

蔗渣產製生質乙醇

Bioethanol Production from Sugarcane Bagasse

國立台灣大學生物產業機電工程學系

陳韋任 黃維凡 周柏伸 張思賢 楊哲維 陳俊道 謝志誠*

【關鍵詞】生質乙醇、蔗渣、酸前處理、酵素水解

一、前言

生質乙醇 (Bioethanol)，泛指以生質物 (Biomass) 為原料所產製之乙醇，具有高純度、方便儲存與低危險性等優點，可與汽油混合用於車輛引擎，是一項具有潛力之替代燃料。

本研究以台灣特用作物甘蔗於製糖後剩餘之蔗渣 (Sugar can bagasse) 作為原料，於大氣壓下、95°C 下，以 0.25 M 之稀硫酸 (H_2SO_4) 對蔗渣前處理 (Pretreatment) 60 分鐘。然後，單獨或合併利用劑量不等之纖維素水解酶 (Cellulase) Cellulclast[®] 1.5L (*Trichoderma reesei* C2730) 與葡萄糖苷酶 (Cellobiase) Novozyme[®] 188 (*Aspergillus niger*)，於 50°C、pH 4.6 下，對前處理後之蔗渣進行酵素水解 (Enzymatic hydrolysis)，並探討不同酵素劑量 (Loading)、基質 (Substrate) 濃度與水解時間對酵素水解效果之影響，找出最佳之酵素水解條件。接著，使用啤酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* BCRC 21685，於 30°C、pH 4.6 下，對酵素水解後之水解液 (Hydrolysate) 進行醱酵 (Fermentation)，並探討有無排毒 (Detoxification) 與滅菌 (Sterilization)、提高葡萄糖濃度之方式對於醱酵反應之影響。

二、實驗設備與方法

1. 實驗設備

主要之設備：①測定葡萄糖及木糖濃度之高效液相層析系統 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) Jasco PU-2089，搭配之檢知器 (Detector) 為 Jasco RI-2031，積分器 (Integrator) 為 Jasco ADC，層析管柱 (Column) 為 Hypersil-100 Amino；②測定乙醇之氣相層析系統 (Gas Chromatography, GC) 中國層析 8700F，搭配之檢知器為 FID Detector，層析管柱為 Nukol column，使用之載氣 (Carrier gas) 為氮氣。

2. 實驗方法

- (1) 利用 Van Soest Method 分析原料、前處理物 (Solid material) 與殘留物 (Residues) 之纖維素 (Cellulose)、半纖維素 (Hemicellulose)、木質素 (Lignin) 與灰分 (Ash) 等組成含量。
- (2) 使用 HPLC 與已知濃度之葡萄糖與木糖溶液，建立葡萄糖與木糖之檢量線，據以測定前處理液、水解液 (Liquid fraction) 與醱酵液之葡萄糖與木糖濃度。
- (3) 使用 GC 與 95% 乙醇製備之標準乙醇溶液，建立標準乙醇溶液層析圖之波峰位置與波峰面積，據以測定醱酵液之乙醇濃度。

3. 實驗步驟

①分析乾燥、粉碎後之蔗渣組成；②於 1 atm、95°C、80 rpm 下，以 0.25 M 之 H_2SO_4 進行酸前處理 60 分鐘；③分析前處理物之組成與前處理液之葡萄糖、木糖濃度；④將前處理物於 pH4.6、50°C 下，單獨或合併以 Cellulclast[®] 或 Novozyme[®] 進行酵素水解；⑤測定水解液之葡萄糖與木糖濃度；⑥測定殘留物之組成；⑦探討不同酵素劑量、基質濃度與水解時間對酵素水解效果之影響，找出最佳之酵素水解條件；⑧使用啤酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* BCRC 21685，於 30°C、pH 4.6 下對水解液進行醱酵；⑨測定醱酵液之葡萄糖與乙醇濃度；⑩探討有無滅菌及排毒、提高葡萄糖濃度之方式對醱酵之影響，找出最佳之醱酵條件。

三、實驗與結果討論

1. 酸前處理階段

表 1 為蔗渣於原料、前處理後與酵素水解後等階段之組成含量。顯示酸前處理過程有 1.46% 之纖維素、91.85% 之半纖維素、0.49% 之木質素與 77.31% 之其他成分被溶解，導致前處理物之纖維素相對含量由處理前之 33.34% 上升為 62.01%

2. 酵素水解階段

圖 1 為 16 組不同之酵素劑量組合之水解效果。10 mL 之 Novozyme 搭配 10 mL 之 Cellulclast 可以獲得最佳之效果，然從單位劑量之酵素對於轉換率之貢獻度來看，Novozyme 之劑量超過 1 mL、Cellulclast 之劑量超過 5 mL 後，貢獻度明顯降低。基於成本考量，以 5 mL 之 Cellulclast 搭配 1 mL 之 Novozyme 為最佳之酵素組合。

圖 2 為 Cellulclast 劑量 5 mL，搭配 0、1、5、10 mL 之 Novozyme 下，轉換率與水解時間之關係。結果顯示，轉換率在反應開始前 2 小時內快速上升，除單獨使用 Cellulclast 者之轉換率偏低外，若搭配 5、10 mL 之 Novozyme，則轉換率可在反應開始前 2 小時內達到最終轉換率之 80% 以上。若搭配 1 mL 之 Novozyme，則轉換率在水解期間仍呈現緩慢上升。

圖 3 為基質濃度 1%、5% 下，使用 5、10 mL 之 Cellulclast，搭配 1、5、10 mL 之 Novozyme，經 24 小時後所得之轉換率。結果顯示，於相同之酵素混合物下，基質濃度 5% 者之轉換率低於基質濃度 1% 者。使用 10 mL 之 Cellulclast 者，基質濃度 1% 與 5% 之轉換率差異較使用 5 mL 之 Cellulclast 者小。

由表 1 之殘留物組成得知有 57.17% 之纖維素、20.0% 之半纖維素、3.81% 之木質素、12.48% 之其他物質在酵素水解過程中被溶解。

3. 醱酵

圖 4 為不排毒與不滅菌之醱酵反應。結果顯示，48 小時後仍有 26.7 g/L 之葡萄糖未轉換成乙醇，而產出之乙醇濃度僅為 26.9 g/L，乙醇產率為 0.367g ethanol/g glucose，約為理論值 (0.51 g ethanol / g glucose) 之 72%。

圖 5 為先經排毒與滅菌程序之醱酵反應。結果顯示，24 小時後所有葡萄糖皆已醱酵完畢，產出之乙醇濃度為 42.9 g/L，乙醇產率為 0.429 g ethanol / g glucose，為理論值之 84%。

圖 6 為改蒸發水分方式提高葡萄糖濃度至 100 g/L 且先經排毒與滅菌之醱酵反應。結果顯示，30 小時後所有葡萄糖被醱酵完畢，產出之乙醇濃度為 40.7 g/L，乙醇產率為 0.407 g ethanol / g glucose，為理論值之 79%。

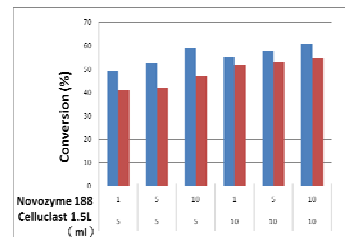
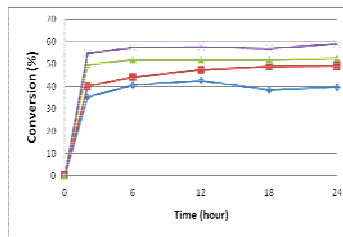
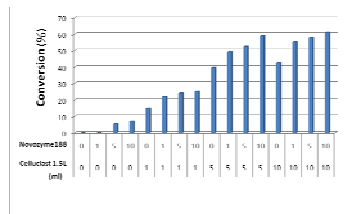


圖 1 不同濃度酵素水解 24 小時後之效果 圖 2 5 mL 之 Cellulclast 搭配 (◆ 0.0 mL, ■ 1.0 mL, ▲ 5.0 mL, × 10.0 mL) 之 Novozyme 188，轉換率與水解時間之關係 圖 3 不同基質濃度之酵素水解效果 (左基質濃度 1%，右基質濃度 5%)

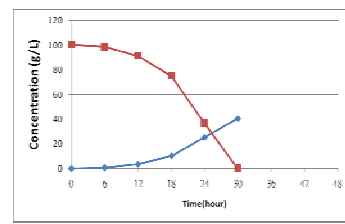
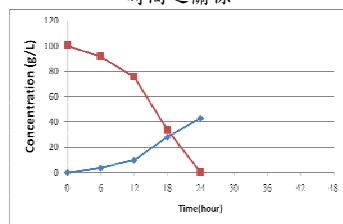
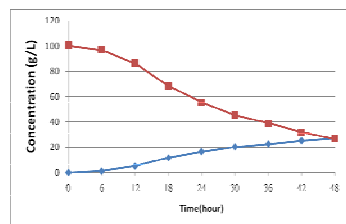


圖 4 無排毒且無滅菌之醱酵 (■ 葡萄糖, ◆ 乙醇)

圖 5 先排毒後滅菌之醱酵 (■ 葡萄糖, ◆ 乙醇)

圖 6 以蒸發水分方式提昇葡萄糖濃度之醱酵 (■ 葡萄糖, ◆ 乙醇)

表 1 蔗渣於各階段之組成成分

	Total Gravimetric recovery	Cellulose	Semi-cellulose	Lignin	Ash	Other
原料		33.34%	22.11%	6.49%	4.18%	33.88%
前處理物	52.98%	62.01% (32.85%)	3.40% (1.80%)	14.92% (6.46%)	9.88% (4.18%)	14.51% (7.69%)
殘留物 ^a	32.30%	42.54% (13.74%)	4.46% (1.44%)	19.23% (6.21%)	12.94% (4.18%)	20.84% (6.73%)

註：括弧內數字係以乾重為基準。

註^a：酵素水解條件：Cellulclast 1.5L 5mL、Novozyme 188 1mL、溫度 50°C、80 rpm、pH 4.6、24 小時。