

# Bio - Ethanol Production from *Acacia confusa* by Simultaneous Saccharification and Fermentation

黃雍婷、葉啟輝

E-mail: 387119@mail.dyu.edu.tw

## ABSTRACT

The study made use of agricultural wastes to produce bio-ethanol as alternative energy. Hydrolysis effect of *Acacia confusa* by different sulfuric acid concentration, temperature and reacting time was studied. Enzyme and brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* were added to the cellulose to explore optimization of alcohol production rate. The optimum hydrolytic conditions were: reacting temperature of 121 °C, sulfuric acid concentration of 3% with a reaction time of 20 min. Under these conditions, hydrolysate contained 10.92 g/L glucose, 61.16 g/L xylose and 0.07 g/L furfural. Through the operation of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) experiment may produce ethanol 0.42 g / L for batch within 48 hr, while 0.45 g / L.

Keywords : simultaneous saccharification and fermentation, *Acacia confusa*, enzymatic hydrolysis, bio-ethanol

## Table of Contents

封面內頁	簽名頁	中文摘要	iii	ABSTRACT	iv	誌謝	v	目錄	vi	圖目錄	viii	表目錄	x	第一章 緒論	1	1.1 前言	1	1.2 研究目的	2	1.3 研究內容	3	第二章 文獻回顧	4	2.1 生質能源	4	2.2 木質纖維	6	2.2.1 纖維素	8	2.2.2 半纖維素	9	2.2.3 木質素	9	2.2.4 萃取成分及灰分	10	2.3 相思樹之特性	10	2.4 纖維生產酒精原理	12	2.4.1 前處理	13	2.4.2 纖維素酵素水解	16	2.4.3 醱酵	17	2.5.1 前處理相關文獻	21	2.5.2 酵素水解相關文獻	24	第三章 研究方法	29	3.1 實驗流程	29	3.2 實驗藥品與器材	31	3.3 原料前處理	34	3.3.1 硫酸對原料前處理	35	3.3.2 氫氧化鈉對原料前處理	36	3.3.3 纖維素水解液分析	37	3.4 酵素水解試驗	40	3.5 醱酵試驗	44	3.5.1 酵母菌活化	44	3.5.2 酵母菌分析方法	46	3.5.3 醱酵	46	第四章 實驗結果與討論	48	4.1 稀酸前處理	48	4.1.1 時間對稀酸前處理之影響	48	4.1.2 溫度對稀酸前處理之影響	53	4.1.3 濃度對稀酸前處理之影響	57	4.2 稀酸前處理	61	4.3 同步醱化與醱酵	65	4.3.1 溫度對SSF的影響	65	4.3.2 pH值對SSF的影響	68	4.3.3 基質濃度對批次式SSF的影響	70	4.3.4 基質濃度對饋料式SSF的影響	72	第五章 結論與建議	76	5.1 結論	76	5.2 建議	78	參考文獻	79	圖目錄		圖2-1 木材組成分布	6	圖2-1 醱酵整合發展的現況	20	圖3-1 研究流程圖	30	圖3-2 葡萄糖檢量線	38	圖3-3 木糖檢量線	38	圖3-4 糠醛檢量線	39	圖3-5 乙醇檢量線	39	圖3-6 二硝基水楊酸(DNS)檢量線	41	圖4-1 不同濃度硫酸作用10分鐘葡萄糖變化	49	圖4-2 不同濃度硫酸作用20分鐘葡萄糖變化	49	圖4-3 不同濃度硫酸作用40分鐘葡萄糖變化	50	圖4-4 不同濃度硫酸作用10分鐘木糖變化	50	圖4-5 不同濃度硫酸作用20分鐘木糖變化	51	圖4-6 不同濃度硫酸作用40分鐘木糖變化	51	圖4-7 不同濃度硫酸作用10分鐘糠醛變化	52	圖4-8 不同濃度硫酸作用20分鐘糠醛變化	52	圖4-9 不同濃度硫酸作用40分鐘糠醛變化	53	圖4-10 不同時間於50 °C 葡萄糖濃度變化	54	圖4-11 不同時間於80 °C 葡萄糖濃度變化	54	圖4-12 不同時間於121 °C 葡萄糖濃度變化	55	圖4-13 不同溫度於50 °C 木糖濃度變化	55	圖4-14 不同時間於80 °C 木糖濃度變化	56	圖4-15 不同時間於121 °C 木糖濃度變化	56	圖4-16 不同溫度中硫酸濃度1%，葡萄糖濃度之變化	58	圖4-17 不同溫度中硫酸濃度3%，葡萄糖濃度之變化	58	圖4-18 不同溫度中硫酸濃度5%，葡萄糖濃度之變化	59	圖4-19 不同溫度中硫酸濃度1%，木糖濃度之變化	59	圖4-20 不同溫度中硫酸濃度3%，木糖濃度之變化	60	圖4-21 不同溫度中硫酸濃度5%，木糖濃度之變化	60	圖4-22 不同濃度NaOH作用10分鐘葡萄糖濃度變化	62	圖4-23 不同濃度NaOH作用30分鐘葡萄糖濃度變化	62	圖4-24 不同濃度NaOH作用10分鐘木糖濃度變化	63	圖4-25 不同濃度NaOH作用30分鐘木糖濃度變化	63	圖4-26 不同溫度下葡萄糖濃度的變化	66	圖4-27 不同溫度下木糖濃度的變化	66	圖4-28 不同溫度下酒精濃度的變化	67	圖4-29 不同pH值下葡萄糖濃度變化	68	圖4-30 不同pH值下木糖濃度變化	69	圖4-31 不同pH值下酒精濃度變化	69	圖4-32 不同基質、酵素濃度下葡萄糖濃度的變化	70	圖4-33 不同基質、酵素濃度下木糖濃度的變化	71	圖4-34 不同基質、酵素濃度下酒精濃度的變化	71	圖4-35 不同基質、酵素濃度下葡萄糖濃度的變化	72	圖4-36 不同基質、酵素濃度下木糖濃度的變化	73	圖4-37 不同基質、酵素濃度下酒精濃度的變化	73	表目錄		表2-1 農業與一般廢棄物纖維組成	7	表2-2 相思樹之特徵	11	表2-3 各項前處理方法優缺點	15	表 3-1 酸前處理實驗變數因子設計	35	表 3-2 鹼前處理實驗變數因子設計	36	表 4-1 不同基質濃度下批次式SSF的效果	74	表 4-2 不同基質濃度下饋料式SSF的效果	75
------	-----	------	-----	----------	----	----	---	----	----	-----	------	-----	---	--------	---	--------	---	----------	---	----------	---	----------	---	----------	---	----------	---	-----------	---	------------	---	-----------	---	---------------	----	------------	----	--------------	----	-----------	----	---------------	----	----------	----	---------------	----	----------------	----	----------	----	----------	----	-------------	----	-----------	----	----------------	----	------------------	----	----------------	----	------------	----	----------	----	-------------	----	---------------	----	----------	----	-------------	----	-----------	----	-------------------	----	-------------------	----	-------------------	----	-----------	----	-------------	----	-----------------	----	------------------	----	----------------------	----	----------------------	----	-----------	----	--------	----	--------	----	------	----	-----	--	-------------	---	----------------	----	------------	----	-------------	----	------------	----	------------	----	------------	----	---------------------	----	------------------------	----	------------------------	----	------------------------	----	-----------------------	----	-----------------------	----	-----------------------	----	-----------------------	----	-----------------------	----	-----------------------	----	--------------------------	----	--------------------------	----	---------------------------	----	-------------------------	----	-------------------------	----	--------------------------	----	----------------------------	----	----------------------------	----	----------------------------	----	---------------------------	----	---------------------------	----	---------------------------	----	-----------------------------	----	-----------------------------	----	----------------------------	----	----------------------------	----	---------------------	----	--------------------	----	--------------------	----	---------------------	----	--------------------	----	--------------------	----	--------------------------	----	-------------------------	----	-------------------------	----	--------------------------	----	-------------------------	----	-------------------------	----	-----	--	-------------------	---	-------------	----	-----------------	----	--------------------	----	--------------------	----	------------------------	----	------------------------	----

## REFERENCES

1. 方繼, (1982), 以 *Zymomonas molilis* 生產酒精之研究, 中興大學食品科學研究所, 碩士論文。
2. 王三郎, (1995), 水產資源利用學, 高立圖書出版社。
3. 王志賢, (2005), 台灣種植能源作物以提煉生質酒精之可行性分析, 中興大學應用經濟學系, 碩士論文。
4. 王秀華, (2001), 木材化學及其應用, 國立編譯館。
5. 朱躍釗、盧定強、萬紅貴、賈紅華, (2004), 木質纖維素預處理技術研究進展。生物加工過程。

- 6.行政院農委會，(2004)，我國農產貿易概況，第143期，第6-7頁。
- 7.林永展、劉恩男，木質素的化學成分與應用概況，化工資訊與商情，第69期，第24-31頁。
- 8.吳秋芬，(2008)，嗜熱厭氧狼尾草分解菌之產醇特性研究，大葉大學環境工程研究所，碩士論文。
- 9.周柏伸，(2006)，利用酸前處理提高纖維素水解蔗渣效率之研究，台灣大學生物產業機電工程研究所，碩士論文。
- 10.林祐生、李文乾，(2009)，生質酒精，科學發展，第433期，第20-25頁。
- 11.芳崧信，(2008)，纖維水解酵素之固定化與其特性研究，大葉大學生物產業科技學系研究所，碩士論文。
- 12.徐崑銘，(1983)，利用纖維素物質生產酒精，中興大學食品科學研究所，碩士論文。
- 13.高婉婷，(2013)，纖維素水解菌*Cellulomonas* sp.和酵母菌於SSF程序以藻粉產生生質酒精之研究，中興大學環境工程學系所，碩士論文。
- 14.張四立，(2008)，國外推動酒精汽油之政策工具，能源報導，第27-29頁。
- 15.陳文恆、郭家倫、黃文松、王嘉寶，(2007)，纖維酒精技術之發展，農業生技產業季刊，第9期，第60-69頁。
- 16.陳芃，(2008)，二代生質技術上路--以纖維素產製生質燃料，能源報導，5月號，第12-14頁。
- 17.陳志威，吳文騰，(2002)，生生不息的生質能源，科學發展，359期，第8-12頁。
- 18.陳韋任，(2007)，蔗渣產製生質乙醇，台灣大學生物產業機電工程研究所，碩士論文。
- 19.彭元興，(2008)，木質材再生能源化之研究，林務局。
- 20.彭元興、王益真，(2007)，森林生質煉油廠-生質能源與製漿廠的整合，漿紙技術，第10期，第15-26頁。
- 21.景春娥、趙旭、常思靜、薛林貴，(2009)，纖維素在燃料乙醇工業中的應用研究進展，第3期，第98-102頁。
- 22.黃維凡，(2006)，以前處理提升稻殼纖維素水解效率之研究，台灣大學生物產業機電工程研究所，碩士論文。
- 23.楊智安，(2009)，開發以稻桿為生質材料之新型為生物共培養反應器，長庚大學化工與材料工程研究所，碩士論文。
- 24.經濟部能源局，(2007)，能源科技研究發展白皮書。
- 25.廖啟文，(2010)，相思樹纖維素能源化研究，大葉大學環境工程學系研究所，碩士論文。
- 26.蔡尚翰，(2009)，相思樹半纖維素能源化研究，大葉大學環境工程學系研究所，碩士論文。
- 27.謝志誠、楊哲維、陳韋任、劉安琪、張思賢，(2009)，農業機械學刊，第3期，第61-74頁。
- 28.Aiello C., Ferrer A., Ledesma A., (1996). "Effect of alkaline treatments at various temperatures on cellulose and biomass production using submerged sugarcane bagasse fermentation with *Trichoderma reesei* QM 9414", *Bioresource Technology*, 57:13-18.
- 29.Aden A., Ruth M., Ibsen K., Jechura J., Neeves K., Sheehan A., (2002). "Lignocellulosic biomass to ethanol process design and economics utilizing concurrent dilute acid prehydrolysis and enzymatic", *Journal of the American Chemical Society*, 124:14247-14254.
- 30.Ballester I., Olva J. M., Negro M. Manzanares J. P., Ballesteros M., (2002). "Enzymic hydrolysis of steam exploded herbaceous agricultural waste (*Brassica carinata*) at different particule sizes", *Process Biochemistry*, 38:187-192.
- 31.Beguín P., (1987) "Cloning of cellulase gene", *Cri. Rev. Biotechnol*, 6: 129-162.
- 32.Chen M., Xia L., Xue P. J., (2007). "Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate", *International Biodeterioration and Biodegradation*, 59: 85-89.
- 33.Eklund R., Galbe M., Zacchi G., (1995). "Simultaneous saccharification and fermentation of steampretreated willow", *Enzyme and Microbial Technology*, 17:255-259.
- 34.Fan L. T., Gharpuray M. M., Lee Y. H., (1987). "Cellulose hydrolysis *Biotechnology Monographs*", Springer, Berlin., p.57.
- 35.Lee J., Kwon K. S., and Hah Y. C., (1996). "Regulation of  $\alpha$ -glucosidase biosynthesis in *Aspergillus niduland*", *FEMS Microbiol. Lett*, 135:79-84.
- 36.McMillan, J. D., (1994). "Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production", 63:294-324.
- 37.Nigam J. N., (2001). "Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*", *Journal of Biotechnology*, 87:17-27.
- 38.Rao P. J. M., (1997). "Industrial utilization of sugarcane and its co-product", *Indian Commission of Sugar Industry Development* 39.
- Rishi G., Krishna K. S., and Ramesh C. K., (2009). "Separate hydrolysis and fermentation (SHF) of *Prosopis juliflora*, a woody substrate, for the production of cellulosic ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*-NCIM 3498", *Bioresource Technology*, 100:1214-1220.
- 40.Sara G., Juan Jose G.C., Jose A.R., Gil G., and Manuel V., (2006). "Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid", *Journal of Food Engineering*, 74:78-88.
- 41.Sreenatha H.K., Jeffries T.W., (2000). "Production of ethanol from wood hydrolyzate by yeasts", *Bioresource Technology*, 72:253-260.
- 42.Sun, Y., and Cheng, J. J., (2002). "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review", *Bioresource Technology*, 83:1-11.
- 43.Xu F., Liu C.F., Geng Z.C., Sun J.X., Sun R.C., Hei B.H., Lin L., Wu S.B., and Je J., (2006). "Characterisation of degraded organosolv hemicelluloses from wheat straw", *Polymer Degradation and Stability*, 91:1880-1886.
- 44.Zheng Y.Z., Lin H.M., Taso G.T., (1998). "Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion", *Biotechnology Progress*, 14:890-896.