

中華民國第 63 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 化學科

第二名

030206

廢木屑的春天～探討前處理提升木質纖維醱化
效率

學校名稱：新北市私立南山高級中學(附設國中)

作者： 國二 吳羽錚 國二 曾襄凌 國二 蔡咏蓁	指導老師： 趙國豪
---	------------------

關鍵詞：前處理、木質纖維、還原醱

摘要

本研究找出木質纖維廢棄物更環保的前置處理方式：木屑過篩縮小粒徑再利用低濃度硫酸、鹼性過氧化氫溶液二次處理，可以提高酵素水解木質纖維效率，且有效抑制不利於酒精發酵的「經甲基糠醛」產生。本研究控溫在100℃以下，酵素水解48小時最高達到84%的纖維分解率與57.2%還原糖產率。實驗設計可以大幅減少金屬離子廢液產生與耗能，也能提升目前業界常用酸處理的產糖效率。實驗發現複合式前處理藥劑的濃度最高只需3%且處理時間一~兩小時，可使還原糖產率比酸前處理增加30%。研究中的前處理用於鉛筆木屑和乾燥的果菜廚餘粉末，也都能達到73~83%左右的纖維素水解率，證明研究設計的複合處理木質纖維高效且節能環保。

壹、前言

一、研究動機

暑假期間，學校體育館進行地板的刨除和翻修，產生非常大量木屑廢棄物準備丟棄，我們想起前幾個月老師提到的國際新聞，因為高油價促使美國解禁生質燃料添加於汽油，然而各國大量種植甘蔗、玉米製造酒精作為生質燃料，因為相當耗能且產率低，且還會排擠食用作物生產而時有爭議。所以我們想由廢木屑開始嘗試找出有效率水解廢棄木質纖維，產出還原醣類的方法，希望可以研究讓植物纖維廢棄物能更簡易、省時、環保的分解成醣類，進而轉成有用的生質酒精原料。

二、研究目的

- (一) 尋找合適分解木屑的低汙染、低成本、低耗能藥品組合
- (二) 分析不同藥品濃度對分解木質纖維的效果
- (三) 不同溫度對於分解木屑的影響
- (四) 不同浸泡時間對於分解木屑的影響
- (五) 研究多次前處理與單一次前處理的水解差異
- (六) 不同種類木屑對設計的前處理條件效果差異
- (七) 水解液的總醣量、葡萄糖量與醣類降解產生HMF的檢驗

三、文獻回顧

(一) 木質纖維素(lignocellulose)

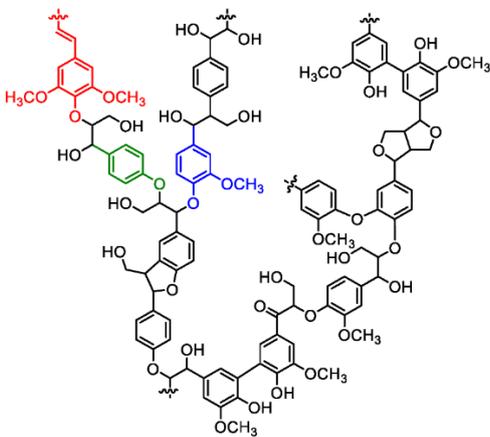
木質纖維素大量存在於草本及木本植物間，含有較豐富的碳水化合物，其主要成分由木質素(lignin)、半纖維素(hemicellulose)和纖維素(cellulose) 組成，而所占的比例會依據植物的種類不同而有所差異。

1. 木質素：為非晶體之芳香族高分子化合物，其為苯基丙烷(phenyl propane)單體結構所組成的三度空間之網狀化合物，**木質素結構複雜而難以破壞移除，因此對於水解反應是最大之障礙。**
2. 半纖維素：結構組成和纖維素不同，它是由多種不同醣類聚合而成，其醣類含有五碳糖，如木糖(xylose)和阿拉伯糖(arabinose)與六碳糖，如半乳糖(galactose)、

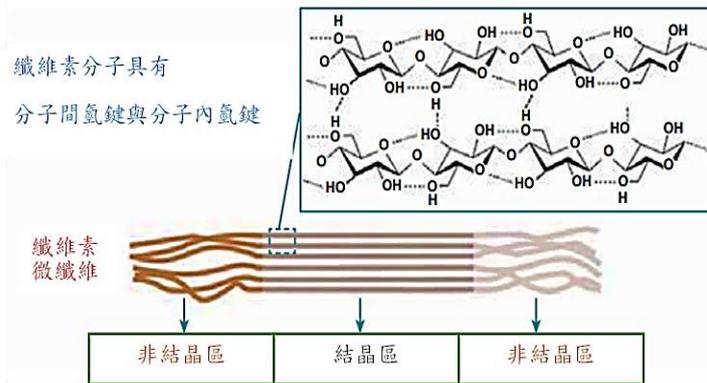
葡萄糖(Glucose)和甘露糖(mannose)等，不同木屑比例也有所不同。由於**半纖維素主分子鏈短、分枝多、非結晶結構、聚合度較低和易吸水潤脹之特性，因此易於水解。**

3. 纖維素：結構(如圖 1-2)是由葡萄糖單體所組成的多醣，單體之間透過 β -1, 4-糖苷鍵連結而成的直鏈高分子聚合物，不溶於水和有機溶劑。纖維素鏈之間是以氫鍵互相鍵結且構造上有兩種型態，一種是分子間排列整齊為結晶區，另一種是分子間排列不規則且較鬆散為非晶區，因此**纖維素是較穩定且其結構難以破壞，需要經由化學或物理之方式破壞結構，以利纖維素水解轉為葡萄糖。**

【表 1-1】木質素的類型		
愈創木基木質素 (guaiacyl lignin) G-木質素	紫丁香基木質 (syringyl lignin) S-木質素	對-羥基苯基木質 (hydroxy-phenyl lignin) H-木質素
愈創木基丙烷結構單體	紫丁香基丙烷結構單體	對羥基苯基丙烷結構單體
裸子、雙子葉、單子葉植物	雙子葉、單子葉植物	單子葉植物



【圖 1-1】



【圖 1-2】

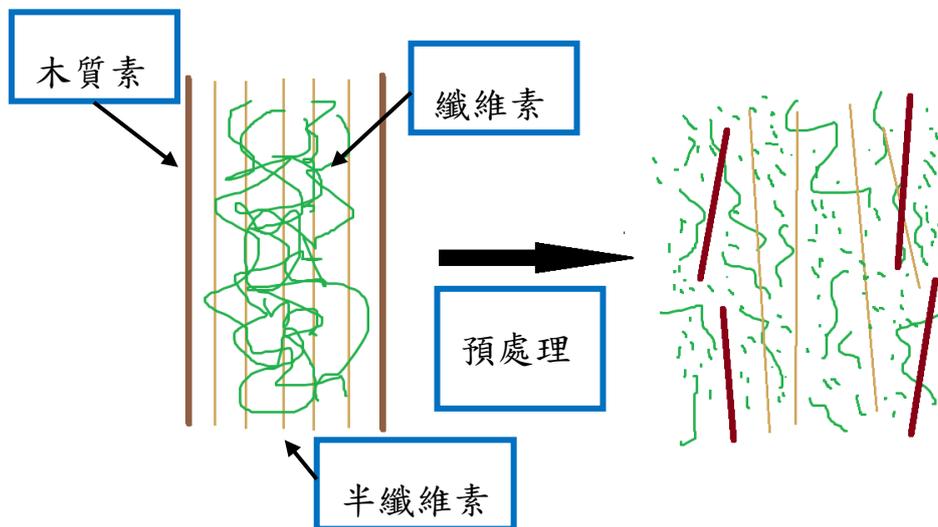
(二) 木質纖維素之前處理

農業與廢棄物木質纖維素中，纖維素及半纖維素之含量占整體組成一半以上，而木質素含量約占整體組成 5~30%，其纖維素之結晶區和非結晶區與半纖維素互相交纏連結且被木質素包覆著，而形成立體的網狀結構。由於該結構堅固緊密不易

被破壞，使得酵素無法直接與纖維素或半纖維素接觸，導致水解效率差。如果要有效利用，於水解反應前需藉由前處理之程序以提高水解效率。

木質纖維素前處理之主要目的(如圖 1-3)為瓦解半纖維素和木質素對纖維素的保護層、去除木質素、降低纖維素的結晶度與聚合度，以及增加纖維素與酵素或催化劑進行水解反應之接觸面積。根據不同之原理，其常用前處理方式可分為物理法、物理化學法、化學法和生物法等，比較如下表 1-1。

【表 1-2】 傳統常見木質纖維素前處理研究比較			
處理方式	優點	缺點	常用方式
物理法	操作簡單、快速反應 纖維素分解率 15~30%	耗能高、副產物多、 不適合大量處理	研磨法、輻射線照射、超音波微波
物理化學法	破壞效率佳、產醣率高 纖維素分解率 70~96%	技術門檻高、耗能多	蒸氣爆破、氨纖維爆破、二氧化碳爆破
化學法	破壞效果佳、使用廣泛 纖維素分解率 65~80%	回收率不佳、污染多	銅氨法、酸溶劑法、有機溶劑法
生物法	耗能低、操作簡單、 不汙染環境 纖維分解率 50~75%	處理時間長、效率低、 不適合大量處理	腐生真菌、基因工程菌、生物酶類



【圖 1-3】

貳、研究設備及重要器材

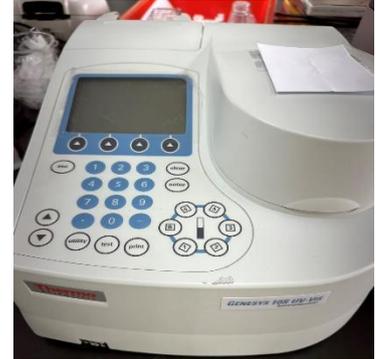
1.美國楓木木屑	10.檸檬酸鈉	19.硫酸鐵	28.不鏽鋼篩網
2.鉛筆木屑	11.酒石酸鉀鈉	20.過錳酸鉀	29.恆溫水浴槽
3.蔬果乾燥粉末	12.苯酚	21.草酸銨	30.恆溫振盪器
4.β-葡聚醣	13.3,5-二硝基水楊酸	22.複式顯微鏡	31.電磁加熱攪拌器
5.葡萄糖	14. Viscozyme 複合型 酵素	23.石英比色管	32.糖度計
6.硫酸	15.亞鐵氫化鉀	24.電子天平	33.減壓過濾裝置
7.過氧化氫	16.乙酸鋅	25.紫外線-可見光分 光光度計	34.真空旋轉濃縮機
8.氫氧化鈉	17.亞硫酸氫鈉	26.桌上離心機	35.滴定管
9.檸檬酸	18.斐林試劑	27.桌上型酸鹼度計	



▲照片 2-1 恆溫水浴槽



▲照片 2-2 恆溫振盪器



▲照片 2-3 分光光度計



▲照片 2-4 桌上型酸鹼度計



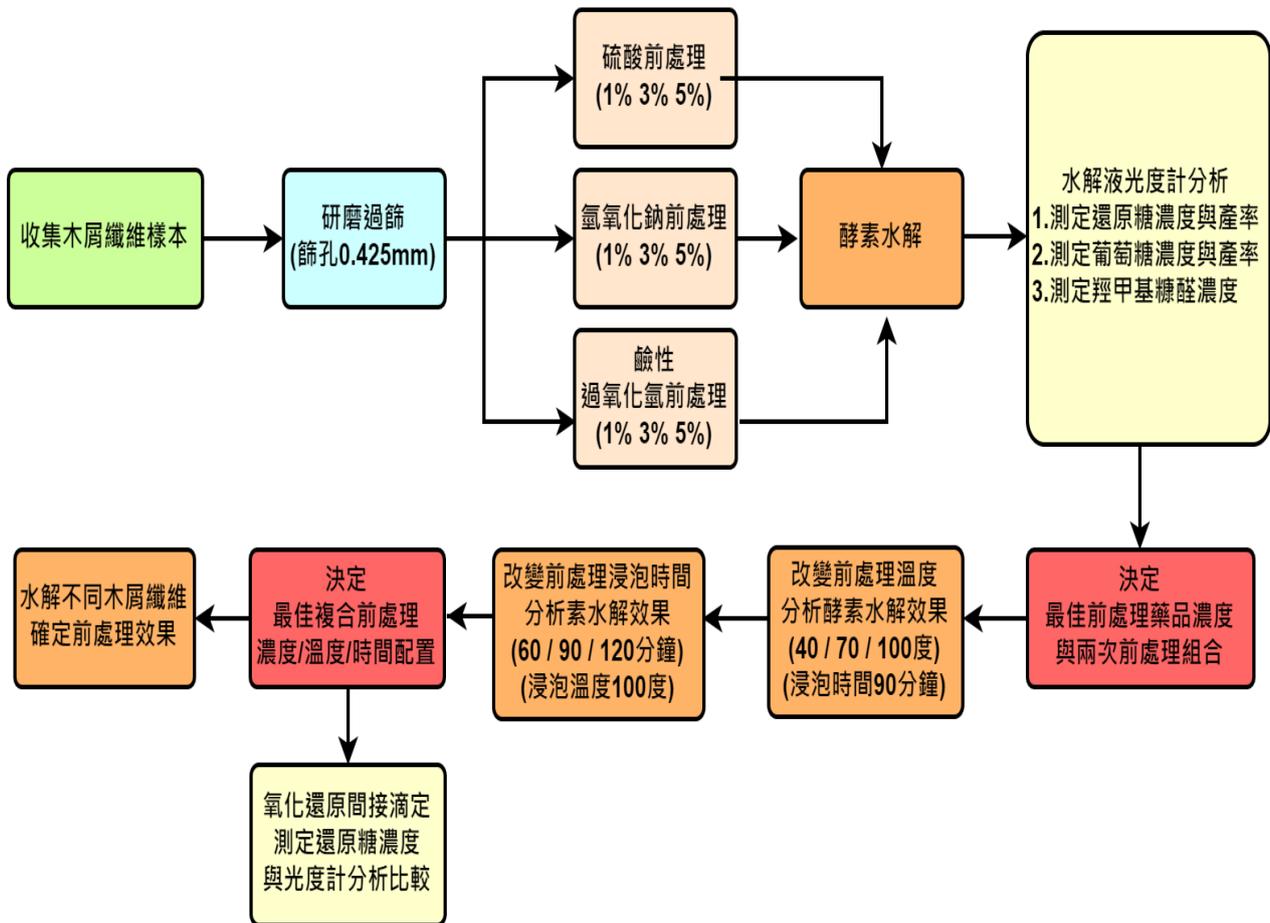
▲照片 2-5 電磁加熱攪拌器



▲照片 2-6 石英比色管

參、研究過程或方法

一、研究流程圖



二、研究方向設定

文獻中提到有效率又符合經濟成本的前處理需符合下列條件(Sun & Cheng 2002)：

- (一) 處理過後的目標物必需為酵素易分解的
- (二) 盡量避免產生抑制水解酵素和抑制酒精醱酵的有害物質
- (三) 使整體能源、化學物質及金錢使用量為最低
- (四) 處理過程與檢驗過程盡量不造成二次環境汙染。

所以本研究藥品選用都是盡量以不含重金屬、降低對環境汙染為優先。實驗設計則希望盡量能減少耗能、處理條件、溶液可回收再使用，且使用設備容易取得、產醱效率佳、檢測方式迅速準確為目標。

三、實驗原理

(一) 物理性前處理_研磨過篩：

本研究木屑是地板刨除工程的廢棄物，而後續研究的鉛筆屑、葉菜果皮粉末也都是廢棄物，在化學前處理前將木材研磨以 40 目(篩孔：0.425 mm)篩網過篩，達到降低粒徑、降低結晶度、增加比表面積、降低聚合度的效果。希望幫助反應時達到穩定的反應速率。

(二) 化學性前處理：

目的用於破壞纖維素的晶體結構，打破木質素與纖維素的連結，同時使半纖維素溶解。依照研究方向決定採用酸性、鹼性、鹼性氧化法三種前處理作為主要方法。

1、酸性前處理：

酸性處理能夠有效破壞木質纖維素結構，商業生產多以無機酸做為酸來源，在高溫下，酸性溶液有助於半纖維素及纖維素水解，但缺點是只用酸處理容易產生過度降解而使糖類變成有機酸、醛類等副產物，處理完之後的溶液需要經中和且去除妨礙發酵的抑制物。

2、鹼性前處理：

鹼性溶液皂化半纖維素和木質素之間的酯鍵，達到移除木質素的目的，以利於接下來的水解，鹼性處理可在常溫常壓下完成，但單一鹼處理的醱產率不佳。

3、鹼性氧化劑前處理：

鹼性氧化劑前處理為氧化劑法前處理之一，也是一種有效去除木質素的前處理方式。鹼性氧化劑主要在破壞木質素結構，並使木質纖維素結構鬆散化，造成纖維素、半纖維素以及木質素彼此間有較大的三維空間;此外鹼性氧化劑前處理較不易產生呋喃甲醛及 5-羥甲基糠醛(Hydroxymethylfurfural，簡稱 HMF) 等副產物影響水解酵素的活性，可提高酵素水解糖化率。我們使用過氧化氫為氧化劑，因為過氧化氫在鹼性環境中，會分解產生氫氧自由基 Hydroxyl Radical($HO\cdot$) 以及過氧化氫陰離子 Hydroperoxyl Anion(HOO^-)，前者透過高活性(Higher Reactivity)，使木質素降解;後者與共軛羰基結構(Conjugated Carbonyl Structures)反應，消除木質素結構中的發色團(Chromophores)。

(三) 纖維素酵素水解：

酵素水解是指利用半纖維、纖維水解酶將木質纖維素分解成六碳糖及五碳糖以供醱酵，又稱為糖化。**酵素水解不會產生副產物影響後續醱酵過程，所需之設備成本低廉又可在溫和的操作條件下進行水解，並可減低高污染化學藥劑之使用對環境之衝擊**；然而木質纖維素結構緊密，導致直接只用酵素水解無法產生較高糖化率，所以我們搭配前處理技術，使酵素更容易接觸纖維素，進而加速酵素水解速率。纖維水解酵素作用分為三類：內切型纖維素水解酶、外切型纖維素水解酶和 β -葡萄糖苷酶。由內切型纖維素水解酶首先作用於纖維素之非結晶區，將長鏈之纖維素分子打斷，然後由外切型纖維素水解酶作用，經與內切型纖維素水解酶之協同作用，使纖維素分子之結晶區，與非結晶區同時水解成纖維二糖與寡糖，最後由 β -葡萄糖苷酶將纖維二糖與寡糖水解成葡萄糖。

本實驗採用 Novozymes 的食品級「Viscozyme 複合型酵素」，內含是 Beta-葡聚糖水解酵素、纖維素水解酵素、半纖維水解酵素、木聚糖水解酵素。此種酵素的最適作用條件則參考廠商提供水解條件(圖 3-1)維持：pH=5.0、溫度=50°C 同時以震盪頻率 30 rpm 以利酵素反應。

Novozymes Viscozyme® L:

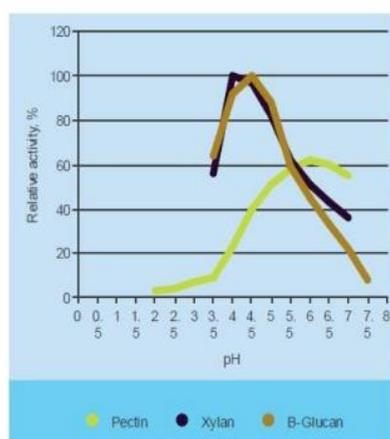


Fig. 1. Effect of pH on Viscozyme L activity with different substrates

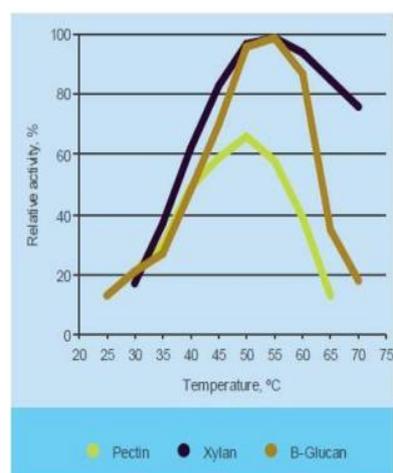


Fig. 2. Effect of temperature on Viscozyme L activity with different substrates

【圖 3-1】

四、重要實驗設計與步驟

(一) 化學性前處理：我們預期化學前處理主要影響因素有藥品種類、濃度、反應溫度、反應時間。因此將在本研究中依序測試不同藥品、不同濃度、在不同反應時間與溫度下產糖率的變化和降解的變化。

1、研究藥品種類與濃度對產醣率影響：

實驗變因設計	
操縱變因	設計參數
化學藥品種類 濃度(%)	H ₂ SO ₄ 、NaOH、H ₂ O ₂ +3%NaOH 1、3、5
主要控制變因： (1)此階段前處理反應溫度均設定為 70℃、浸泡藥品時間均為 90 分鐘 (2)每次實驗皆取 1 克木屑在 100 mL 化學溶液中反應。 (3)前處理完以純水 500 mL 清洗過濾，加入 10mL 酵素定容 100 mL 水解。	

2、研究自行設定的兩次複合前處理程序對產醣率影響：

測定單一酸處理和鹼性氧化劑處理對產醣率影響後，決定藥品產醣率最佳的濃度且副產物(HMF)產率低的藥品進行兩次複合處理，進而依序研究溫度、時間對產醣率的關係，找出最佳複合前處理組合。

實驗變因設計	
操縱變因	設計參數
第一次 / 第二次前處理浸泡溫度(°C)	40 / 40、70 / 70、100 / 100
第一次 / 第二次前處理浸泡時間(分鐘)	60 / 60、90 / 90、120 / 120
主要控制變因： 溶液濃度(第一次：1%硫酸處理 / 第二次：3%過氧化氫+3%氫氧化鈉) 其餘變因控制條件如單一前處理。	

3、研究兩次複合前處理是否也適用其他木質纖維：

實驗變因設計	
操縱變因	設計參數
木屑種類	鉛筆木屑、葉菜廚餘木屑
主要控制變因： 變因控制條件如最佳複合前處理組合。	

4、研究還原醣不同檢測方式的差異：

利用氧化還原滴定法與使用光度計檢測的數值比較，確認研究中檢測方式與傳統方法之差異值。

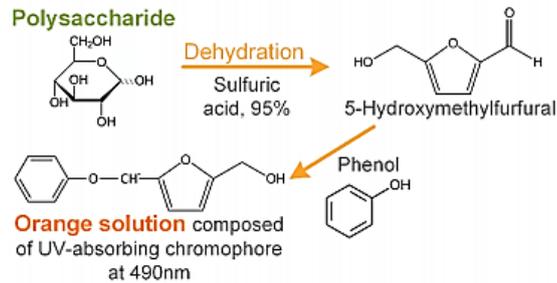
五、實驗數據分析方法

(一) 還原糖之測定：我們採用兩種分光光度計方式分別測定總醣量與葡萄糖量，最後再以氧化還原滴定法做總醣產量確認。

1、酚—硫酸法：

(1) 目的：利用分光光度計測定總醣量。

(2) 原理：是利用醣類與硫酸先脫水生成醣醛，再與酚反應呈色，混合後觀察其顏色變化，再以分光光度計測其吸光值作定性分析。



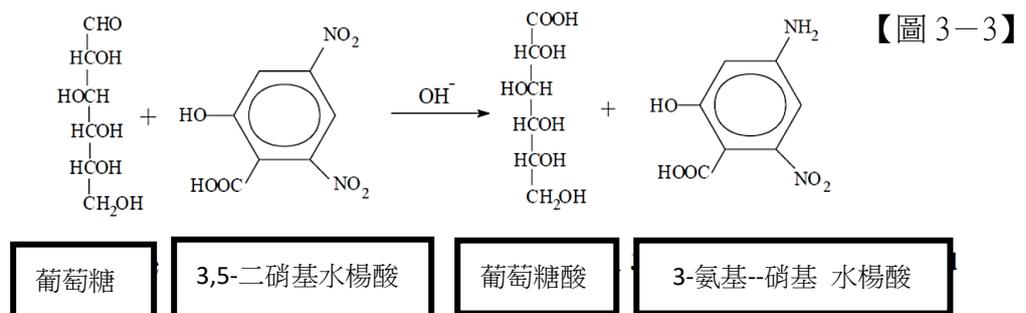
【圖 3-2】

(3) 操作方法：取乾燥樣品溶於 2 mL 水，接著加入 1 mL 5% 酚溶液，最後加入 5 mL 濃硫酸，於 90°C 熱水浴中加熱 30 分鐘，冷卻後於波長 490 nm 測定吸光值。

2、DNS 法：

(1) 目的：利用分光光度計測定葡萄糖量

(2) 原理：利用 DNS 試劑中之 3,5-二硝基水楊酸(3,5-dinitrosalicylic acid)與還原醣共熱反應後，產生被還原成棕紅色的氨基化合物，其產物可利用分光光度計於波長 540 nm 下測得其吸收值。



【圖 3-3】

(3) 操作方法：

步驟一：配置二硝基水楊酸(Dinitrosalicylic acid, DNS)試劑：

A. 0.5 g 3,5-dinitrosalicylic acid 溶於蒸餾水。

B. 150 g 酒石酸鉀鈉溶於蒸餾水。

C. 2 M 之 50 mL 的 NaOH。

A、B、C 混合，加水稀釋至 500 mL，置棕色瓶避光儲存。

步驟二：配置取 0.7 mL 檢驗液加入試管。加入 7 mL 的 DNS 試劑於 100°C 恆溫水槽中加熱 5 分鐘後冷卻。

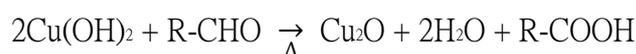
步驟三：加入 5 mL 蒸餾水測 540 nm 波長之吸光值。

3、斐林試驗間接滴定定量法：

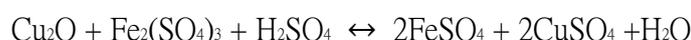
(1) 目的：由於分光光度計檢測還原醣量，可能會因潛在因素造成吸光度的測定誤差，利用斐林試劑與還原糖生成沉澱並進行滴定定量，確認分光光度計測定還原醣準確性，滴定定量採用 Bertrand 法(對照表見實驗紀錄簿)

(2) 原理：

斐林試劑與還原糖共煮，還原糖存在下會產生氧化亞銅 Cu_2O 沉澱



酸性硫酸鐵處理沉澱後，氧化亞銅又氧化為硫酸銅，而三價鐵鹽會與氧化亞銅量成比例地被還原為二價鐵鹽



二價之亞鐵鹽利用高錳酸鉀 KMnO_4 標準溶液進行滴定



再從滴定值換算出被還原醣還原的銅量，最後查 Bertrand 表可由銅量求出試樣中的還原醣量。

(3) 操作方法：

步驟一：配置硫酸鐵溶液(將 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 25 g 溶解於蒸餾水，加入濃硫酸 100 g，以蒸餾水定容至 500 mL)、高錳酸鉀溶液(將 2.5 g KMnO_4 溶解於蒸餾水，再定容至 500 mL)

步驟二：糖度計檢測水解樣品糖度，超過 10° (0.1 g 糖/1 g 溶液)需做稀釋，確保還原糖與斐林試劑完全作用生成氧化亞銅。

步驟三：取 1 克水解液適當稀釋後與斐林試劑共熱生成氧化亞銅，抽氣過濾取得氧化亞銅沉澱。

步驟四：淋洗沉澱物成中性後，用 20mL 酸性硫酸鐵與氧化亞銅形成綠色鐵鹽溶解液綠色，再用高錳酸鉀滴定成微紅棕色。

步驟五：樣品相當之銅量 $A(\text{mg}) = (\text{樣品滴定消耗 } \text{KMnO}_4 \text{ 毫升數} - \text{空白試驗滴定消耗 } \text{KMnO}_4 \text{ 毫升數}) \times \text{每 } 1 \text{ ml 的高錳酸鉀消耗量相當的銅量再查表求醣量。}$

(二) 經甲基糠醛(HMF)測定

1、測定原因：經甲基糠醛為醣類降解產物，會抑制纖維素水解而且是對後續酒精發酵的毒性化合物，將會大幅降低生質能產率。如何在前處理中降低此類副產物也是我們研究重點。

2、測定原理：我們是參考分光光度計廠商 Thermo 數據冊中，國際蜂蜜委員會建立的 white 法作為可接受的 HMF 測定方法(如下公式)。

測量纖維水解溶液與對照溶液(加入亞硫酸氫鈉(NaHSO_3)使 HMF 發色團被破壞後的相同溶液)，於 284 nm 和 336 nm 下測定吸光度，然後利用下列公式計算轉化成 HMF 含量檢測值。

$$\text{HMF}(\text{mg}/\text{mL}) = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times \text{係數因子} F}{V} \quad (V = \text{樣品的毫升數})$$

$$\text{係數因子 } F = \frac{126 \times 1000}{16830 \times 10} = 0.74866$$

(126 = HMF 分子量；16830 = HMF 在 284 nm 莫耳吸光係數)

3、操作方法：

(1) 測試液配製：秤取 5mL 纖維水解溶液加入 20 mL 水，再依次加入 0.5 mL 亞鐵氰化鉀溶液(150 mg/mL)、0.5 mL 乙酸鋅溶液(300 mg/mL)混合後，加水定容至 50 mL 混勻，濾紙過濾後備用。

(2) 吸取濾液各 5 mL 分別至於兩試管中，於一個試管加入 5 mL 水作為待測樣本液，另一個試管加入 5 mL 的 0.2% 亞硫酸氫鈉後，混勻做為對照溶液，測量 284 nm 與 336 nm 處待測液吸光度後代入公式計算 HMF 濃度。

(三) 纖維酵素活性測定：

根據 Ghose(1987)的濾紙分析法(filter paper assay, FPA)定量酵素的活性確定其後續實驗中酵素活性是符合標準，實驗步驟如下：

- 1、準備兩種比例的待測酵素(我們採用 1：10 與 1：100)稀釋液。
- 2、在試管中加入 1 mL 0.05 M, pH 5.5 檸檬酸鈉緩衝溶液，0.5 mL 酵素稀釋液及 50 mg 濾紙。另準備一支試管加入 1.5 mL 0.05 M, pH 5.5 檸檬酸鈉緩衝溶液和 50 mg 濾紙作為酵素空白試驗。
- 3、再準備一支試管，加入 1 mL 0.05 M, pH 5.5 檸檬酸鈉緩衝溶液和 0.5 mL 酵素稀釋液，作為光學空白試驗。
- 4、將各試管放在 50°C 水浴中加熱反應 1 小時。
- 5、將各試管移至沸水中加熱 5 分鐘，使酵素失去活性。將反應液過濾後取 1 mL，以 DNS 法測定還原糖濃度。
- 6、利用使反應釋出還原糖量最接近 2 mg，且 1 個大於 2 mg，另 1 個小於 2 mg 兩種酵素稀釋液倍率內插換算出使反應剛好釋出 2 mg 還原糖的酵素稀釋倍率，再根據下列公式換算原酵素液以濾紙單位(filter paper unit, FPU)表示的纖維水解酶活性。

$$FPU = \frac{0.37}{\text{水解釋出 } 2.0\text{mg 還原糖的酵素濃度}} \text{ units/mL}$$

(四) 水解液數據分析公式定義：

本研究分析都是利用醣類標準線、滴定量和下列公式，用 EXCEL 將纖維素水解得到的總還原糖、葡萄糖和羥甲基糠醛三種物質的產率，以及總還原糖和葡萄糖之生成與降解速率紀錄下來。(所有研究過程分析式中： V_1 水解反應總體積 = 100 mL， V_2 為每次取樣體積 = 5 mL， m 為木屑之重量 = 1000 mg， N 為取樣次數)

1、總還原糖產率 TRSy (Total Reducing Sugar Yield)

$$\text{定義：TRSy}(\%) = \frac{A \times (V_1 - (V_2 \times (N-1)))}{m} \times 100\% \times 0.9$$

A ：總還原糖濃度(mg/mL)，由於多醣水解為單醣時，每斷一個糖苷鍵需加入一分子水，所以在計算多醣含量時應乘以 0.9。

2、**葡萄糖產率** GLU_y (Glucose Yield)

$$\text{定義：} GLU_y(\%) = \frac{B \times (V_1 - (V_2 \times (N-1)))}{m} \times 100\% \times 0.9$$

B：葡萄糖濃度(mg/mL)

4、**HMF 產率** HMF_y (HMF Yield)

$$\text{定義：} HMF_y(\%) = \frac{C \times (V_1 - (V_2 \times (N-1)))}{m} \times 100\%$$

C：HMF 濃度(mg/mL)

5、**總還原糖之生成速率** TRS_{GR} (TRS generation rate)

定義：為水解反應開始至總還原糖產率達到最高點之斜率。

$$TRS_{GR} = \frac{x_1 - x_0}{t_1 - t_0}$$

(x_0 為總還原糖產率之初始值， x_1 為總還原糖產率之最大值， t_0 為開始反應時間， t_1 為產率達到最大值之時間)

6、**總還原糖之降解速率** TRS_{DR} (TRS degradation rate)

定義：為總還原糖產率的最高點至反應結束之斜率

$$TRS_{DR} = - \frac{x_2 - x_1}{t_2 - t_1}$$

(x_2 為反應結束時之總還原糖產率值， x_1 為總還原糖產率之最大值， t_2 為反應結束之時間， t_1 為產率達到最大值之時間)

7、**葡萄糖生成速率** GLU_{GR} (Glucose generation rate)

$$GLU_{GR} = \frac{y_1 - y_0}{t_1 - t_0}$$

(y_0 為總還原糖產率之初始值， y_1 為總還原糖產率之最大值， t_0 為開始反應時間， t_1 為產率達到最大值之時間)

8、**葡萄糖降解速率** GLU_{DR} (Glucose degradation rate)

$$GLU_{DR} = \frac{y_2 - y_1}{t_2 - t_1}$$

(y_2 為反應結束時之總還原糖產率， y_1 為總還原糖產率之最大值， t_2 為反應結束之時間， t_1 為產率達到最大值之時間)

肆、研究結果

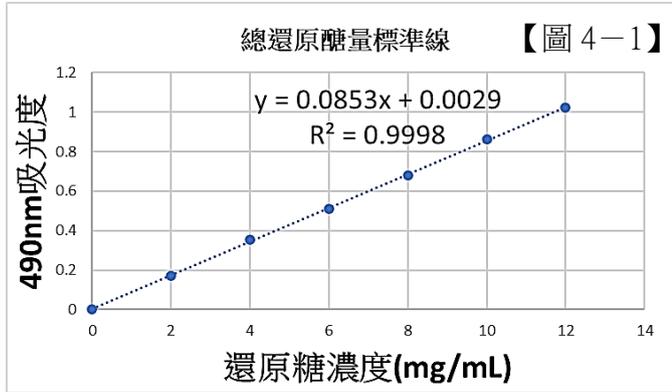
一、木屑成分分析與各種標準線測定：

(一) 分析木屑成分：**實驗使用球場地板為美國楓木。經分析其木屑纖維中木質素含量 25.3%、全纖維素含量佔 68%(其中 α -纖維素含量 39.2%)。**

(二) 建立總還原醣(酚 - 硫酸法)、葡萄糖(DNS 法)標準線數值：

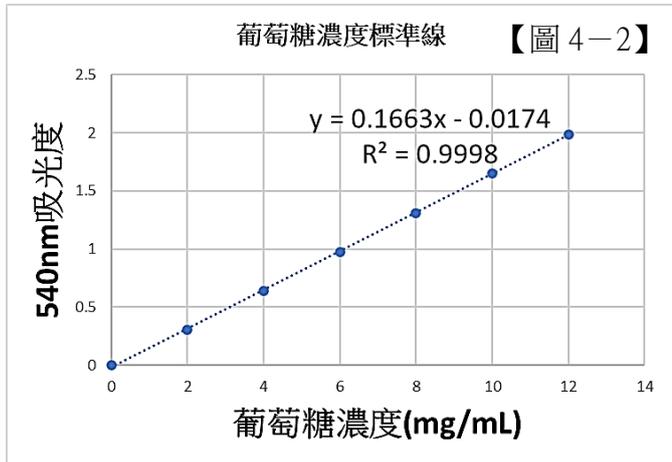
【表 4-1】

還原糖濃度 (mg/mL)	490 nm 吸光度 A
2	0.1725
4	0.3525
6	0.5115
8	0.6795
10	0.8625
12	1.0225



【表 4-1】

葡萄糖濃度 (mg/mL)	540 nm 吸光度 A
0.00	0
2	0.3035
4	0.6395
6	0.9755
8	1.3115
10	1.6475
12	1.9835



(三) 纖維酵素活性檢定：

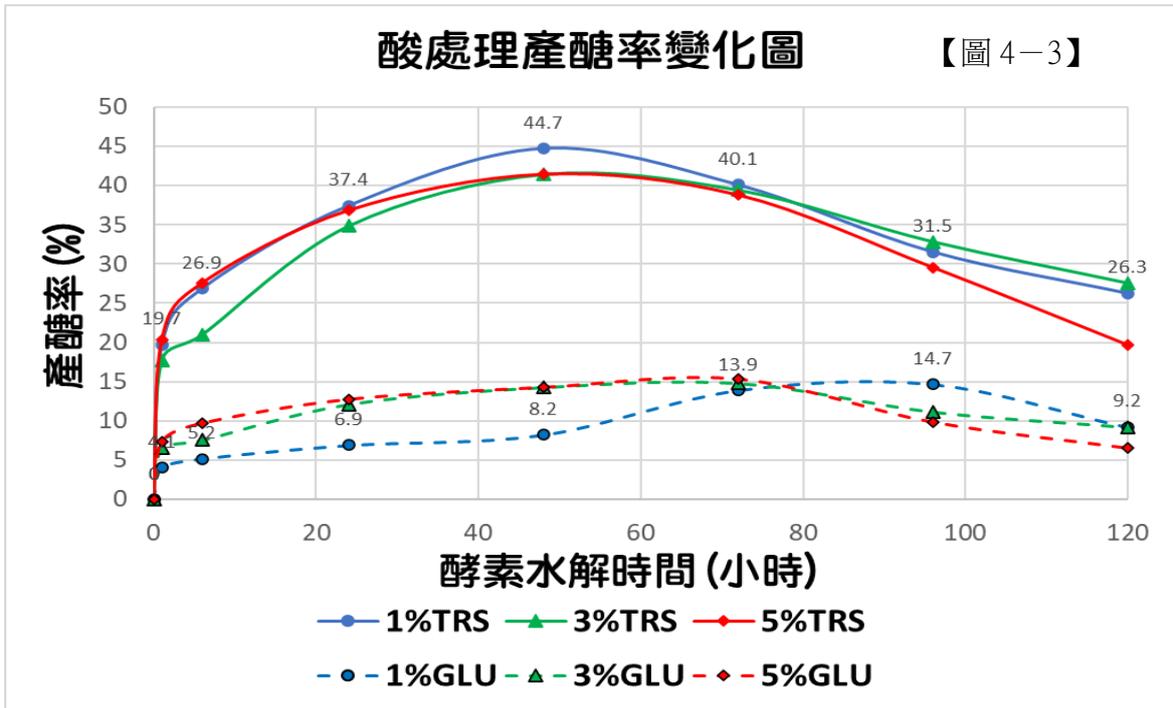
依廠商標示酵素活性為 FPU > 100，原液酵素重量百分濃度 10%，密度 1.21 g/mL

酵素稀釋比例	1 : 10(1%)	1 : 100(0.1%)	經內插計算：可知 2mg 還原醣的酵素濃 度為 0.27%
DNS 法測定吸光度	1.249	0.140	
還原醣量(mg)	7.21	0.732	

本次研究使用酵素的 FPU = 0.37 / 0.0027 = 137 units/mL 符合標準

二、化學藥品單一前處理後產醣率與副產物分析：

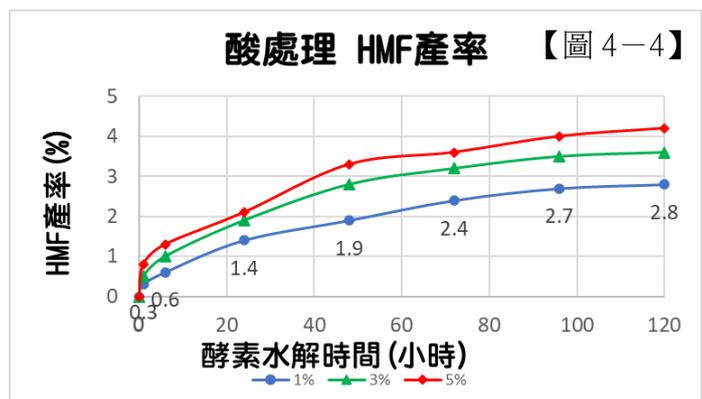
(一) 酸的濃度對反應的影響：



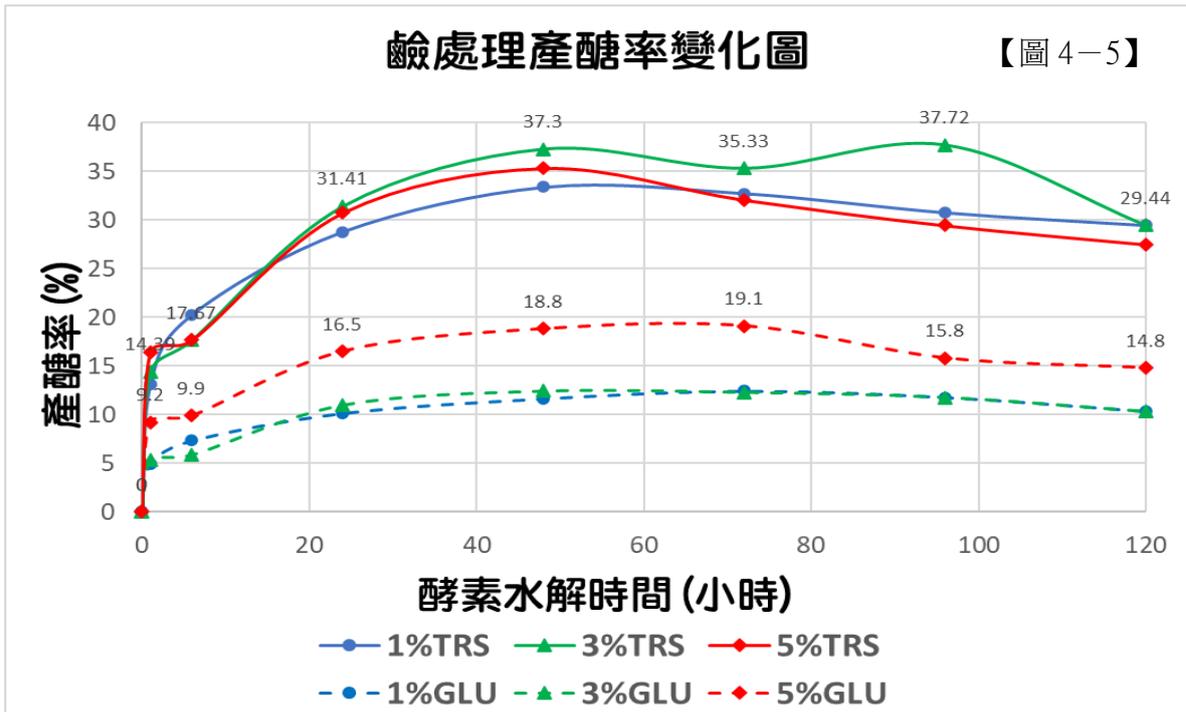
本組實驗嘗試分析不同硫酸濃度對酵素水解效果的影響，藉由濃度設定為 1%、3%、5%，觀察其總還原糖產率(TRS)、葡萄糖產率(GLU)及 HMF 產率之變化，由圖 4-3 中可知並非酸濃度越高越有利於木質纖維水解。

1、若以 1% 硫酸為基準：可以發現三種濃度的還原醣產率都在 48 小時達到最大值(41~45%)，且 1% 硫酸在 TRS_v 反而有最大值 44.7%，總還原糖之生成速率 (TRS_{GR})_{0.93} 也比 3% 硫酸提升 8%，如果綜合考慮水解時間控制在 48 小時內以及儘量減少藥品的濃度等因素，1% 的硫酸是最合適的選擇。

2、葡萄糖產率隨硫酸濃度增加會有提升，但 HMF 生成率也會隨著硫酸濃度增加而大幅提高，對於後續水解和生質酒精發酵是不利的因素，在 72 小時後葡萄糖的降解和 HMF 的增加更為明顯，所以我們認為單一酸處理應在 72 小時以內才能維持最佳水解狀態。

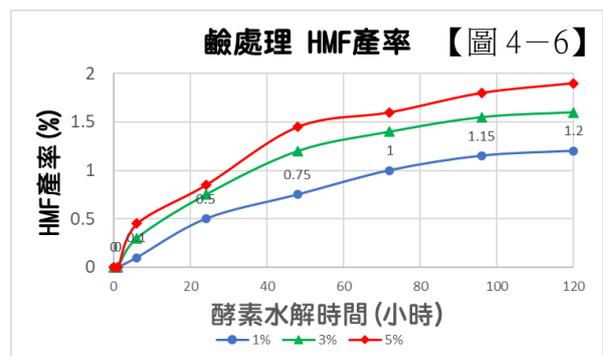


(二) 鹼的濃度對反應的影響：

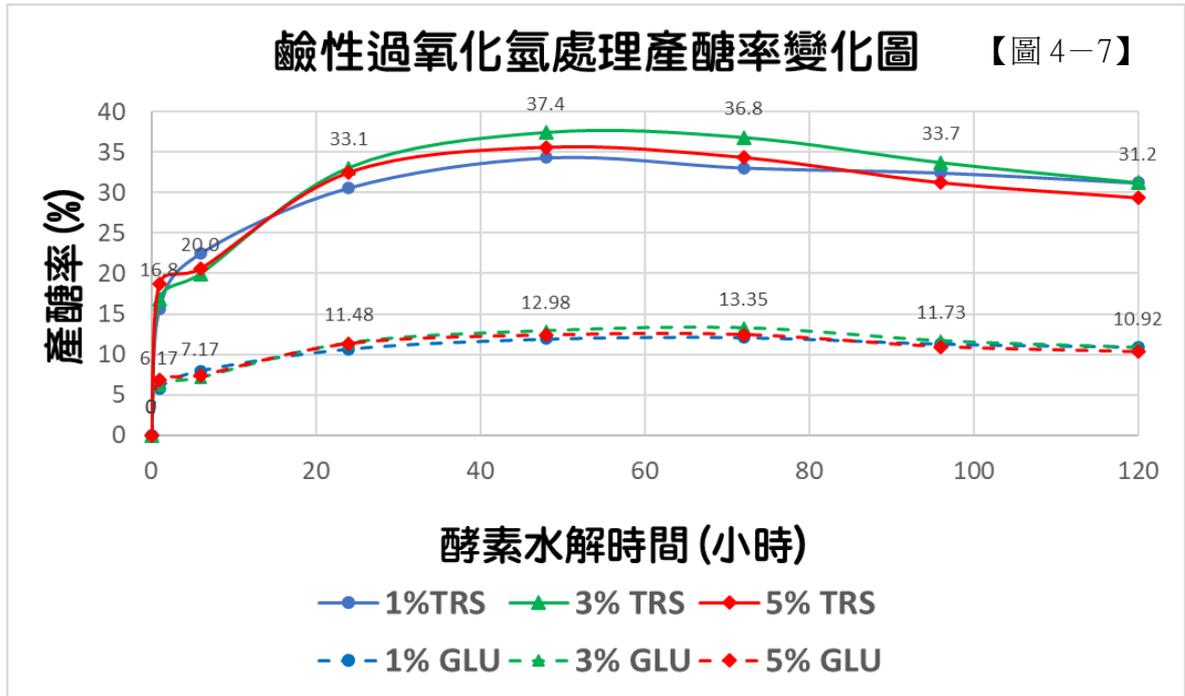


本組實驗分析不同氫氧化鈉濃度對酵素水解效果的影響，觀察還原糖和葡萄糖產率變化圖，產率都比酸前處理來的差，很明顯單獨鹼處理無法有效幫助分解纖維素但可以減緩木質纖維降解的功用。所以驗證商業上木質纖維多是使用酸前處理的原因。

- 1、不同濃度的鹼處理在還原糖和葡萄糖的產率差異不大，我們觀察到雖然 3%NaOH 的最大還原糖產率在 48 小時達到最大值 37.3%、總還原糖之生成速率(TRS_{GR})為 0.78，但數據都比 1%硫酸下降了 16%，值得注意的是鹼處理的最大 HMF 生成率=1.6%，不到酸處理 1/2 有利於生質酒精發酵。綜觀還原糖產率和 HMF 生成率，選定 3%氫氧化鈉做為下一階段鹼性氧化劑處理的配方。
- 2、鹼處理雖然理論上會降低 HMF 的產率，但很特別的發現，相同時間下隨著氫氧化鈉濃度提高，HMF 產率也會提升，推測認為可能跟產物抑制反應有些關係。



(三) 鹼性氧化劑濃度對反應的影響

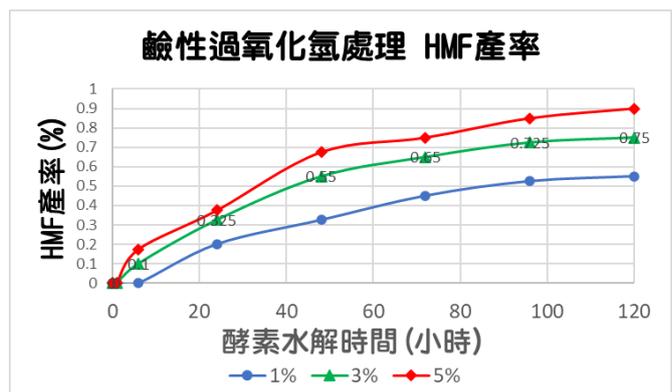


在此組鹼性氧化劑實驗中，氧化劑我們使用過氧化氫，著重在觀測添加過氧化氫後(氫氧化鈉濃度固定為 3%)，反應的各項數據是否比單純氫氧化鈉溶液表現更好。

1、由 3%過氧化氫的 TRS=37.4(%)、GLU=12.98(%)可看到添加過氧化氫後產率都比鹼處理略佳，且 HMF 的產率比鹼處理更為下降，甚至不到鹼處理 HMF 產率的 1/2、酸處理的 1/4。

2、實驗過程中我們觀察到鹼性氧化劑會造成沖洗過濾時阻塞，烘乾木質纖維後，經氧化劑處理的木屑粒徑變得極細，顯微鏡觀測也可以發現纖維變非常破碎，我們認為這是木質素崩解的表現，會有利於水解。

3、比較過還原醣產率、葡萄糖產率、HMF 產率後，我們決定採用還原醣產率(TRS)最高的 3%過氧化氫+3%氫氧化鈉的組合繼續研究，雖然 HMF 的產率也微微增加，但不到 1%，所以後續複合式處理會使用此濃度組合的鹼性過氧化氫。



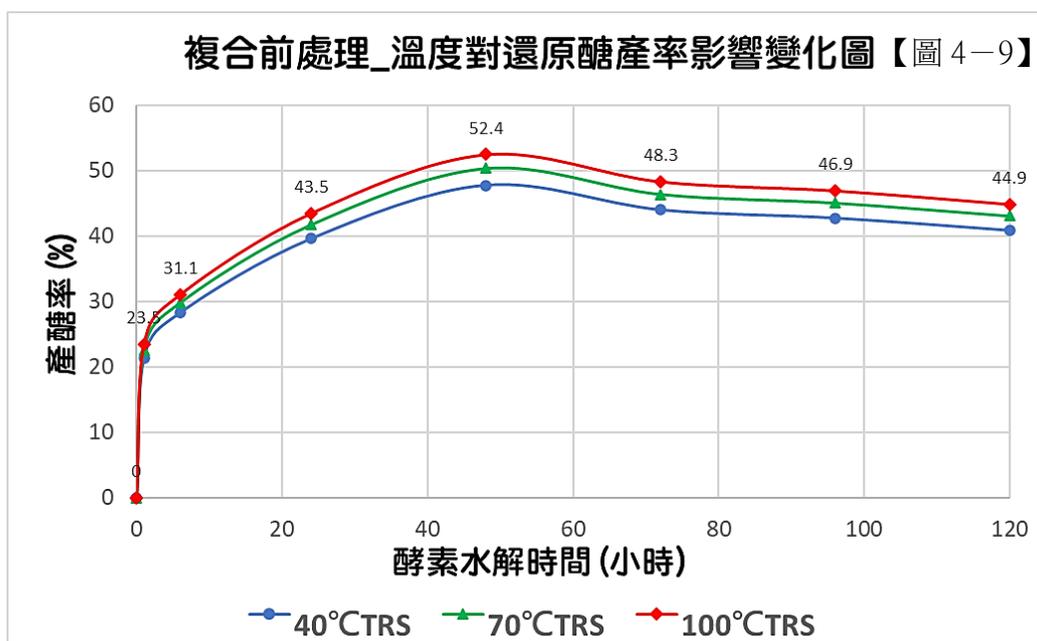
【圖 4-8】

二、兩次前處理後水解效果：

為了要決定兩次前處理的先後順序，所以進行前測實驗。發現先用鹼性氧化劑處理後再用酸處理，還原糖產率並沒有顯著提升但葡萄糖產率下降 5%~10%且 HMF 產率也超過只做 5%酸處理的實驗，原因應該是木質纖維酸前處理後又持續弱酸性酵素水解的長時間浸泡，造成木質纖維降解的反應持續發生，因此二次複合型的前處理，我們決定採用先酸後鹼的方式，再進行前處理溫度和浸泡時間的實驗。

(一) 溫度對前處理反應的影響：

浸泡溫度 40°C			浸泡溫度 70°C		浸泡溫度 100°C	
酵素作用時間	總還原糖濃度 A(mg/mL)	總還原糖產率 TRS(%)	總還原糖濃度 A(mg/mL)	總還原糖產率 TRS(%)	總還原糖濃度 A(mg/mL)	總還原糖產率 TRS(%)
1hr	2.37	21.3	2.50	22.5	2.61	23.5
6hr	3.30	28.3	3.49	29.8	3.63	31.1
24hr	4.88	39.6	5.15	41.7	5.37	43.5
48hr	6.24	47.7	6.58	50.3	6.85	52.4
72hr	6.10	44.0	6.44	46.4	6.71	48.3
96hr	6.33	42.7	6.67	45.0	6.95	46.9
120hr	6.48	40.8	6.83	43.1	7.12	44.9
	還原糖生成率(TRS_{GR}) = 0.99 還原糖降解率(TRS_{DR}) = 0.09 全纖維素最高分解率 = 70.18% (48hr)		還原糖生成率(TRS_{GR}) = 1.05 還原糖降解率(TRS_{DR}) = 0.11 全纖維素最高分解率 = 74.03% (48hr)		還原糖生成率(TRS_{GR}) = 1.09 還原糖降解率(TRS_{DR}) = 0.1 全纖維素最高分解率 = 77.12% (48hr)	

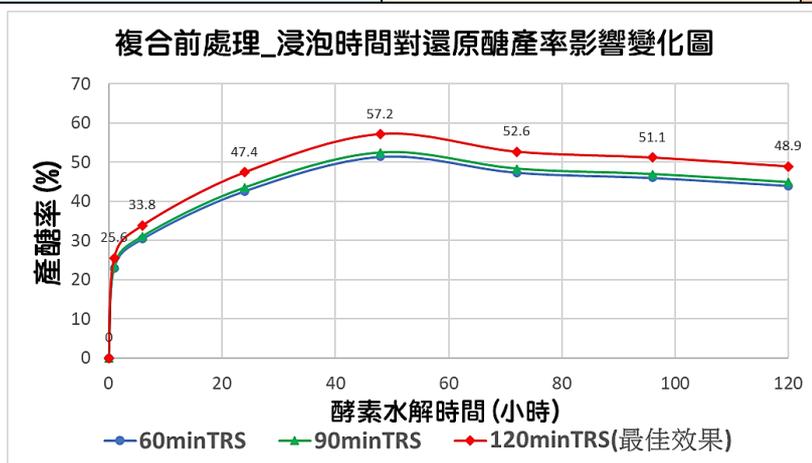


前面單次前處理實驗我們採用的溫度皆為 70°C，所以這次我們採用±30°C的設計，分別進行 40°C、70°C、100°C 三種溫度實驗，最高溫度訂為 100°C 是因為我們希望研究出來的實驗方法能以低耗能、低門檻的方式進行，才能使木屑水解到產出生質能源的成本降低在符合效益的範圍。

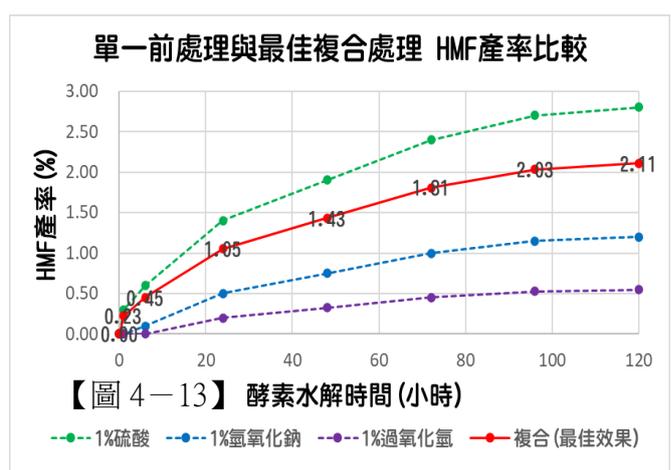
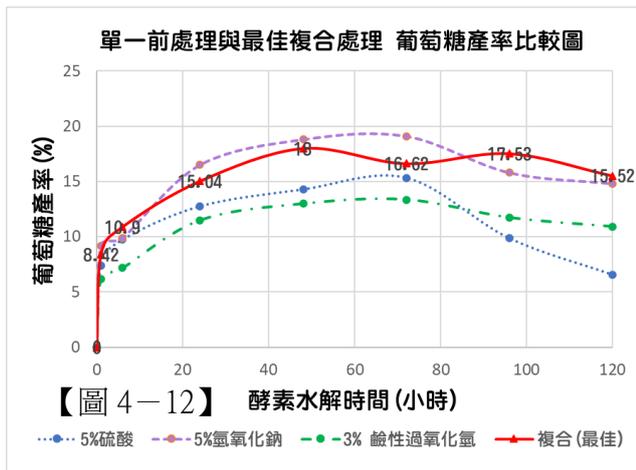
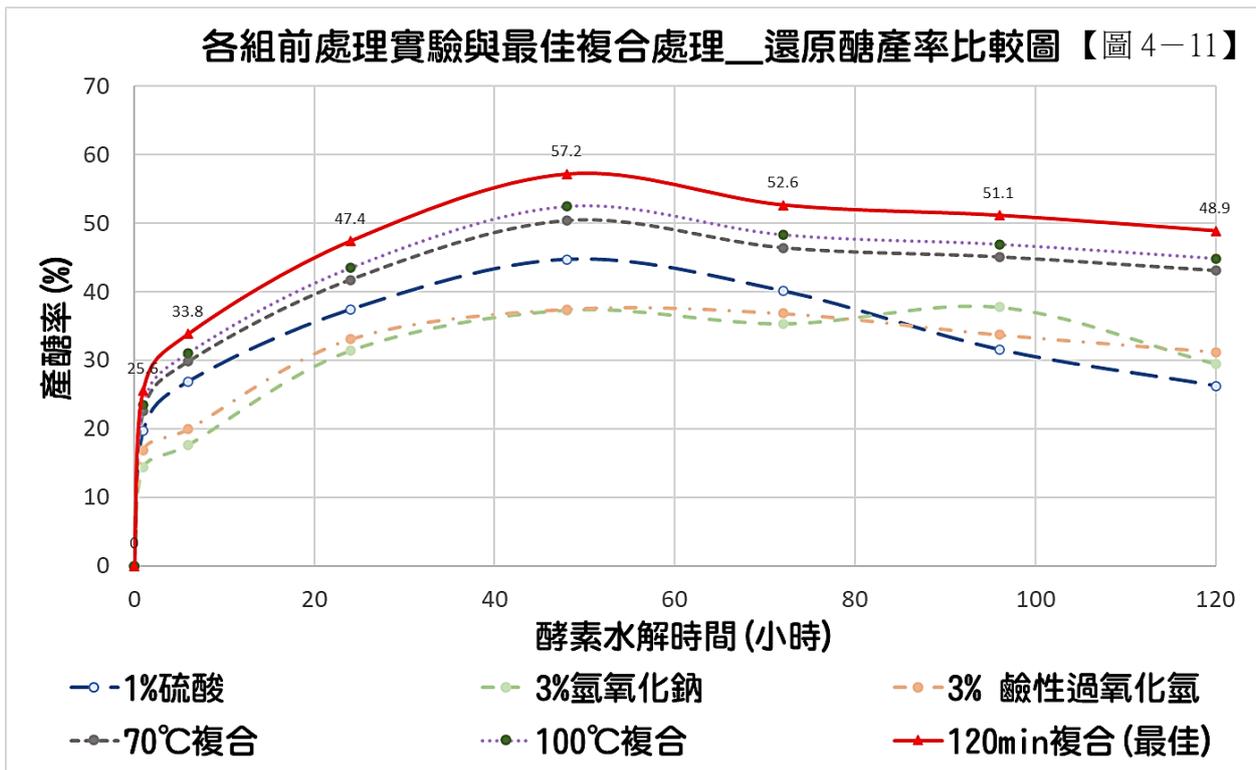
- 1、實驗發現前處理的溫度越高越容易幫助木質纖維結構分解進而增加後續酵素水解的反應，100°C 纖維素分解率可達 77.12%，優於多數以往研究的前處理。
- 2、前處理溫度維持 100°C，相較於文獻中需要使用到 150~180°C 高溫進行前處理，我們發現如果搭配二次複合式前處理的步驟和藥劑濃度，即可達到不錯的還原糖產率(52.4%)，並大幅縮短酵素作用時間到 48 小時就可有最高的產率。

(二) 時間對前處理反應的影響：

酵素作用時間	浸泡時間 60 分鐘		浸泡時間 90 分鐘		浸泡時間 120 分鐘	
	總還原糖濃度 A(mg/mL)	總還原糖產率 TRS(%)	總還原糖濃度 A(mg/mL)	總還原糖產率 TRS(%)	總還原糖濃度 A(mg/mL)	總還原糖產率 TRS(%)
1hr	2.55	23.0	2.61	23.5	2.84	25.6
6hr	3.56	30.4	3.63	31.1	3.96	33.8
24hr	5.26	42.6	5.37	43.5	5.85	47.4
48hr	6.72	51.4	6.85	52.4	7.47	57.2
72hr	6.57	47.3	6.71	48.3	7.31	52.6
96hr	6.81	46.0	6.95	46.9	7.58	51.1
120hr	6.98	44.0	7.12	44.9	7.76	48.9
	還原糖生成率(TRS_{GR}) = 1.07 還原糖降解率(TRS_{DR}) = 0.10 全纖維素分解率 = 75.58% (48hr)		還原糖生成率(TRS_{GR}) = 1.09 還原糖降解率(TRS_{DR}) = 0.10 全纖維素分解率 = 77.12% (48hr)		還原糖生成率(TRS_{GR}) = 1.2 還原糖降解率(TRS_{DR}) = 0.11 全纖維素分解率 = 84.06% (48hr)	



【圖 4-10】



由第一階段和第二階段的實驗研究後，我們找到了對於木質纖維分解有效的化學藥劑濃度和步驟、溫度。在這階段實驗中我們想要進行不同時間的前處理浸泡來觀察對於產糖率的影響，進而搭配出最佳的複合式前處理組合。我們將前面研究的單次浸泡時間 90 分鐘，改為兩次前處理各 60、90、120 分鐘進行實驗。

- 1、前處理浸泡時間增加有助於還原糖與葡萄糖的產率，且採用先酸後鹼性氧化劑的複合式處理，HMF 的產率並沒有因為浸泡時間增加而大增。
- 2、分析實驗結果，以 100°C 浸泡、120 分鐘有最佳的處理效果，比較圖中產糖率和生成速率雖然都跟浸泡 90 分鐘沒有差距，但是觀察還原糖曲線趨勢，可以發現前處理浸泡 120 分鐘，應該在不到 48 小時內會有高於 58% 產率最大值。研究過

程受限要配合上、下課時間，無法每小時都操作採樣分析，所以在 6 小時和 24 小時檢測之間有很大的數據闕如，所以只能推定浸泡 120 分鐘為最佳配置。然而如果大規模量產，可以嘗試 100°C 兩次前處理各浸泡 90 分鐘，可減少 1 小時的恆溫加熱能量，且還原醣產率依舊接近 50%、纖維素分解率到達 80%，是另一種以經濟成本考量的做法。

3、在兩階段複合前處理的條件下，由圖 4-12 可見葡萄糖產率最高達 18%，且 HMF 產率僅略高於鹼性氧化劑處理但比酸處理降低許多，所以我們認為自行設計的兩階段處理的時間 (120 分鐘) 與溫度 (100°C) 是相當好前處理方法。

三、鉛筆木屑與廚餘纖維水解效果：

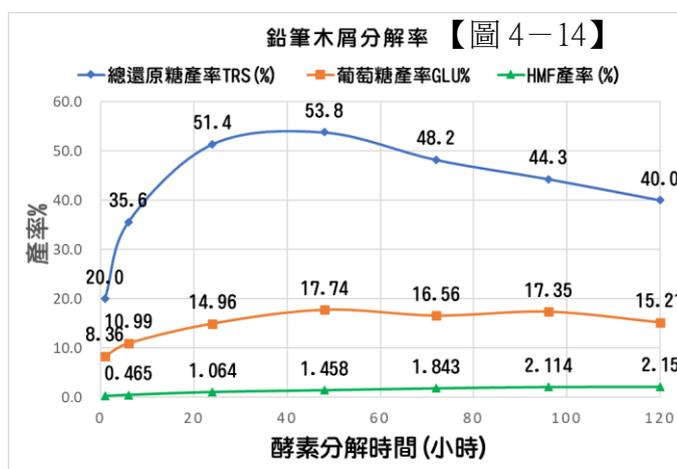
(一) 鉛筆木屑：

【表 4-5】

酵素作用時間	總還原醣濃度 (mg/mL)	總還原醣產率 TRS(%)	葡萄糖濃度 (mg/mL)	葡萄糖產率 GLU%	HMF 濃度 (mg/mL)	HMF 產率(%)
1hr	2.22	20.0	0.93	8.36	0.026	0.235
6hr	4.16	35.6	1.28	10.99	0.054	0.465
24hr	6.68	51.4	1.85	14.96	0.131	1.064
48hr	6.78	53.8	2.32	17.74	0.191	1.458
72hr	6.52	48.2	2.30	16.56	0.256	1.843
96hr	6.57	44.3	2.57	17.35	0.313	2.114
120hr	6.35	40.0	2.41	15.21	0.341	2.15

總還原醣之生成速率(TRS GR)=1.11 葡萄糖生成速率(GLU GR) = 0.37
 降解速率(TRS DR)=0.19 葡萄糖降解速率(GLU DR) = 0.03

鉛筆木屑經水解產生還原醣和葡萄糖的產率和楓木地板木屑差異不大，表示我們實驗的處理方式應用在鉛筆木屑的廢棄物分解也可以達到加速水解效果。



(二) 葉菜與果皮粉末

【表 4-6】

酵素作用時間	總還原醣濃度 (mg/mL)	總還原醣產率 TRS(%)	葡萄糖濃度 (mg/mL)	葡萄糖產率 GLU%	HMF 濃度 (mg/mL)	HMF 產率(%)
1hr	2.62	23.6	1.11	9.97	0.026	0.24
6hr	4.87	41.6	1.50	12.80	0.056	0.48
24hr	8.14	65.9	1.80	14.59	0.137	1.11
48hr	7.90	60.4	2.81	21.51	0.197	1.51
72hr	7.62	54.8	2.50	18.02	0.265	1.91
96hr	7.48	50.5	2.72	18.35	0.318	2.15
120hr	7.40	46.6	2.47	15.57	0.354	2.23

總還原醣之生成速率(TRS GR)=3.46 葡萄糖生成速率(GLU GR) = 0.56

降解速率(TRS DR)=0.24

葡萄糖降解速率(GLU DR) = 0.10

實驗過程中剛好得知同學家有新購置的廚餘處理機，因此新增葉菜類和果皮經廚餘處理機粉碎乾燥後的纖維進行前處理的結果。研究發現這樣的葉菜和果皮的水解效果甚至比一般木屑更佳，下列四點分析：

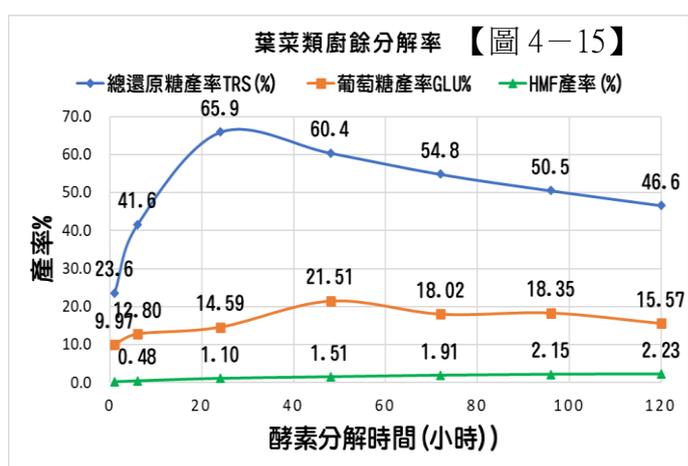
1、**廚餘處理機有持續粉碎和加熱**

烘乾功能，相當於已經預前處理，物理性研磨和加熱可以破壞木質纖維的結構，所以這樣等於多做了一次前處理，效果會更好。

2、此時食品級酵素功能就是處理植物纖維和含纖維素食品，所以對應在葉菜和果皮的效果非常好，本研究顯示酵素的選擇使用和前處理的搭配是相當重要的。

3、推論新鮮蔬果在五碳糖和六碳糖的含量應該比木地板木質纖維高，所以測得的還原醣和葡萄糖產率都比一般木屑纖維多應該是合理的。

4、多次前處理的 HMF 產率比一般木屑高，且醣類降解速度也比較高，應該是因為處理機有加熱處理再加上複合前處理後，使降解速率提高，這是各項木質纖維前處理應該考慮的因素，才能提供大量處理木質纖維最有效的方式。



三、間接滴定法測定還原醣量：

(一) 前置作業

1、高錳酸鉀標定：以草酸銨代替亞鐵標定高錳酸鉀標準液 1 mL 所相當的銅量，經測定本實驗 1 ml 的高錳酸鉀消耗量相當於 10.12 mg 的銅。

2、糖度計測驗：我們要取含還原糖約 0.1 克水解液樣品，先藉由糖度計來判斷需要稀釋的倍數(糖度計 10° Brix = 每 1 克溶液含蔗糖 0.1 克)

樣品種類	單純酵素液	1%硫酸	3%氫氧化鈉	3%鹼性過氧化氫	複合處理
糖度	17°	16.5°	15.5°	14°	17°

由於糖度計測量受到很多因素影響，也無法代表還原糖的含量，但可經由各樣本糖度在 10~20° 故實驗中將取 1mL 水解液稀釋 2 倍來進行還原糖測定。

(二) Bertrand 法滴定數據紀錄與還原糖換算 【表 4-7】

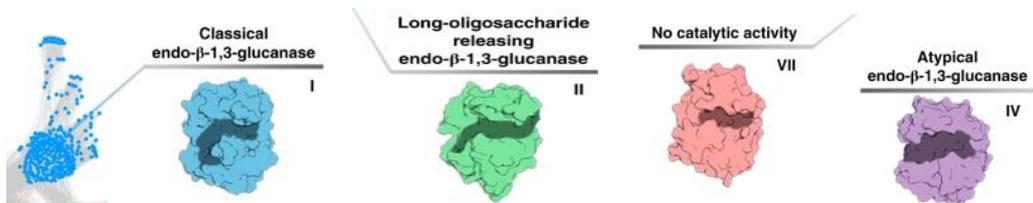
	酵素液	1%硫酸	3%氫氧化鈉	3%鹼性過氧化氫	複合處理
樣品體積 (mL)	1.10	1.05	1.10	1.05	1.05
稀釋倍數	2	2	2	2	2
樣品滴定消耗 KMnO ₄ 體積 a (mL)	4.6	3.4	4.2	4.5	3.7
空白試驗滴定消耗 KMnO ₄ 體積 b (mL)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
*樣品相當之銅量 A (mg)	42.50	50.29	48.36	43.88	51.26
Bertrand 法換算總醣量 (mg/mL)	21.10	25.26	24.2	24.49	25.77
水解生成醣量 (mg/mL)		4.16	3.10	3.39	4.67
還原醣產率(%)		37.4%	27.9%	30.5%	42.0%
分光光度計檢測還原醣產率(%)		37.4%	31.4%	33.1%	42.6%
間接滴定法與分光光度相對誤差 E		0%	11.1%	7.8%	1.4%
*樣品相當之銅量 A(mg)=(a-b) × d d:1 mL 的高錳酸鉀消耗量相當於 10.12 mg 的銅					
**本實驗皆是以水解 24 小時的樣品作為比較					

由表 4-7 可以看出間接滴定法測量還原醣和酚-硫酸法測量數據誤差在 10% 以內，表示利用分光光度計測量還原醣量是可行且較為迅速、環保的方式，可以避免高錳酸鉀和同離子管制和回收的問題。

伍、討論

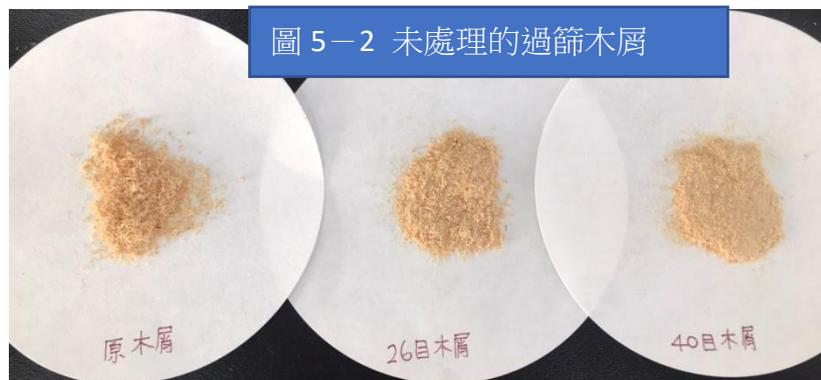
一、纖維粒徑對水解反應的影響：

研究開始前期我們有先進行原木屑、26 目篩網、40 目篩網過篩後木屑，未進行前處理的水解比較，發現沒有前處理的木屑水解效果不佳，粒徑較小的 40 目過篩木屑產糖率表現較好，經查閱文獻應該是外切型葡聚糖水解酶的催化部位具有類似一個狹長通道的構造(如圖 5-1 深色部分)，纖維素被水解前分子末端須先進入通道內並吸附在酵素上，反應才能發生。因此**纖維素的粒徑和與接觸表面積對酵素的催化效率有相當的影響**。



【圖 5-1】

前測實驗	原木屑	26 目篩	40 目篩
水解還原糖產率	19.7%	22.2%	23.5%



二、分析還原糖產率(TRS)與還原糖生成速率(TRS_{GR})、還原糖降解速率(TRS_{DR})可分析歸納出：

- (一) 各種單一前處理不同濃度的還原糖產率有些許差異，**酸處理產糖率 > 鹼性氧化劑 > 鹼處理**，但減緩降解速度方面反而是**鹼性氧化劑表現較佳**。
- (二) **複合式的前處理比單一前處理更有效率**，其中**提高溫度是重要關鍵**，實驗中的複合處理若溫度只有 40°C 時，還原糖生成速率比 1% 硫酸單一前處理只略增 3%。
- (三) **增加前處理浸泡時間對於增加還原糖產率差異不顯著**，但 **120 分鐘的浸泡時間**，**可以增加纖維素分解率達 85%**，可更完整分解木質纖維。

三、分析葡萄糖產率(GLU)與葡萄糖生成速率(GLU_{GR})、葡萄糖降解速率(GLU_{DR})、羥甲基糠醛(HMF)產率可分析歸納出：

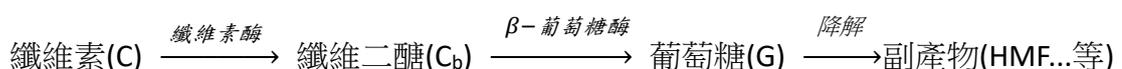
- (一) 單一前處理中，藥劑濃度提高可以增加葡萄糖生成速率，但酸前處理會因為提高硫酸濃度而造成葡萄糖降解加速，也使 HMF 產率大幅提高不利於生質能源發酵。
- (二) 鹼性前處理可有效抑制 HMF 的產生且降低葡萄糖降解速率，加上過氧化氫抑制降解效果更為顯著。
- (三) 我們研究出的最佳複合處理(先 1%硫酸浸泡 120 分鐘，再以 3%過氧化氫+3%氫氧化鈉浸泡 120 分鐘)提高葡萄糖產率 5%，且不僅大幅將最高產率時間由 72 小時降為 48 小時也減緩葡萄糖降解速率和 HMF 產率降為酸處理的 50%。

四、在各組的實驗中，兩個值得後續探討的現象：

- (一) 還原醣產率和葡萄糖產率表現優異：文獻中各種複雜的前處理方式纖維素分解率到達 65~85%，我們的研究在相對低溫和簡單的化學處理可以達到 TRS 有 57.2%，纖維分解率達 84%，表示這是有效的前處理方式。翻閱文獻推論這跟使用酵素有良好的「協同作用」有關，應該是廠商的配方酵素中內切型與外切型葡聚糖水解酶之間和β-葡萄糖苷酶水解酶之間的協同作用，使中間產物能更快地轉化成還原醣。
- (二) 各實驗中 48 小時之後，還原醣與葡萄糖產率明顯下降：應該是纖維素酶有「產物抑制」的現象，即纖維二醣的累積會抑制纖維素酶的催化，葡萄糖的累積會抑制β-葡萄糖酶的作用。

有鑑於酵素成本在纖維水解製造生質能上占據相當大的比例，未來能進一步研究酵素配方並加以考慮酵素「協同作用」、「產物抑制」作用的反應動力學模式，找到適當的酵素配方，將更能使酵素發揮最大效益。若能將材料特性導入動力學模式中，預測水解不同特性纖維材料的最佳酵素配方式是值得以後繼續深入探討。

簡化纖維素的水解反應為



未來希望能學習到基礎的纖維素水解動力學，進一步研究纖維材料的水解反應與離子溶液的交互關係、各產物之間影響關係。對於木屑纖維分解的酵素作用效率和經濟性才會更有精準的分析，這也是本研究未盡完整之處，待後續研究。

陸、結論

- 一、**兩次前處理水解效果佳**：本研究顯示(1)先酸後鹼性氧化劑 (2)提高溫度至 70~100°C 可以有效增加木質纖維水解達到 84%，且無過多副產物影響後續酒精發酵。
- 二、**本研究節能且是環保的前處理方式**：使用的前處理藥品只用到硫酸、氫氧化鈉、和過氧化氫，無重金屬汙染疑慮。且經測定鹼性過氧化氫和硫酸溶液 pH 值變化不多，補充濃度後即可重複使用，在能源消耗上我們加熱時間最高為 100°C，時間低於 48 小時，有別於以往需要到 150°C 以上高溫或是高壓狀態，甚至需要使用到臭氧或液態二氧化碳的高額花費方式，對於生質能源是不會造成成本超過能源價值可行方法。

	1%硫酸	3%氫氧化鈉
使用前 pH	0.43	13.89
使用後 pH	0.59	12.75
- 三、**檢測方式簡化且方便**：我們利用分光光度計和常用的醣類檢測方式，從前處理分解到檢測都能在一般實驗室完成，與滴定法差異不大且沒有二次汙染，可以大幅降低以往前處理和檢測耗時、複雜、高技術門檻和高成本的缺點。
- 四、**先酸後鹼性氧化劑處理減緩降解發生**：幫助木質纖維水解成醣類的前處理還是以酸處理最能有效產出醣類，但長時間酸處理會造成醣類過度降解，利用鹼性氧化劑的輔助可以減緩降解的速率。酸處理的濃度不宜過高，否則會造成反應加速而產生過多副產物不利於後續發酵。
- 五、**前處理方式不限於單一木質纖維**：我們增加的鉛筆木屑和葉菜果皮處理後的粉末研究，證明我們找到的兩種前處理搭配方式不僅限於一種木料，不過礙於時間和實驗能量的不足，期待之後對各種單子葉、雙子葉、裸子植物纖維做廣泛的測試，相信這樣將更能找出合適的前處理方法。
- 六、**期待後續研究在不同酸鹼性溶液與酵素動力**：本次研究找出更低耗能或低成本的生質能原料生成方式，讓生質酒精更有經濟利用價值。我們期待之後再繼續研究找出纖維水解與各因素之關聯和可解釋的數學模型，也許能應用在氫能源的開發，利用醣類經厭氧菌發酵產氫，讓穩定有效率的前處理模型產生更環保、具有經濟效益的生質能源。

柒、參考文獻資料

- 一、吳美儀，“利用超臨界 CO₂ 配搭超聲波及過氧化氫前處理狼尾草”，碩士論文，國立清華大學化學工程研究所，2013
- 二、林威廷，“利用超臨界二氧化碳與超音波前處理狼尾草與甘蔗渣”，碩士論文，國立清華大學化學工程研究所，2012
- 三、趙婉宇，“以氫氟酸搭配鹼性氧化劑浸泡前處理法提升稻殼產酶效率之研究”，碩士論文，國立交通大學環境工程研究所，2013
- 四、姚秀清，張全，楊祥華，王金龍，“鹼性雙氧水法預處理木質纖維素”，化學與生物工程，第 3 期，P.34-37.2009
- 五、陳雯苓，“以離子液體水解纖維素之研究”，碩士論文，義守大學生物技術與化學工程研究所，2015
- 六、李靜宜，“纖維材料水解反應動力學之研究”，明新科技大學專題研究計畫成果報告，化工系
- 七、丁慧善，“以多種前處理方式提升木屑葡萄糖糖化率之研究”，碩士論文，國立清華大學化學工程研究所，2020
- 八、蘇裕昌，“纖維特性及其對紙張品質的影響”，中興大學森林系
- 九、吳耿東，“生質能源_化腐朽為能源專題報導”，科學發展 2004
- 十、黃啟裕，“纖維素產氫技術在生質能源之發展”，農業生技產業季刊 2008
- 十一、曹祖寧，“再生資源的利用及生物工程”，化工技術，6(11)，122，1998.
- 十二、黃翊，“纖維素酶水解機理及影響因素”，山東化工，36(5)，29，2007
- 十三、Thermo Scientific GENESYS 紫外-可見分光光度計分析蜂蜜色度和 HMF 含量數據冊
- 十四、碳水化合物分析，國立宜大學食品科學系 張永鍾

【評語】 030206

本研究想由廢木屑開始嘗試找出有效率水解廢棄木質纖維，產出還原醣類的方法能更簡易、省時、環保的分解成醣類，進而轉成有用的生質酒精原料。木屑過篩縮小粒徑再利用低濃度硫酸、鹼性過氧化氫溶液二次處理，可以提高酵素水解木質纖維效率，且有效抑制不利於酒精醱酵的「羥甲基糠醛」產生。

1. 環保回收是現今產業關注的研究重點, 值得探討並期許再接再厲。
2. 探究各種處理方式的可能化學作用機理，值得鼓勵。
3. 口頭報告有條理，發揮團隊合作精神。
4. 報告中水解液數據分析公式定義需清楚標示公式中 A, B, C, V1, V2 所指為何?並更清楚定義 TRSy, GLUy, HMGy 等數值如何做為評估水解廢棄木質纖維指標
5. 實驗紀錄詳盡及數據分析完整。依據實驗結果討論、推論，有邏輯性。與國中課程關係應再說明，為何多只參考碩士論文？

作品海報

廢木屑的春天

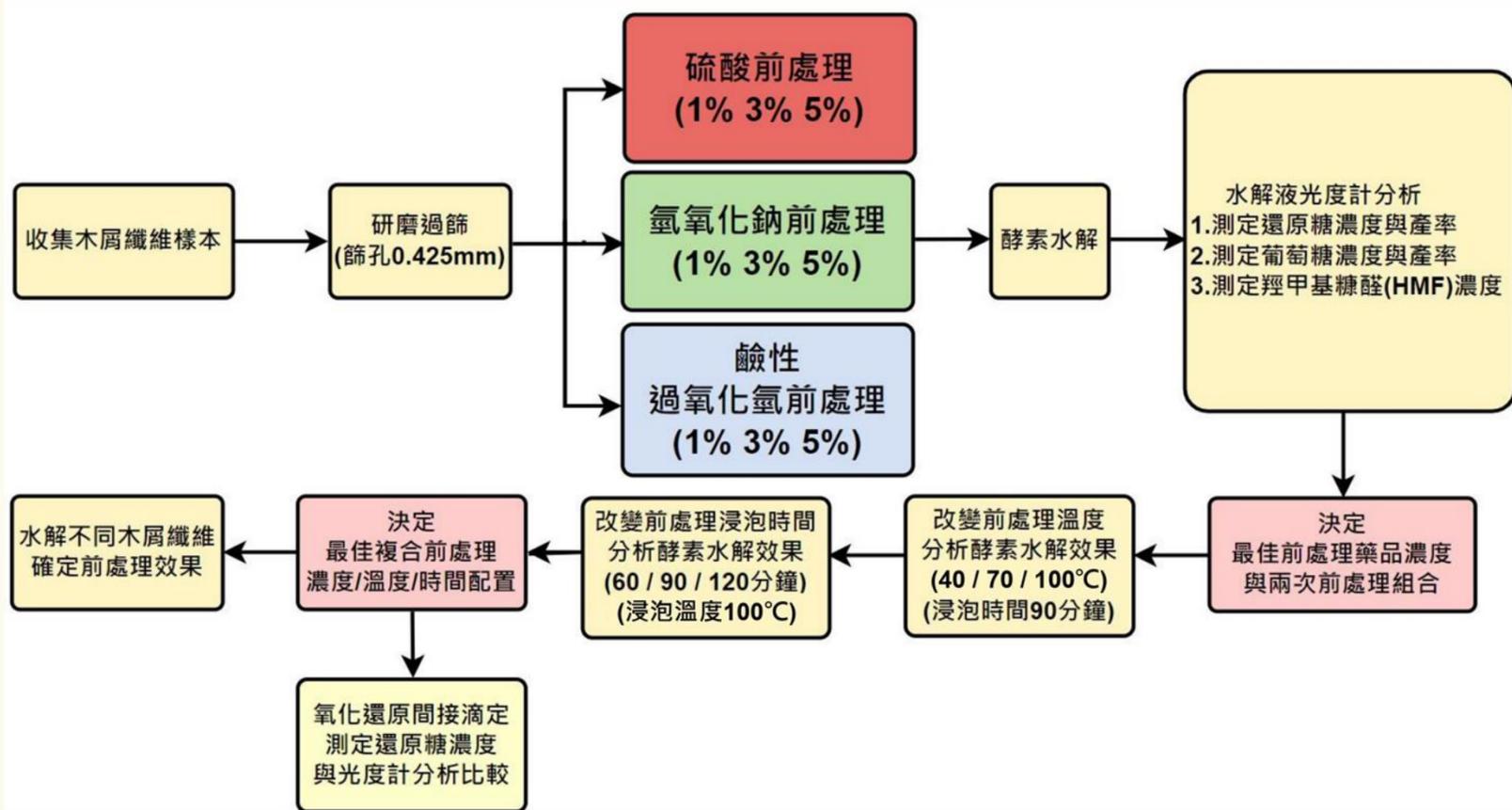
探討前處理提升木質纖維糖化效率

研究成就

- 一、找出木屑纖維素分解率高的方法，實驗得到最高分解率達到**85%**。
- 二、本研究前處理方法**污染低**、前處理溶液**可重複利用**，無重金屬廢液排放。
- 三、不同於以往文獻多僅研究單一木屑，本研究對於不同木質纖維都有極高的分解率。
- 四、利用**分光光度計**可以進行**快速、準確的分析**，且步驟簡單可取代傳統檢測。

研究目的與流程

探討不同**藥品**、**濃度**、**浸泡溫度**、**浸泡時間**對木屑糖化之影響，之後再找出最有效率的組合。



研究方法

- 一、**實驗方法** 分別使用三種前處理研究濃度因素，再決定複合處理搭配的溫度與時間。
 - (一)硫酸前處理:**破壞木質纖維素結構**，達到纖維素解聚合。
 - (二)氫氧化鈉前處理:皂化半纖維素和木質素之間的酯鍵，**達到移除木質素的目的**。
 - (三)鹼性過氧化氫前處理:**鹼性氧化劑主要在破壞木質素結構**，並使木質纖維素**結構鬆散化**。

二、**數據檢測方法** 分光光度計測定總糖量與葡萄糖量與HMF產量，再以氧化還原滴定法做總糖產量比較。

(一)分光光度計測定法:

1.酚-硫酸法：測定總糖量。2.DNS法:測定葡萄糖量。3.羥甲基糠醛(HMF)測定。

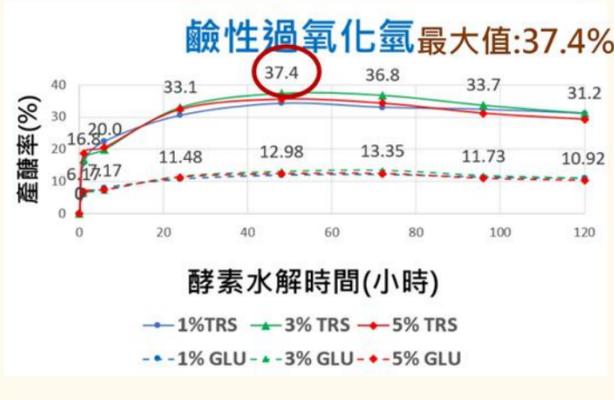
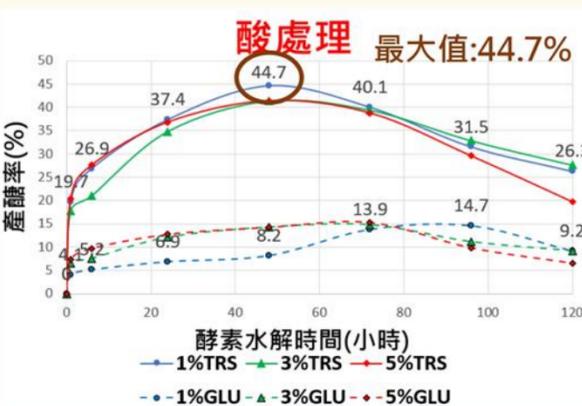
(二)斐林試驗間接滴定定量法:(**操作複雜、有重金屬廢液汙染問題**)

間接滴定法和酚-硫酸法測量數據誤差在10%以內，**複合處理方面更只差了1.4%**，利用分光光度計測量還原糖量較為迅速、環保，還可以避免高錳酸鉀和銅離子管制和回收的問題。

重要研究結果

一、不同前處理方式的產糖率比較:

實驗條件 浸泡溫度:70°C
浸泡時間:90分鐘

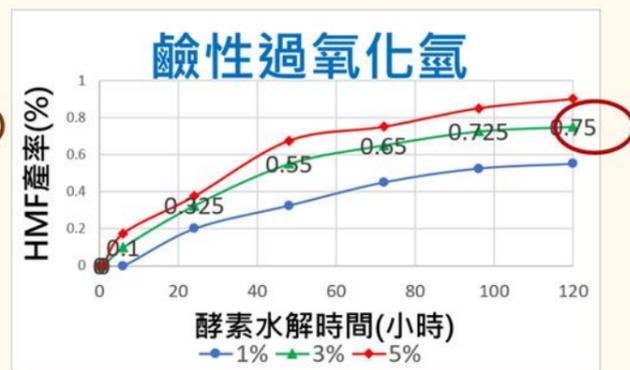
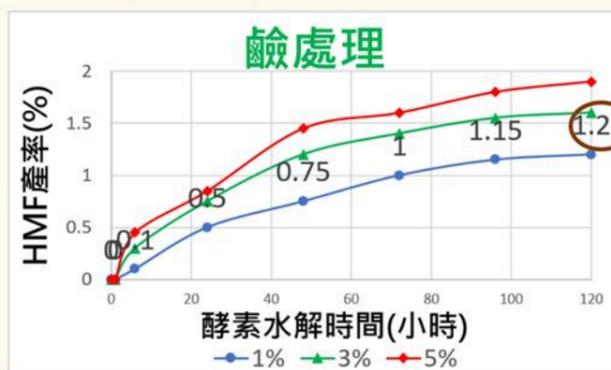
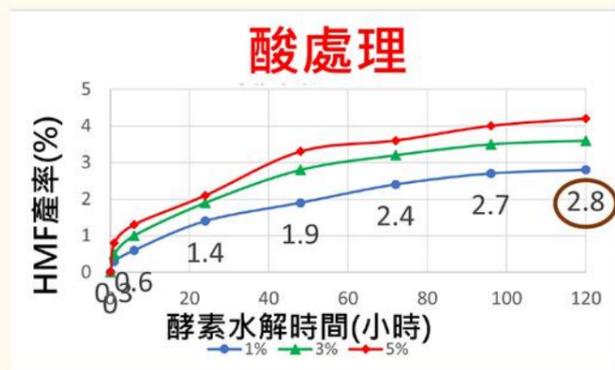


由產糖率可以發現 (1)酸處理中可以得到較高還原糖產率。

(2)鹼性過氧化氫溶液與單純氫氧化鈉的產糖效果相近。

(3)鹼性處理比酸處理可得到比較高的葡萄糖產率。

二、不同前處理方式的羥甲基糠醛(HMF)產率比較:



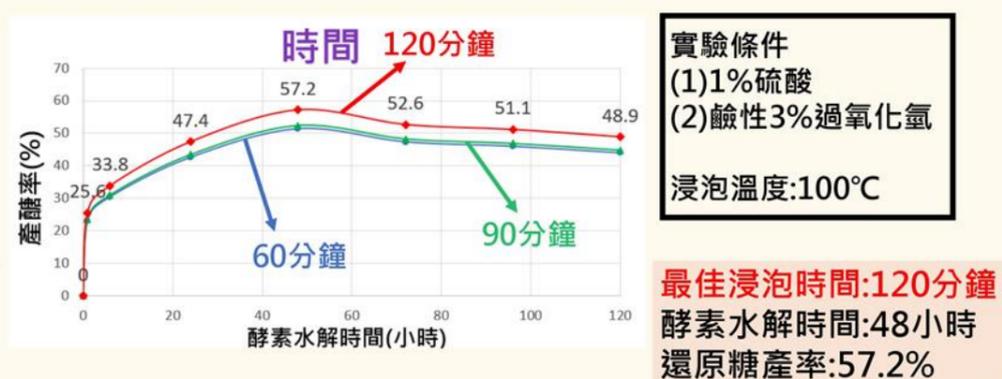
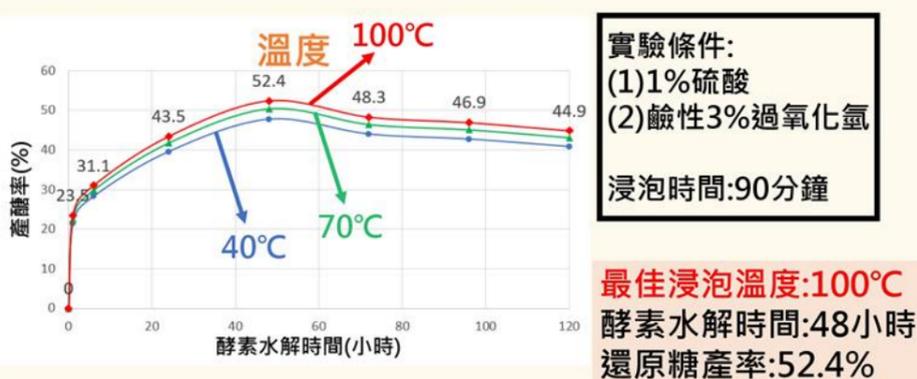
由羥甲基糠醛產率發現(1)酸處理中的HMF產率都偏高。

(2)鹼性過氧化氫後的HMF產率低很多，甚至不到硫酸的25%。

綜合上述結果，將使用1%硫酸與3%鹼性過氧化氫為複合處理的組合，以求達到高產糖率並減少HMF產生。

三、浸泡溫度對前處理反應的影響:

四、浸泡時間對前處理反應的影響:



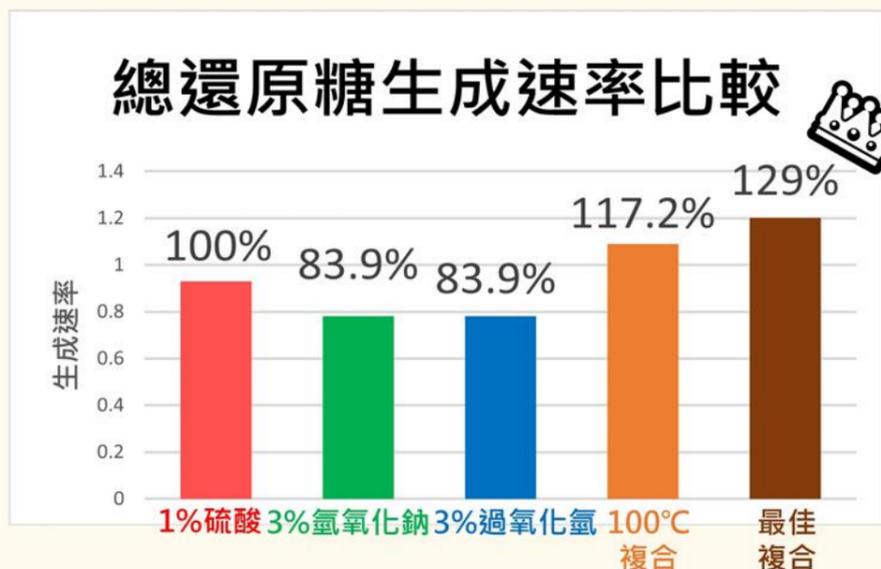
研究發現 (1)前處理的溫度越高越容易幫助木質纖維分解，進而增加酵素水解的反應。

(2)浸泡時間增加亦可增加產糖率，但增加比率不高。實際應用可依生產排程減少浸泡時間。

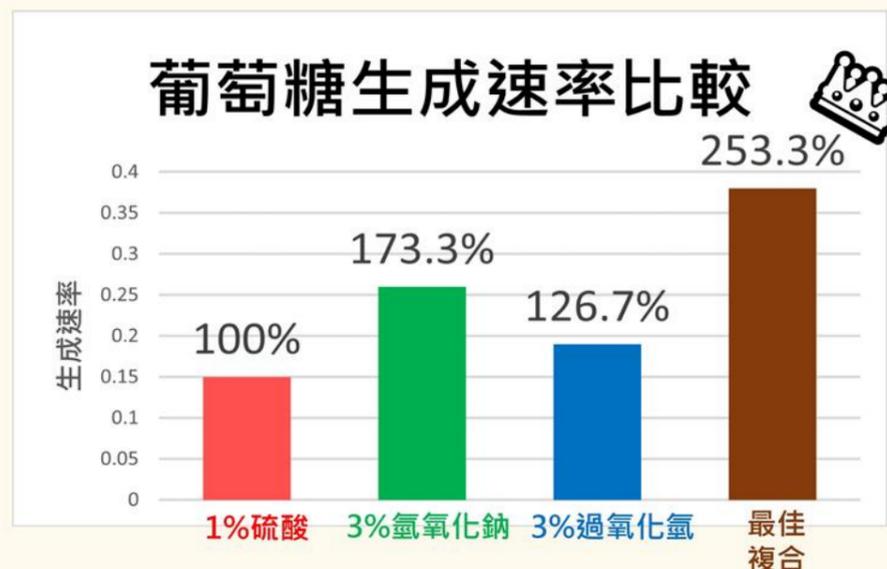
(3)實驗之最高溫度訂為100°C，是因為希望能降低耗能的方式進行，才能使木屑水解產出生質能源具有大量開發利用價值。

★ 統整實驗三段結論，本研究最佳複合處理:
STEP1: 1%硫酸、STEP2: 鹼性3%過氧化氫
浸泡溫度:100°C 浸泡時間120分鐘

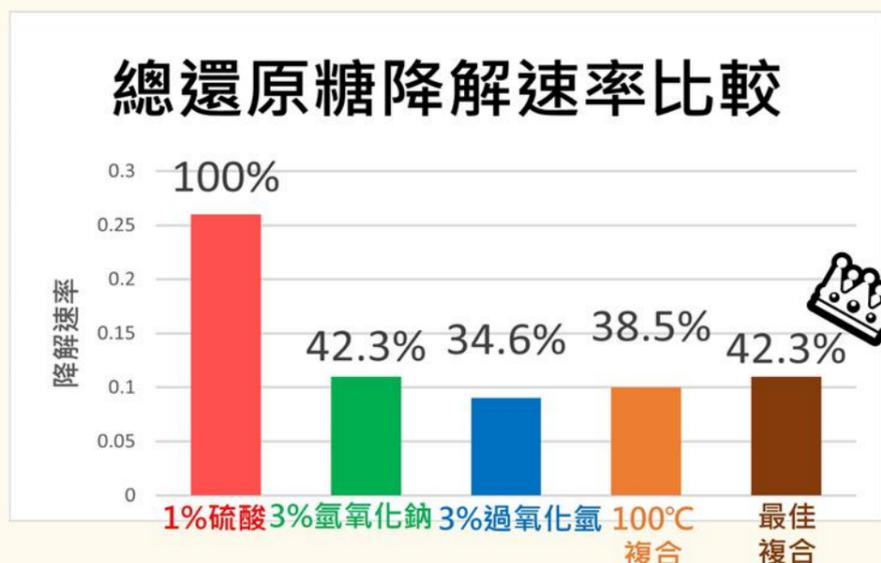
五、生成與降解速率分析:



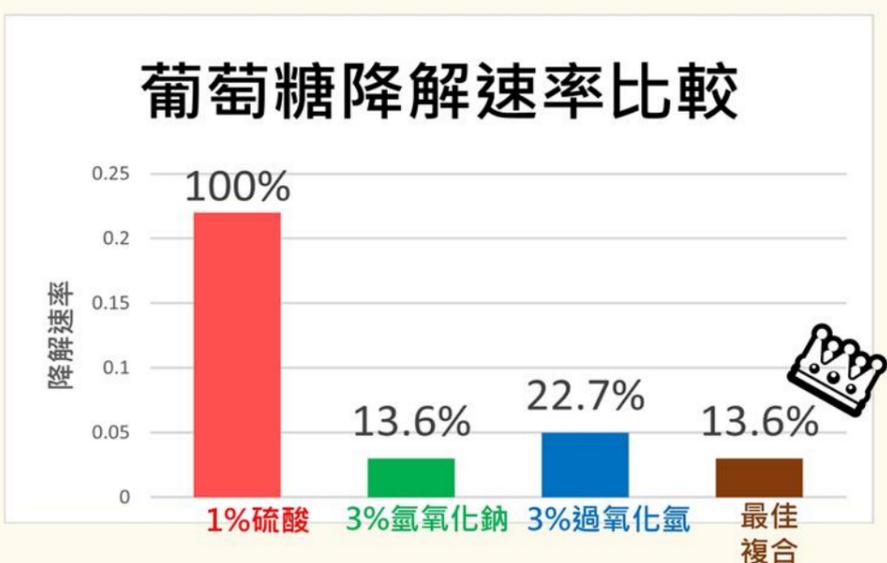
以1%硫酸為基準，可發現酸處理效果比鹼處理好，但是複合處理更能提高生成速率。



葡萄糖生成速率可以推論酸處理雖然總產糖率高，但降解也快，而複合處理可以維持很高的產糖效果，有利後續生質能發酵。

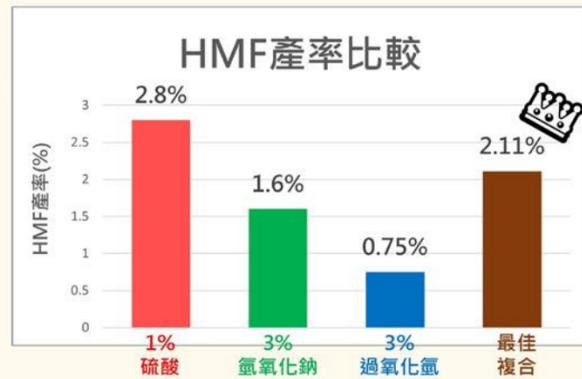
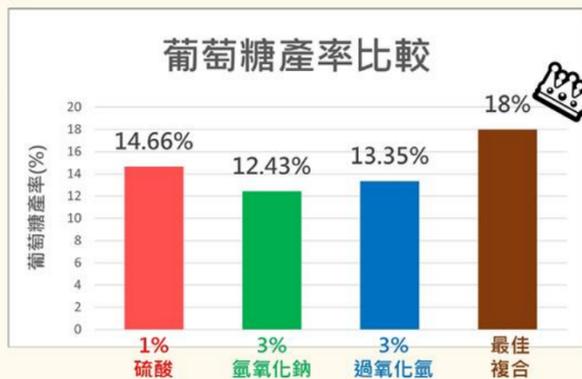


以1%硫酸為基準，可以發現酸處理的產糖率高但降解速率也比其他處理方式快很多。



1%硫酸和5%的降解率特別快，表示浸泡時間和濃度都會影響降解，而複合處理可以明顯減低降解速率。

六、各種前處理數據分析:

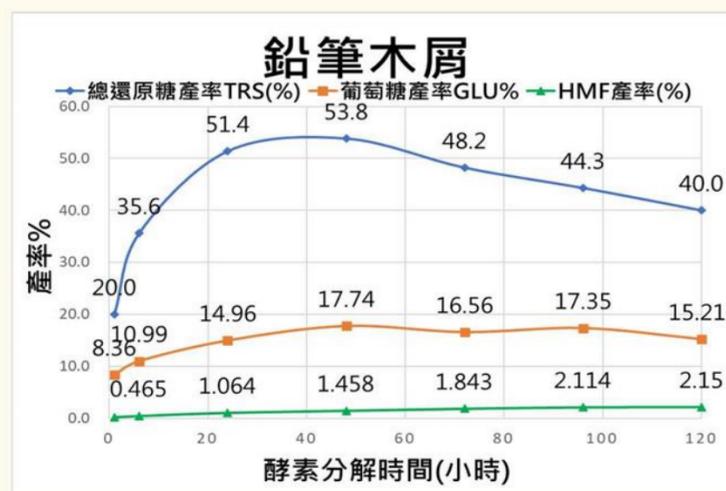


最佳複合處理的產糖率最高，而酸處理的產率比鹼處理好。

酸性與鹼性前處理葡萄糖產率分別在72和96小時就達到最高值。

硫酸的HMF產率最高，過氧化氫則是最低，複合處理可以降低25%HMF產生。

七、延伸研究:



鉛筆木屑產糖率與楓木木屑相近，表示本實驗研究的前處理應用在鉛筆廢木屑的分解也可以有很好處理效果。



鉛筆木屑



葉菜類廚餘



葉菜類廚餘粉末的產糖率比鉛筆木屑，以及楓木木屑效果更佳，推論是廚餘機高溫研磨提高纖維分解效率。

討論與反思

一、提高前處理產糖率原因分析

(一)纖維粒徑:纖維素的粒徑和與接觸表面積對酵素的催化效率有相當的影響，

較小的粒徑將容易進入酵素狹長通道增加分解效率。

(二)反應濃度、溫度、時間:濃度和浸泡時間都會影響還原糖產率，但單一處理

差異不大，但溫度影響明顯，如何能降低反應溫度至常溫反應是後續研究課題。

(三)酵素的配方與濃度:如果能進一步了解酵素反應機制與複合酵素的搭配原理，

將更完整掌握前處理效率。

二、本實驗優缺點分析

常見木質纖維素前處理方式比較

處理方式	優點	缺點	纖維素分解率	常用方式
物理法+化學法	低耗能、低汙染、纖維回收率佳、能大量處理	酵素成本較高	85%	以硫酸搭配鹼性過氧化氫進行複合處理
物理法	快速反應	耗能高、副產物多	15~30%	研磨法、輻射線照射
物理化學法	產糖率高	技術門檻高、耗能多	70~96%	蒸氣爆破、氫纖維爆破
化學法	破壞效果佳	回收率不佳、汙染多	65~80%	銅氨法、酸溶劑法
生物法	操作簡單	處理時間長、效率低	50~75%	腐生真菌、基因工程菌

本實驗已達到研究初始設定目標，若能進一步研究酵素回收率(活性變化)，將可以進一步降低整體成本，更有大規模生產的效益。

結論

一、纖維糖化分解時，傳統酸處理是最好的，也是讓纖維糖化最好的方法。

二、本研究兩次前處理比傳統一次前處理佳，且成功降低副產物生成。

三、鹼性氧化劑可使木質素、纖維素、半纖維素結構鬆解，也可以減緩降解速率。

四、48 小時的浸泡以及不超過 100°C 的溫度下，就可以達到有效率的木質纖維水解。

五、前處理方式可以用在多種木質纖維，且可大規模用在木質廢棄物水解。

六、用分光光度計測量產糖量將更環保且操作簡便，利於大量生產即時的品管監控。

未來展望

下一步研究目標是酵素造成纖維水解的原因和效率，而前處理後的生質酒精發酵、氫能源發酵開發，也是完成木質纖維回收能源利用的重要拼圖，期待未來能設計更完整的纖維處理流程。