糖濃度丁酸和丁醇生產情形比較

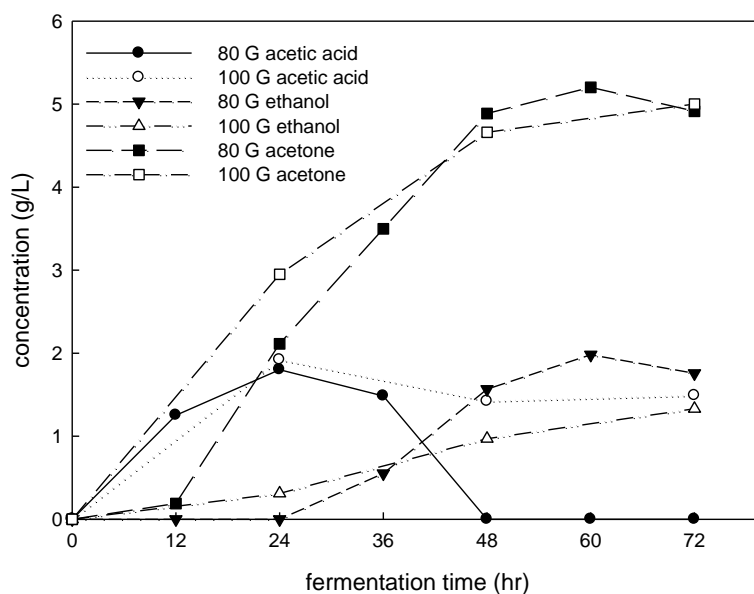


圖 4-41 不同葡萄糖濃度乙酸、乙醇和丙酮生產情形比較

實驗目的為確認添加高分子萃取劑降低丁醇抑制作用，使發酵能順利進行，實驗將以 100 g/L 做為實驗條件，觀察添加萃取劑後，葡萄糖能否繼續消耗，產生較多產物。

4.5.2 ABE 發酵添加萃取劑時間探討

在模擬丁醇溶液實驗中，得知均聚物PBA有良好的丁醇選擇率，而 BA-co-AA 共聚物則較有高丁醇分配系數，因此將選擇此兩種萃取劑在 ABE 發酵實驗進行萃取，其中共聚物部分將選擇 BA：AA 比例為 7：3 進行實驗，因其丁醇分配系數(3.87)高於常用於液-液萃取的萃取劑油醇(3.8)，且相較於 BA：AA=5：5 有較好丁醇選擇率，因此將此兩種萃取劑實際應用在 ABE 發酵中；本實驗將探討在發酵開始後的 0、12、24、36、48、60 小時添加萃取劑，添加量為萃取劑：發酵液重量比為 1：2，發酵時間皆為 72 小時，即萃取劑分別在發酵液中萃取 72、60、48、36、24、12 小時結果，分析發酵液中葡萄糖用量、biomass 生長、pH 值變化還有溶劑生產情形，判斷萃取劑是否減少丁醇抑制作用，並有益發酵進行，並且觀察添加時間不同對發酵影響；實驗葡萄糖添加濃度為 80 g/L，控制組則為未添加萃取劑以進行比較。

圖 4-42 是萃取劑 PBA 添加後實驗結果，在葡萄糖部份，PBA 添加時間在 0、12、24、36、48 小時，在發酵進行到 72 小時皆用完，而 60 小時添加萃取劑葡萄糖剩 3.2 g/L，研判原因是發酵進行 60 小時後，丁醇累積濃度已達到抑制作用，biomass 失去活性，無法進行產酸程序，此時添加萃取劑無法幫助發酵進行，其他時間添加萃取劑最

後 biomass 濃度都比控制組低，原因是此 ABE 發酵為批次實驗，當葡萄糖用完後，即沒有碳源可供其生長，將造成其死亡、分解，因此 biomass 濃度偏低；pH 值則因為萃取劑萃取產物丁醇、乙醇等含有-OH 基產物，將使添加萃取劑 pH 值略低於控制組。

由於主產物丁醇必須先由葡萄糖轉化為丁酸後，才能轉產丁醇，圖 4-43 將比較在不同時間添加 PBA，發酵進行 72 小時後丁酸和丁醇生產情形；從圖可看出，大部份不同時間添加萃取劑都會殘留丁酸，無法完全轉醇，推測原因為當葡萄糖消耗完畢，biomass 無碳源可供其生長，因此 biomass 死亡分解情形明顯，造成其濃度快速下降，沒有足夠的 biomass 能完全將酸轉醇，而殘留在發酵液中；發酵液丁醇濃度在不同時間添加萃取劑，當發酵進行 72 小時取樣發酵液濃度皆低於控制組，而越早添加萃取劑因萃取時間久，則發酵液濃度會較低，但差異不大，濃度皆維持在 6 g/L，說明 PBA 為能快速萃取丁醇的固態萃取劑。

圖 4-44 則為不同時間添加 PBA 萃取劑，乙酸、丙酮、乙醇生產情形，乙酸與丁酸結果類似，添加高分子後，使得碳源較快用完，biomass 失去活性將無法進行酸轉醇，乙酸殘留於發酵液；而乙醇和丙酮生產情也與丁醇結果相似，添加 PBA 後發酵液中濃度皆低於控制組，丙酮維持在 2 g/L，乙醇約 0.6 g/L。

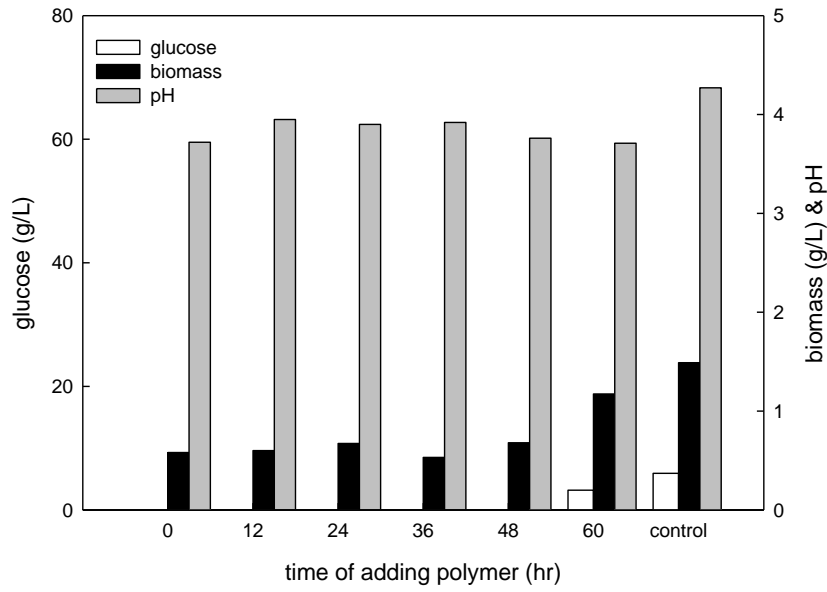


圖 4-42 萃取劑 PBA 添加時間對 ABE 發酵影響

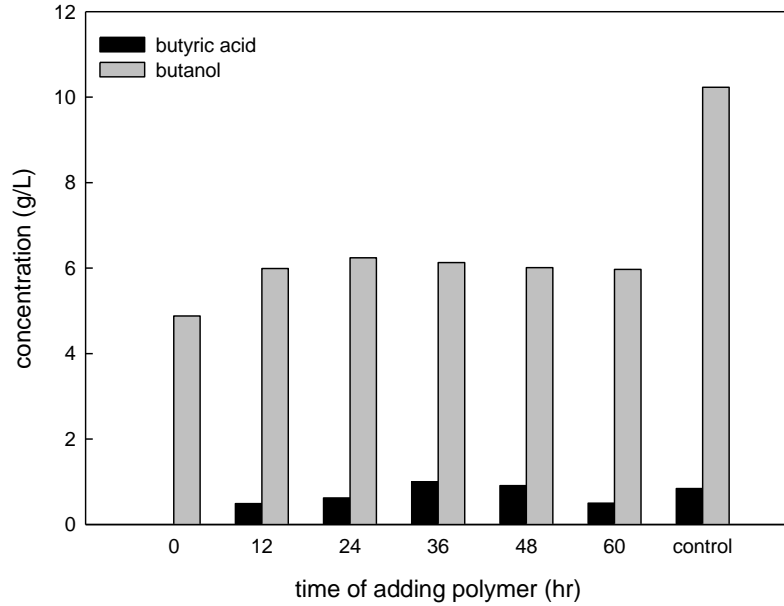


圖 4-43 萃取劑 PBA 添加時間對丁酸和丁醇生產影響

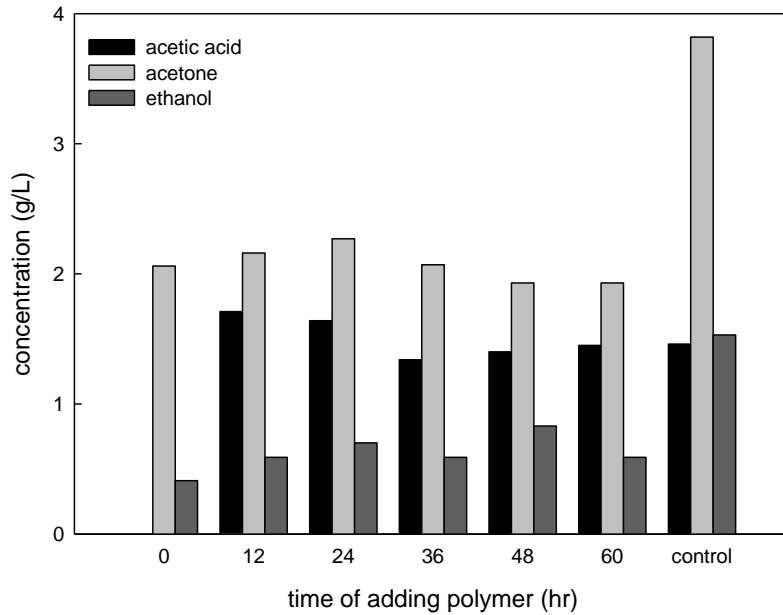


圖 4-44 萃取劑 PBA 添加時間對乙酸、乙醇和丙酮生產影響

圖 4-45 則為不同時間添加 BA:AA=7:3 萃取劑於 ABE 發酵中，發酵時間為 72 小時實驗結果；從葡萄糖部分可以發現，越早添加萃取劑，葡萄糖消耗越少，圖 4-46 將添加萃取劑前後做比較，其中添加後為發酵進行 72 小時結果，由圖可發現葡萄糖幾乎沒有消耗，研判 AA 會釋放 H^+ 離子，影響發酵液 pH 值，過酸環境使菌株產酸轉醇速度緩慢；而 biomass 在 0 小時添加當發酵進行 72 小時後，只有 0.2 g/L，其餘時間添加皆比控制組高，推斷原因是 AA 應不會造成菌株死亡，而是其他原因影響發酵進行，之後實驗也將進一步探討並改善共聚物萃取劑；pH 值結果皆在 4 左右，與萃取劑 PBA 相比，都略低

一些，可證明 AA 會釋放 H^+ 離子，可能為影響發酵進行原因之一。

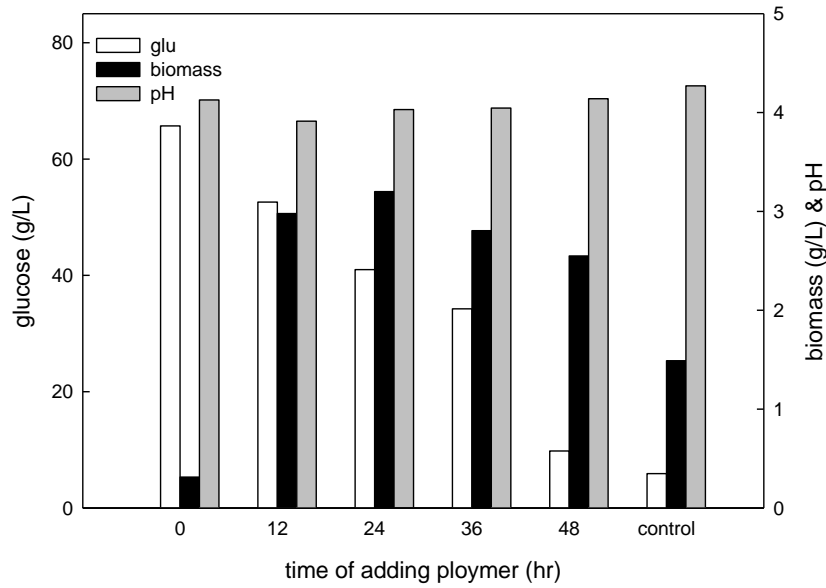


圖 4- 45 萃取劑 BA : AA=7 : 3 添加時間對 ABE 發酵影響

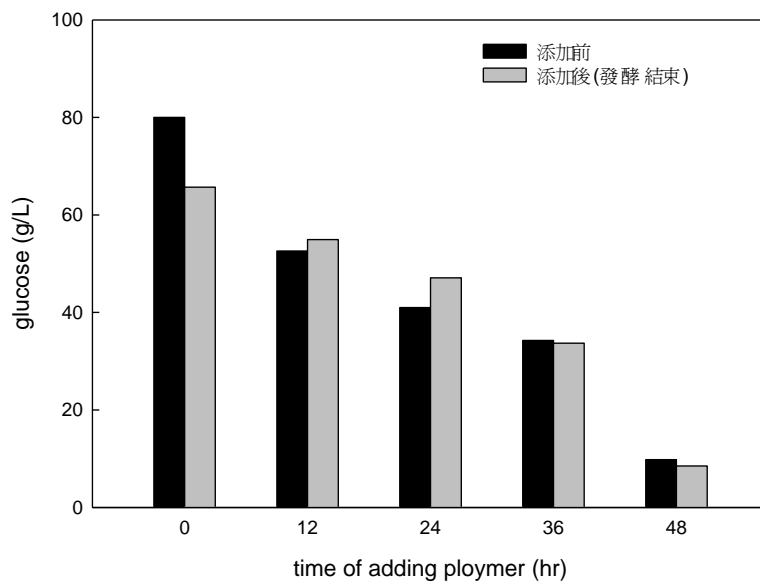


圖 4- 46 萃取劑 BA : AA=7 : 3 添加前後葡萄糖結果比較

圖 4-47、4-48 則為不同時間添加萃取劑 BA:AA=7:3 溶劑生產結果，根據圖 4-37 的葡萄糖消耗情形，當加入萃取劑後，葡萄糖消耗速率緩慢，可能因為過酸環境下，影響 biomass 活性，進而導致酸轉醇代謝遲緩，丁酸、乙酸無法轉成丁醇、丙酮、乙醇殘留在發酵液，此時共聚物萃取劑添加只剩萃取作用，無法加快發酵進行，而 BA-co-AA 萃取劑相較於 PBA 有較佳萃取丁醇能力，因此丁醇濃度相較於控制組偏低許多。

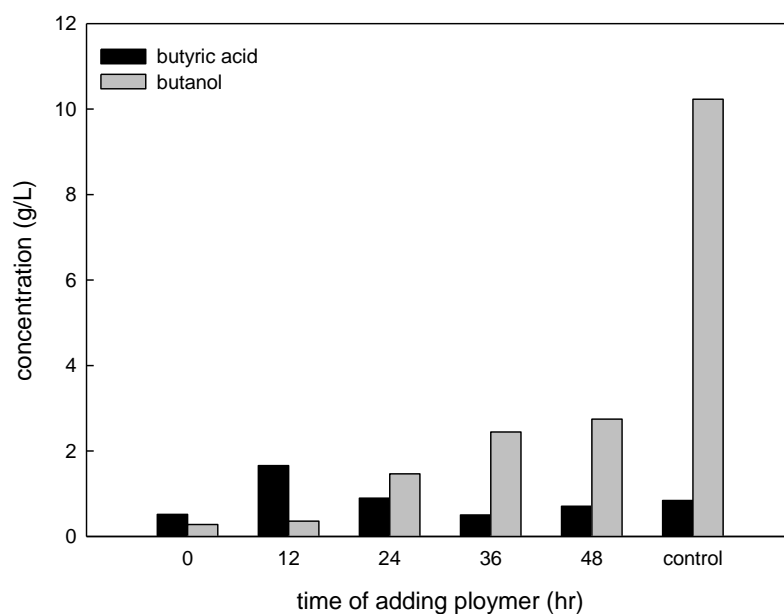


圖 4-47 萃取劑 BA:AA=7:3 添加時間對丁酸和丁醇生產影響

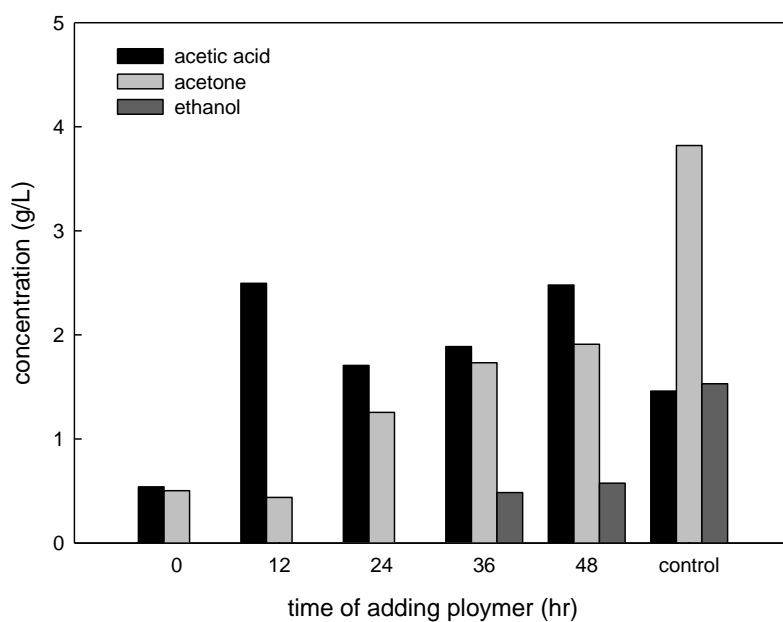


圖 4- 48 萃取劑 BA : AA=7 : 3 添加時間對乙酸、乙醇和丙酮生產影響

根據此兩種萃取劑實驗結果，可以得知均聚物 PBA 能加快碳源葡萄糖消耗，發酵液中丁醇濃度也有效降低，若在丁醇濃度尚未達到抑制作用添加萃取劑，皆能使發酵持續進行，為一可用固態萃取劑，往後實驗萃取劑添加時間選擇較早添加，增加萃取時間；而加入 AA 的 BA-co-AA 共聚物，葡萄糖消耗情形不佳，導致產量減少，研判 AA 為有毒性單體，往後實驗將嘗試改善共聚物，使其能應用於 ABE 發酵中。

4.6 ABE 發酵萃取-脫附實驗

實驗將以萃取劑 PBA，碳源是葡萄糖 100 g/L 進行 ABE 發酵實驗，先前章節 4.5.2 實驗證明 PBA 對發酵無害，並可加速葡萄糖消耗，本實驗將選擇在進行 0 和 24 小時加入萃取劑，增加在發酵液中萃取時間，實驗每隔 24 小時取樣，進行葡萄糖、biomass、pH 值和發酵液溶劑濃度分析，最後再以真空脫附將產物取出，計算產量進行比較。

4.6.1 ABE 發酵添加 PBA 動態萃取實驗

圖 4-49 是 PBA 動態萃取葡萄糖消耗結果，從控制組發現，葡萄糖在發酵進行至 24 小時快速下降，之後速度減慢，48 小時濃度為 20 g/L 後，幾乎不再下降，此時丁醇應達明顯抑制濃度，造成葡萄糖消耗緩慢，0 小時添加 PBA 則在發酵進行到 24 小時相對於控制組有較快的葡萄糖消耗速率，原因是 PBA 在發酵液中萃取丁醇將使丁醇濃度降低，減少抑制作用後菌株將有較快的代謝速率，當發酵進行至 48 小時葡萄糖已消耗完畢，而 24 小時添加萃取劑，在發酵進行到 48 小時消耗完畢，結果顯示添加 PBA 萃取劑萃取丁醇，降低發酵液丁醇濃度，並有助於葡萄糖提升發酵速率。

圖 4-50 是添加 PBA 動態萃取 biomass 結果，首先觀察 0 小時添

加，當發酵進行至 24 小時，biomass 量較控制組高，推測 PBA 在發酵液中萃取丁醇，降低丁醇濃度，減少丁醇抑制 biomass 作用，當發酵達 48 小時 biomass 量快速降低，推測此時發酵液中無碳源，將使 biomass 無法代謝生長，因此將分解死亡；而 24 小時添加發酵至 48 小時，此時發酵液中無葡萄糖，因此將造成 biomass 也略低於控制組，當發酵進行至 72 小時，0 小時添加和 24 小時添加皆與控制組相差不大，因為此時添加 PBA 的發酵液中皆已無碳源存在，造成 biomass 死亡，而控制組則因丁醇濃度過高，biomass 受到毒化，因此 biomass 量皆不高；圖 4-51 以 SEM 觀察 PBA 其表面菌株附著情形，圖(1)為 0 小時添加發酵至 24 小時，菌株很明顯附在 PBA 上，且分布廣，圖(2)為發酵進行至 48 小時，可看到幾乎沒有菌株附著，因此證明 biomass 需要碳源以維持活性。

接著進行 pH 值探討，因為 pH 值受丁酸、乙酸等有機酸影響明顯，圖 4-52 將 pH 值與有機酸生產情形進行比較，發現 pH 值從一開始調控培養基為 4.8，發酵進行至 24 小時後，0 小時添加 PBA 因為葡萄糖消耗快速，產酸速率較快，且 PBA 還有萃取醇行為，造成 pH 值低於控制組，當發酵進行至 48 小時，此時添加 PBA 之葡萄糖皆消耗完畢，biomass 開始大量死亡分解，導致沒有足夠的 biomass 讓有機酸轉換為產物而殘留於發酵液內，造成 pH 值也較控制組低，此時

因 PBA 的萃取作用，此情況維持至發酵 72 小時更為明顯。

圖 4-53 為動態萃取 ABE 發酵生產情形，此結果為發酵液中結果，其中丁醇為實線，丙酮為長的短線，乙醇則為虛線，圓形為 0 小時添加 PBA，三角形為 24 小時添加 PBA，正方形為控制組；首先討論丁醇部分，當添加 PBA 後濃度都較控制組低，因為 PBA 對丁醇有快速萃取能力，當 0 小時添加伴隨丁醇生產即開始進行萃取，萃取達平衡後，之後生產的丁醇將逐漸在發酵液累積，因此丁醇濃度隨著時間呈緩慢上升，直到碳源用完丁醇不再生產，24 小時添加 PBA 後將快速萃取丁醇，造成丁醇濃度較控制組低，約在 7 g/L 左右，而當發酵進行至 48 小時，此時葡萄糖用完，濃度將不再累積。

丙酮則因其對發酵無害，但 PBA 對丙酮分配係數不高，只有 1.20，且萃取速度較慢，所以當發酵進行，乙酸將持續轉成丙酮，造成添加 PBA 發酵液中丙酮濃度將累積，在發酵到達 48 小時，添加 PBA 發酵中碳源已用光，但控制組尚有碳源，此時濃度將比控制組高。

乙醇則因分配係數只有 0.54，萃取量相當少，因此添加 PBA 與控制組在發酵液濃度中生產情形幾乎相同。

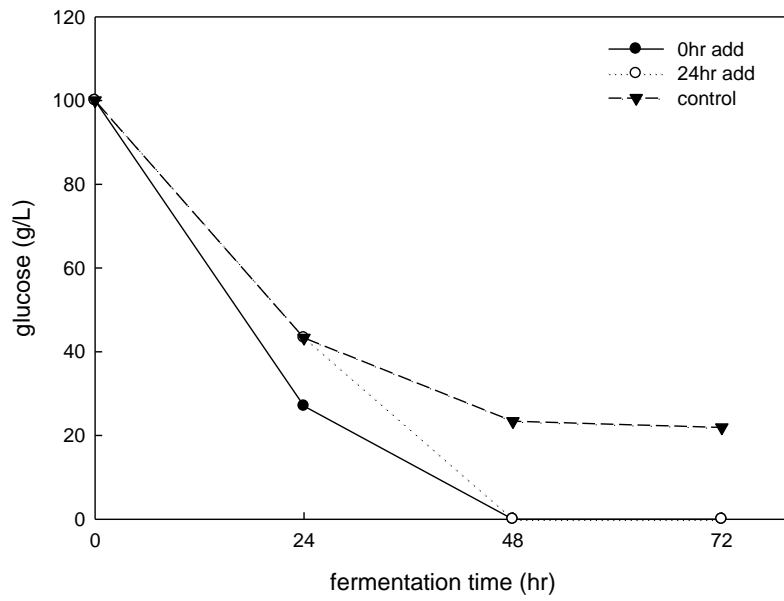


圖 4- 49 PBA 動態萃取之 glucose 結果

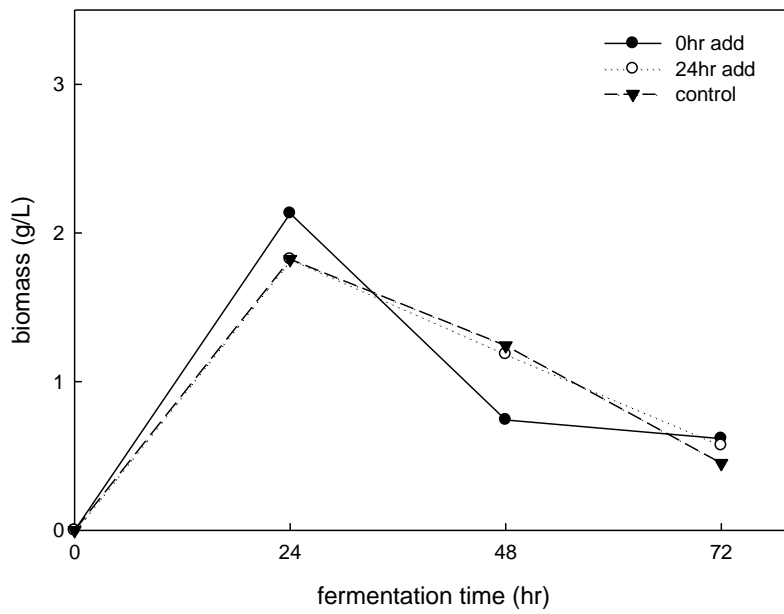


圖 4- 50 PBA 動態萃取之 biomass 結果

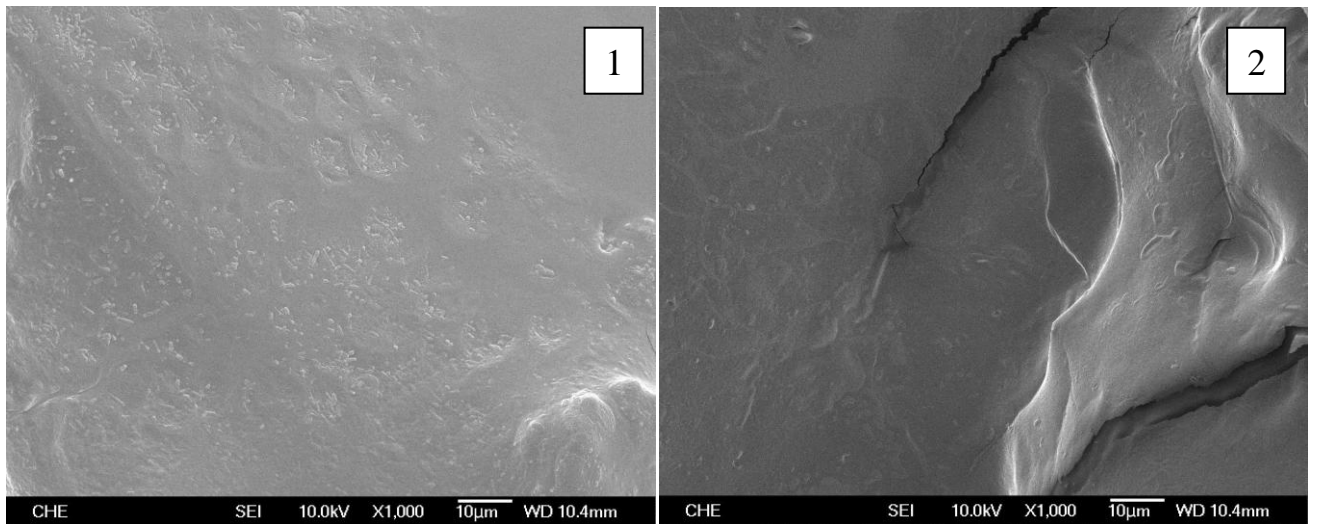


圖 4- 51 PBA 動態萃取之 SEM 結果

(1)0 小時添加發酵至 24 小時 (2)0 小時添加發酵至 48 小時

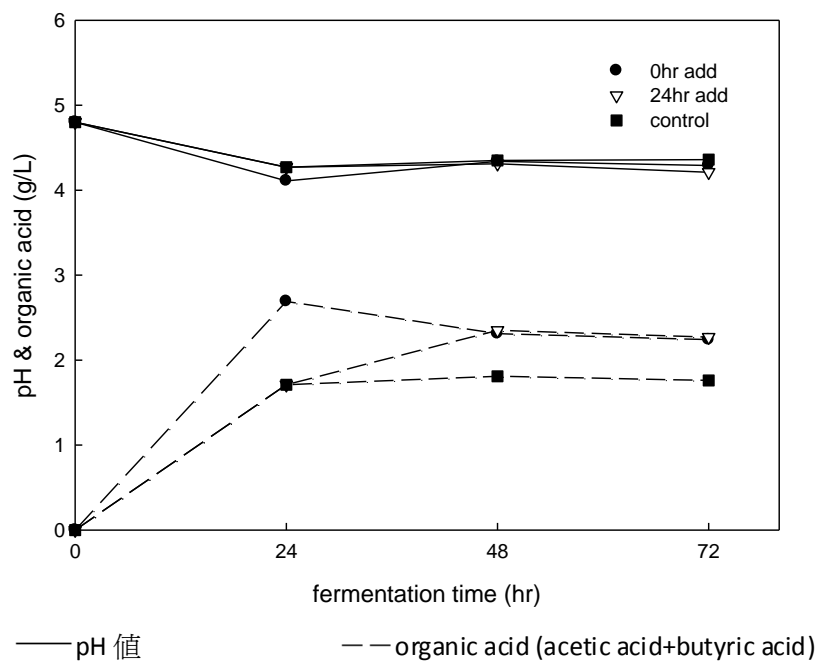


圖 4- 52 PBA 動態萃取之 pH 結果

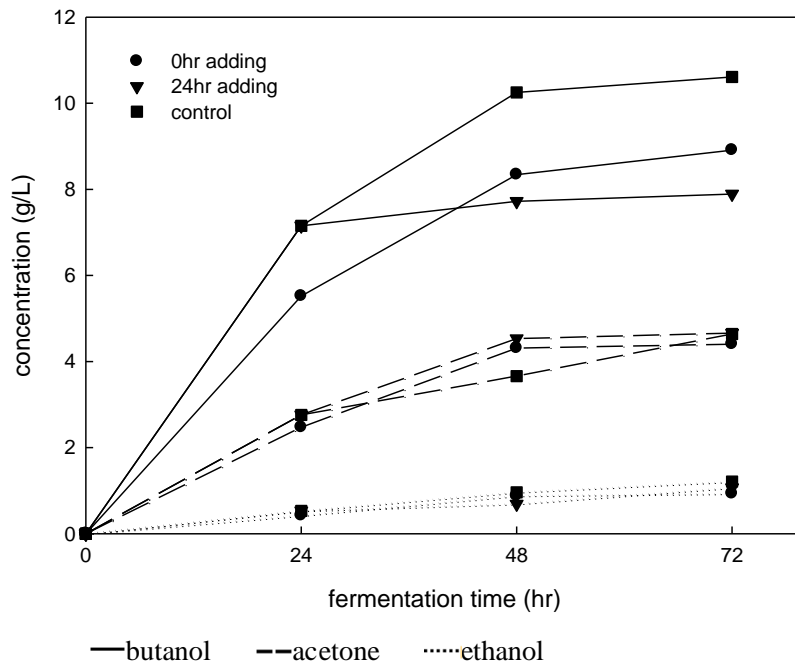


圖 4- 53 PBA 動態萃取之 ABE 生產結果

4.6.2 ABE 發酵添加 PBA 動態萃取-脫附產量探討

首先進行丁醇產量探討，產量計算為發酵液中丁醇和脫附後丁醇總和，控制組則以發酵液生產丁醇總量進行比較，上一節實驗有提過添加 PBA 發酵液濃度都會低於控制組，因為 PBA 對丁醇有良好萃取效果，接著進行丁醇脫附濃度比較，結果為圖 4-54，在 0 小時添加 PBA 在發酵至 24 小時，此時脫附濃度為 61.52 g/L，當發酵進行至 48、72 小時，脫附濃度分別降低至 52.42 和 50.25 g/L，可推斷 PBA 對丁醇萃取是相當快速的，萃取時間越久，將使水進入越多，造成脫附濃度下降；24 小時添加則在發酵進行至 48 小時脫附濃度可達 93.69 g/L，與先前模擬溶液脫附實驗有一樣結果，初始濃度越高，脫附濃度也越高，當發酵進行至 72 小時，脫附濃度下降至 70.67 g/L。

圖 4-55 則為丁醇產量比較，此結果是將發酵液丁醇濃度與脫附丁醇濃度，換算為每公升產生丁醇結果，可發現在 PBA 在 0 小時添加和 24 小時添加產量趨勢幾乎一樣，丁醇產量可達 7 g/L 左右，而發酵 48 小時後，添加 PBA 萃取劑其碳源皆已用光，因此發酵產量與控制組將有明顯差異，0 小時添加和 24 小時添加 PBA 丁醇產量分別可達 11.37 g/L 與 11.60 g/L，控制組為 10.27 g/L，發酵進行至 72 小時也有相同結果。

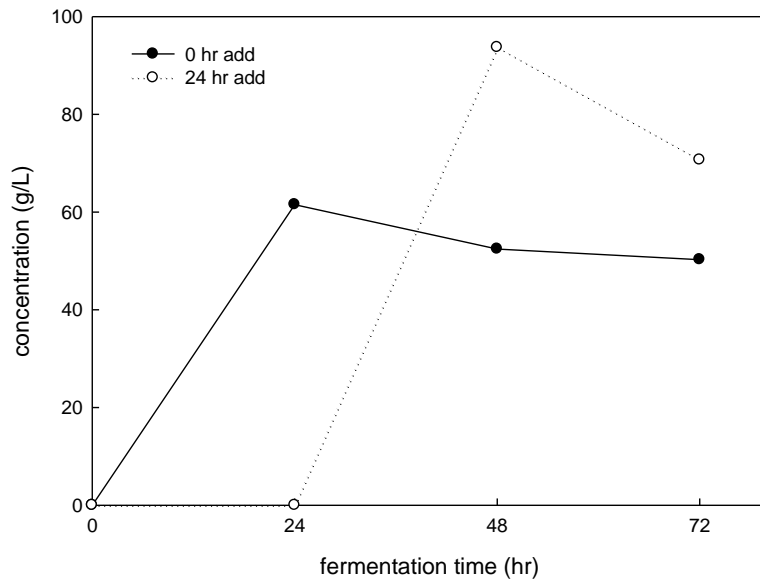


圖 4- 54 PBA 動態萃取之丁醇脫附濃度結果

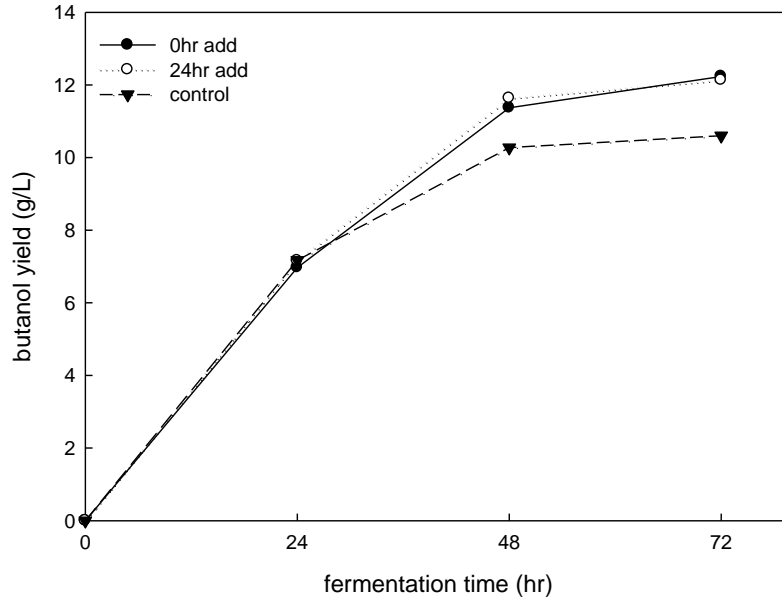


圖 4- 55 PBA 動態萃取之丁醇產量結果

先前模擬實驗中，發現萃取劑 PBA 無法完全脫附丁醇，因此估計總產量將藉由在模擬實驗中初始濃度為 10 g/L 脫附率為 72.3%，以進行估計，實驗以發酵進行至 72 小時產量進行探討，結果為表 4-11，0 小時添加 PBA 預估其總產量應為 13.53 g/L，24 小時添加為 13.80 g/L；而單位葡萄糖產量部份，添加 PBA 與控制組皆為 0.138 g 左右，雖然添加 PBA 單位產量無法提升，但由於其有助於維持葡萄糖轉換，因此可在發酵中得到較高產量。

表 4- 11 PBA 動態萃取丁醇收量和估計產量結果

	0 小時添加	24 小時添加	控制組
發酵液丁醇總量(g/L)	8.80	7.80	10.60
脫附丁醇總量(g/L)	3.43	4.33	—
丁醇總收量(g/L)	12.23	12.13	10.60
估計丁醇總產量(g/L)	13.53	13.80	—
每單位碳源產量(g/g)	0.135	0.138	0.135

接著進行丙酮產量分析，其發酵液濃度在上一章節進行探討，脫附濃度比較結果為圖 4-56，可發現在 0 小時添加 PBA 發酵進行到 24 小時，脫附濃度為 10.81 g/L，發酵進行至 48 和 72 小時，脫附濃度分別些微下降至 10.16 和 10.15 g/L，差異不大，說明萃取丙酮速率較慢，濃度受到時間影響較少。

圖 4-57 則為丙酮產量比較結果，添加 PBA 有助於葡萄糖轉成產物，因此在發酵進行 48 小時以後，添加 PBA 的葡萄糖消耗完畢，控制組受到丁醇抑制作用不再消耗，因此添加 PBA 部份的產量則明顯高於控制組。

表 4-12 為丙酮產量計算，發酵時間一樣為 72 小時進行分析，其中添加 PBA 萃取劑後，估計總產量可達 5.57-5.60 g/L；單位產量添加 PBA 皆為 0.056，略低控制組 0.058，但差異並不大。

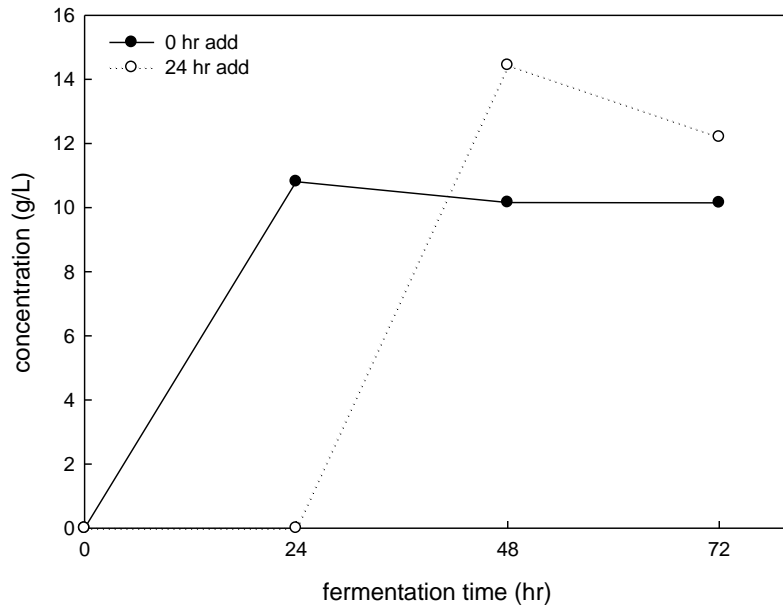


圖 4- 56 PBA 動態萃取丙酮脫附濃度結果

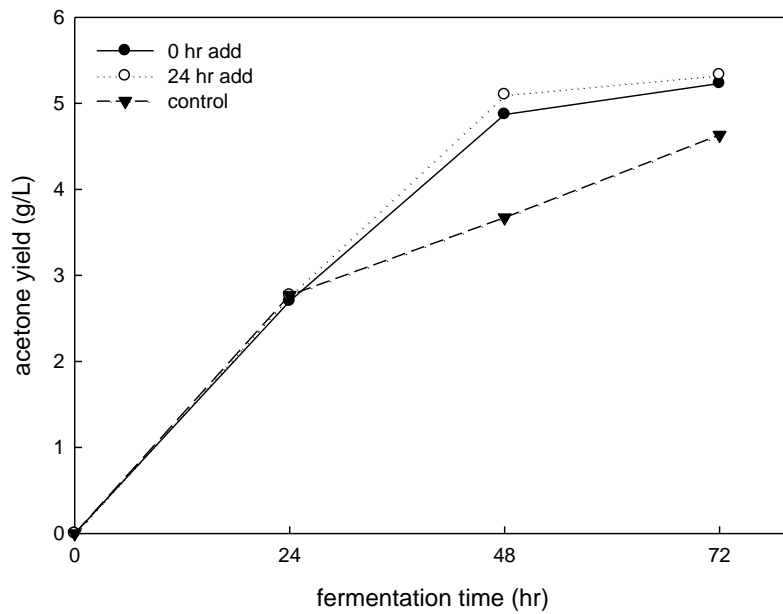


圖 4- 57 PBA 動態萃取丙酮之產量結果

表 4- 12 PBA 動態萃取丙酮收量和估計產量結果

	0 小時添加	24 小時添加	控制組
發酵液丙酮總量(g/L)	4.33	4.60	4.63
脫附丙酮總量(g/L)	0.9	0.73	—
丙酮總收量(g/L)	5.23	5.33	4.63
估算丙酮總產量(g/L)	5.57	5.60	—
每單位碳源產量(g/g)	0.056	0.056	0.058

乙醇發酵產量少，且分配係數只有 0.54，萃取乙醇量較低，無法從 GC 測其脫附濃度，因此乙醇產量將不進行探討；根據每單位葡萄糖生產結果，添加 PBA 萃取劑可較控制組多生產 27.4% 丁醇及 21.7% 丙酮，顯示添加 PBA 有助於葡萄糖消耗轉為產物。

4.7 BA/AA 共聚物改善研究

前面實驗發現 BA/AA 共聚物添加進發酵液後，將無法消耗葡萄糖，影響發酵進行，實驗將探討其影響原因並加以改善，將從單體和起始劑未清除乾淨影響或者 pH 值影響進行討論。

首先考慮是否為 BA 和 AA 單體或起始劑 BPO 殘留於聚合高分子內造成影響，因此直接將單體與起始劑放入發酵液中一起進行 ABE 發酵，高分子在聚合後會先以溶劑將未交聯單體洗出，並在 100°C 煮沸六小時，因此推斷若有單體或起始劑殘留，量應該很少，本實驗單體將取發酵液 30 mL 的 1% 加入，因此 BA 和 AA 單體分別添加 0.3 mL 於培養基中，起始劑 BPO 則取單體 1phr 為 0.003 g 加入 30 mL 培養基中，直接接菌進行發酵實驗，發酵進行 72 小時，葡萄糖濃度為 80g/L，實驗結果為表 4-13；由結果可發現，BA 單體加入發酵液，葡萄糖降至 6.4 g/L，biomass 為 1.278，丁醇濃度可達 10.61 g/L，因此推斷 BA 單體將不會對發酵產生影響；而 AA 單體的葡萄糖則只有降至 68.2 g/L，biomass 只有 0.191，pH 值為由培養基的 4.8 降至 2.75，研判過酸 pH 值使 biomass 無法生長；起始劑 BPO 的添加，葡萄糖降至 10.2 g/L，biomass 為 1.476，發酵液丁醇濃度為 10.30 g/L，因此推斷 BPO 若殘留在共聚物上，對發酵不會造成影響；由實驗可知，BA 單體和 BPO 起始劑若殘留將對發酵沒有影響，AA 才是使發酵無法進行的主

要原因。

表 4- 13 ABE 培養基添加單體和起始劑培養結果

	BA	AA	BPO
Glucose (g/L)	6.4	68.2	10.2
Biomass (g/L)	1.278	0.191	1.476
pH	4.28	2.75	4.24
丁醇濃度 (g/L)	10.61	-	10.30

若是因為 AA 單體過酸對發酵造成影響，實驗嘗試將 0.3 mL 的 AA 單體加入培養基後，進行 pH 值調控，此實驗將再加入 AA 單體後的培養基，將其分別以 NaOH 將 pH 值調至 2、3、4、5、6 進行接菌培養，結果如表 4-14；由結果可發現，無論將 pH 值調至何值，葡萄糖沒有明顯消耗，biomass 維持在 0.1-0.2 之間，且沒有丁醇生成，因此研判為 AA 本身具有毒性，使發酵無法進行。

表 4- 14 ABE 發酵添加 AA 並調控不同 pH 值結果

	pH2	pH3	pH4	pH5	pH6
Glucose (g/L)	58.5	63.5	55.4	57.5	55.5
Biomass(g/L)	0.187	0.214	0.143	0.091	0.106
pH 值	2.39	3.13	4.00	4.92	5.44

聚合後的高分子經過溶劑清洗未交聯單體，並在 100°C 水浴中煮沸六小時，將可降低單體造成的影響，接著考量是否因為 AA 會在發酵液中釋放 H⁺ 離子影響發酵進行，實驗以過量 NaOH 水溶液將共聚物 BA:AA=7:3 浸泡，由於酸鹼中和應為相當快速反應，因此在 37°C 下浸泡兩天，取出後以去離子水清洗表面，放入烘箱中除去水份，再將共聚物放入培養基中，此實驗將選擇高分子與溶液重量比為 1:5、1:2，進行接菌培養，觀察 AA 的多寡是否會造成影響，結果為表 4-14；由結果發現，兩種比例的葡萄糖皆消耗不多，biomass 生長也少，此外 GC 分析也沒有丁醇訊號，推測與添加比例無關，但若葡萄糖沒有消耗，代表發酵無法產酸，在本實驗中，添加 BA-co-AA 共聚物於發酵液中，發酵三天後 pH 值卻在發酵結束後降至 4 左右，因此推斷 H⁺ 離子在發酵時會持續釋放至發酵液中。

表 4- 15 ABE 發酵加入不同比例共聚物結果

	1 : 5	1 : 2
Glucose (g/L)	64.6	72.3
Biomass(g/L)	0.342	0.259
pH 值	4.03	3.90

最後將共聚物 BA:AA=9:1、7:3 直接浸泡在已調控 pH 值為 4.8 的培養基內，放入 37°C 水浴每隔三天測其 pH 值，並以 NaOH 將其調回 4.8，待 pH 值不再下降後接菌培養，此實驗碳源為 100 g/L，表 4-16 為加入 PBA 發酵結果進行實驗比較，可發現 BA:AA=9:1 在調痛 pH 值 15 天後維持在 4.8，則進行接菌培養，發酵進行三天後，其葡萄糖消耗完畢，證明 BA:AA=9:1 可成功應用在 ABE 發酵中，此時發酵液丁醇濃度為 6.50 g/L，biomass 為 0.591 g/L，推斷為發酵液中無碳源造成其分解死亡；而 BA:AA=:7:3 則因 AA 含量較多，釋放 H⁺離子速度緩慢，經過 60 天 pH 值尚未穩定，進行接菌培養後，葡萄糖消耗緩慢，biomass 為 0.228 g/L，發酵液經 GC 分析其濃度後，也無丁醇訊號，推測發酵受到 AA 影響，無法進行，若要將此 BA/AA 共聚物應用至工業上，必須以其他方法加快其 H⁺離子釋放

將 BA:AA=9:A 進行脫附實驗與 PBA 進行比較，產量結果為表 4-17，發現 BA:AA=9:1 脫附丁醇濃度達 71.33 g/L，略高於 PBA，而丁醇脫附量為 0.183 g，也較 PBA 的 0.103 g 高，而因其碳源皆用光，總收量則無明顯差異，而添加少量 AA 可明顯增加丁醇萃取量，此時 AA 吸水特性較不明顯，因此丁醇脫附濃度也較高。

表 4- 16 PBA 與 BA/AA 共聚物於發酵液調控 pH 值發酵實驗*

	PBA	9 : 1	7 : 3
Glucose (g/L)	0	0	85.4
Biomass(g/L)	0.617	0.591	0.228
pH 值	4.29	4.41	4.28
發酵液丁醇濃度 (g/L)	8.91	6.5	-

* 9 : 1 浸泡發酵液時間為 15 天，7 : 3 為 60 天

表 4- 17 PBA 與 BA : AA=9 : 1 丁醇產量結果

	PBA	9 : 1
發酵液丁醇濃度(g/L)	8.91	6.50
發酵液丁醇總量(g)	0.264	0.194
脫附丁醇濃度(g/L)	61.52	71.33
脫附丁醇總量(g)	0.103	0.183
丁醇總收量(g)	0.367	0.377

伍、結論

本實驗研究目的是以總體聚合均聚物 PBA 和 BA/AA 共聚物，做為固態萃取劑，應用於 ABE 發酵中分離丁醇，改善發酵液中過高丁醇濃度將抑制發酵進行。

由模擬丁醇溶液萃取結果得知，在初始丁醇濃度為 20 g/L，PBA 可成功將濃度降至 10.97 g/L，得到丁醇分配係數 1.37，選擇率為 1332.06，而 BA 與 AA 共聚比例為 7:3 和 5:5 時，則可將丁醇濃度降至 7.28 g/L 和 5.23 g/L，丁醇分配係數可達 3.51、4.28；而由萃取-脫附實驗中，PBA 可得較高脫附丁醇濃度，BA/AA 共聚可萃取較多丁醇，兩種萃取劑進行重覆萃取-脫附實驗，總收率皆無太大變化，為一可重複使用材料。

ABE 發酵實驗結果得知，添加 PBA 於 ABE 發酵可成功降低發酵液丁醇濃度，減少丁醇抑制情形，使發酵進行快速消耗較多碳源，100 g/L 可生產 12.23 g/L 丁醇以及 5.23 g/L 丙酮，都優於未添加 PBA 萃取劑；而 BA-co-AA 共聚物由於 AA 具有毒性無法直接應用在 ABE 發酵中，必須經過酸鹼中和使其在發酵液中不會對 pH 值造成影響才可應用。

陸、參考文獻

1. 周仕凱、許梅娟，新能源---生物產丁醇，科學發展雜誌，行政院科學發展委員會，台北，中華民國（2009）
2. 林尚甫，應用吸附法和滲透蒸發分離方法探討 *Clostridium acetobutylicum* 生產丁醇之影響，東海大學化學工程與材料工程研究所碩士論文，台中，中華民國（2010）
3. P. Durre, Biobutanol : An attractive biofuel, *Biotechnol Journal*, 2, 25-1534 (2007)
4. S.H. Ha, N.L. Mai and Y.M. Koo, Butanol recovery form aqueous into ionic liquids by liquid-liquid extraction, *Journal of Process Biochem*, 45, 1899-1903 (2010)
5. D.T. Jones and D.R. Woods, Acetone-Butanol Fermentation Revisited, *Microbiological Reviews*, 50, 484-524 (1986)
6. T.N. Ezeji, H.P. Blaschek ang N. Qureshi, Butanol Production From Agricultural Residues: Impact of Degradation Products on *Clostridium beijerinckii* Growth and Butanol Fermentation, *Biotechnology and Bioengineering*, 97, 1460-1469 (2007)
7. E. El-Zanati, E. Abdel-Hakim, O. El-Ardi and M. Fahmy, Modeling and simulation of butanol separation from aqueous solutions using pervaporation, *Journal of Membrane Science*, 280, 278–283 (2006)
8. L. Nielsen, M. Larsson, O. Holst and B. Mattiasson, Adsorbents for extractive bioconversion applied to acetone-butanol fermentation,

- Applied Microbiology Biotechnol*, 28, 335-339 (1988)
9. N. Qureshi, S. Hughes, I.S. Maddox and M.A. Cotta , Energy-efficient recovery of butanol from model solutions and fermentation broth by adsorption, *Bioprocess Biosyst Engineering*, 27, 215–222 (2005)
 - 10.N. Qureshi and H.P. Blaschek, Recovery of butanol from fermentation broth by gas stripping, *Renewable Energy*, 22, 557–564 (2001)
 - 11.W.R. Baker, A simple predictive treatment of the permeation process in pervaporation, *Journal of Membrane Science*, 79, 101-113 (1993)
 - 12.A. Jonquiere and A. Fane, Filled and unfilled composite GFT PDMS membranes for the recovery of butanols from dilute aqueous solutions:influence of alcohol polarity, *Journal of Membrane Science*, 125, 245-255 (1997)
 - 13.J.C. Huang, Pervaporative recovery of n-butanol from aqueous solutions and ABE fermentation broth using thin-film silicalite-filled silicone composite membranes, *Journal of Membrane Science*, 92, 231-242 (2001)
 - 14.A. Thongsukmak and K.K. Sirkar, Pervaporation membranes highly selective for solvents present in fermentation broths, *Journal of Membrane Science*, 302, 45-48 (2007)
 - 15.F. Liu,F. Liu and X. Feng, Separation of acetone–butanol–ethanol (ABE) from diluteaqueous solutions by pervaporation, *Separation and Purification Technology*, 42, 273-282 (2005)
 - 16.N. Qureshi, J. Huangb and R.W. Hutkins, Pervaporative recovery of n-butanol from aqueous solutions and ABE fermentation broth using thin-film silicalite-filled silicone composite membranes, *Journal of Membrane Science*, 192, 231-242 (2001)

17. W.J. Groot, H.S. Soedjak and P.B. Donck, butanol recovery from fermentations by liquid-liquid extraction and membrane solvent extraction, *Bioprocess Engineering*, 5, 203-216 (1992)
18. V. Saravanan, D.A. Waijers, M. Ziari and M.A. Noordermeer, Recovery of 1-butanol from aqueous solutions using zeolite ZSM-5 with a high Si/Al ratio; suitability of a column process for industrial applications, *Biochemical Engineering Journal*, 49, 33–39 (2010)
19. S.Y. Li, R. Srivastava and R.S. Parnas, Separation of 1-butanol by pervaporation using a novel tri-layer PDMS composite membrane, *Journal of Membrane Science*, 363, 287–294 (2010)
20. G.P. Liu, W. Wang, H. Wu and X.L. Dong, Pervaporation performance of PDMS/ceramic composite membrane in acetone butanol ethanol (ABE) fermentation –PV coupled process, *Journal of Membrane Science*, 373, 121-129 (2011)
21. X.L. Liu, Y.S. Li, Y. Liu, G.Q. Zhu, J. Liu and W.S. Yang, Capillary supported ultrathin homogeneous silicalite-poly(dimethylsiloxane) nanocomposite membrane for bio-butanol recovery, *Journal of Membrane Science*, 369, 228–232 (2011)
22. H.W. Yen, Z.H. Chen and I.K. Yang, Use of the composite membrane of poly(ether-block-amide) and carbon nanotubes (CNTs) in a pervaporation system incorporated with fermentation for butanol production by *Clostridium acetobutylicum*, *Bioresour. Technology*, 109, 105-109 (2012)
23. 潘慧雅，以奈米碳管複材膜對模擬丁醇發酵液的滲透蒸發，東海大學化學工程與材料工程研究所碩士論文，台中，中華民國 (2011)

- 24.K. Kraemer,A. Harwardt, R. Bronneberg and W. Marquardt,
Separation of butanol from acetone–butanol–ethanol fermentation by a
hybrid extraction–distillation process, *Computers and Chemical
Engineering*, 35, 949–963 (2010)
- 25.P.B. Dhamole, Z.L. Wang, Y. Liu, B. Wang and H. Feng, Extractive
fermentation with non-ionic surfactants to enhance butanol production,
biomass and bioengery, 40, 112-119 (2012)
- 26.吳建誼，以固相萃取及氣相層析質譜儀對水環境中壬基苯酚類持
久性有機汙染物之分析與研究，國立中央大學化學研究所碩士論
文，桃園，中華民國(2000)
- 27.C.Y. He, Y.Y. Long, J.L. Pan, K. Li and L. Feng, Application of
molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of analytes
from real samples, *Journal of Biochemtry Methods*, 70, 133–150
(2007)
- 28.杜逸虹，聚合體學，三民出版社，台北，中華民國 (2007)
- 29.E. Charles and Jr.Carraher, Polymer Chemistry 5th edition, CRC
Press,USA (2005)
- 30.W.H. Carothers, *J.Am.Chem.Soc* CRC Press, 51, 2548 (1929)
- 31.陳俊錚，利用活性自由基合成活性聚丙烯酸丁酯(PBA)及聚丙烯
酸丁酯-b-聚苯乙烯之團聯共聚物，國立台灣大學化學工程研究所
碩士論文，台北，中華民國 (2001)
- 32.吳偉誠，以不同介面活性劑行苯胺的乳化聚合，國立中山大學材
料科學研究所碩士論文，高雄，中華民國 (2001)

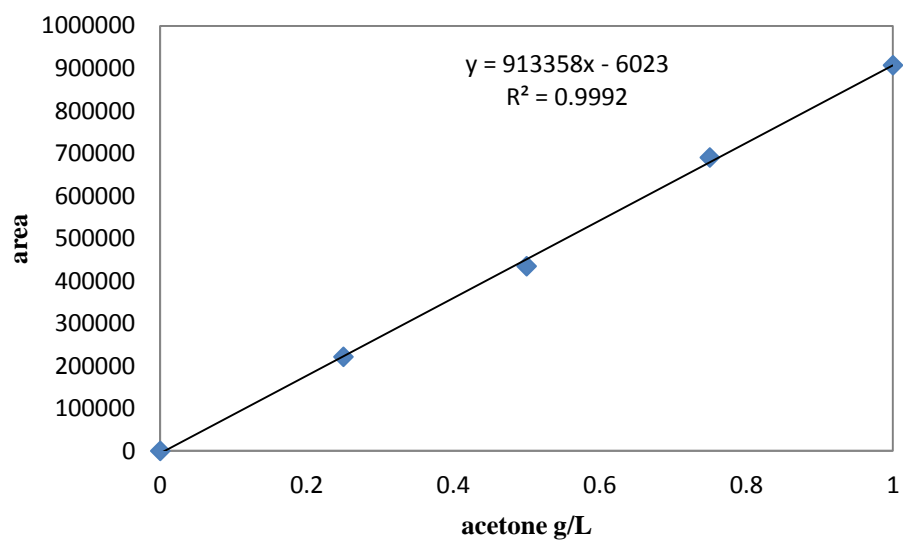
- 33.卓采蓉，加入聚丙烯酸(PAA)對多孔性聚乙烯醇縮甲醛泡棉(PVF)物性影響的研究，東海大學化學工程與材料工程研究所碩士論文，台中，中華民國 (2011)
- 34.李小宏，楊娟，PAA 水凝膠對 FeCl₃ 的吸附行為及動力學，南京工業大學學報，32 (2010)
- 35.李瑞真，固定化 *Clostridium acetobutylicum* 進行連續式發酵生產丁醇之研究，東海大學化學工程與材料工程研究所碩士論文，台中，中華民國 (2011)
- 36.W. Swodenk, Ethanol als Rohstoff fur die chemische Industrie, *Chemie Ingenieur Technik*, 55, 683-688 (1983)
- 37.K.F. Yeung, Y.A Jamieson, G.J. Smith, D. Fice and P.T. Pollak, Determination of plasma concentrations of losartan in patients by HPLC using solid phase extraction and UV detection, *International Journal of Pharmaceutics*, 204, 17–22 (2004)
- 38.D.R. Nielsen, G.S. Amarasiriwardena and K.L.J. Prather, Predicting the adsorption of second generation biofuels by polymeric resins with applications for *in situ* product recovery(ISPR), *Bioresource Technology*, 101, 2762-2769 (2010)
- 39.D.R. Nielsen and K. L.J. Prather, *In Situ* Product Recovery of n-butanol using polymeric resins, *Biotechnology and Bioengineering*, 102, 811-821 (2009)
- 40.H.W. Zhou, Y. Su, X.G. Chen and Y.H. Wan, Separation of acetone, butanol and ethanol(ABE) from dilute aqueous solutions by

- silicalite-1/PDMS hybrid pervaporation membranes, *Separation and Purification Technology*, 79, 375-384 (2011)
41. E.A. Fouad and X.S. Feng, Pervaporation separation of *n*-butanol from dilute aqueous solutions by silicalite-filled poly(dimethyl siloxane) membranes, *Journal of Membrane Science*, 339, 120-125 (2009)
42. W.J. Groot and A.M. Luyben, *In Situ* Product Recovery by adsorption in the butanol/isopropanol batch fermentation, *Applied Microbiology Biotechnol*, 25, 29-31 (1986)
43. N. Qureshi, I. S. Maddox and A. Friedl, Application of continuous substrate feeding to ABE fermentation: Relief of product inhibition using extraction, perstraction, stripping and pervaporation, *Biotechnology Progress*, 83, 382-390 (1992)
44. N. Qureshi and I. S. Maddox, Continuous production of acetone-butanol-ethanol using immobilized cells and integration with product removal by liquid-liquid-extraction, *Journal of fermentation and bioengineering*, 80, 185-189 (1995)

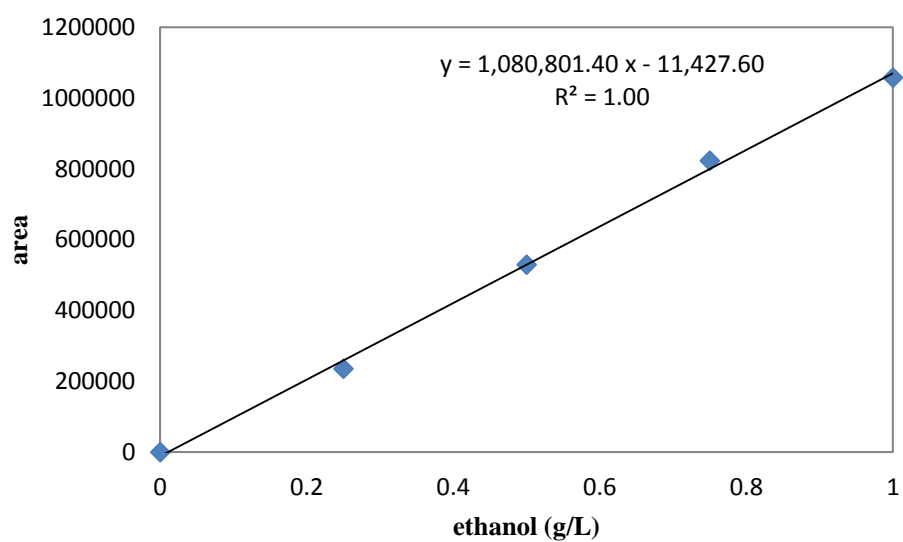
柒、附錄

附錄 1 丙酮、乙醇、丁醇、乙酸、丁酸檢量線

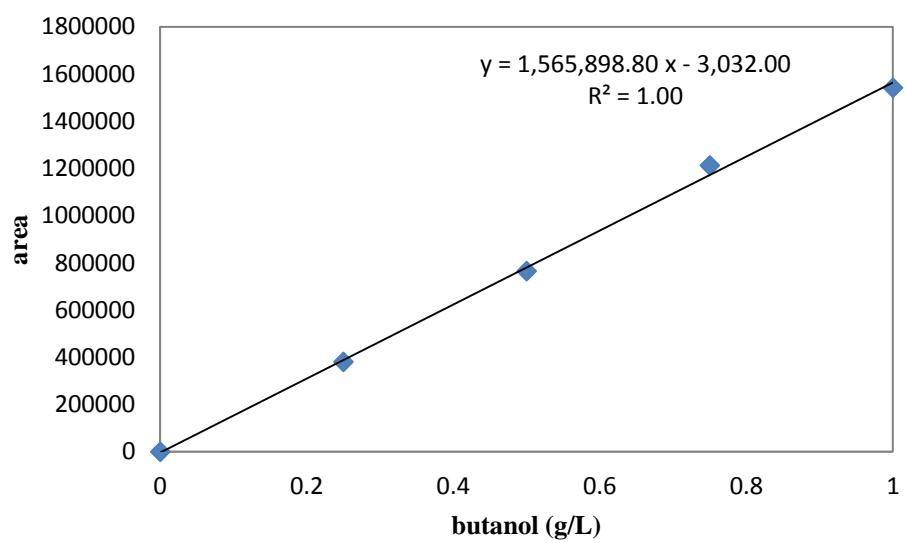
1-1 丙酮檢量線



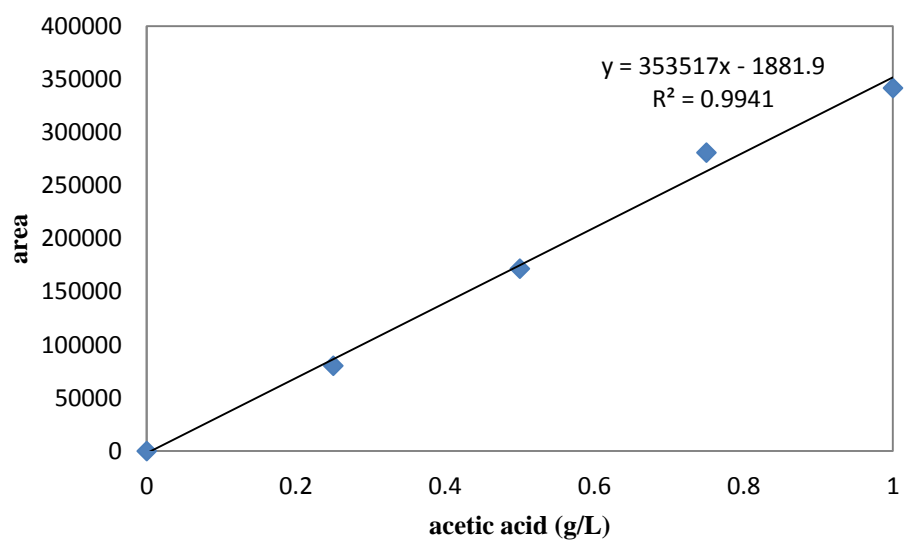
1-2 乙醇檢量線



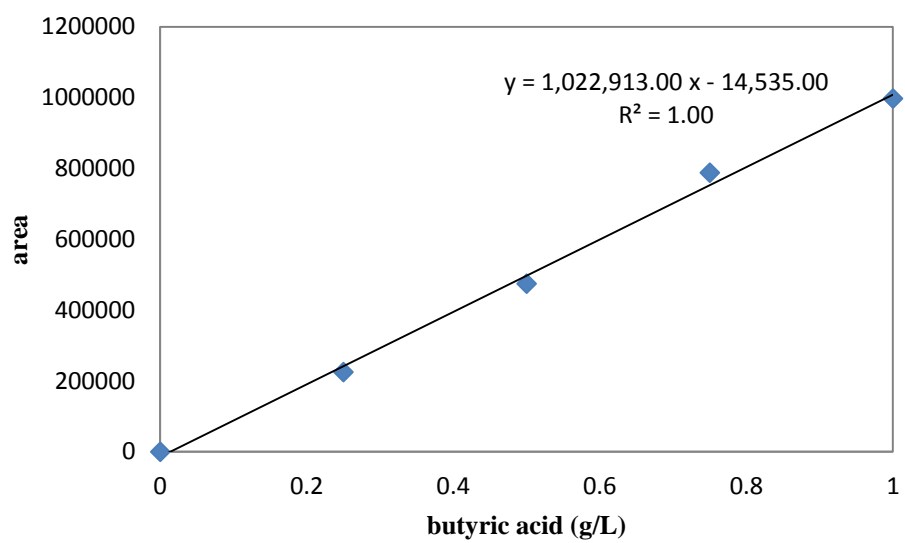
1-3 丁醇檢量線



1-4 乙酸檢量線



1-5 丁酸檢量線



附錄 2 動態擬合數學高階模式推導

$$\frac{dC^P}{dt} = k(C_{eq}^P - C^P)^n$$

$$\int \frac{d(C_{eq}^P - C^P)}{(C_{eq}^P - C^P)^n} = \int k dt$$

$$\frac{1}{1-n} (C_{eq}^P - C^P)^{1-n} = -kt + \frac{1}{1-n} C_{eq}^P{}^{1-n}$$

$$(C_{eq}^P - C^P)^{1-n} = (1-n)kt + C_{eq}^P{}^{1-n}$$

$$\left(1 - \frac{C^P}{C_{eq}^P}\right)^{1-n} = \frac{k^*t}{(C_{eq}^P)^{1-n}} + 1$$

$$\left(1 - \frac{C^P}{C_{eq}^P}\right)^{1-n} = Kt + 1$$

$$\left(1 - \frac{C^P}{C_{eq}^P}\right) = (Kt + 1)^{\frac{1}{1-n}}$$

$$C^P = C_{eq}^P \left[1 - (Kt + 1)^{\frac{1}{1-n}}\right]$$