

Study on the Biofuel from Hemicellulose of *Acacia confusa*

蔡尚翰、葉啟輝

E-mail: 9800790@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

Hemicellulose pre-extracted before pulping unit was simulated in this study. The hydrolysate was also transformed into bio-ethanol. In the first step, hemicellulose hydrolyzed by dilute acid at high temperature, the hydrolysis effect of *Acacia confusa* by different sulfuric acid concentration, temperature and reacting time was studied, and searched for the optimum of hydrolysis condition with the most sugar. In the second step, the culturing condition and ethanol productivity of *Pichia stipitis* BCRC 21777 was probed. The optimum conditions were: reacting temperature of 160, sulfuric acid concentration of 1% with a reacting time of 20 min. Under these condition, hydrolysate contained 4.01 g/L glucose, 18.67 g/L xylose and 0.45 g/L furfural, therefore each gram dry material produced 0.19 g xylose and 0.04 g glucose. The culture condition shows that the more sugar the higher ethanol productivity and cell concentration will be obtained. However, when the culture medium includes furfural or acetic acid, cell concentration and ethanol productivity will be suppressed. Result from this study indicated that optimum fermentation procedure could obtain ethanol 10.3 g/L, therefore each gram dry material produced 0.1 g ethanol.

Keywords : *Acacia confusa*、hemicellulose、*Pichia stipitis*、bio-ethanol

Table of Contents

封面內頁 簽名頁 博碩士論文暨電子檔案上網授權書	iii	中文摘要	iv	英文摘要	v	誌謝	vi	目錄	vii	圖目錄	xi	表目錄	xiii	第一章 緒論	1																																																																																																														
1.1 前言	1	1.2 研究目的	3	1.3 研究內容	4	第二章 文獻回顧	5	2.1 生質酒精	5	2.2 生質酒精發展狀況	7	2.2.1 國外生質酒精發展狀況	7	2.2.2 國內生質酒精發展狀況	9	2.3 木質纖維素	10	2.3.1 纖維素	11	2.3.2 半纖維素	12	2.3.3 木質素	12	2.3.4 萃取成分及無機成分	13	2.4 木質纖維素生質酒精製程	13	2.4.1 酸水解製程	14	2.4.2 ?水解製程	16	2.5 相關研究	19	2.5.1 半纖維素水解	20	2.5.2 水解液酒精發酵	24	第三章 研究方法	28	3.1 實驗流程	28	3.2 實驗藥品與器材	30	3.3 半纖維素水解實驗	31	3.3.1 實驗材料	31	3.3.2 原料分析	32	3.3.3 稀酸水解	32	3.3.4 分析方法	33	3.4 <i>Pichia stipitis</i> 發酵特性實驗	36	3.4.1 菌株來源與培養基	36	3.4.2 菌種活化與培養	36	3.4.3 pH值之影響	37	3.4.4 木糖濃度之影響	37	3.4.5 葡萄糖濃度之影響	38	3.4.6 醋酸濃度之影響	38	3.4.7 糠醛濃度之影響	39	3.4.8 分析項目及方法	39	3.5 半纖維素水解液發酵實驗	40	3.5.1 溫度之影響	41	3.5.2 氮源之影響	41	3.5.3 額外添加葡萄糖之影響	41	3.5.4 分析項目及方法	42	第四章 結果與討論	43	4.1 原料成分測定	43	4.2 半纖維素水解	44	4.2.1 溫度對水解之影響	44	4.2.2 酸濃度對水解之影響	47	4.2.3 水解時間對水解之影響	50	4.2.4 最佳化水解條件	53	4.3 <i>Pichia stipitis</i> 發酵能力之探討	58	4.3.1 發酵液初始pH值之影響	58	4.3.2 發酵液木糖含量之影響	60	4.3.3 發酵液葡萄糖含量之影響	63	4.3.4 發酵液醋酸含量之影響	66	4.3.5 發酵液糠醛含量之影響	69	4.4 半纖維素水解液發酵	72	4.4.1 溫度對半纖維素水解液發酵之影響	72	4.4.2 氮源對半纖維素水解液發酵之影響	76	4.4.3 添加葡萄糖對半纖維素水解液發酵之影響	80	4.4.4 小結	84	第五章 結論與建議	86	5.1 結論	86	5.2 建議	88	參考文獻	89

REFERENCES

1. Cheng K.K., Cai B.Y., Zhang J.A., Ling H.Z., Zhou Y.J., Ge J.P., and Xu J.M., (2008) " Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process ", *Biochemical Engineering Journal*, 38:105-109
2. Dale B.E., and Moreira M.J., (1982) " A

freeze-explosion technique for increasing cellulose hydrolysis ” , *Biotechnology and Bioengineering* , 12:31-43 3. Delgenes J.P. , Moletta R. , and Navarro J. M. , (1996) “ Effects of lignocellulose degradation products on ethanol fermentations of glucose and xylose by *Saccharomyces cerevisiae* , *Zymomonas mobilis* , *Pichia stipitis* , and *Candida shehatae* ” , *Enzyme and Microbial Technology* , 19:220-225 4. Fan L.T. , Gharpuray M.M. , and Lee Y.H. , (1987) “ Cellulose hydrolysis: biotechnology monographs ” , Springer-Verlag Berlin 5. Farone W.A. , and Cuzens J.E. , (1998) “ Method of producing sugars using strong acid hydrolysis ” , U.S. Patent No. 5,726,046 6. Frank K.A. , Guillermo C.K. , Mads T.S. , Kevin S.W. , (2006) “ Fermentation of glucose/xylose mixtures using *Pichia stipitis* ” , *Process Biochemistry* , 41: 2333 – 2336 7. Giorgia S. , Tiziana P. , and Dante M.D.F. , (2008) “ Cellulose and hemicelluloses recovery from grape stalks ” , *Bioresource Technology* , 99:4329-4337 8. Gladys S. , Linda P. , Christian R. , Tobias M. , Mats G. , and Gunnar L. , (2004) “ Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Brava ” , *Bioresource Technology* , 93:249-256 9. Hernandez-Salas J.M. , Villa-Ramirez M.S. , Veloz-Rendon J.S. , Rivera- Hernandez K.N. , Gonzalez-Cesar R.A. , Plascencia-Espinosa M.A. , and Trejo-Estrada S.R. , (2009) “ Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse ” , *Bioresource Technology* , 100:1238-1245 10. Himmel M.E. , Baker J.O. , and Overend R.P. , (1994) “ Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production ” , American Chemical Society , vol.566 11. Inmaculada R. , Sebastian S. , Manuel M. , Eulogio C. , Encarnacion R. , Vicente B. , (2007) “ Fermentation of olive tree pruning acid-hydrolysates by *Pachysolen tannophilus* ” , *Biochemical Engineering Journal* , 36:108-115 12. Keikhosro K. , Shauker K. , and Mohammad J. T. , (2006) “ Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis ” , *Biomass and Bioenergy* , 30:247-253 13. Keikhosro K. , Giti E. , Mohammad J.T. , (2006) “ Production of ethanol and mycelial biomass from rice straw hemicellulose hydrolyzate by *Mucor indicus* ” , *Process Biochemistry* , 41:653-658 14. Lei Z. , Xu Z. , Tianwei T. , (2008) “ Influence of various glucose/xylose mixtures on ethanol production by *Pachysolen tannophilus* ” , *Biomass and Bioenergy* , 32:1156-1161 15. Liaw W.C. , Chen C.S. , Chang W.S. , and Chen K.P. , (2008) “ Xylitol production from rice straw hemicellulose hydrolyzate by polyacrylic hydrogel thin films with immobilized *Candida subtropicalis* WF79 ” , *Journal of Bioscience and Bioengineering* , 105:97-105 16. Marie L. , Eva-Lena J. , Mats G. , and Guido Z. , (2008) “ Steam pretreatment of dilute H₂SO₄-impregnated wheat straw and SSF with low yeast and enzyme loadings for bioethanol production ” , *Biomass and Bioenergy* , 32:326-332 17. Mujgan T.O. , and Nurdan E.S. , (2006) “ Ethanol production from sunflower seed hull hydrolysate by *Pichia stipitis* under uncontrolled pH conditions in a bioreactor ” , *Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences* , 30:317 - 322 18. Nigam J.N. , (2001) “ Ethanol production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis* ” , *Journal of Biotechnology* , 87:17-27 19. Rao P.J.M. , (1997) “ Industrial utilization of sugarcane and it's co-product ” , Indian Commission of Sugar Industry Development 20. 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 21. 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 22. Sreenatha H.K. , Jeffries T.W. , (2000) “ Production of ethanol from wood hydrolyzate by yeasts ” , *Bioresource Technology* , 72:253-260 23. 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 24. Zheng Y.Z. , Lin H.M. , Taso G.T. , (1998) “ Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion ” , *Biotechnology Progress* , 14:890-896 25. 王秀華, (2001), 木材化學及其應用, 國立編譯館。 26. 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。 27. 方繼, (1982), 以 *Zymomonas mobilis* 生產酒精之研究, 中興大學食品科學研究所, 碩士論文。 28. 朱景升, (2002), 酵母菌酒精醱酵與分離並行程序之操作條件探討, 中正大學化學工程研究所, 碩士論文。 29. 吳奇璋, (2008), 我國推動生質燃料發展刻不容緩, 能源報導, 4月號, 第5-7頁。 30. 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。 31. 林啟文、呂珊茹、賴吉永, (2005), 生物能酒精燃料之發展歷程及現況, 台灣機電工程社-生質能專輯, 第1期, 第31-39頁。 32. 林偉彬, (2000), 稻草蔗渣半纖維素之水解、分離純化及木糖醱酵生產木糖醇, 大葉大學食品工程研究所, 碩士論文。 33. 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。 34. 范晉嘉, (1982), 以 *Trichoderma koningii* W10 菌株之纖維素分解酵素糖化纖維物質之研究, 中興大學食品科學研究所, 碩士論文。 35. 范繼中, (2007), 以海藻產製生質酒精之優勢, 水試專訊, 第十九期, 第24-26頁。 36. 胡立薇, (2007), 擴大生質燃料運用, 能源報導, 12月號, 第23-26頁。 37. 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。 38. 陳榮耀、許清森, (1986), 纖維質廢棄物之生化組成及微生物分解, 工業技術, 第142期, 第60-68頁。 39. 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62-69頁。 40. 陳志威、吳文騰, (2002), 生生不息的生質能源, 科學發展, 第359期, 第8-11頁。 41. 陳芄, (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。 42. 陳建孝、林畢修平, (2007), 纖維酒精製程簡介與未來展望, 永續產業發展雙月刊, 第35期, 第6-15頁。 43. 陳婷玟, (2000), 以茭白筍殼半纖維素為碳源生產 *Trichoderma longibrachiatum* 185 聚木糖?及其在低聚木糖製備上之應用, 中興大學食品科學研究所, 碩士論文。 44. 陳觀彬, (2000), 固定化生菌生產木糖醇, 雲林科技大學工業化學與災害防治研究所, 碩士論文。 45. 彭元興, (2008), 木質材再生能源化之研究, 林務局。 46. 彭元興、王益真, (2006), 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。 47. 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。 48. 張四立, (2008), 國外推動酒精汽油之政策工具, 能源報導, 2008年5月號, 第27-29頁。 49. 溫祖康, (2007), 生質能源發展現況與我國推動能源作物之探討, 農政與農情, 第186期。 50. 經濟部能源局, (2007), 能源科技研究發展白皮書。 51. 劉裕國, (2007), 澱粉生產酒精之三菌共固定培養體系的開發, 長庚大學化工與材料工程研究所, 碩士論文。 52. 謝志強, (2008), 巴西推動生質燃料產業30年創造百億替代能源商機, 生技與醫療器材

