

## 酵素水解

《柳木》→《浸泡 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 或 SO<sub>2</sub>⇒蒸汽》→《酵素水解》

**Eklund, R, M. Galbe, G. Zacchi. 1995. The influence of SO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> impregnation of willow prior to steam pretreatment. *Bioresource Engineering* 52: 225-229.**

Eklund et al. (1995) 以柳木 (Willow, *Salix caprea* Q082) 作為原料，先以 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 或 SO<sub>2</sub> 浸泡 (Impregnation)，再以蒸汽前處理 (Steam pretreatment)，分析前處理物、前處理液回收率 (Recovery yield, % of original)，計算前處理之損失 (前處理物之乾重差) 並從前處理液中分析木糖 (Xylose) 產率 (Yield, % of theoretical)，然後將前處理物與前處理液分別進行酵素水解，以探討最佳之前處理條件。《原料》使用之原料先研磨、分成 3-5 mm 之短片，再於室溫下乾燥至乾物 (Oven-dry matter, ODM) 含量 91.8%，測得之纖維素 (Cellulose)、半纖維素 (Hemicellulose) 與木質素 (Lignin) 含量分別為 37%、23% 與 21% (乾基)，其他之成分則以萃取物 (Extractives)、灰分 (Ash)、蛋白質 (Protein) 與澱粉 (Starch) 為主。半纖維素中之聚木糖 (Xylan) 佔 56%。《前處理—浸泡 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>》在浸泡 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 之蒸汽前處理部分，係取 1 Kg 之原料，於 1 Bar 之壓力下，先以飽和蒸汽處理 15 分鐘，再將蒸過之原料投入濃度分別為 0、0.2%、0.5%、1.0% (w/v) 之 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 中，使 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 攝入 (Uptake) 率分別為 0、0.6%、1.5%、3.0% (w/w ODM)，然後搭配 180~200°C (0.0%)、170~210°C (0.6%)、170~210°C (1.5%)、160~200°C (3.0%) 四組不等之溫度蒸汽前處理 10 分鐘。《前處理—浸泡 SO<sub>2</sub>》在浸泡 SO<sub>2</sub> 之蒸汽前處理部分，係取 1 Kg 之原料，於 1 Bar 之壓力下，先以飽和蒸汽處理 15 分鐘，再將蒸過之原料投入充滿 SO<sub>2</sub> 之塑膠袋中經隔夜浸泡，使 SO<sub>2</sub> 攝入 (Uptake) 率達 1.0% (w/w ODM)，然後以 180~230°C 不等之溫度蒸汽前處理 10 分鐘。《前處理後之處理》前處理漿狀物，經水洗、分離成前處理液與前處理物，貯存於 -18°C 備作為酵素水解之基質。由前處理液之組成分析，可以判斷溶解之木糖 (Solubilized xylose) 回收量。《前處理物之酵素水解》在前處理物之酵素水解部分，係於攪拌槽 (Stirred vessel) 中裝填前處理後、20g ODM 之前處理物、4 g 之 Cellulast 2L (Filter paper activity 為 60 FPU/mL)、1 g 之 Novozym 188 (β-glucosidase activity 為 45 μmol p-nitrophenol/ g min) 與 0.1 M 之醋酸緩衝液 (Acetate buffer) (pH 值 4.8) 等總計 200 g 之反應物，於 40°C 下進行 96 小時 (4 天) 之水解反應，並於第 24、48、72、96 小時抽取水解液 (Hydrolyzates)，檢驗葡萄糖之濃度，分析葡萄糖產率 (Yield)。《前處理液之酵素水解》在前處理液之酵素水解部分，係取 95 g 之前處理液，以相同於前處理物酵素水解之條件進行 24 小時之水解反應，以探討可溶之 Xylo-oligomers 轉換成 Xylose 之情形。《結果—浸泡 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、前處理物回收》從浸泡 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 之蒸汽前處理效果來看：前處理物之回收率隨前處理溫度或 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度之增加而降低，降低之部分主要源自半纖維素 (Hemicellulose) 與萃取物 (Extractives) 之溶解。《結果—浸泡 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、前處理液之木糖》從前處理液回收之木糖來看：木糖產率隨浸泡之 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度之增加而增加，當前處理溫度為 190°C、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

濃度為 3.0% (w/w ODM) 時，可獲得最高之木糖產率 80%。若前處理前不浸泡  $H_2SO_4$  時，則木糖產率低於 15%。《結果—浸泡  $H_2SO_4$ 、前處理液酵素水解》從前處理液之酵素水解效果來看：酵素水解可增加木糖之產率，且增加之幅度，隨浸泡  $H_2SO_4$  濃度之增加而降低，顯示在添加  $H_2SO_4$  之前處理過程中，大部份之聚木糖均已溶解。《結果—浸泡  $H_2SO_4$ 、前處理物酵素水解》從前處理物之酵素水解效果來看：最佳之前處理溫度與浸泡之  $H_2SO_4$  濃度有關，沒有浸泡  $H_2SO_4$  者，較佳之前處理溫度為  $220^{\circ}C$ 。浸泡 0.6 與 1.5% $H_2SO_4$  者，較佳之前處理溫度為  $200^{\circ}C$ 。浸泡 3.0% $H_2SO_4$  者，較佳之前處理溫度為  $190^{\circ}C$ 。相較之下，最佳之前處理溫度為  $200^{\circ}C$ ， $H_2SO_4$  濃度為 0.6% (w/w ODM)，可獲得之最高葡萄糖產率為 83%。在最佳前處理條件下，由前處理液或酵素水解後之水解液中獲得之木糖產率分別只有 27、40%；相對地，在木糖產率最高之最佳前處理條件（ $H_2SO_4$  濃度為 3.0%、前處理溫度為  $190^{\circ}C$ ）下，葡萄糖產率則降低至 67%。《結果—浸泡  $SO_2$ 、前處理物回收》從浸泡  $SO_2$  之蒸汽前處理效果來看：前處理之損失隨前處理溫度之提高而增加，前處理物之回收率則隨前處理溫度之提高而降低。《結果—浸泡  $SO_2$ 、前處理液之木糖》從前處理液回收之木糖來看：木糖產率在前處理溫度為  $200^{\circ}C$  或  $210^{\circ}C$  時，可獲得之較佳產率分別為 62%、59%，在其他較低或較高之前處理溫度時，可獲得之木糖產率反而較低。《結果—浸泡  $SO_2$ 、前處理液之酵素水解》從前處理液之酵素水解效果來看：酵素水解並無助於木糖產率之提高，顯示大部份之聚木糖均已在前處理階段溶解。《結果—浸泡  $SO_2$ 、前處理物之酵素水解》從前處理物之酵素水解效果來看：最佳之前處理溫度為  $200^{\circ}C$ ，可獲得之最高葡萄糖濃度與產率分別為 62 g/L 與 95%，與木糖最高產率之條件一致。《結果—總結》總體而言：前處理前先浸泡  $H_2SO_4$  者，可以獲得較高之木糖產率，但在木糖產率最高之條件下，葡萄糖產率反而下降至 67%。由於葡聚糖（Glucan）是柳木最主要之組成，葡萄糖產率比木糖產率來得重要，因此蒸汽處理前將原料浸泡於  $SO_2$  比浸泡於  $H_2SO_4$  好。