

Ethanol production from lignocellulose by mold and yeast

潘仕穎、吳芳禎

E-mail: 322079@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

Trichoderma reesei (*T. reesei*) has a complete cellulase system, but extracellular β -glucosidase activity is extremely low. However, it has showed more efficient saccharification of cellulose with *Aspergillus niger* (*A. niger*). *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) has good fermentation capacity. Pulp of kraft pulp has higher purity of cellulose, which lignin is largely removed. The objective of the present study was to investigate effect of single strain and mix strains, which 0.02 g/mL pulp from dried pulp was as substrate in saccharification during 6-days culture. Activity of cellulose was measured by DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) method. There were also assayed glucose and ethanol concentration. There showed the best cellulase activity in 1st day of culture by *T. reesei*. The activity of exoglucanase (avicelase), endoglucanase (CMCase) and filterase were 0.45 IU/mL, 0.59 IU/mL and 0.21 IU/mL, respectively. However, *T. reesei* secreted low amount of extracellular β -glucosidase, the activity of β -glucosidase was almost zero. While increasing culture days, glucose content decreased gradually. Glucose concentration was 4.86 mg/mL and ethanol concentration was 0.85 mg/mL in the sixth day culture. Culture broth of *S. cerevisiae* had little activity of cellulase. Exoglucanase got higher activity (0.15 IU/mL), but activity of β -glucosidase and filterase were near zero in six-days culture. Glucose contents in culture broth was not detectable. Ethanol concentration decreased gradually from the highest 4.53 g/L at day 0 to 3.44 g/L at day 6. Mix cultures of *T. reesei* and *A. niger* got the highest endoglucanase activity 1.69 IU/mL at day 1. The maximum activity of the exoglucanase, β -glucosidase and filterase were found that 1.50 IU/mL (day 0), 1.66 IU/mL (day 1) and 0.35 IU/mL (day3), respectively. Glucose concentration of two strains mixing cultures was also decreasing gradually from 4.26 to 1.47 mg/mL, while ethanol concentration increased to 1.11 g/L at day 6. In mixing cultures of *T. reesei*, *A. niger* and *S. cerevisiae* during six days culture, activity of endoglucanase showed the highest (1 IU/mL) at day 5. The maximum activities of the exoglucanase, β -glucosidase and filterase were assayed, respectively - 0.32 IU/mL for exoglucanase (day 5)、0.33 IU/mL for β -glucosidase (day 1) and 0.26 IU/mL for filterase (day 2). Glucose concentration was 1.93 mg/mL (day 0) - the highest, but ethanol concentration increased 3.55 g/L at day 4.

Keywords : ethanol、endoglucanase、exoglucanase、 β -glucosidase、lignocellulose

Table of Contents

封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 iv 英文摘要 vi 誌謝 viii 目錄 ix 圖目錄 xii 表目錄 x 封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 iv 英文摘要 vi 誌謝 viii 目錄 ix 圖目錄 xii 表目錄 xiv 第一章 緒言 1 第二章 文獻回顧 3 第一節 生質能源 3 一、簡介 3 二、生質能源的種類 4 第二節 生質酒精 6 一、生產方法 6 二、生產原料 6 第三節 木質纖維素 10 一、木質纖維素原料種類 10 二、紙漿介紹 13 第四節 纖維素分解酵素 17 一、種類 17 二、纖維水解酵素作用機制 21 三、纖維酵素系統水解產物之回饋抑制 23 第五節 微生物 23 一、具分解纖維素酵素之微生物 23 二、乙醇生產菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 27 第六節 生質酒精製程 27 一、目前應用程序 27 第三章 材料與方法 31 第一節 材料 31 一、菌種 31 二、紙漿 31 三、試藥 31 四、儀器設備 32 第二節 方法 32 一、菌液製備 32 二、紙漿製備 33 三、菌量測定 33 四、還原糖測定法 34 五、纖維素分解酵素活性測試 36 六、葡萄糖和乙醇之分析 37 第四章 結果與討論 38 第一節 以單一菌株分解紙漿生產酒精 38 一、以 *Trichoderma reesei* 分解紙漿 38 二、以 *Saccharomyces cerevisiae* 分解紙漿 46 第二節 以 *Trichoderma reesei* 及 *Aspergillus niger* 生產酒精 53 一、酵素系統活性變化 53 二、菌量變化 53 三、葡萄糖及乙醇含量變化 54 第三節 以 *Trichoderma reesei*、*Aspergillus niger* 及 *Saccharomyces cerevisiae* 混合培養生產酒精 60 一、酵素系統活性變化 60 二、菌量變化 60 三、葡萄糖及乙醇含量變化 61 第四節 單一菌株培養及混合培養時葡萄糖和酒精含量探討 67 一、葡萄糖含量分析 67 二、酒精含量分析 68 第五章 結論 71 參考文獻 73 圖一、典型纖維素轉化酒精製程 9 圖二、纖維素結構 12 圖三、複合纖維酵素體 20 圖四、非結晶和結晶型纖維素水解作用 22 圖五、發酵單元與酵素水解單元之整合設計 28 圖六、不同基質所釋放之還原糖量 (A1組 - *T. reesei*) 41 圖七、不同培養天數 exocellulase、endoglucanase、 β -glucosidase 及 filterase 活性 (A1組 - *T. reesei*) 42 圖八、培養六天後 *T. reesei* 菌量變化 (A1組) 44 圖九、培養液 HPLC 圖 (A1組 - *T. reesei*) 45 圖十、不同基質所釋放之還原糖量 (A2組 - *S. cerevisiae*) 48 圖十一、不同培養天數 exocellulase、endoglucanase、 β -glucosidase 及 filterase 活性 (A2組 - *S. cerevisiae*) 49 圖十二、培養六天後 *S. cerevisiae* 菌量變化 (A2組) 51 圖十三、培養液 HPLC 圖 (A2組 - *S. cerevisiae*) 52 圖十四、不同基質所釋放之還原糖量 (B組 - *T. reesei* and *A. niger*) 55 圖十五、不同培養天數 exocellulase、endoglucanase、 β -glucosidase 及 filterase 活性 (B組 - *T. reesei* and *A. niger*) 56 圖十六、培養六天後 B組 (*T. reesei* and *A. niger*) 總菌量 58 圖十七、培養液 HPLC 圖 (B組 - *T. reesei* and *A. niger*) 59 圖十八、不同基質所釋放之還原糖量 (C組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 60 圖十九、培養液 HPLC 圖 (C組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 61 圖二十、不同基質所釋放之還原糖量 (D組 - *A. niger*) 62 圖二十一、培養液 HPLC 圖 (D組 - *A. niger*) 63 圖二十二、不同基質所釋放之還原糖量 (E組 - *S. cerevisiae*) 64 圖二十三、培養液 HPLC 圖 (E組 - *S. cerevisiae*) 65 圖二十四、不同基質所釋放之還原糖量 (F組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 66 圖二十五、培養液 HPLC 圖 (F組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 67 圖二十六、不同基質所釋放之還原糖量 (G組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 68 圖二十七、培養液 HPLC 圖 (G組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 69 圖二十八、不同基質所釋放之還原糖量 (H組 - *T. reesei* and *A. niger*) 70 圖二十九、培養液 HPLC 圖 (H組 - *T. reesei* and *A. niger*) 71 圖三十、不同基質所釋放之還原糖量 (I組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 72 圖三十一、培養液 HPLC 圖 (I組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 73 圖三十二、不同基質所釋放之還原糖量 (J組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 74 圖三十三、培養液 HPLC 圖 (J組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 75 圖三十四、不同基質所釋放之還原糖量 (K組 - *T. reesei* and *A. niger*) 76 圖三十五、培養液 HPLC 圖 (K組 - *T. reesei* and *A. niger*) 77 圖三十六、不同基質所釋放之還原糖量 (L組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 78 圖三十七、培養液 HPLC 圖 (L組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 79 圖三十八、不同基質所釋放之還原糖量 (M組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 80 圖三十九、培養液 HPLC 圖 (M組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 81 圖四十、不同基質所釋放之還原糖量 (N組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 82 圖四十一、培養液 HPLC 圖 (N組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 83 圖四十二、不同基質所釋放之還原糖量 (O組 - *T. reesei* and *A. niger*) 84 圖四十三、培養液 HPLC 圖 (O組 - *T. reesei* and *A. niger*) 85 圖四十四、不同基質所釋放之還原糖量 (P組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 86 圖四十五、培養液 HPLC 圖 (P組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 87 圖四十六、不同基質所釋放之還原糖量 (Q組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 88 圖四十七、培養液 HPLC 圖 (Q組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 89 圖四十八、不同基質所釋放之還原糖量 (R組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 90 圖四十九、培養液 HPLC 圖 (R組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 91 圖五十、不同基質所釋放之還原糖量 (S組 - *T. reesei* and *A. niger*) 92 圖五十一、培養液 HPLC 圖 (S組 - *T. reesei* and *A. niger*) 93 圖五十二、不同基質所釋放之還原糖量 (T組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 94 圖五十三、培養液 HPLC 圖 (T組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 95 圖五十四、不同基質所釋放之還原糖量 (U組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 96 圖五十五、培養液 HPLC 圖 (U組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 97 圖五十六、不同基質所釋放之還原糖量 (V組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 98 圖五十七、培養液 HPLC 圖 (V組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 99 圖五十八、不同基質所釋放之還原糖量 (W組 - *T. reesei* and *A. niger*) 100 圖五十九、培養液 HPLC 圖 (W組 - *T. reesei* and *A. niger*) 101 圖六十、不同基質所釋放之還原糖量 (X組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 102 圖六十一、培養液 HPLC 圖 (X組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 103 圖六十二、不同基質所釋放之還原糖量 (Y組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 104 圖六十三、培養液 HPLC 圖 (Y組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 105 圖六十四、不同基質所釋放之還原糖量 (Z組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 106 圖六十五、培養液 HPLC 圖 (Z組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 107 圖六十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AA組 - *T. reesei* and *A. niger*) 108 圖六十七、培養液 HPLC 圖 (AA組 - *T. reesei* and *A. niger*) 109 圖六十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AB組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 110 圖六十九、培養液 HPLC 圖 (AB組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 111 圖七十、不同基質所釋放之還原糖量 (AC組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 112 圖七十一、培養液 HPLC 圖 (AC組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 113 圖七十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AD組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 114 圖七十三、培養液 HPLC 圖 (AD組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 115 圖七十四、不同基質所釋放之還原糖量 (AE組 - *T. reesei* and *A. niger*) 116 圖七十五、培養液 HPLC 圖 (AE組 - *T. reesei* and *A. niger*) 117 圖七十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AF組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 118 圖七十七、培養液 HPLC 圖 (AF組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 119 圖七十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AG組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 120 圖七十九、培養液 HPLC 圖 (AG組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 121 圖八十、不同基質所釋放之還原糖量 (AH組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 122 圖八十一、培養液 HPLC 圖 (AH組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 123 圖八十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AI組 - *T. reesei* and *A. niger*) 124 圖八十三、培養液 HPLC 圖 (AI組 - *T. reesei* and *A. niger*) 125 圖八十四、不同基質所釋放之還原糖量 (AJ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 126 圖八十五、培養液 HPLC 圖 (AJ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 127 圖八十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AK組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 128 圖八十七、培養液 HPLC 圖 (AK組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 129 圖八十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AL組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 130 圖八十九、培養液 HPLC 圖 (AL組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 131 圖九十、不同基質所釋放之還原糖量 (AM組 - *T. reesei* and *A. niger*) 132 圖九十一、培養液 HPLC 圖 (AM組 - *T. reesei* and *A. niger*) 133 圖九十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AN組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 134 圖九十三、培養液 HPLC 圖 (AN組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 135 圖九十四、不同基質所釋放之還原糖量 (AO組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 136 圖九十五、培養液 HPLC 圖 (AO組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 137 圖九十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AP組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 138 圖九十七、培養液 HPLC 圖 (AP組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 139 圖九十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 140 圖九十九、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 141 圖一百、不同基質所釋放之還原糖量 (AR組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 142 圖一百一、培養液 HPLC 圖 (AR組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 143 圖一百二、不同基質所釋放之還原糖量 (AS組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 144 圖一百三、培養液 HPLC 圖 (AS組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 145 圖一百四、不同基質所釋放之還原糖量 (AT組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 146 圖一百五、培養液 HPLC 圖 (AT組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 147 圖一百六、不同基質所釋放之還原糖量 (AU組 - *T. reesei* and *A. niger*) 148 圖一百七、培養液 HPLC 圖 (AU組 - *T. reesei* and *A. niger*) 149 圖一百八、不同基質所釋放之還原糖量 (AV組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 150 圖一百九、培養液 HPLC 圖 (AV組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 151 圖一百十、不同基質所釋放之還原糖量 (AW組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 152 圖一百十一、培養液 HPLC 圖 (AW組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 153 圖一百十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AX組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 154 圖一百十三、培養液 HPLC 圖 (AX組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 155 圖一百四、不同基質所釋放之還原糖量 (AY組 - *T. reesei* and *A. niger*) 156 圖一百五、培養液 HPLC 圖 (AY組 - *T. reesei* and *A. niger*) 157 圖一百六、不同基質所釋放之還原糖量 (AZ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 158 圖一百七、培養液 HPLC 圖 (AZ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 159 圖一百八、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 160 圖一百九、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 161 圖一百十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 162 圖一百十一、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 163 圖一百十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 164 圖一百十三、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 165 圖一百十四、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 166 圖一百十五、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 167 圖一百十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 168 圖一百十七、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 169 圖一百十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 170 圖一百十九、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 171 圖一百二十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 172 圖一百二十一、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 173 圖一百二十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 174 圖一百二十三、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 175 圖一百二十四、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 176 圖一百二十五、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 177 圖一百二十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 178 圖一百二十七、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 179 圖一百二十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 180 圖一百二十九、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 181 圖一百三十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 182 圖一百三十一、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 183 圖一百三十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 184 圖一百三十三、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 185 圖一百三十四、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 186 圖一百三十五、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 187 圖一百三十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 188 圖一百三十七、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 189 圖一百三十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 190 圖一百三十九、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 191 圖一百四十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 192 圖一百四十一、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 193 圖一百四十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 194 圖一百四十三、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 195 圖一百四十四、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 196 圖一百四十五、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 197 圖一百四十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 198 圖一百四十七、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 199 圖一百四十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 200 圖一百四十九、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 201 圖一百五十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 202 圖一百五十一、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 203 圖一百五十二、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 204 圖一百五十三、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 205 圖一百五十四、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *S. cerevisiae*) 206 圖一百五十五、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 207 圖一百五十六、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 208 圖一百五十七、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 209 圖一百五十八、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 210 圖一百五十九、培養液 HPLC 圖 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 211 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 212 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 213 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 214 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 215 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 216 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 217 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 218 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 219 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 220 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 221 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 222 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 223 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 224 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 225 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 226 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 227 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 228 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 229 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 230 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 231 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 232 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 233 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 234 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 235 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 236 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 237 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 238 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 239 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 240 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 241 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 242 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 243 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 244 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 245 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 246 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 247 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 248 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 249 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 250 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 251 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 252 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 253 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 254 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 255 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 256 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 257 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 258 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 259 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *S. cerevisiae* and *A. niger*) 260 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *A. niger* and *S. cerevisiae*) 261 圖一百六十、不同基質所釋放之還原糖量 (AQ組 - *T. reesei* and *A. niger*) 262 圖一百六十、不同基質所釋

A. niger) 59 圖十八、不同基質所釋放之還原糖量 (C組 - T. reesei、A. niger and S. cerevisiae) 62 圖十九、不同培養天數exocellulase、endoglucanase、 β -glucosidase及filterase活性 (C組 - T. reesei、A. niger and S. cerevisiae) 63 圖二十、培養六天後C組(T. reesei、A. niger and S. cerevisiae)總菌量 65 圖二十一、培養液HPLC圖 (C組 - T. reesei、A. niger and S. cerevisiae) 66 圖二十二、在A1、A2、B及C組中，葡萄糖含量的變化 69 圖二十三、在A1、A2、B及C中，乙醇含量的變化 70 表一、常見農業與一般廢棄物中纖維素、半纖維素與木質素組成 11 表二、化學紙漿與原木化學成分 16 表三、可分解纖維素之菌株 26 表四、DNS試劑組成成份 35 表五、T. reesei培養液中菌量、葡萄糖及乙醇含量變化 43 表六、S. cerevisiae培養液中菌量、葡萄糖及乙醇含量變化 50 表七、T. reesei與A. niger共同培養下菌量、葡萄糖及乙醇含量變化 57 表八、T. reesei、A. niger和S. cerevisiae共同培養下菌量、葡萄糖及乙醇含量變化 64

REFERENCES

- 1、王香愛。2009。生物質能的轉化和利用研究。化工科技 17(1):51-55。
- 2、石家興和陳幸德。2009。中國生質沼氣研發現況與政策。農業生技產業季刊 20:94-98。
- 3、朱文深。1983。利用甜高粱原料生產酒精燃料之研究。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北市。
- 4、李文翔。2008。以共固定糖化菌及Saccharomyces cerevisiae生產甘藷生質酒精。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北市。
- 5、杜紫軍。1992。多種分析儀器在製漿蒸煮控制及紙漿木質素含量測定上之應用比較。國立台灣大學森林學研究所博士論文。台北市。
- 6、林俊義。2007。台灣地區生質酒精作物評估。農業試驗所技術服務 70:1-6。
- 7、林俊義。2006。國內外生質能源發展潛力與方向。林立夫等編著，"生質能源開發與利用"，第39-55頁。國立台灣大學生化科技學系出版。
- 8、林則施。2008。利用微生物將纖維素廢棄物轉化為生質酒精。大葉大學生物產業科技學系研究所碩士論文。彰化縣。
- 9、胡俊榮。2002。玉米聚木醣分子性質對其聚木醣降解性及寡醣組成之影響。靜宜大學食品營養學系碩士論文。台中縣。
- 10、袁振宏、吳創之和馬隆龍。2004。生物質能利用原理與技術。化學工業出版社。北京。第8-11頁。
- 11、郭家倫、陳威希、陳文恆、陳盛變、門立中、黃文松和湯俊彥。2006。核研所纖維素產製酒精技術之研發。林立夫等編著，"生質能源開發與利用"，第57-67頁。國立台灣大學生化科技學系出版。
- 12、郭明朝。2007。核研所纖維酒精發展之策略規劃。2007年台灣生質酒精發展趨勢研討會論文集。第7-19頁。
- 13、陳乃菁、余碧、邱文石和曾浩洋。1993。碳源及培養條件對Trichoderma reesei生產纖維素之影響。農林學報 42:9-17。
- 14、陳文恆、郭家倫、黃文松和王嘉寶。2007。纖維酒精技術之發展。農業生技產業季刊 9:62-69。
- 15、葉丁源。1997。嗜高溫放線菌纖維素分解酵素之探討。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北市。
- 16、黃俊宏。1993。汽油添加酒精作為汽車燃料之可行性研究。國立台灣大學機械工程研究所碩士論文。台北。
- 17、黃郁菁。2009。新型反應器於纖維素生質酒精中之同步糖化與發酵技術開發與應用。私立元智大學生物科技與工程研究所碩士論文。桃園縣。
- 18、黃進、夏濤和鄭化。2009。生物質化工與生物質材料。第82-116頁。化學工業出版社。北京。
- 19、賀運春。2008。真菌學。第 122-254頁。中國林業出版社。北京。
- 20、經濟部能源局。2005。能源政策白皮書。台北:經濟部能源局 21、楊萬發 (編)。1993。工業減廢技術手冊2 - 造紙工業。第53-87頁。經濟部環保署工業減廢聯合輔導小組。台灣。
- 22、楊盛行。2005。生物性肥料的開發與應用潛力。農業生技產業季刊 4:9-17。
- 23、楊盛行和陳盟靜。2000。高溫放線菌對堆肥化過程的影響。中華生質能源學會會誌 19(3-4):115-127。
- 24、楊顯整。2008。清潔替代燃料二甲醚概述。綠基會通訊。第6-9頁。
- 25、劉廣青、董仁杰和李秀金。2009。生物質能源轉化技術。第130-160頁。化學工業出版社。北京。
- 26、潘仕穎和吳芳禎。2009。以Trichoderma reesei酵素水解紙漿生產乙醇。台灣農業化學年會研討會摘要。第60頁。國立台灣大學。台北市。
- 27、潘仕穎、吳芳禎、吳達民、廖元有、吳菁蓉和鄭詩卿。2009。Trichoderma reesei 及Aspergillus niger酵素水解紙漿生產乙醇。台灣食品科學技術學會年會研討會摘要。第124頁。國立宜蘭大學。宜蘭縣。
- 28、Adsul, M. G., Ghule, J. E., Singh, R., Shaikh, H., Bastawde, K.B., Gokhale, D. V. and Varma, A. J. 2004. Polysaccharides from bagasse: applications in cellulose and xylanase production. Carbohydrate Polymers 57:67-72.
- 29、Aiello, C., Ferrer, A. and Ledesma, A. 1996. Effect of alkaline treatments at various temperatures on cellulase and biomass production using submerged sugarcane bagasse fermentation with Trichoderma Reesei QM 9414. Bioresource Technology 57:13-18.
- 30、Bayer, E. A., Shimon, L. J. W., Shoham, Y. and Lamed, R. 1998. Cellulosomes-structure and ultrastructure. Journal of Structural Biology 124:221-234.
- 31、Be'guin, P. 1987. Cloning of cellulase gene. Critical Reviews in Biotechnology 6:129-162.
- 32、Bhat, M. K. and Bhat S. 1997. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. Biotechnology Advances 15:583-620.
- 33、Binder, A. and Ghose, T. K. 1978. Adsorption of cellulose by Trichoderma viride. Biotechnology and Bioengineering 20:1187-1199.
- 34、Bisaria, V. S. and Ghose, T. K. 1981. Biodegradation of cellulosic materials: substrates, microorganisms, enzymes and products. Enzyme and Microbial Technology 3:90-104.
- 35、Chen, M., Xia, L. and Xue, P. 2007. Enzymatic hydrolysis of corncobs and ethanol production from cellulosic hydrolysate. International Biodeterioration and Biodegradation 59:85-89.
- 36、Chen, S. and Wayman, M. 1991. Cellulase production induced by carbon sources derived from waste newspaper. Process Biochemistry 26:93-100.
- 37、Chen, Y., Sharma-Shivappa, R. R. and Chen, C. 2007. Ensiling agricultural residues for bioethanol production. Applied Biochemistry and Biotechnology 143:80-92.
- 38、Chen, M., Zhao, J and Xia, L. 2008. Enzymatic hydrolysis of maize straw polysaccharides for the production of reducing sugars. Carbohydrate Polymers 71:411-415.
- 39、Ghose, T. K. 1987. Measurement of cellulase activities. Pure & Applied Chemistry 59(2):257-268.
- 40、Gi'rio, F. M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Marques, S. and Zukasik, R. B. 2010. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. Bioresource Technology 101:4775-4800.
- 41、Gokhale, D. V., Patil, S. G. and Bastawde, K. B. 1991. Optimization of cellulase production by Aspergillus niger NCIM 1207. Applied Biochemistry and Biotechnology 30:99-109.
- 42、Gunjikar, T. P., Sawant, S. B. and Joshi, J. B. 2001. Shear deactivation of cellulose, exoglucanase, endoglucanase, and β -glucosidase in a mechanically agitated reactor. Biotechnology Progress 17:1166-1168.
- 43、Joseph, H. 2005. Alcohol Fueled Vehicles & Flex Fuel Vehicles-The Ethanol application as vehicular fuel in Brazil. Brazilian Automotive Industry

Association. 44、 Karimi, K., Brandberg, T., Edebo, L. and Taherzadeh, M. J. 2005. Fed-batch cultivation of *Mucor indicus* in dilute-acid lignocellulosic hydrolyzate for ethanol production. *Biotechnology Letters* 27:1395-1400. 45、 Kwon, K. S., Kang, H. G. and Hah, Y. C. 1992. Purification and characterization of two extracellular beta-glucosidases from *Aspergillus nidulans*. *FEMS Microbiology Letters* 76:149-153. 46、 Lynd, L. R., Weimer, P. J., van Zyl, W. H. and Pretorius, I. S. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66:506-577. 47、 Lynd, L. R., van Zyl, W. H., McBride, J. E. and Laser, M. 2005. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update. *Current opinion in biotechnology* 16:577-583. 48、 Mandels, M., Andreotti, R. and Roche, C. 1976. Measurement of saccharifying cellulase. *Biotechnology and Bioengineering* 6:21-33. 49、 Ng, T. K. and Zeikus, J. G.. 1982. Differential metabolism of cellobiose and glucose by *Clostridium thermocellum* and *Clostridium thermohydrosulfuricum*. *Journal of Bacteriology* 150:1391-1399. 50、 Ohgren, K., Bengtsson, O., Gorwa-Grauslund, M. F., Galbe, M., Hahn-Hagerdal, B. and Zacchi, G.. 2006. Simultaneous saccharification and co-fermentation of glucose and xylose in steam-pretreated corn stover at high fiber content with *Saccharomyces cerevisiae* TMB3400. *Journal of Biotechnology* 126:488-498. 51、 Reese, E. T., Sin, R. G. H. and Levinson, H. S. 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *Journal of Bacteriology* 59:485-497. 52、 Rogers, G. M., Jackson, S. A., Shelves, G. D. and Backer, A. A. W. 1992. Anaerobic degradation of lignocellulosic substrates by a 1,4- β -xylanolytic *Clostridium* species novum. *International Biodeterioration and Biodegradation* 29:3-17. 53、 Roger, M. R., Roger, P., James, S. H., Jeffrey S. R. and Mandla, A. T. 2005. *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*. CRC Press 37-62. 54、 Saha, B. C. 2003. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 30:279-291. 55、 Saha, B. C., Iten, L. B., Cotta, M. A. and Wu, Y. V. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification, and fermentation of rice hulls to ethanol. *Biotechnology Progress* 21:816-822. 56、 Salamitou, S., Raynaud, O., Lemaire, M., Coughlan, M., Be'guin, P. and Aubert, J. P. 1994. Recognition specificity of the duplicated segments present in *Clostridium thermocellum* endoglucanase CelD and in the cellulosome-integrating protein CipA. *Journal of Bacteriology* 176:2822-2827. 57、 Saloheimo, M., Paloheimo, M., Hakola, S., Pere, J., Swanson, B., Nyysso"nen, E., Bhatia, A., Ward, M. and Penttila", M. 2002. Swollenin, a Trichoderma reesei protein with sequence similarity to the plant expansins, exhibits disruption activity on cellulosic materials. *European Journal of Biochemistry* 269:4202-4211. 58、 Shackford, L. D. 2003. A comparison of pulping and bleaching of kraft softwood and eucalyptus pulps. 36th International Pulp and Paper Congress and Exhibition. October 13-16. Sao Paulo, Brazil. 59、 Shetty, A. S. and Gaertner, F. H. 1975. Kynureninase-Type enzymes of *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, and *Pseudomonas fluorescens*: further evidence for distinct kynureninase and hydroxylkynureninase activities. *Journal of Bacteriology* 122:235-244. 60、 Sprey, B. and Bochem, H. P. 1993. Formation of cross-fractures in cellulose microfibril structure by an endoglucanase-cellulobiohydrolase complex from *Trichoderma reesei*. *FEMS Microbiology Letters* 106:239-243. 61、 Stahlberg, J., Johansson, G. and Pettersson, G.. 1988. A binding-site-deficient, catalytically active, core protein of endoglucanase III from the culture filtrate of *Trichoderma reesei*. *European Journal of Biochemistry* 173:179-183. 62、 Sternberg, D. 1976. Production of cellulase by *Trichoderma*. *Biotechnology and Bioengineering symposium* 6:35-53. 63、 Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* 83:1-11. 64、 Wood, T. M. 1985. Properties of cellulolytic enzyme systems. *Biochemical Society Transactions* 13:407-410. 65、 Yu, Z. and Zhang, H. 2004. Ethanol fermentation of acid-hydrolyzed cellulosic pyrolysate with *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology* 93:199-204. 66、 Zhang, Q., Lo, C. M. and Ju, L. K. 2007. Factors affecting foaming behavior in cellulose fermentation by *Trichoderma reesei* Rut C-30. *Bioresource Technology* 98:753-760. 67、 Zhang, M., Eddy, C., Deanda, K., Finkenstein, M and Picataggio, S. 1995. Metabolic engineering of a pentose metabolism pathway in ethanologenic *Zymomonas mobilis*. *Science* 267:240-243.