

以甘蔗渣廢棄物生產生質酒精之研究

吳芳禎¹ 王政捷² 施英隆^{2*}

¹大葉大學生物產業科技學系

^{2*}大葉大學環境工程學系

51591 彰化縣大村鄉學府路 168 號

*ils@mail.dyu.edu.tw

摘要

石油危機爆發後，世界各國積極尋找可替代能源，而生質能源是利用農業廢棄物、林業加工廢料、藻類與城市垃圾中所含的廢棄生質經轉換技術產生可供利用的能源。這些廢棄生質原料中都含有大量的木質纖維素，可經糖化及發酵方式轉化為生質酒精，是目前最具潛力且廣為利用之替代能源之一。本研究使用全球儲存量較高、價格較低、利用率也偏低的纖維素農業廢棄物-甘蔗渣作為生產生質酒精之原料。將廢棄甘蔗渣進行水解成可發酵糖，並分析成分及產率，甘蔗渣水解液則進行發酵以生產生質酒精。本研究結果得知甘蔗渣成份中含有全纖維 64.05%、木質素 11.26%、灰分 1.62%，其中全纖維包括纖維素以及半纖維素。以 2g 蔗渣添加 0.25N H₂SO₄（固液比 1:50），經 131℃ 高溫高壓，反應 20 min 進行酸水解，可得葡萄糖（Glucose）3.0 g/L（15.0%）、木糖（Xylose）2.3 g/L（11.5%），再經纖維水解酵素水解後，最終之葡萄糖（Glucose）與木糖（Xylose）之濃度（產率）分別為 Glucose 7.1 g/L（35.5%）、Xylose 2.8 g/L（14.0%）。以酵母菌（*Pichia stipitis* Pinal BCRC21777）發酵蔗渣之酸水解液，結果發現當以蔗渣酸水解液當作碳源（葡萄糖 3 g/L、木糖 2.3 g/L）、Yeast extract 12 g/L 做為氮源，於 24℃，100 rpm，培養 72 小時，葡萄糖與木糖完全消耗（共 5.3 g/L，100%），可得酒精產量 2.3 g/L，酒精轉化率為 86%。

關鍵詞：甘蔗渣，酸水解，酵素水解，啤酒酵母，生質酒精

Biorefining of Sugarcane Bagasse for Bioethanol Production

FANG-CHEN WU¹, ZERN-JAI WANG² and ING-LUNG SHIH^{2*}

¹Department of Bioindustry Technology, Da-Yeh University

^{2*}Department of Environmental Engineering, Da-Yeh University

No. 168, University Rd., Dacun, Changhua 51591, Taiwan, R.O.C.

*ils@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

Concern over the depletion of fossil fuels has shifted global trends from fossil fuel reliance toward alternative renewable fuel development from biobased resources. Production of second-generation bioethanol, a clean and renewable energy, from agricultural crop residues mainly



containing lignocellulosic biomass can improve the sustainability of feedstock production without competing with food production for the cultivation of farmland. Sugarcane bagasse is the most abundant lignocellulosic material in tropical countries and an ideal feedstock for bioethanol production. This study investigated biorefining of sugarcane bagasse for bioethanol production. Results showed that acid hydrolysis of bagasse (solid to liquid ratio 1:50) through treatment with 0.25 N sulfuric acid at 131°C for 20 min resulted in glucose (3.0 g/L, 15.0%) and xylose (2.3 g/L, 11.5%). The acid hydrolysate was added to 1% commercial cellulase and then further hydrolyzed at a pH of 4.5, a temperature of 50°C, and 100 rpm. Glucose (7.1 g/L, 35.5%) and xylose (2.8 g/L, 14.0%) were obtained after 3 h of incubation. Overall, 77.3% of sugars from the polysaccharides of bagasse can be released through this treatment. The acid hydrolysate containing glucose (3.0 g/L) and xylose (2.3 g/L) was supplemented with 12 g/L yeast extract and fermented by *Pichia stipitis* Pignal BCRC21777 at 24°C and 100 rpm for 72 h. Then, glucose and xylose were completely consumed (total 5.3 g/L, 100%) and bioethanol (2.3 g/L) was produced. The bioethanol conversion efficiency was 86%.

Key Words: Sugarcane bagasse, Acid hydrolysis, Enzyme hydrolysis, *Pichia stipitis* Pignal, bioethanol

一、前言

過去數十年由於世界各國人口遽增加上工業發展，使石化燃料迅速消耗。石化燃料屬於非再生能源且使用的同時也造成嚴重之環境汙染、溫室效應及地球暖化的問題。在此能源危機與環保問題之多重壓力下，研究開發新的替代性能源是現今最被重視的議題之一。再生能源中生質燃料的開發受到相當的重視，以生質柴油與生質酒精最受到注意 [19]。生質柴油與生質酒精是兩種最普遍與成功之生質能源，生質酒精可由豐富之澱粉/纖維素之生質原料所生產，而生質柴油則由生質能源作物，例如油菜籽 (rapeseed)、菜籽油 (canola)、花生 (peanut)、油棕 (oil palm)、麻瘋樹 (jatropha) 所生產。然而第一代生質能源主要以食物原料作物作為生產生質柴油與生質酒精之主要原料，因此引起能源開發衝擊食物供給與安全之疑慮，使用非食物原料作物來開發生質能源已刻不容緩 [17]。

最近各國的研究集中在以木質纖維素為原料以開發第二代生質能源。木質纖維素是地球上最豐富的可再生資源，大量存在於地球上的草本與木本植物間，以及各式農業、木材與其他廢棄物之中，據估計木質纖維素原料占世界生物質 (100 億~500 億噸) 的 50%。雖然目前以木質纖維素生產生質酒精之成本較第一代生質燃料高，不過由於其量多、原料價格較低且作物纖維素含量高，因此以其為原料生產生質酒精可使糧食不足、土地過度開墾等問題得以減緩，彌補第一代生質燃料之缺陷，具有發展潛力 [5]。然而，以木質纖維素轉化為酒精，目前在強酸高溫高壓之前處理、酵素水

解酶，微生物醱酵等不同階段，皆需改良以降低成本。

除以木質纖維素為原料開發之第二代生質酒精之生產外，由藻類為主的第三代生質燃料近年來漸受世界矚目 [14, 21-24]。作為生產生質酒精之重要生質原料，海藻比木質纖維素具有更多優勢，因為海藻生長快速，光合作用效率約 6~8%，高於陸生植物的 1.8~2.2%，是非常有效率的 CO₂ 固定者 (CO₂ fixers) [11]。藻類能夠固定 CO₂ 之能力已經被提議用來做為去除發電廠所排放廢氣中 CO₂ 的方法，進而減少溫室氣體 (green house gas, GHG) 的排放量以達減碳的目的 [13]。因為藻類容易適應生長環境，可生長於淡水或海水中的，可在海中立體生長，不會與糧食作物競爭陸地資源 [7]，而且地球表面有三分之二是被水覆蓋的，因此在全球能源需求方面，藻類被認為是最具有發展潛力的生質能源原料之一。但是由於大規模基礎設施與生產技術的欠缺，以及所引發的高單價成本，一直是阻礙該項技術快速發展的主要障礙。

甘蔗渣在世界上是豐富的農業廢棄物，甘蔗渣富含豐富的纖維素，半纖維素和木質素，是一種取之不盡、用之不竭的可再生資源 [6, 12]。甘蔗渣由於低成本且數量豐富，因此被認為在大量生產生質酒精時是一個有吸引力的原料，以廢棄甘蔗渣生質為原料生產生質酒精有助於減少溫室氣體排放和降低以糧食原料生產生質酒精之問題的改善。本研究探討甘蔗渣之水解、發酵生產酒精之最佳條件。

二、材料與方法



(一) 甘蔗渣與其成分分析

將市售甘蔗渣收集後即以 50°C 烘箱烘乾，以研磨機研磨至粉末狀，方便保存並利於往後實驗使用。依據 CNS6948 紙漿用天然纖維素原料之全纖維素試驗法（亞氯酸鹽法）進行全纖維分析 [1]；依據 CNS2721 木材及紙漿中酸不溶性木質素試驗法進行木質素分析 [2]；依據 CNS1356 紙漿、紙及紙板灰分試驗法進行灰分分析 [3]。

(二) 菌種

本研究所使用之酒精生產菌株為 *Pichia stipitis* Pignal BCRC21777，此菌株是由生物資源保存及研究中心（新竹，台灣）所購買。

(三) 甘蔗渣水解方法

1. 酸水解方法：

本實驗是甘蔗渣經過前處理後，取 2g 甘蔗渣加入 0.25N 硫酸濃度溶液 100 mL，固液比 1：50，經由 131°C 高溫高壓處理，反應 20 min 時間，取出後等溫度冷卻至室溫，以離心機 10000 rpm，10 min 離心取上清液，上清液經由 0.45 μ m 過濾膜過濾後，以 HPLC 分析其水解的醣類種類與濃度。

2. 酵素水解法：

將 2g 蔗渣經(0.25N 硫酸、131°C、20 min、固液比 1:50)處理後，取出後等溫度冷卻至室溫，接入 1% 不同酵素（纖維水解酵素、聚木糖酵素、糖化酵素-Challenge Bioproducts Co., Ltd., Touliu, Taiwan），並調整 pH（纖維水解酵素 pH 4.5、聚木糖酵素 pH 5.0、糖化酵素 pH 5.0），在 50°C，100 rpm 反應 36 小時，並定時取點。將取出之樣品以 100°C 沸水煮 10 min 將酵素失活後，以離心機 10000 rpm，10 min 離心取上清液，再經由 0.45 μ m 過濾膜過濾後，經由 HPLC 分析其水解的醣類種類與濃度。

(四) 菌株培養基與培養方法：

1. 菌株活化：

配製 100 mL 固態培養基（Glucose 20 g/L，Yeast extract 5 g/L，Agar 20 g/L）於 250 mL 的三角錐形瓶中，滅菌後置入數個培養皿中使其凝固後待用。利用白金鉗鉤接種環在保存培養基中刮取適量的菌體，將菌體接種於固態培養皿上，在 24°C 下靜置培養 48 小時，在已培養 48 小時後的固態培養基上，以白金鉗鉤接種環刮取適量的菌體置入含有 100 mL 活化培養基（Glucose 20 g/L，Yeast extract 12 g/L）於 250 mL 的三角錐形瓶中，在 24°C 下靜置培養 72 小時。再將培養完成之種菌菌液轉接至以葡萄糖為碳源基質之酒精

生產發酵的培養基中。

2. 酒精生產

將已活化之 *Pichia stipitis* Pignal BCRC21777 培養基以 10% (v/v) 轉接至含有 100 mL 生產培養基（甘蔗渣水解液、Yeast extract 12 g/L）之 250 mL 三角錐形瓶中，於 24°C 搖瓶培養 72 小時。然後觀察菌體之生長 OD 值、pH、酒精濃度、葡萄糖濃度之變化情形，再將發酵液經 10,000 rpm 離心去除菌體及雜質，上清液保存於 -70°C 備用，以便後續進行各種糖類濃度與酒精的分析。

3. 分析方法

本研究以高效液相層析儀（High Performance Liquid Chromatography，HPLC）分析，使用 Phenomenex 00H-0135-K0，7.8×300mm Rezex RPM-Monosaccharide Pb⁺² 管柱（Phenomenex Inc, Torrance, California, USA），以 RI 偵測器（BISCHOFF），在 85°C 下進行分析。沖提液為 100% H₂O，流速為 0.6 mL/min，樣品注入體積為 20 μ L。將發酵液做適當的稀釋後注入 HPLC，對照醣類與酒精標準品之檢量線即可得到各種單醣之濃度與酒精生產濃度。實驗數據為二重複之平均值。

三、結果與討論

(一) 甘蔗渣水解

1. 甘蔗渣成份分析：

蔗渣的組成分如表 1 所示，其中纖維素含 64.05%，木質素含 11.26%，灰份為 1.62%，此結果與先前文獻之報導相符 [10]，Lee 等報導蔗渣的組成分纖維素含 55.70%，木質素含 18.40%，灰份為 2.80%。甘蔗渣富含豐富的纖維素，半纖維素和木質素，因此可以通過將甘蔗渣預處理，糖化及發酵以生產生質酒精。

2. 稀酸前處理—稀硫酸濃度之影響

為探討不同稀硫酸濃度對甘蔗渣水解之影響，本實驗是甘蔗渣經過前處理後，加入 0.25、0.5、1、1.5、2 N 硫酸濃度溶液 100 mL，固液比 1:50，經由 131°C 高溫高壓處理，反應 20 min 時間。結果如圖 1 所示，發現在 0.25 N 硫酸濃度，水解效果最佳，可得 Glucose 3.0 g/L (15.0%)、Xylose 2.3 g/L (11.5%)，而木糖濃度會隨著稀酸濃度增加而降低，後續實驗將以 0.25 N 硫酸濃度進行探討最佳水解條件。

3. 稀酸前處理—稀硫酸體積之影響

為探討固液比對甘蔗渣水解之影響，本實驗條件如前述



表 1. 蔗渣的組成分

全纖維 (%)	木質素 (%)	灰分 (%)
64.05	11.26	1.62

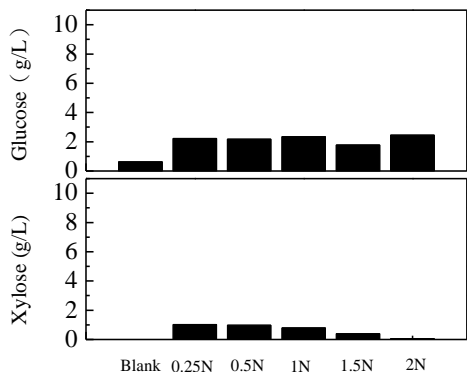


圖 1. 甘蔗渣在不同稀酸濃度處理所釋放單糖之濃度

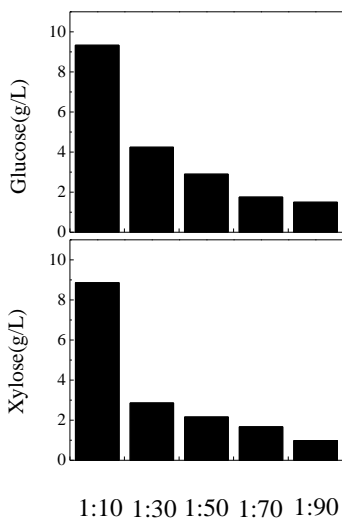


圖 2. 甘蔗渣在不同固液比條件下所釋放之單糖及濃度

條件，但變化固液比為 1:10、1:30、1:50、1:70 與 1:90，實驗結果如圖 2 所示，雖然固液比 1:10 時所得單糖濃度最高，分別為 Glucose 9.33 g/L、Xylose 8.86 g/L，但若換算為產率時（如表 2 所示）以固液比 1:50 時為最佳，分別為 Glucose 3 g/L (15.0%)、Xylose 2.3 g/L (11.5%)，因此後續實驗將以固液比 1:50 進行探討最佳水解條件。

4. 稀酸前處理—反應時間之影響

本實驗在 0.25N 硫酸濃度、1:50 固液比，不同時間(10、20、30、40、50、60 min) 經由 131°C 高溫高壓處理，其實驗結果如圖 3 所示，得知水解 20 min 時可得最佳濃度 Glucose 3 g/L (15.0%)、Xylose 2.3 g/L (11.5%)，後續實驗將 0.25N 硫酸濃度、固液比 1:50、20 min 定為最佳水解條件。

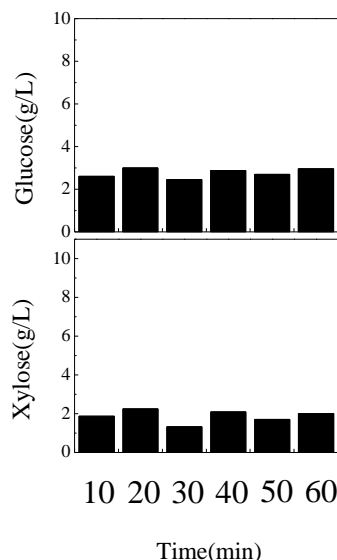


圖 3. 甘蔗渣在不同反應時間條件下所釋放之單糖及濃度

表 2. 酸水解-不同固液比對甘蔗渣水解之產率

固液比	Glucose (g/L)	Glucose production yield (%)	Xylose (g/L)	Xylose Production yield (%)	Total Production yield (%)
1:10	9.33	9.3	8.86	8.9	18.2
1:30	4.25	12.7	2.87	8.6	21.4
1:50	3.0	15.0	2.30	11.5	26.5
1:70	1.76	12.3	1.68	11.8	24.1
1:90	1.49	13.5	0.99	8.9	22.3



5. 以酵素進行甘蔗渣水解處理

本實驗將 2g 蔗渣經上述最佳前處理條件(0.25 N 硫酸、131°C、20 min、固液比 1:50)處理後接入 1% 不同酵素(纖維水解酵素、聚木糖酵素、糖化酵素)並調整 pH (纖維水解酵素 pH 4.5、聚木糖酵素 pH 5.0、糖化酵素 pH 5.0), 在 50°C、100 rpm 進行水解反應。實驗結果如圖 4 及表 3 所示, 結果顯示經過三小時後, 葡萄糖 (Glucose) 濃度有顯著增加, 但木糖 (Xylose) 濃度則增加有限, 經纖維水解酵素水解後, 最終之葡萄糖 (Glucose) 與木糖 (Xylose) 之濃度(產率)分別為 Glucose 7.1 g/L (35.5%)、Xylose 2.8 g/L (14.0%) ; 經聚木糖酵素水解後, 最終之葡萄糖 (Glucose) 與木糖 (Xylose) 之濃度(產率)分別為 Glucose 7.1 g/L (35.5%)、Xylose 2.7 g/L (13.5%) ; 經糖化酵素水解後, 最終之葡萄糖 (Glucose) 與木糖 (Xylose) 之濃度(產率)分別為 Glucose 6.6 g/L (33.0%)、Xylose 2.2 g/L (11.0%)。纖維水解酵素、聚木糖酵素、糖化酵素水解蔗渣所得之單糖總濃度分別為 49.5%、49% 與 45%, 此佔蔗渣糖總糖之 77.3%、76.5% 與 70.3%。此單糖可作為發酵原料以生產生質酒精。

(二) 酒精發酵

依上述水解甘蔗渣實驗得知甘蔗渣水解後所得的醴類大部分為葡萄糖與木糖, 為探討 *Pichia stipitis* Pignal 是否為合適發酵菌株以此二單糖生產酒精, 故先以試藥級葡萄糖、木糖、半乳糖、甘露糖為碳源, 並探討 *Pichia stipitis* Pignal 是否會以這些單糖為碳源以生產生質酒精。

1. *Pichia stipitis* Pignal 發酵四種單糖以生產生質酒精之探討

將 *Pichia stipitis* Pignal 菌株活化後, 將 10 mL 前培養基菌液接種於 100 mL 之生產培養基 (葡萄糖、木糖、半乳糖或甘露糖 20 g/L, Yeast extract 5 g/L, Peptone 1.0 g/L), 於 24°C 靜置培養 192 小時, 並定時取點分析 pH、Biomass、醴類濃度、酒精濃度, 結果如 圖5 所示。結果發現發酵期間 pH

隨培養時間而降低, 菌體濃度隨時間增加, 4種試藥級單醴 (葡萄糖、木糖、半乳糖及甘露糖) 皆可被利用並被消耗完畢, 且轉換成生質酒精, 其中以葡萄糖消耗最快, 酒精轉化率為 92%。農產廢棄物以纖維素、半纖維素及木質素為主要組成。前兩者成份占總量約 60-90% 左右, 其經水解後可產生五碳及六碳單醴, 其中以葡萄糖含量最高, 木糖次之。雖然酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 可高效率發酵葡萄糖以生產酒精, 但無法有效利用木糖, 使得其生產酒精的工業化產程受到限制。近年來, 許多學者致力於篩選木糖發酵菌株, 發現具木糖發酵能力的菌株遍及細菌及真菌, 其中以 *Pichia stipitis* 對木糖發酵能力較高 [4], 此與本實驗結果相似, 由於 *Pichia stipitis* Pignal 可高效率發酵葡萄糖與木糖, 因此可用於發酵木質纖維素之水解液以進行酒精生產。

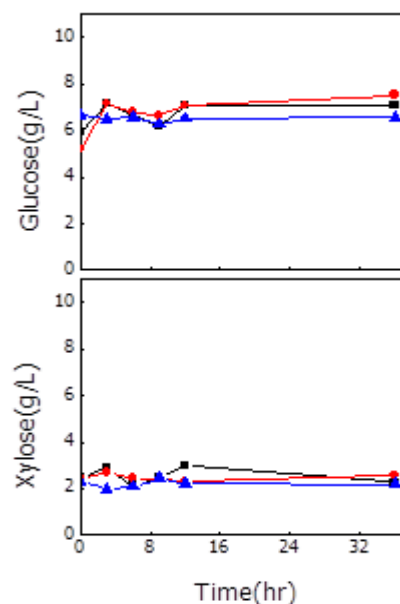


圖 4. 酵素水解-不同酵素對甘蔗渣水解之產率

(■)纖維水解酵素 ; (●)聚木糖酵素 ; (▲)糖化酵素

表 3. 酵素水解-不同酵素對甘蔗渣水解之產率

添加酵素	Glucose (g/L)	Glucose production yield (%)	Xylose (g/L)	Xylose production yield (%)	Total Production yield (%)
(■) 纖維水解酵素	7.1	35.5	2.8	14.0	49.5
(●) 聚木糖酵素	7.1	35.5	2.7	13.5	49.0
(▲) 糖化酵素	6.6	33.0	2.2	11.0	45.0



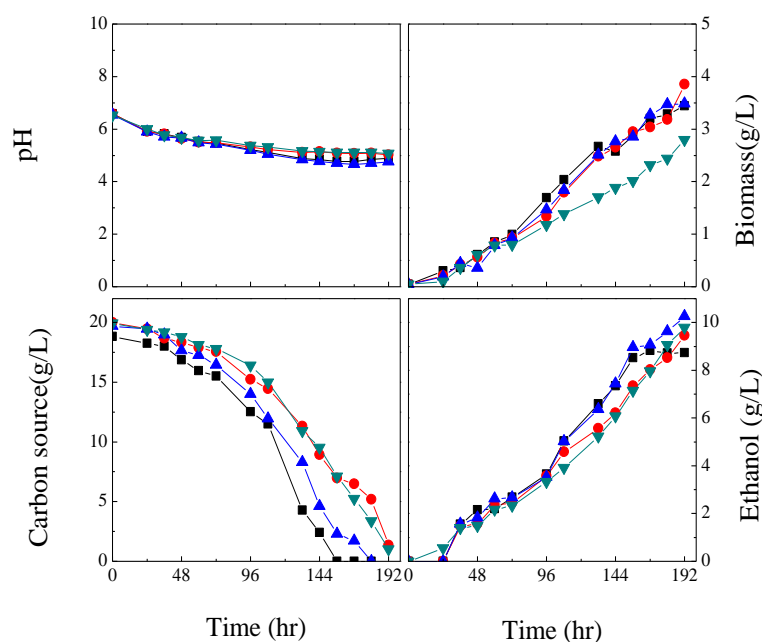


圖 5. *Pichia stipitis* Pignal 利用不同碳源之情形

(■) Glucose; (●) Galactose; (▲) Mannose; (▼) Xylose

2. *Pichia stipitis* Pignal 發酵甘蔗渣水解液生產生質酒精

由前述實驗發現以 2g 蔗渣添加 0.25N H_2SO_4 (固液比 1:50)，經 131°C 高溫高壓，反應 20 min 進行水解，可得 Glucose 3 g/L (15.0%)、Xylose 2.3 g/L (11.5%)。以此水解液作為碳源，添加菌株 (*Pichia stipitis* Pignal)，在最適氮源條件，將 10 mL 前培養基菌液接種於 100 mL 之生產培養基，並於 24°C、100 rpm 搖瓶培養 72 小時，並定時取點分析 pH、Biomass、醱類濃度、酒精濃度。如圖 6 所示，總醱共消耗 5.3 g/L，可得酒精產量 2.3 g/L，酒精轉換率為 86%。以甘蔗渣為生質原料經糖化與發酵生產生質酒精已有相當多文獻之報導 [8-9, 15-16, 18, 20]，但研究重點、研究方法與分析方法皆有差異，因此較難進行相對比較，然而本研究之結果已顯示以稀酸/酵素二階段水解方式可有效的將可利用單糖從甘蔗渣釋放出來，並有效的轉化成生質酒精。

糖 (Xylose) 之濃度 (產率) 分別為 Glucose 7.1 g/L (35.5%)、Xylose 2.8 g/L (14.0%)。以酵母菌 (*Pichia stipitis* Pignal BCRC21777) 發酵蔗渣之酸水解液，結果發現以蔗渣酸水解液當作碳源 (葡萄糖 3 g/L、木糖 2.3 g/L)、Yeast extract 12 g/L 做為氮源，於 24°C，100 rpm 培養 72 小時，葡萄糖與木糖完全消耗 (共 5.3 g/L，100%)，可得酒精產量 2.3 g/L，酒精轉化率為 86%。本研究已證實使用二階段水解方式，酸水解後添加水解酵素，可有效的將甘蔗渣水解，總共 77.3% 的單糖可從甘蔗渣釋放出來，而釋放出來之單糖亦可非常有效的轉化成生質酒精。以甘蔗渣廢棄物為原料來生產生質酒精能夠提高基質轉化效率，增加生質能源產量，不僅可解決化石燃料衍生的能源匱乏問題，以及減緩大氣中的二氧化碳含量，還可解決以糧食作物製成生質能源所帶來的糧食缺乏問題，不僅能解決能源危機，亦可解決環保之問題。

四、結論

本研究發現甘蔗渣添加 0.25 N H_2SO_4 (固液比 1:50)，經 131°C 高溫高壓，反應 20 min 進行酸水解，可得葡萄糖 (Glucose) 3.0 g/L (15.0%)、木糖 (Xylose) 2.3 g/L (11.5%)，再經纖維水解酵素水解後，最終之葡萄糖 (Glucose) 與木

誌謝

本研究誠摯感謝科技部計畫提供相關經費支援 (計畫編號: MOST 103-2313-B-212-002-MY3)，使得本研究得以順利進行，謹此致謝。



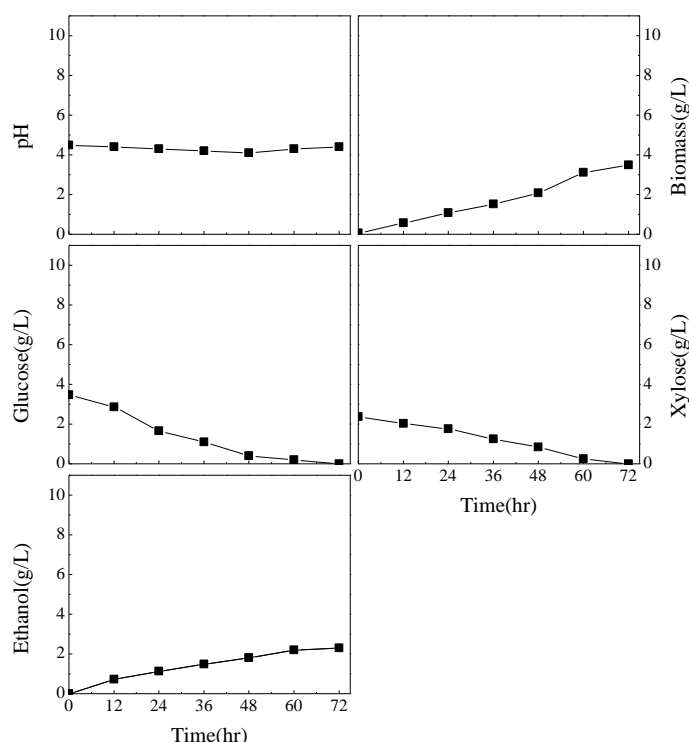


圖 6. *Pichia stipitis* Pignal 發酵甘蔗渣水解液生產生質酒精

參考文獻

1. 中華民國國家標準 (民 91 年), CNS 6948 紙漿用天然纖維原料之全纖維素試驗法 (亞氯酸鹽法), 經濟部標準檢驗局。
2. 中華民國國家標準 (民 76 年), CNS 2721 木材及紙漿中酸不溶木質素試驗法, 經濟部標準檢驗局。
3. 中華民國國家標準 (民 97 年), CNS 1356 紙漿、及紙類灰分試驗法—525 °C, 經濟部標準檢驗局。
4. Agbogbo, F. K. and K. S. Wenger (2007) Production of ethanol from corn stover hemicellulose hydrolyzate using *Pichia stipitis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(11), 723-727.
5. Balat, M. (2011) Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management*, 52(2), 858-875.
6. Brumbley, S. M., M. P. Purnell, L. A. Petrasovits, L. K. Nielsen and P. H. Twine (2007) Developing the sugarcane biofactory for high value biomaterials. *International sugar journal*, 109 (1297), 5-15.
7. Buck, B. H. and C. M. Buchholz (2004) The offshore-ring: a new system design for the open ocean aquaculture of macroalgae. *Journal of Applied Phycology*, 16(5), 355-368.
8. Cheng, K. K., B. Y. Cai, J. A. Zhang, H. Z. Ling, Y. J. Zhou, J. P. Ge and J. M. Xu (2008) Sugarcane bagasses hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process. *Biochemical Engineering Journal*, 38(1), 105-109.
9. de Albuquerque Wanderley, M. C., C. Martin, G. J. de Moraes Rocha and E. R. Gouveia (2013) Increase in ethanol production from sugarcane bagasse based on combined pretreatments and fed-batch enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 128, 448-453.
10. Lee, J. W. (1997) Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology*, 56(1), 1-24.
11. Luning, K. and S. Pang (2003) Mass cultivation of seaweeds: current aspects and approaches. *Journal of Applied Phycology*, 15(2), 115-119.
12. Nel, S. (2010) The potential of biotechnology in the sugarcane industry: Are you ready for the next evolution?



- International sugar journal*, 112(1333), 11-16.
13. Nigam, P. S. and A. Singh (2011) Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, 37(1), 52-68.
 14. Park, J. H., J. Y. Hong, H. C. Jang, S. G. Oh, S. H. Kim, J. Y. Yoon and Y. J. Kim (2012) Use of *Gelidium amansii* as a promising resource for bioethanol: A practical approach for continuous dilute-acid hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology*, 108, 83-88.
 15. Rabelo, S. C., N. A. A. Fonseca, R. R. Andrade, R. Maciel Filho, and A. C. Costa (2011) Ethanol production from enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse pretreated with lime and alkaline hydrogen peroxide. *Biomass Bioenergy*, 25(7), 2600-2607.
 16. Rivera, E. C., S. C. Rabelo, D. R. Garcia, R. Maciel Filho, and A. C. Costa (2010) Enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse for bioethanol production: determining optimal enzyme loading using neural networks. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85(7), 983-992.
 17. Sánchez, Ó. J. and C. A. Cardona (2007) Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology*, 99(13), 5270-5295.
 18. Santos, J. R. A., M. Lucena, N. Gusmao and E. R. Gouveia (2012) Optimization of ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* UFPEDA 1238 in simultaneous saccharification and fermentation of delignified sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 584-588.
 19. Saxena, R. C., D. K. Adhikari and H. B. Goyal (2009) Biomass-based energy fuel through biochemical routes: a review. *Sustainable Energy Reviews*, 13(1), 167-178.
 20. Velmurugan, R. and K. Muthukumar (2011) Utilization of sugarcane bagasse for bioethanol production: Sono-assisted acid hydrolysis approach. *Bioresource Technology*, 102(14), 7119-7123.
 21. Wi, S. G., H. J. Kim, S. A. Mahadevan, D. J. Yang and H. J. Bae (2009) The potential value of the seaweed Ceylon moss (*Gelidium amansii*) as an alternative bioenergy resource. *Bioresource Technology*, 100(24), 6658-6660.
 22. Wu, F. C., J. Y. Wu, J. Y. Liao, M. Y. Wang and I. L. Shih (2014) Sequential acid and enzymatic hydrolysis *in situ* and Bioethanol production from *Gracilaria* biomass. *Bioresource Technology*, 156, 123-131.
 23. Yoon, J. J., Y. J. Kim, S. H. Kim, H. J. Ryu, J. Y. Choi, G. S. Kim and M. K. Shin (2010) Production of polysaccharides and corresponding sugars from red seaweed. *Advanced Materials Research*, 93, 463-466.
 24. Yun, E. J., M. H. Shin, J. J. Yoon, Y. J. Kim, I. G. Choi and K. H. Kim (2011) Production of 3,6-anhydro-L-galactose from agarose by agarolytic enzymes of *Saccharophagus degradans* 2-40. *Process Biochemistry*, 46(1), 88-93.

收件：106.09.01 修正：106.12.06 接受：107.01.25

