

分開酵素水解與醱酵製程

《稻桿》→《蒸汽爆裂》→〔水萃取或氫氧化鈉處理〕→《酵素水解》→《醱酵》

Mohammed, M. 1996b. Saccharification and alcohol fermentation of steam-exploded rice straw. Bioresource Technology 55: 111-117.

Mohammed (1996b) 以稻桿 (Rice straw) 作為原料，經蒸汽爆裂法 (Steam explosion) 前處理後，再選擇性地以水萃取 (Water extraction) 或 (並) 以氫氧化鈉進一步處理 (再處理)，然後經酵素水解，並從水解液 (Hydrolyzates) 之還原醣與葡萄糖濃度，找出最佳之前處理條件，並探討前處理後之再處理對於酵素水解之影響，再以最佳前處理條件所獲得之水解液作為基質，觀察醱酵過程之葡萄糖、乙醇與細胞濃度變化。

《前處理設備》用於蒸汽爆裂前處理之設備包括蒸汽產生器 (Steam generator)、壓力反應槽 (Pressurized reactor)、收集槽 (Receiver) 與冷凝器 (Condenser)。《酵素》使用之酵素為 *T. ressei* cellulase，其 Filter paper activity 為 0.53 U/mg、Carboxymethyl cellulose (CMC) activity 為 7.90 U/mg、 β -glucosidase activity 為 3.28 U/mg、 β -xylosidase activity 為 0.02 U/mg、Cellobiase activity 為 2.27 U/mg、Xylanase activity 為 0.31 U/mg。《酵母菌之保存與接種物之製備》使用之微生物為 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26603，係於 4°C 下保存在含有 Glucose 20g/L、Peptone 20g/L、Yeast extract 10g/L 與 Agar 18 g/L 之培養基中，使用時從瓊脂斜面 (Agar slant) 上取一 Loop、業經 48 小時培養 (48 h old culture) 之微生物，植入已預先加入經高壓滅菌、100 mL 成長培養基 (Growth medium) (含有 KHPO_4 13g/L、 K_2HPO_4 0.7 g/L、 NH_4Cl 2.0 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g/L 與 Glucose 10 g/L) 之 300 mL 錐形瓶 (Erlenmeyer flask)，於 pH 值 5.0、30°C 下培養 18~24 小時，再以離心機 (6000 g、5 分鐘) 收成製備之酵母菌接種物。製備之細胞懸浮於醱酵培養基時，最終之 O.D.₆₆₀ (Optical density) 約為 0.5。《前處理》前處理部分，係先將原料劈砍成 10cm 大小，取 100 g 之原料加入 1.2 L 之反應槽中，並以高壓 (2.55 MPa、3.05 MPa、3.53 MPa、4.02 MPa) 之蒸氣加熱 0.5~10 分鐘 (相當於 225、235、243、251°C)，然後迅速洩壓至大氣壓力，並將固液態之前處理物與前處理液排入收集槽，氣態之產物排入冷凝器。《前處理後之進一步處理》前處理後之進一步處理部分，《以水萃取》係於室溫下，將前處理物以水萃取 2 小時或 (並) 《以 NaOH 處理》於 1 L 之玻璃瓶內加入 25 g 之前處理物、2.5 g 之 NaOH 與 500 mL 之蒸餾水，於沸騰之熱水浴中加熱 1 小時，然後以雙層之尼龍布過濾，再以自來水清洗除去鹼含量。《酵素水解》酵素水解部分，係將 2 % (w/v) 之前處理物 (經冷凍乾燥) 與 0.2 % (w/v) 之酵素等總計 100 mL 之反應物置入 300 mL 之錐形瓶 (Erlenmeyer flask)，並以 0.5 M 之磷酸緩衝劑 (Phosphate buffer) 調節 pH 值至 5.0，再於 50°C、150 rpm 等條件下，進行水解反應 120 小時。水解期間，定時抽取 2 mL 之水解液樣品測定還原醣、葡萄糖、纖維雙糖 (Cellobiose) 與木糖濃度，據以計算醱化率 (Saccharification % = Reducing sugars formed \times 0.9 \div Carbohydrates \times 100 straw) 與葡萄糖產率 (% Glucose yield = 【glucose

formed×0.9÷cellulose in straw】×100)。《**醱酵**》醱酵部分，係於 300 mL 之玻璃瓶中，添加滅菌後之水解液（Hydrolyzates）、營養鹽（Nutritional salts）、微量抗生素（Antibiotic）與 10 %（v/v）之酵母菌接種物等總計 100 mL 之醱酵培養基，使用旋轉振盪器（Rotary shaker），於攪拌速率 150 rpm 下，醱酵 40 小時，並定期抽樣檢測細胞、葡萄糖與乙醇濃度。《**結果**》從酵素水解後之水解液之還原糖與葡萄糖濃度來看：最佳之前處理條件為蒸汽爆裂前處理壓力 3.53 MPa、時間 2 分鐘。若於前處理後再以水萃取或氫氧化鈉處理，亦無助於酵素水解。若以最佳前處理條件下所獲得之水解液作為醱酵之基質，則於 40 小時醱酵後，乙醇之濃度為 3.5 g/L，與純葡萄糖醱酵之結果相近。