

中華民國第 51 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高職組 化工、衛工及環工科

第一名

最佳創意獎

091103

『燒酒』螺～開動：以萃取福壽螺消化酵素分解
水果纖維廢棄物製造生質酒精之可行性研究

學校名稱：國立苗栗高級農工職業學校

作者： 職二 徐承理 職二 何昌峯 職二 吳慧楨	指導老師： 謝文斌
---	------------------

關鍵詞：福壽螺、柳丁皮、纖維質分解酵素

得獎感言



我們是來自苗栗山城的孩子，卻有幸學習到最新生質能源課程，也深知使用生質能將是未來人類與大自然永續共存唯一對策！但我們苦無精密設備與高深理論去研發新能源，但當我們異想天開提出危害稻田害蟲福壽螺，是否能分解廢棄水果纖維，進而製成生質酒精構想時，感謝食品加工科給予我們充分資源去探討，大夥利用課餘捕捉福壽螺、萃取酵素、設計並進行實驗、修正方向、驗證結果，我們嘗盡無數次挫折與低潮，謝謝指導老師謝文斌主任，總在最需要時刻給予引導、鼓勵與陪伴，讓我們能熬過實驗過程的艱苦並享受實驗成功的喜樂！大家也培養出無比堅強團隊默契與情感！並能在苗栗家鄉與全國各校選手一起競技，爭取到第一名佳績，這真是令人難忘又回味的經驗！

摘要

生質酒精多以糧食經由發酵生成但易造成食物短缺，若能以纖維質製成酒精將是未來新趨勢。福壽螺多年來危害台灣作物，若能萃取螺體酵素進而分解纖維質，不僅可消滅害蟲又能廢物利用。本實驗乃探討以甘蔗渣、柳丁皮以濃鹽酸、纖維質分解酵素及從福壽螺萃取液進行水解及發酵試驗並進行觀察。結果發現添加 5~10%福壽螺消化腺萃取液並於 18°C 所進行水解，並配合米麴酵母在 35°C 酒精發酵或以紅葡萄酒酵母在 45°C 酒精發酵，所測得酒精濃度最高。所生成生質酒精濃度可利用二次蒸餾提高至 60% 以上，總製成率達 13.36%。並可有效產生 0.8V 穩定電壓，達 3 小時以上。以 DNS 還原糖試驗發現福壽螺消化腺萃取液能有效分解纖維質生成還原糖，確實具有纖維質分解酵素之活性。

關 鍵 詞：福壽螺、柳丁皮、纖維質分解酵素

壹、研究動機：

現今社會由於飲食習慣精緻化，食品原料經過度加工造成許多資源被浪費，試想一瓶柳橙汁或甘蔗汁要擠乾多少柳丁及甘蔗，且擠完後往往都是當廢棄物丟掉，實在太可惜了！是否我們可以有效利用這些廢棄物呢？我們在學校微生物課程中學習到生質酒精是目前各國積極開發新能源之一，利用糖質或澱粉質含量高之糧食原料經由酒精發酵生成酒精，來取代傳統石化燃料，但卻造成全球食物短缺隱憂（黃，2008）。若能改以纖維質製成生質酒精可說是未來生質能源的新趨勢，但如何有效水解纖維質，目前各國多以生物技術方式培育菌株生產水解酵素（戴，2004），但仍有研發瓶頸尚未能商業量產！因此我們異想天開想找尋是否有存在於大自然並能分解纖維質之酵素呢？

福壽螺多年來一直是台灣農民的噩夢，因為沒有天敵所以繁衍的速度十分驚人（張，1982）。福壽螺常常出現在農田水溝或田埂邊，主要是以水草、稻葉等為主要食物來源，政府多年來投入龐大經費研究一直無法有效防治。由於福壽螺是以纖維質作為主食，我們靈機一動，是否福壽螺消化腺中含有纖維質分解酵素，若能將酵素萃取出來，加至纖維質水果廢棄物內，待纖維素分解後再加入酵母進行酒精發酵產生酒精，不僅可有效減少福壽螺害蟲，又能增加稻米產值，並能廢物再利用生產酒精，有一舉多得之功效！

貳、研究目的：

- 1.探討以甘蔗渣、柳丁皮等水果廢棄物添加濃鹽酸、商業纖維質分解酵素及從福壽螺萃取出酵素進行纖維質水解，再進行酒精發酵生成酒精。找出最佳生產生質酒精的原料及條件。
- 2.本實驗精神為嘗試廢物利用，把同被人們視為害蟲及廢物的福壽螺和廢棄果皮結合在一起，產生高價值的生質酒精，以期能應驗『乞丐能當皇帝，廢棄物也能變黃金』！

叁、研究設備及器材：

一、材料：

- (一) 台灣原產柳丁、甘蔗渣、甘蔗汁
- (二) 福壽螺 (*Pomacea canaliculata*) (採集自學校附近稻田及水溝)
- (三) 白葡萄酒酵母、紅葡萄酒酵母 (*Saccharomyces ellipsoideus*)、米酒酵母 (*Saccharomyces peka*)、傳統米麴 (*Saccharomyces sake*) (汎球公司)
- (四) 商業用纖維質分解酵素 (商品名稱 Cellulyve) (汎球公司)
- (五) 12N 鹽酸、10%氫氧化鈉、 NaH_2PO_4 及 Na_2HPO_4 (宏展公司)

二、器材：

- (一) pH 計 (瑞士 Mettler 公司)
- (二) 均質機 (西班牙 Sammic 公司)
- (三) 果汁機 (Panasonic 公司)
- (四) 手壓式榨汁機 (台灣松鄉實業社)
- (五) 手持式標準型糖度計 (日本 Atago 公司)
- (六) 手持式酒精度計 DA-130N (日本 KEM KYOTO 公司)
- (七) 恆溫培養箱 (Sanyo 公司)
- (八) 含水封器發酵血清瓶 (委由新竹上展玻璃燒製)
- (九) 自組酒精蒸餾裝置 (自行組裝)
- (十) 酒精燃料電池、三用電錶 (購自集廣公司)

肆、研究過程及方法：

一、文獻整理：

福壽螺(Golden apple snail)屬於軟體動物門(*Mollusca*)、腹足綱(*Gastropoda*)、前鰓亞綱(*Prosobranchia*)、中腹足目(*Mesogastropoda*)、蘋果螺科(*Ampullariidae*)，棲息於淡水或半淡鹹水之沼澤、池塘、溝渠等緩水水域。福壽螺為雌雄異體行體內受精，受精卵約三週即可孵化，每年每隻母螺平均可生產 5500 餘顆卵，平均壽命約三年，環境不良時會進入休眠狀態。福壽螺屬於雜食性生物，包括稻米、芋頭以及幾乎所有水生經濟作物均為其食物來源。台灣發生福壽螺危害源起於 1970 末期至 1980 年代初期，福壽螺被引進台灣飼養希望能取代石田螺成為養植物種，後來卻因市場乏人問津被飼養業者隨意丟棄於排水溝、灌溉溝圳，由於繁殖速度快，環境適應良好，食性廣泛且沒有天敵，在短短的幾年內經由水流散佈至台灣各角落溝渠、溪流、湖泊及池塘、稻田及水生作物區(張，1986)。

二十多年來，福壽螺在台灣已造成重大的農業經濟損害，粗步估計每年約耗費兩億新台幣。福壽螺不僅造成農業經濟上的損失，牠對棲地原有的生態環境亦造成相當衝擊。面對福壽螺所帶來的經濟與生態破壞，多年來政府與農民對福壽螺的防治不外乎採用物理性防制、生物性防制與化學藥劑防制等三大類來阻止災害繼續擴大，其中化學藥劑的廣泛濫用一向是台灣農業所為人詬病的問題，使用藥劑的優點主要是成本低廉，但由於要達到有效的程度必須要高劑量的施放，如果是像灌溉溝渠流動水域便無法使用。早期的採用三苯醋錫(Triphenyltin acetate； $C_{20}H_{18}O_2Sn$)已破壞台灣許多水生生態環境。後來陸續有如耐克螺以及天然植物抽出物如苦茶粕等改良過藥劑出現，但成效有限。化學藥劑消滅福壽螺雖普遍，但是長期使用將導致福壽螺產生抗藥性以及農地發生藥物殘留嚴重問題(孫，2009)。

纖維素(cellulose)是由 100~14,000 個葡萄糖單體以 β -1,4 鍵結方法所形成的聚合物，可經由化學或生化反應的水解而成為單體之 D-glucose。有別於其他多醣類，纖維素的重要特色就是它具有結晶形的構造。在生物合成(biosynthesis)時，由 30 個葡萄糖單體聚集而成初級細纖維，接著再由初級細纖維聚合成為微細纖維，最後便由微細纖維聚集而成為一般所知的纖維素(李，2008)。

一般常利用酸、鹼以及蒸氣加熱處理等方法來前處理纖維素。但分解後回收率不高，再加

上化學前處理，廢棄物會造成環境汙染。因此利用纖維素分解酵素(cellulase)的生物法，目前被公認是較有效且更自然的方法。纖維素分解酵素是屬於水解酵素(hydrolase)，包括內切型纖維素分解酵素、外切型纖維素分解酵素和纖維二糖酵素這三類主要酵素。可將不溶性的纖維素完全水解。

二、制定從福壽螺抽取萃取液之標準操作步驟

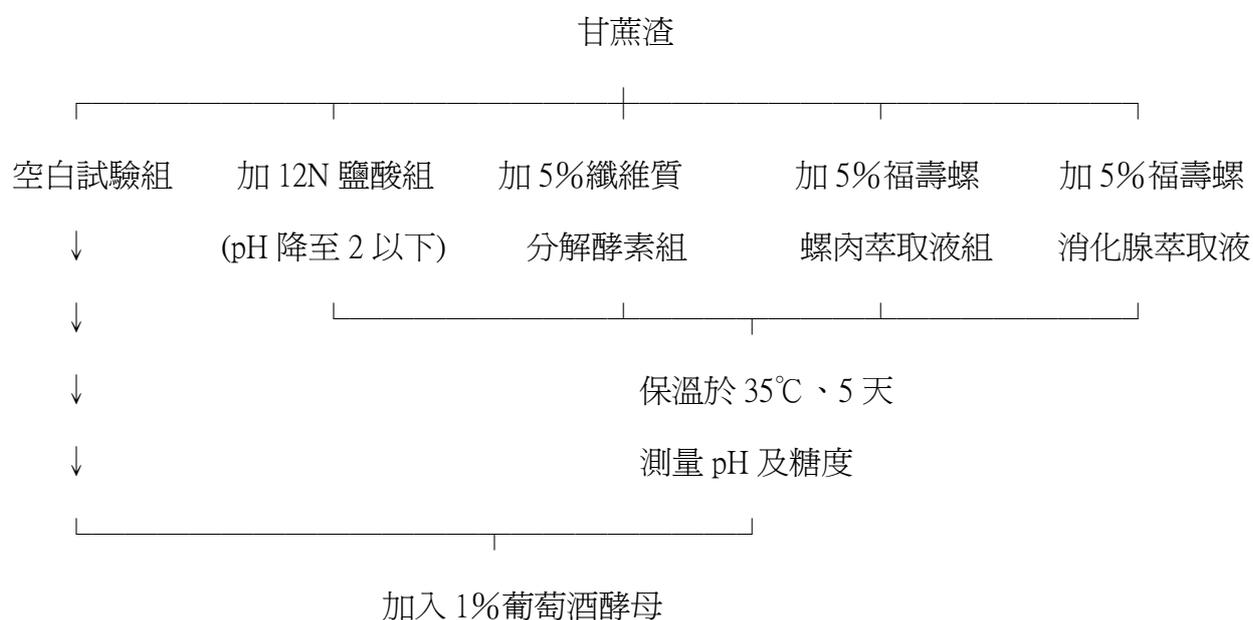
實驗設計一

捕捉福壽螺→測量數據(秤重、測量體長)→破殼→解剖分成消化腺與螺肉二部份→分別加入磷酸鹽緩衝溶液→低溫細碎(4℃)→減壓過濾→濾液分裝→急速冷凍(-40℃)→冷凍保存(-18℃)

三、以甘蔗纖維質原料利用不同水解方法進行水解、酒精發酵及蒸餾試驗：

本試驗嘗試以榨汁後會產生大量果渣廢棄物的甘蔗為原料，是否可以將甘蔗纖維再利用？在食品化學與分析課程中我們學習到酵母菌可將糖質原料經由酒精發酵生成酒精，澱粉質原料屬於多醣，須先將澱粉以糖化酵素水解成單醣後才能被酵母利用，纖維質雖然是多醣，但鍵結方式不同，不易水解成單醣(李，2008)，因此我們嘗試以強酸、商業酵素、福壽螺螺肉及消化腺萃取液等不同方法進行纖維質分解後，再進行酒精發酵及蒸餾，酒精蒸餾方法參考食品加工實習課程所學習到方法，以化學實驗室現有器材自行組裝蒸餾裝置(張，2007)。探討以不同纖維質分解方法生成酒精濃度，是否有所不同。

實驗設計二：



35°C 酒精發酵、5 天



測量 pH 及糖度



酒精蒸餾 (90°C)



測量酒精濃度 (% (v/v))

(一) 原料製備：以均質機打碎，果渣：水=1：9。

(二) 測量 pH 及糖度方法：使用 pH 計測量酸鹼值，使用手持式屈折糖度計測量糖度(° Brix)。

pH 計先用 pH=4 及 pH=7 標準校正液校正；糖度計使用蒸餾水進行歸零。

(三) 酒精發酵方法：使用血清瓶並加蓋水封阻絕空氣。

(四) 酒精蒸餾方法：使用化學實驗室燒瓶、冷凝管等玻璃器皿組裝蒸餾設備。

(五) 酒精濃度測量方法：使用酒精度計測量酒精濃度(%)。

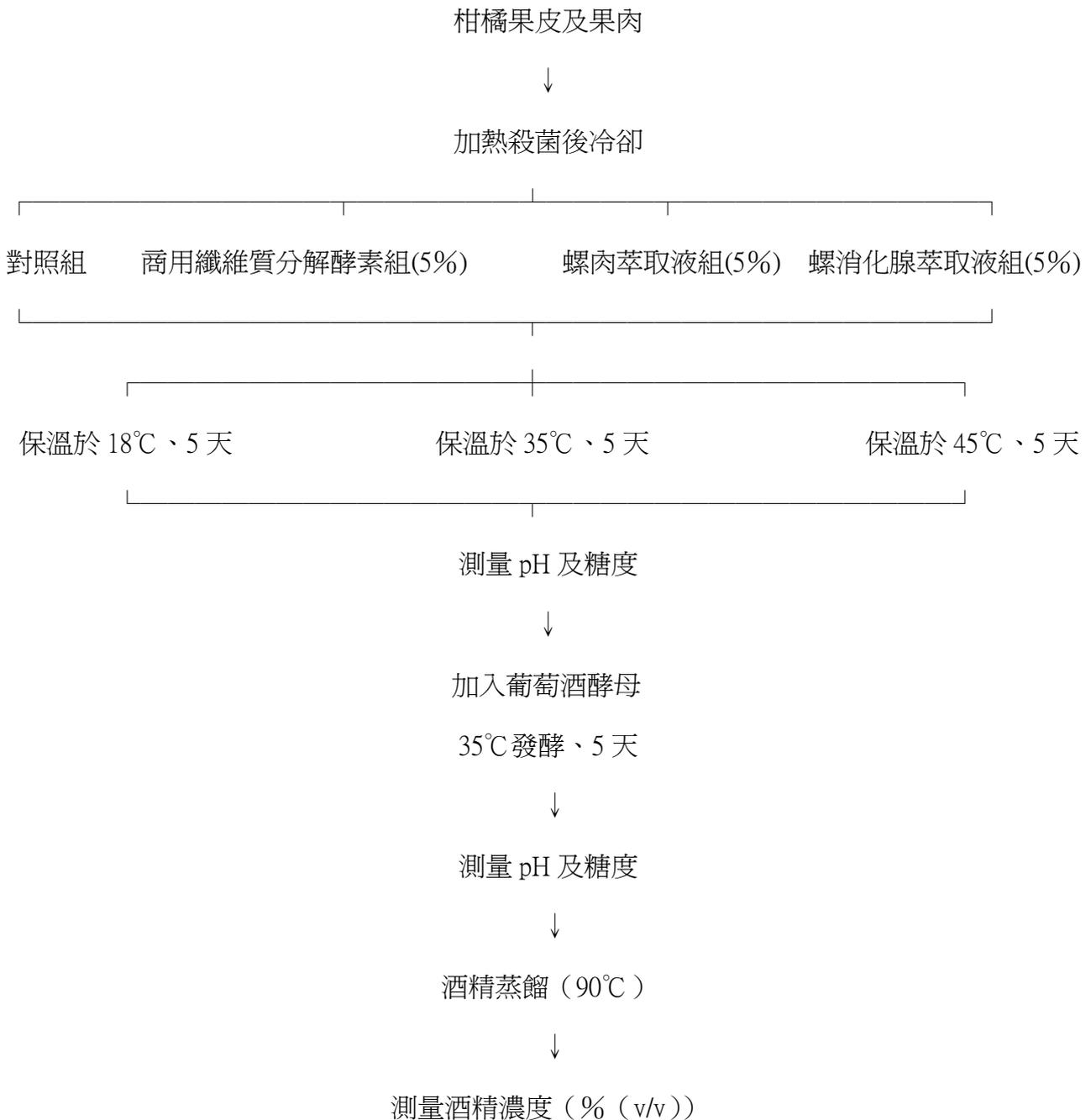
		
以均質機將果渣打碎	糖度計使用蒸餾水進行歸零	使用 pH 計測量酸鹼值
		
加蓋水封血清瓶	蒸餾設備	酒精度計

圖一、原料製備及測量法示意圖

四、以柳丁果皮及肉為原料添加酵素、福壽螺萃取液進行水解、酒精發酵及蒸餾試驗：

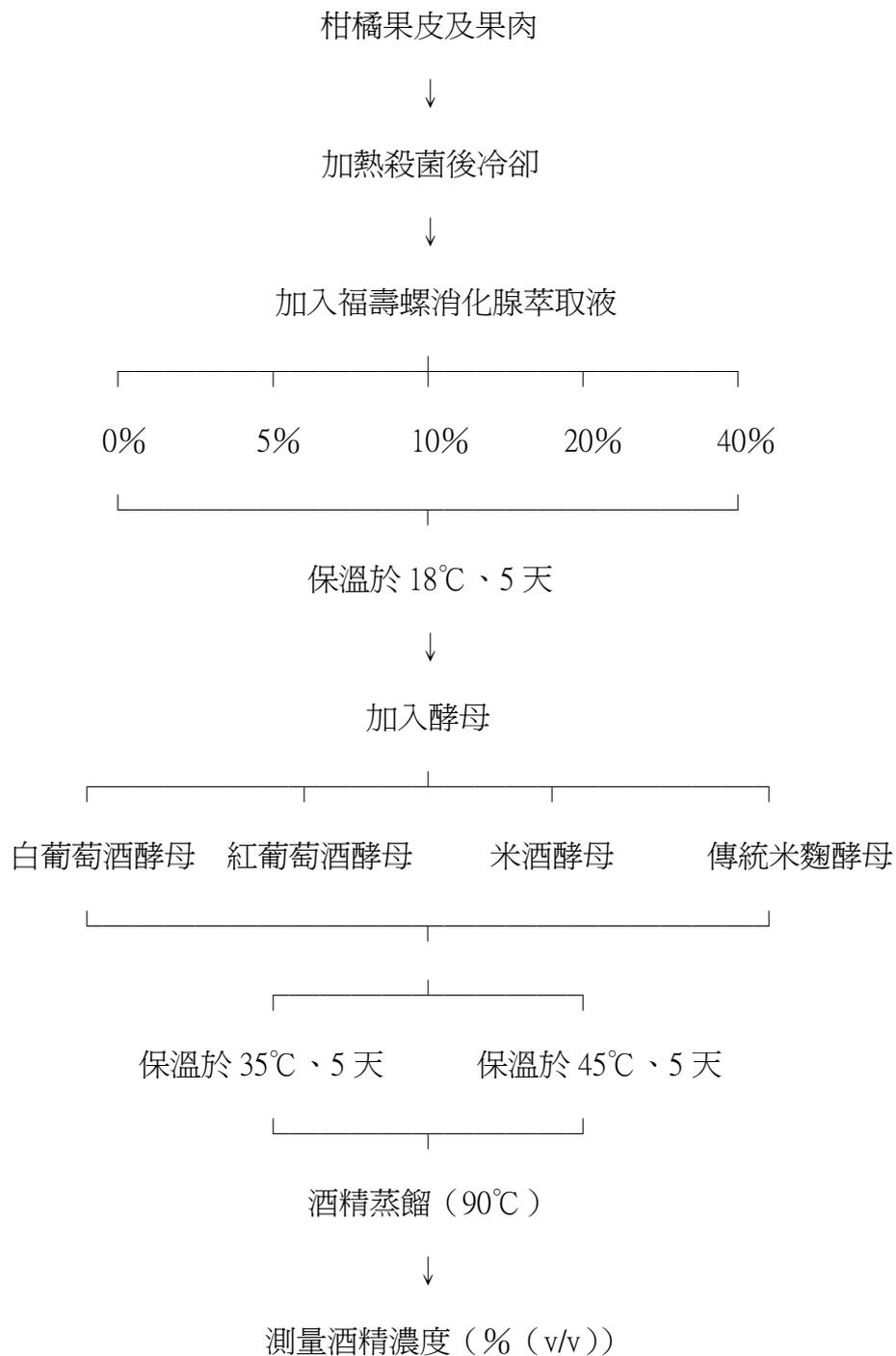
由上述之試驗結果得知酵素分解水果纖維質廢棄物再進行酒精發酵以達到廢物利用的目的是可行的。但是否適用於每種水果呢？在學校的中午團膳中，常附餐後水果，其中以柳丁等柑橘類水果最常見，每當午餐後廚餘桶常出現大量果皮。因此進一步以柳丁為實驗對象，探討以不同分解方法配合溫度變因所生成酒精濃度，是否會有一樣的結果。

實驗設計三：



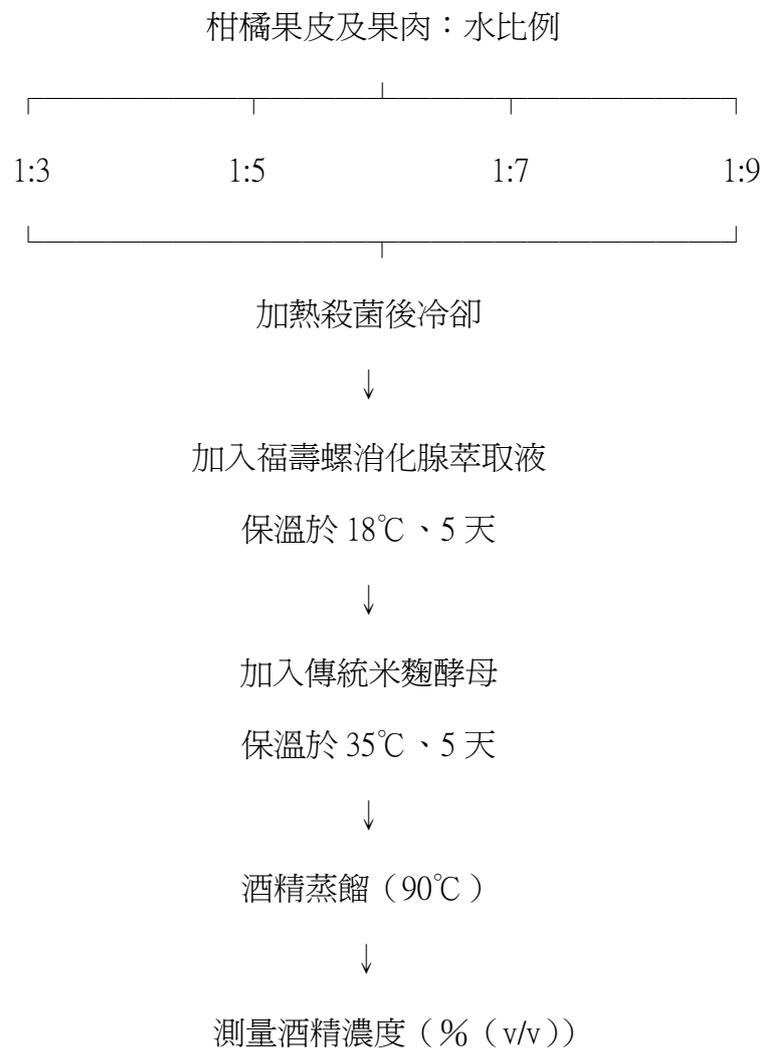
五、以柳丁果皮及肉為原料加不同濃度福壽螺消化腺萃取液進行水解及不同的酵母菌以及不同發酵溫度、酒精發酵及蒸餾試驗：

實驗設計四：



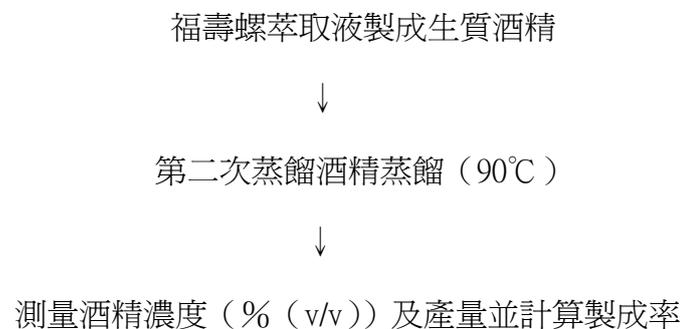
六、柳丁果皮及肉為原料以不同水量比例加入福壽螺消化腺萃取液進行水解發酵及蒸餾試驗：

實驗設計五：



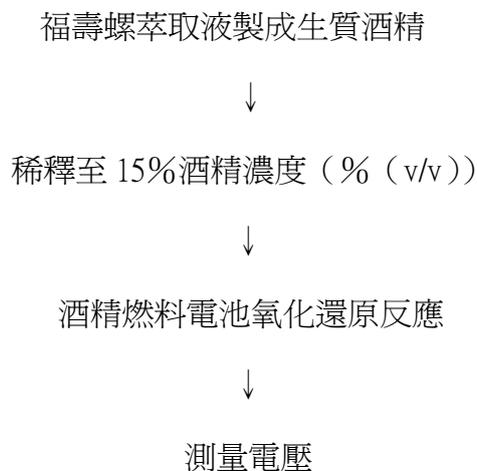
七、柳丁果皮及肉為原料以福壽螺萃取液進行水解製成之生質酒精量產試驗：

實驗設計六：



八、柳丁果皮及肉為原料以福壽螺萃取液進行水解製成之生質酒精進行電力試驗：

實驗設計七：



九、進一步以福壽螺消化腺萃取液及商業用纖維質分解酵素分別進行纖維質分解試驗測試酵素活性：

實驗設計八：

(一) 3,5-二硝基水楊酸溶液(3,5-dinitrosalicylic acid ; DNS)試劑配置方法：

將 3, 5-dinitrosalicylic acid 1 g、酒石酸鉀鈉 30 g、NaOH 1.6 g 溶於 100 ml 蒸餾水中，並於水浴加熱使其溶解，最後置於棕色瓶避光儲存備用。

(二) 葡萄糖標準溶液之配置方法：

配置 0.2%之葡萄糖溶液並依序稀釋成 0.1%、0.05%、0.025%葡萄糖標準液。

(三) 葡萄糖標準曲線製作：

- 1.取 5 支試管分別加入 0.5 ml 葡萄糖標準溶液及 0.5 ml DNS 呈色劑。
- 2.於 100°C 恆溫水浴加熱 5 分鐘後，置冷水浴冷卻。
- 3.加入 3ml 蒸餾水混合後測 540 nm 波長之吸光值。
- 4.扣除空白值(以水取代葡萄糖溶液者)後，以吸光值對葡萄糖量作圖可得標準曲線圖。

福壽螺消化腺萃取液

商業用纖維質分解酵素

加入 CMC

保持 18°C 分解一小時

保持 45°C 分解一小時

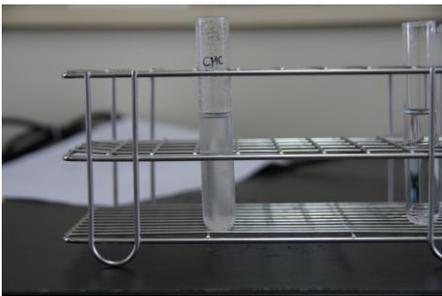
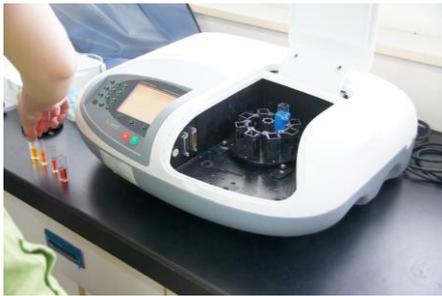
加入 DNS 試劑於 100°C 恆溫水浴加熱 5 分鐘進行反應



以分光光度計測量 540 nm 波長之吸光值



比對葡萄糖標準曲線圖計算葡萄糖含量

		
1.配製好 CMC	2.加入待測酵素	3.於適當溫度待其分解
		
4.加入 DNS 試劑	5.於高溫中作用	6.測定吸光值

圖二、3,5-二硝基水楊酸溶液試劑測量還原糖流程圖

伍、研究結果與討論：

一、制定從福壽螺抽取萃取液之標準操作步驟

首先在學校周圍農田捕捉福壽螺，並量測及統計每批福壽螺之基本資料（如表一），為萃取其中纖維質分解酵素，參考台灣大學莊榮輝教授生化實驗室網頁製備粗酵素液之作法，進行破殼、區分成福壽螺肉及消化腺體二部份，分別加入 9 倍(w/w)已先行調配好低溫 pH7 磷酸鹽緩衝溶液進行破碎萃取，並減壓過濾後以急速冷凍機降溫至 -40°C 後備用，萃取福壽螺纖維質分解酵素標準製程如圖三所示。

			
採集福壽螺	秤重	測量長度	破殼
			
加 9 倍緩衝溶液打碎	減壓過濾	分裝	急速冷凍-40°C

圖三、從福壽螺萃取消化酵素之操作步驟示意圖

表一、捕捉福壽螺之基本統計數據(每批平均值)

福壽螺總重	122.50g
去殼後總重	51.35g
總顆數	30 顆
平均長度	2.81 公分

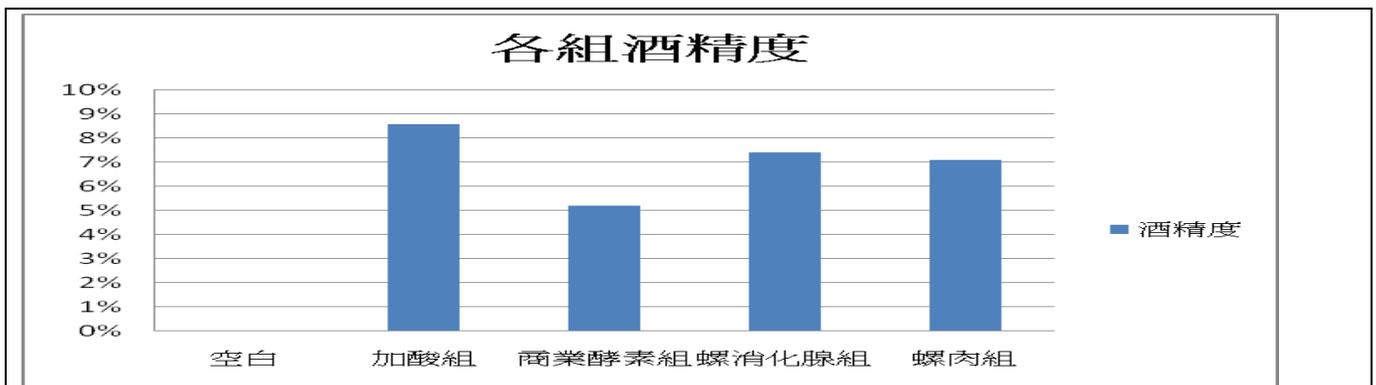
二、以甘蔗纖維質原料利用不同水解方法進行水解、酒精發酵及蒸餾試驗：

纖維素與澱粉同為多醣類，均由葡萄糖所構成但鍵接方式不同，是否添加酸或酵素可以水解而產生小分子如纖維二糖及葡萄糖等單體，因此以甘蔗原料利用不同水解方法進行水解、酒精發酵及蒸餾，驗證是否可以水解纖維質生成單醣，提供給酵母進行發酵而生成

酒精。結果如圖四~七所示，在糖度部分僅酸水解實驗組之糖度有明顯上升，而酒精發酵期間僅酸水解實驗組之糖度有明顯下降，由此得知甘蔗之纖維質有受酸水解生成糖分並被發酵利用而消耗。酒精蒸餾結果如圖八所示，以酸水解實驗組產生之酒精濃度最高、商業酵素水解組及福壽螺消化腺萃取液及螺肉萃取液組之酒精濃度均較對照組高，對照組因發酵後已發臭已無法測量酒精濃度。

由上述之結果得知添加鹽酸組、纖維質分解酵素組及福壽螺萃取液組均能產生酒精，證明添加酵素分解甘蔗纖維質廢棄物再進行酒精發酵是可行的。但是否適用於每種水果呢?因此進一步以柳丁作為實驗對象，探討是否會有一樣的結果。

<p>圖四、甘蔗纖維質原料以不同水解方法進行水解糖度變化圖</p>	<p>圖五、甘蔗纖維質原料以不同水解方法進行水解後進行發酵糖度變化圖</p>
<p>圖六、甘蔗纖維質原料以不同水解方法進行水解 pH 變化圖</p>	<p>圖七、甘蔗纖維質原料以不同水解方法進行水解後進行發酵 pH 變化圖</p>



圖八、甘蔗纖維質原料以不同水解方法進行水解發酵後蒸餾所得酒精濃度比較圖



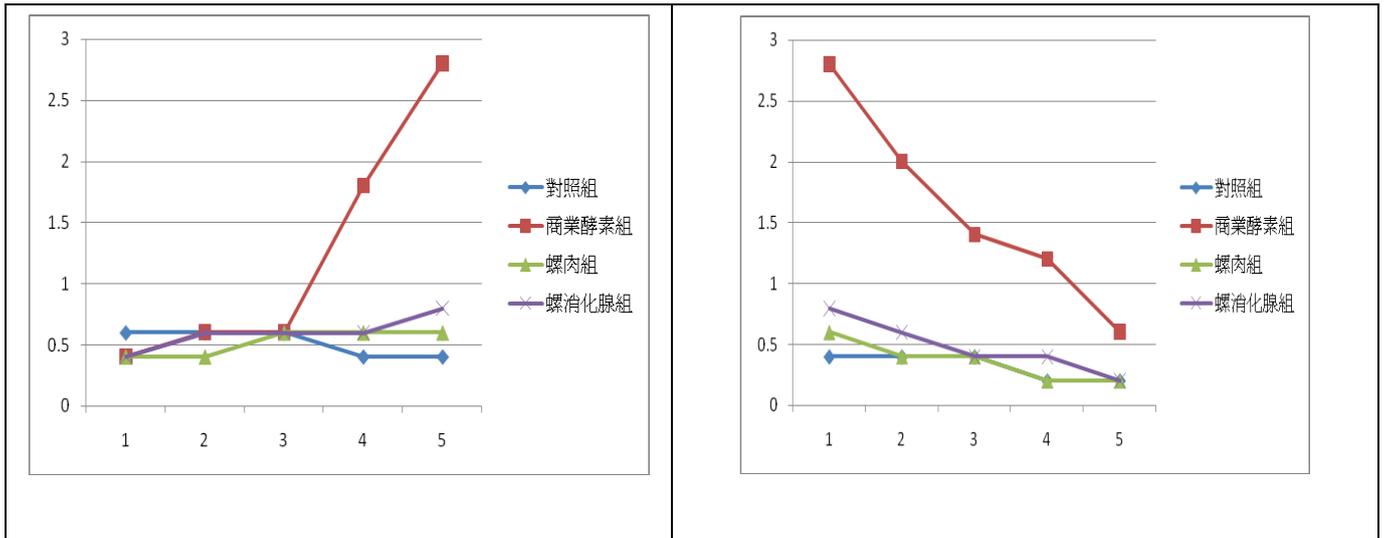
圖九、以甘蔗為原料進行酒精蒸餾示意圖

三、以柳丁果皮及肉為原料添加酵素、福壽螺萃取液進行水解、酒精發酵及蒸餾試驗：

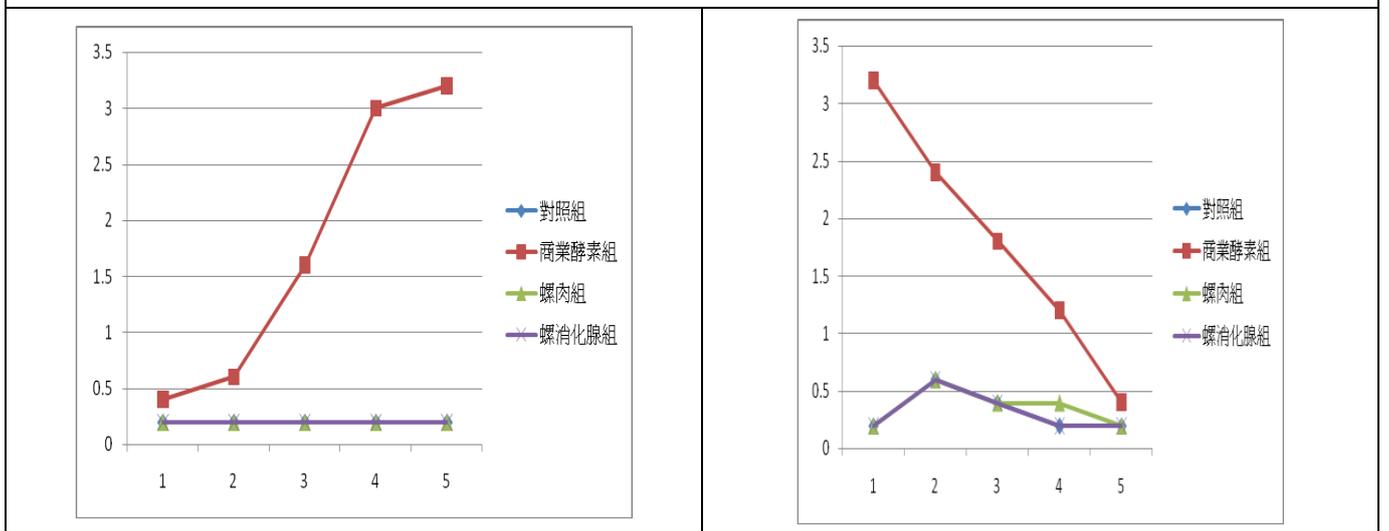
分別以不同酵素、福壽螺萃取液加入柳丁皮及肉中，並另外設定三種水解溫度分別為，模擬福壽螺體溫環境 18°C、恆溫動物體溫環境 35°C 及商業纖維質分解酵素最適水解溫度 45°C 進行實驗，結果如圖十~十五所示，在水解反應及隨後酒精發酵，商業纖維質分解酵素組其糖度及酸鹼值改變情形最為明顯，水解時糖度有明顯上升，酒精發酵時糖度有明顯下降，福壽螺消化腺實驗組在 18°C 及 45°C 亦有此趨勢。酒精蒸餾結果如圖十六所示，結果發現柳丁果皮及肉加商業纖維質分解酵素在 18°C、35°C、45°C 實驗組所測得酒精濃度都較對照組高，並以 45°C 實驗組最高(46.4%)有明顯增加；柳丁果皮及肉加福壽螺消化腺實驗組在 18°C 實驗組所測得酒精濃度較對照組高(6.4%)。

由上述結果發現福壽螺消化腺實驗組能有效生成酒精但濃度未能如商業纖維質分解酵素實驗組來的高，推測可能原因為我們萃取福壽螺消化腺酵素之純度不及商業纖維質分解酵素高所致。因此接下來我們想探討添加不同濃度之福壽螺消化腺萃取液是否能夠提升酒精濃

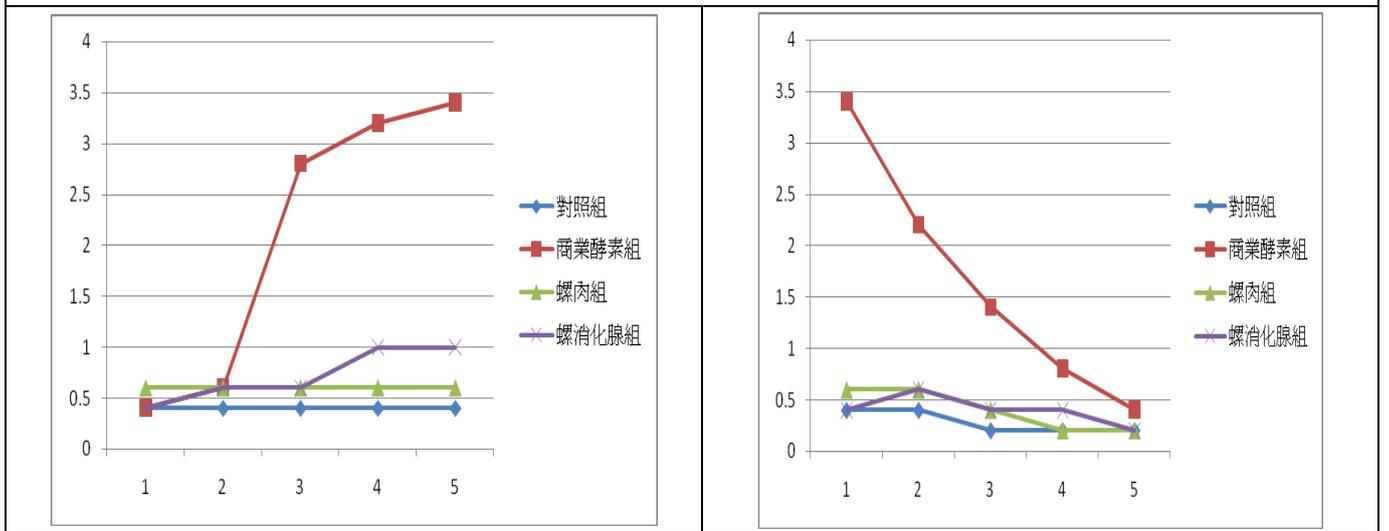
度，也進一步探討不同酵母種類及發酵溫度是否也會影響酒精濃度之生成。



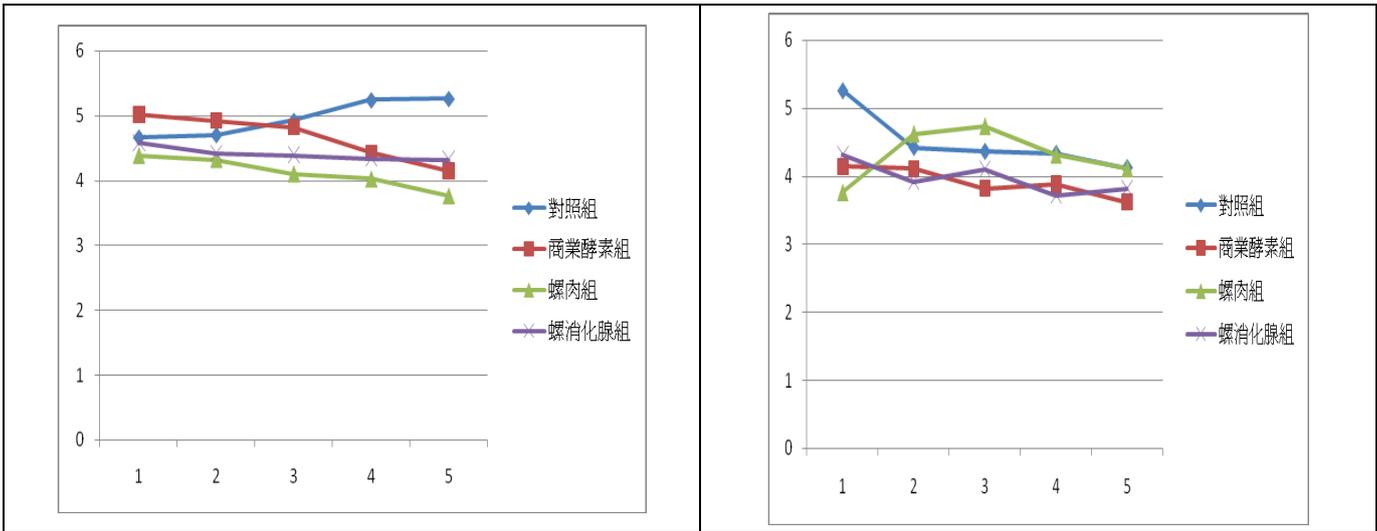
圖十、以柳丁果皮及肉為原料添加不同酵素以 18°C 進行水解及發酵試驗之糖度變化統計圖



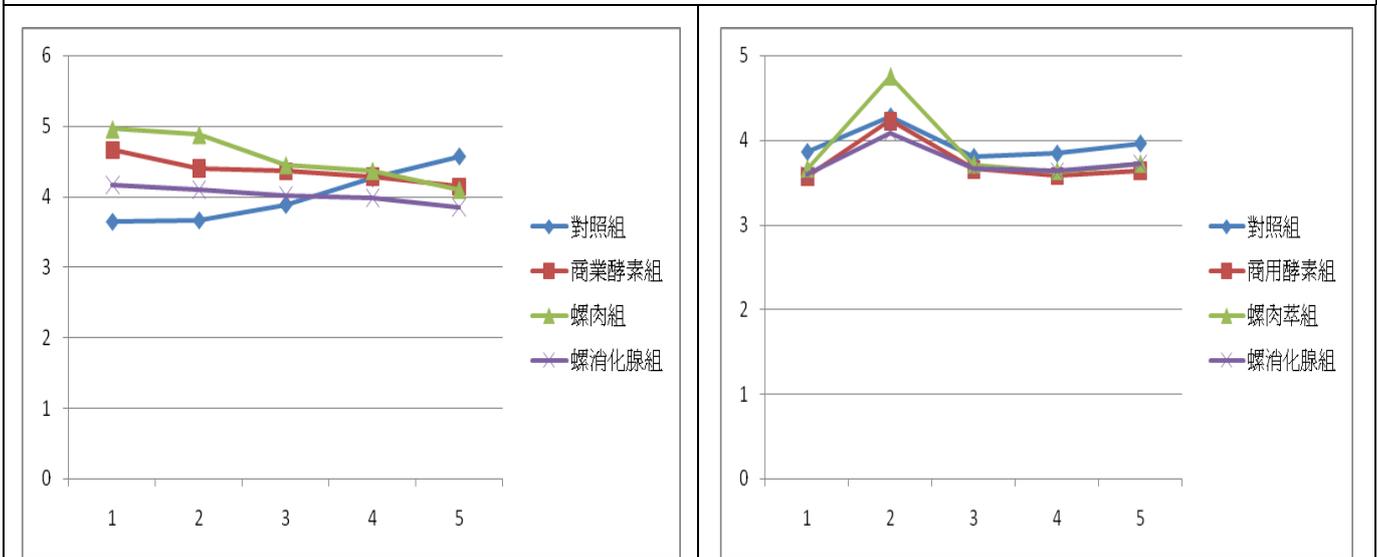
圖十一、以柳丁果皮及肉為原料添加不同酵素以 35°C 進行水解及發酵試驗之糖度變化統計圖



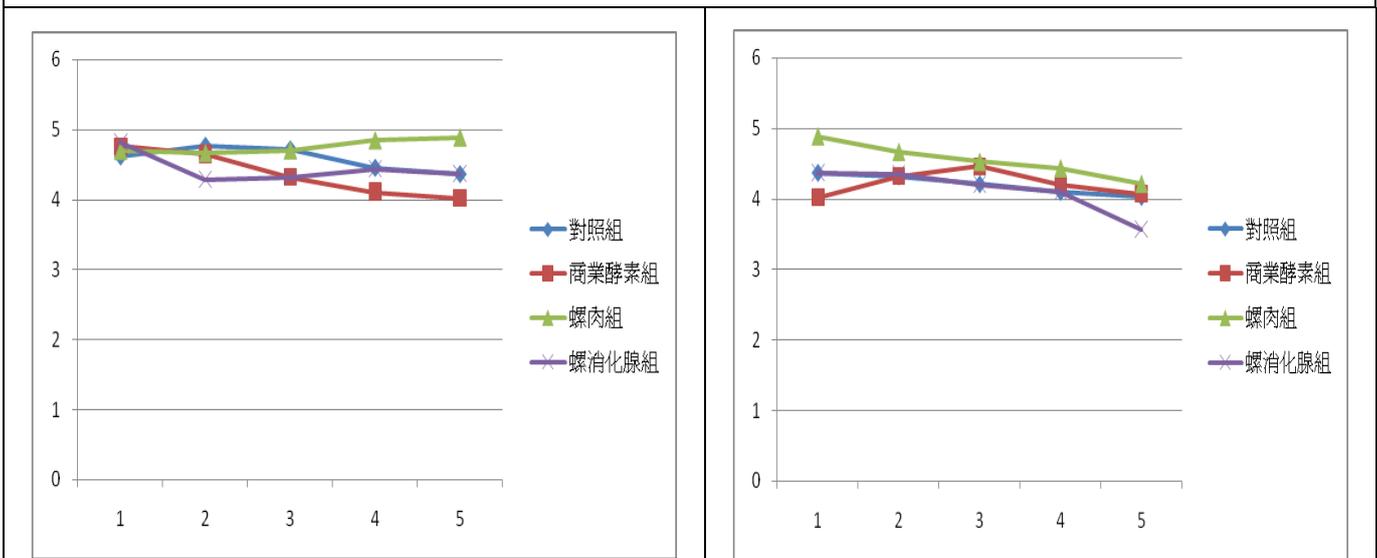
圖十二、以柳丁果皮及肉為原料添加不同酵素以 45°C 進行水解及發酵試驗之糖度變化統計圖



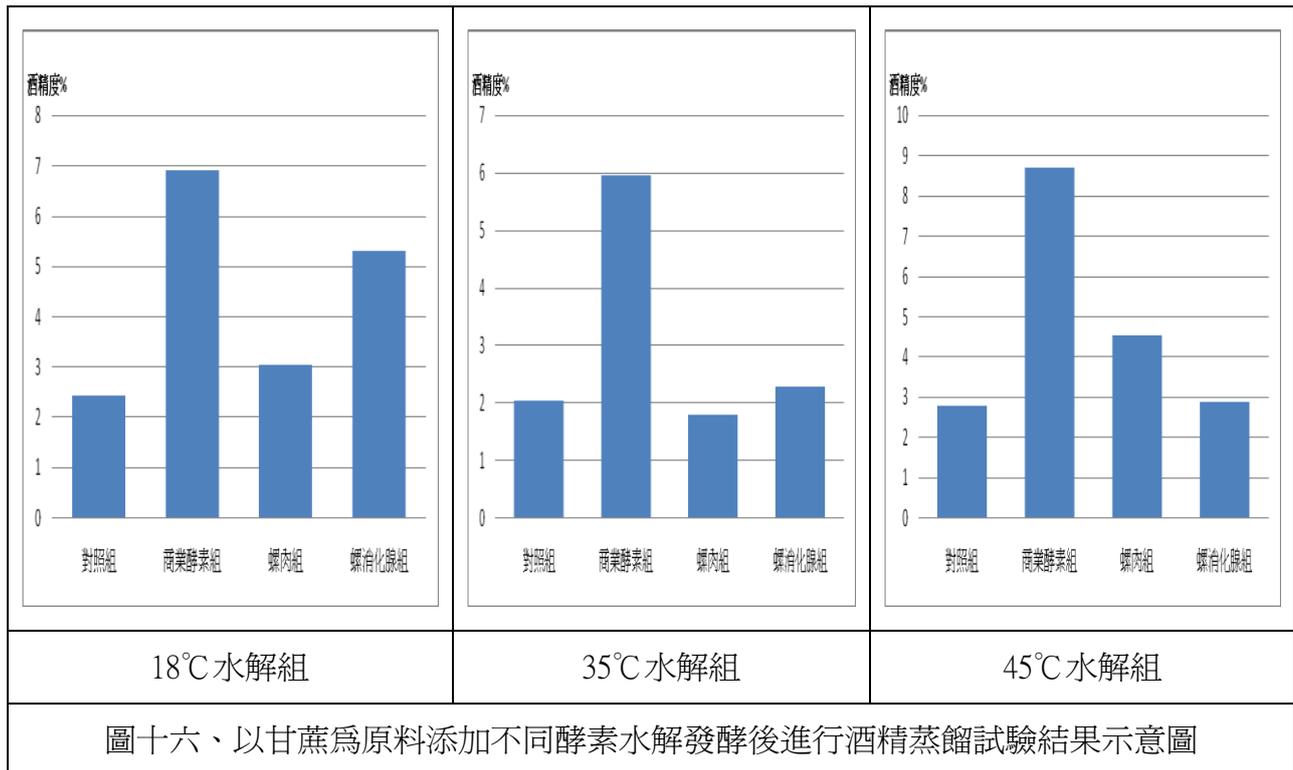
圖十三、以柳丁果皮及肉為原料添加不同酵素以 18°C 進行水解及酒精發酵之 pH 值變化統計圖



圖十四、以柳丁果皮及肉為原料添加不同酵素以 35°C 進行水解及酒精發酵之 pH 值變化統計圖



圖十五、以柳丁果皮及肉為原料添加不同酵素以 45°C 進行水解及酒精發酵之 pH 值變化統計圖



四、以柳丁果皮及肉為原料加不同濃度福壽螺消化腺萃取液進行水解及不同的酵母菌以及不同發酵溫度、酒精發酵及蒸餾試驗結果：

由上述實驗中得知福壽螺體內消化酵素於 18°C 時分解纖維質的能力最好，接下來我們以 18°C 分解溫度時，探討不同濃度福壽螺消化腺萃取液對於分解纖維質的能力是否有差異，並進一步探討不同酵母菌種對於福壽螺酒精發酵醪的產酒能力是否有別。水解糖度及 pH 值結果如圖十七~十八所示，當添加福壽螺消化腺萃取液濃度逐步增加，水解糖度也隨之遞增，並以添加 10% 福壽螺消化腺萃取液時結果最佳，水解糖度呈正比遞增，但當添加福壽螺消化腺萃取液超過 10% 以後，則水解糖度遞增值逐漸趨於飽和無顯著增加。

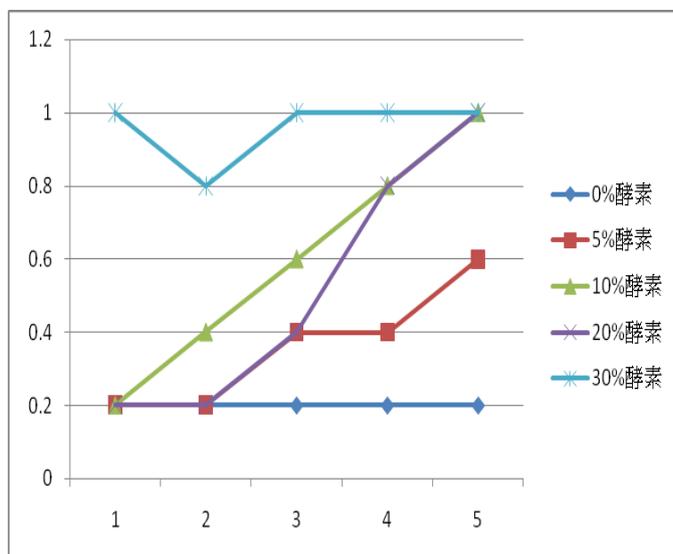
當水解完成後添加不同酵母菌種在不同發酵溫度時觀察糖度及 pH 值變化結果如圖十九~三十四所示，在 35°C 及 45°C 發酵條件時，除了米酒酵母組（圖二十三、三十一）需到達 5 天方能將糖度分解完成外，其他組別均能在發酵第 3~4 天即可完成糖度分解。並發現在不同發酵溫度時糖度變化情形並無明顯不同。

進一步觀察不同實驗組生成酒精濃度結果如圖三十五所示，在 35°C 發酵條件時，以柳丁果皮及肉加 5~20% 福壽螺消化腺酵素實驗組配合紅葡萄酒酵母發酵、柳丁果皮及肉加 5% 福壽螺消化腺酵素實驗組配合米麴酵母發酵，所測得酒精濃度均比對照組高。其中更以 5% 福壽螺

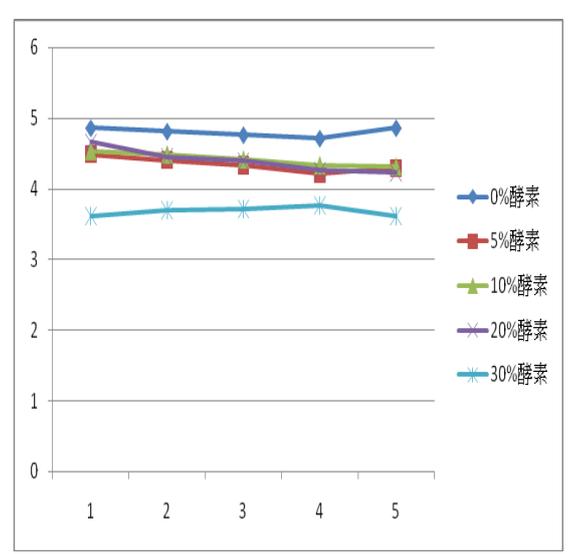
消化腺酵素實驗組配合米麴酵母最高(5.6%)。

以 45°C 發酵時，柳丁果皮及肉加 5~10% 福壽螺消化腺酵素實驗組配合紅葡萄酒酵母、5~30% 福壽螺消化腺酵素實驗組配合白葡萄酒酵母及 5~10% 福壽螺消化腺酵素實驗組配合紅葡萄酒酵母或米麴酵母發酵，所測得酒精濃度均比對照組高。並以 10% 福壽螺消化腺酵素實驗組配合紅葡萄酒酵母最高(4.2%)。

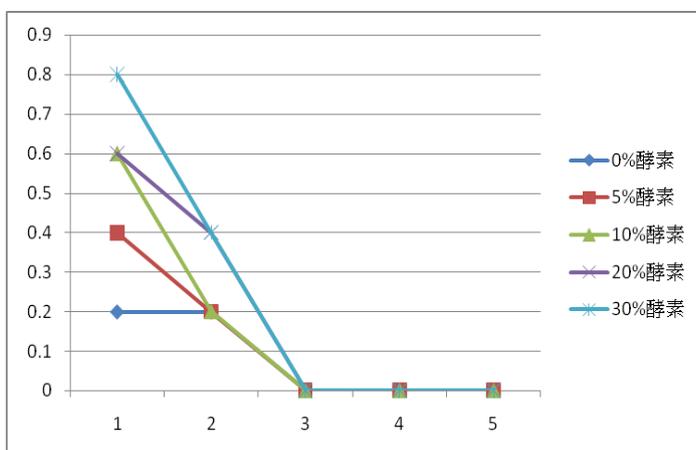
為何添加愈高福壽螺消化腺酵素所生成酒精濃度反而未以等比級數增加呢？可能原因為添加 10% 福壽螺萃取液已達到纖維質水解飽和程度，再加入更多萃取液至等量柳丁果皮及肉，反而稀釋了發酵醪濃度，當我們在酒精蒸餾時均取定量蒸餾，因此發酵醪越多，取定量蒸餾時發酵醪所含的酒精量就會越少，相對所得酒精濃度也隨之降低。



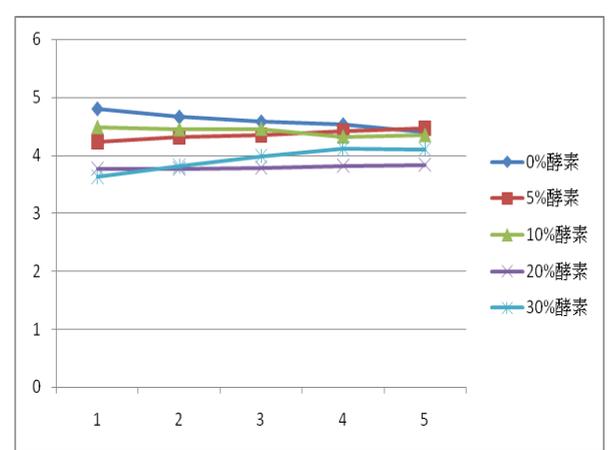
圖十七、柳丁果皮及肉添加不同濃度福壽螺消化腺萃取液 18°C 水解糖度變化圖



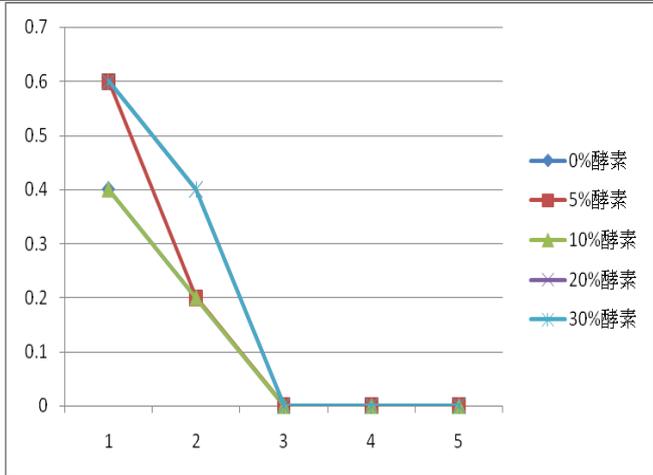
圖十八、柳丁果皮及肉添加不同濃度福壽螺消化腺萃取液 18°C 水解 pH 變化圖



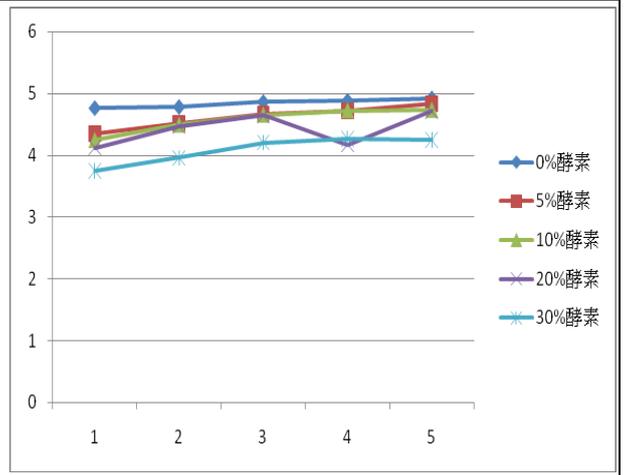
圖十九、35°C 紅葡萄酒酵母發酵糖度變化圖



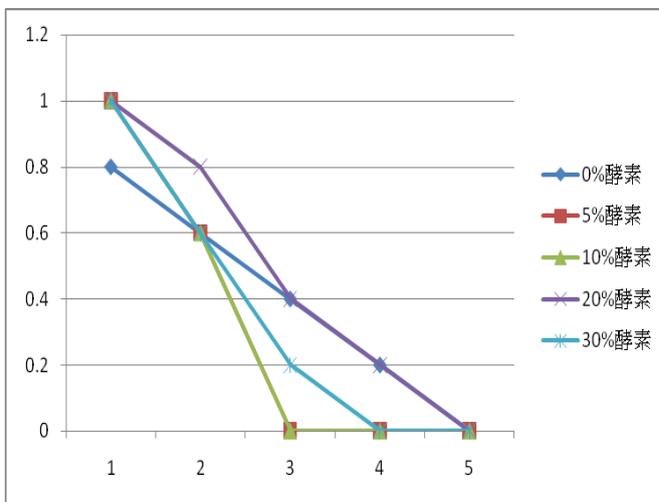
圖二十、35°C 紅葡萄酒酵母發酵 pH 變化圖



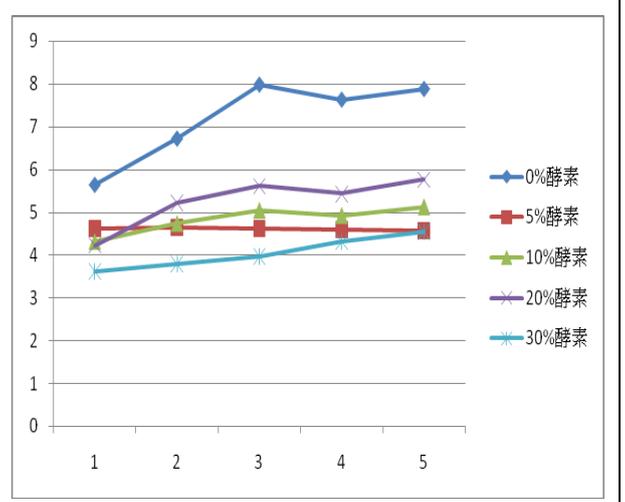
圖二十一、35°C 白酒酵母發酵糖度變化圖



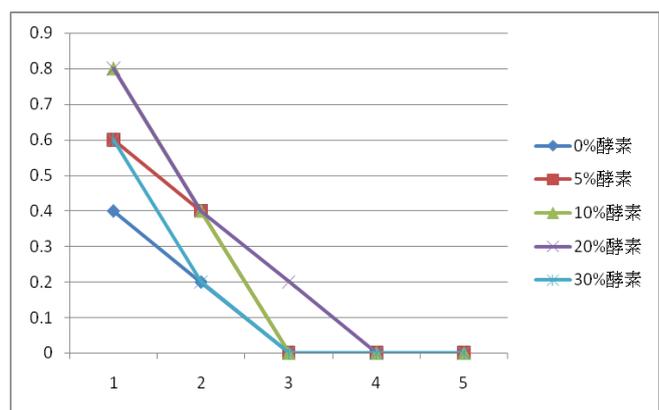
圖二十二、35°C 白酒酵母發酵 pH 變化圖



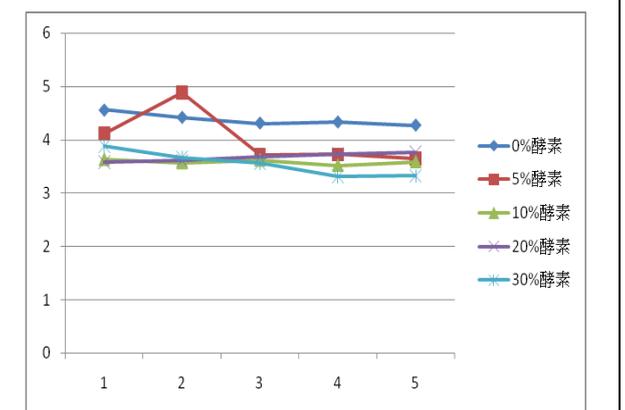
圖二十三、35°C 米酒酵母發酵糖度變化圖



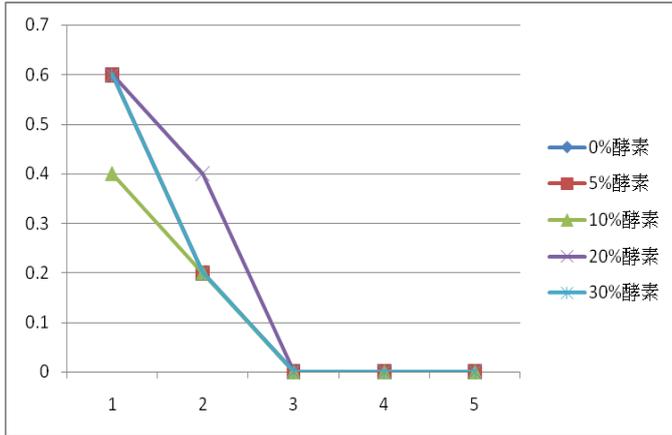
圖二十四、35°C 米酒酵母發酵 pH 變化圖



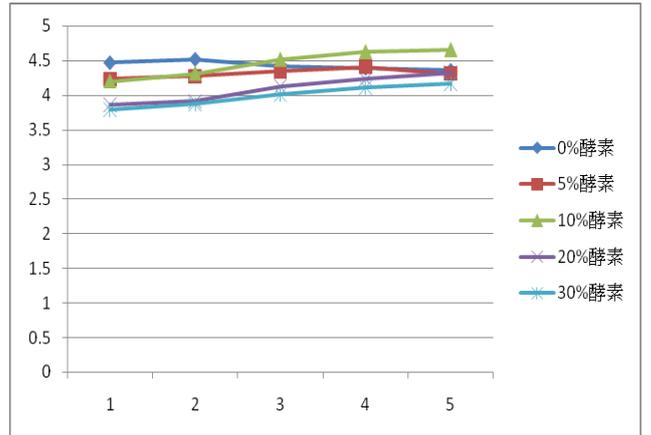
圖二十五、35°C 米麴酵母發酵糖度變化圖



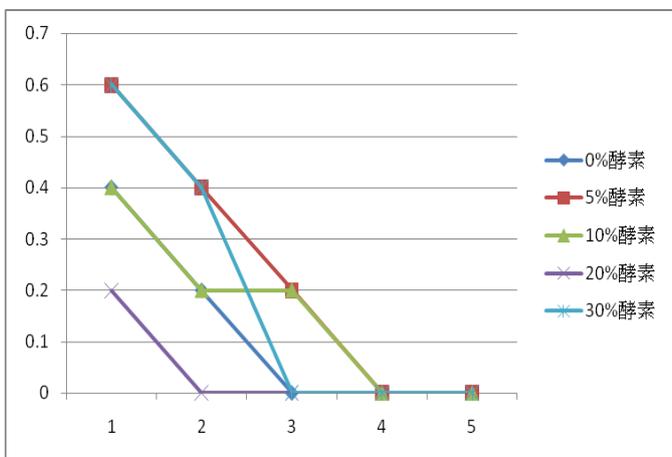
圖二十六、35°C 米麴酵母發酵 pH 變化圖



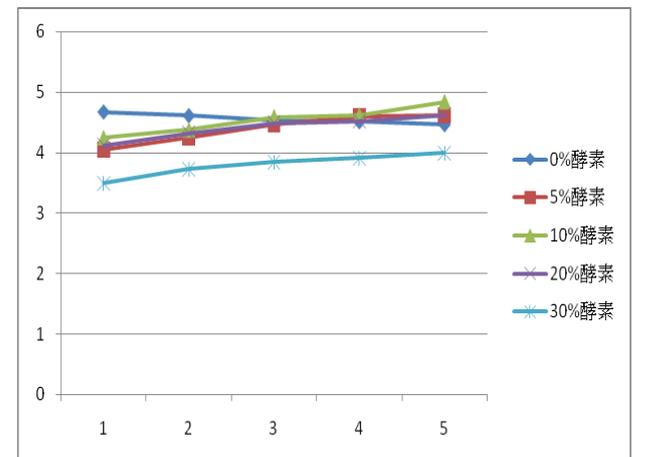
圖二十七、45°C紅葡萄酒酵母發酵糖度變化圖



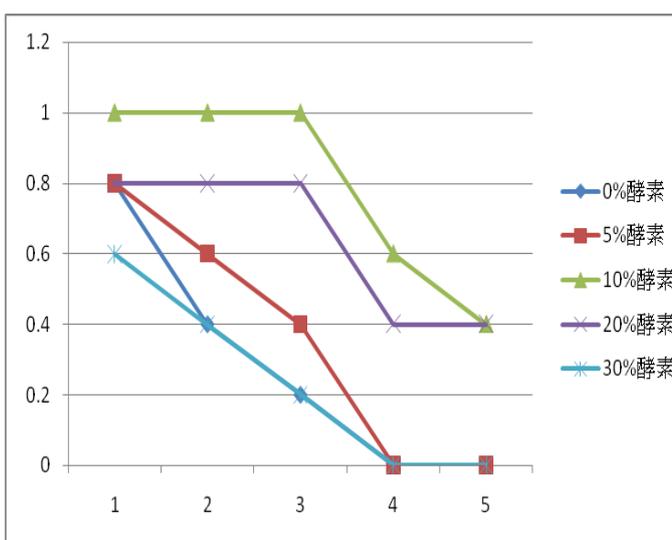
圖二十八、45°C紅葡萄酒酵母發酵 PH 變化圖



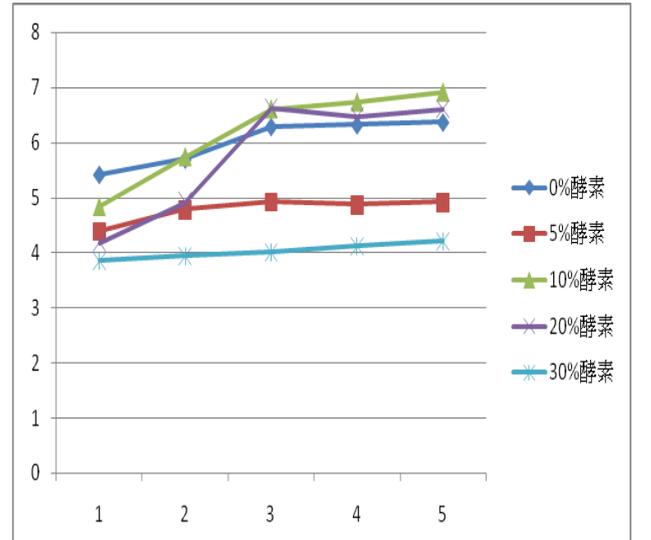
圖二十九、45°C白酒酵母發酵糖度變化圖



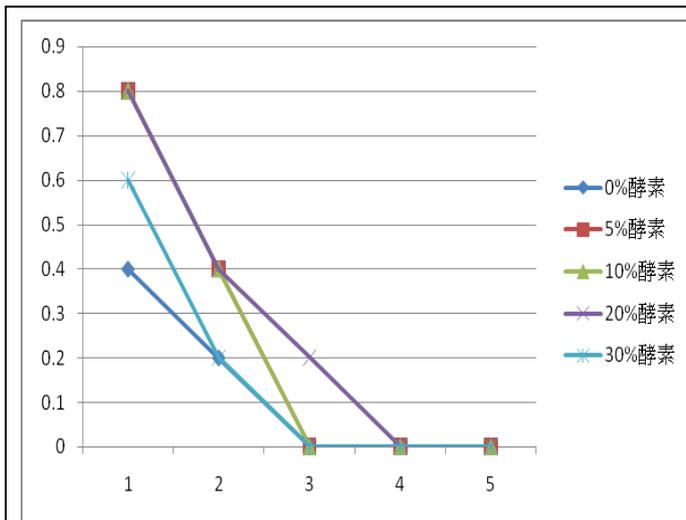
圖三十、45°C白酒酵母發酵 PH 變化圖



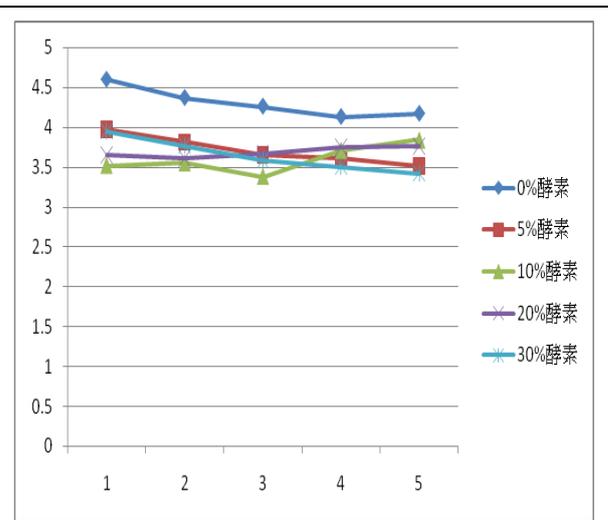
圖三十一、45°C米酒酵母發酵糖度變化圖



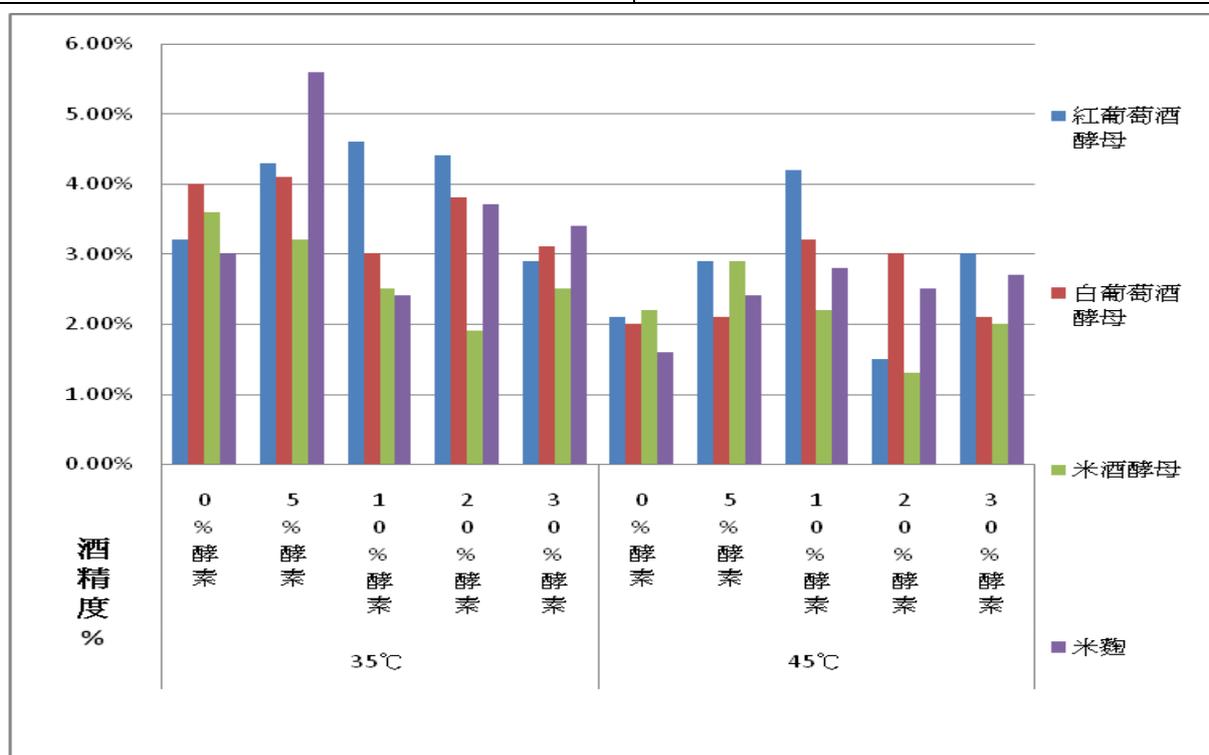
圖三十二、45°C米酒酵母發酵 PH 變化圖



圖三十三、45°C 米麴酵母發酵糖度變化圖



圖三十四、45°C 米麴酵母發酵 PH 變化圖

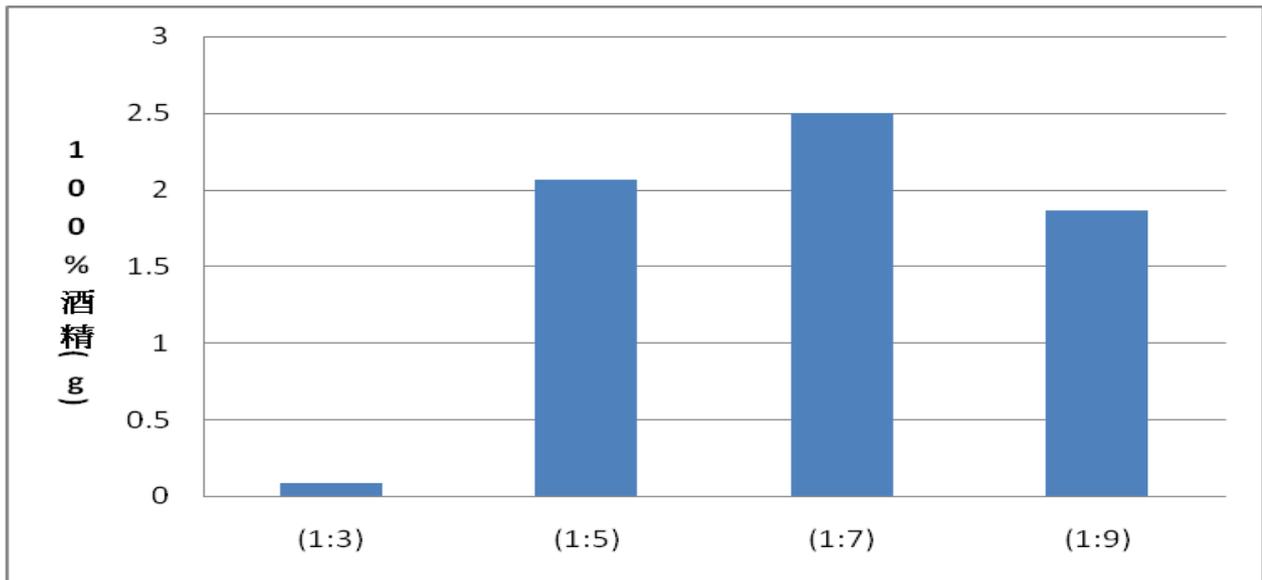


圖三十五、以柳丁果皮及肉添加不同濃度福壽螺消化腺萃取液進行水解及不同的酵母菌以及不同發酵溫度發酵後蒸餾結果統計圖

五、柳丁果皮及肉為原料以不同水量比例加入福壽螺消化腺萃取液進行水解發酵及蒸餾試驗：

實驗設計五：

為了想進一步了解不同濃度比例柳丁果皮及肉（柳丁果皮及肉：水=1：3~1：9），製造柳丁發酵醪並進行酒精蒸餾，是否會影響酒精濃度及產量，結果如圖三十六所示，以柳丁果皮及肉：水=1：7 時蒸餾出來酒精量最高。



圖三十六、不同比例柳丁果皮及肉製造柳丁發酵醪並進行酒精蒸餾示意圖

六、柳丁果皮及肉為原料以福壽螺萃取液進行水解製成之生質酒精量產試驗：

在上述實驗中我們找出最適化之生質酒精生產條件為

柳丁果皮及肉：水=1：7→添加 10%福壽螺消化腺萃取液→18°C水解 5 天→添加 1%米麴酵母酒精發酵 5 天→酒精蒸餾→福壽螺生質酒精成品

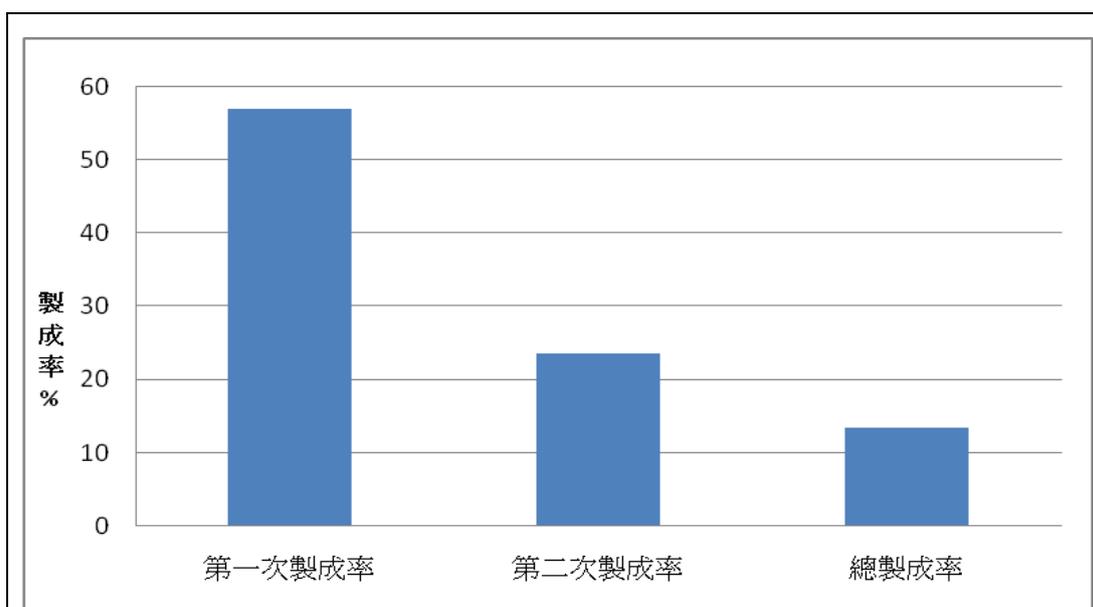
我們進一步想了解製成率，因此進行量產試驗，以柳丁果皮及肉：水=1：7 發酵醪總重 40 公斤，其中含柳丁果皮及肉重 5 公斤。以最適化之生質酒精生產條件進行量產試驗，並採用本校加工廠大型酒精蒸餾去進行蒸餾（圖三十七），所得結果如表二及圖三十八所示，



表二、生質酒精量產試驗二次蒸餾示意圖

	第一次蒸餾	第二次蒸餾
原料重 (公克)	5000	2892
成品重 (公克)	2892	667.78
製成率 (%)	57.8	23.1
總製成率 (%)	13.36	

※註：製成率公式： $(\text{成品重} \div \text{原料重}) \times 100\%$

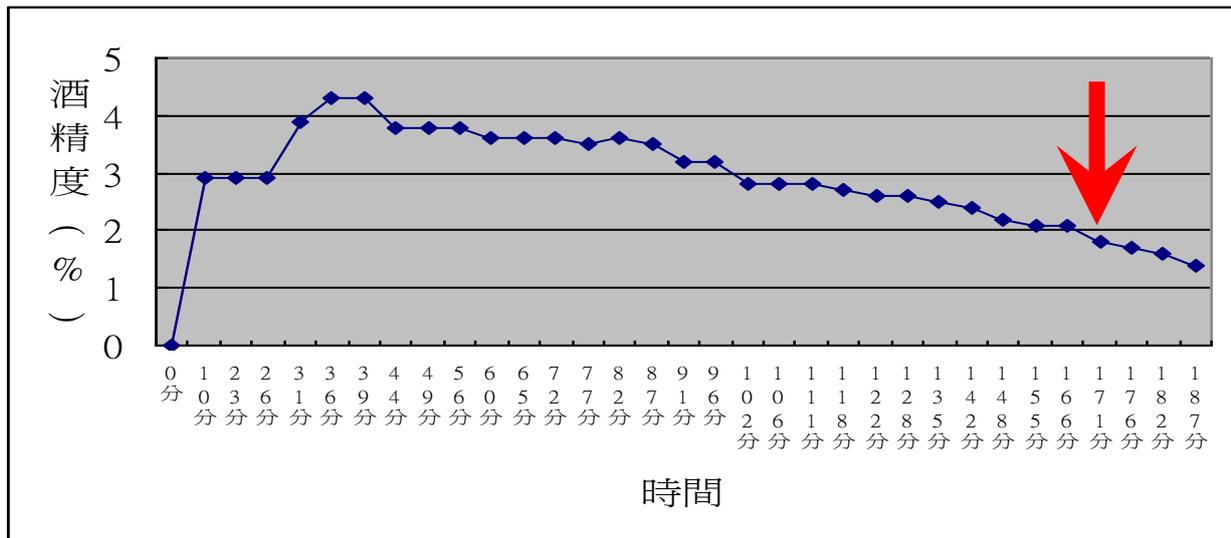


圖三十八、第一次與第二次蒸餾酒精製成率比較圖

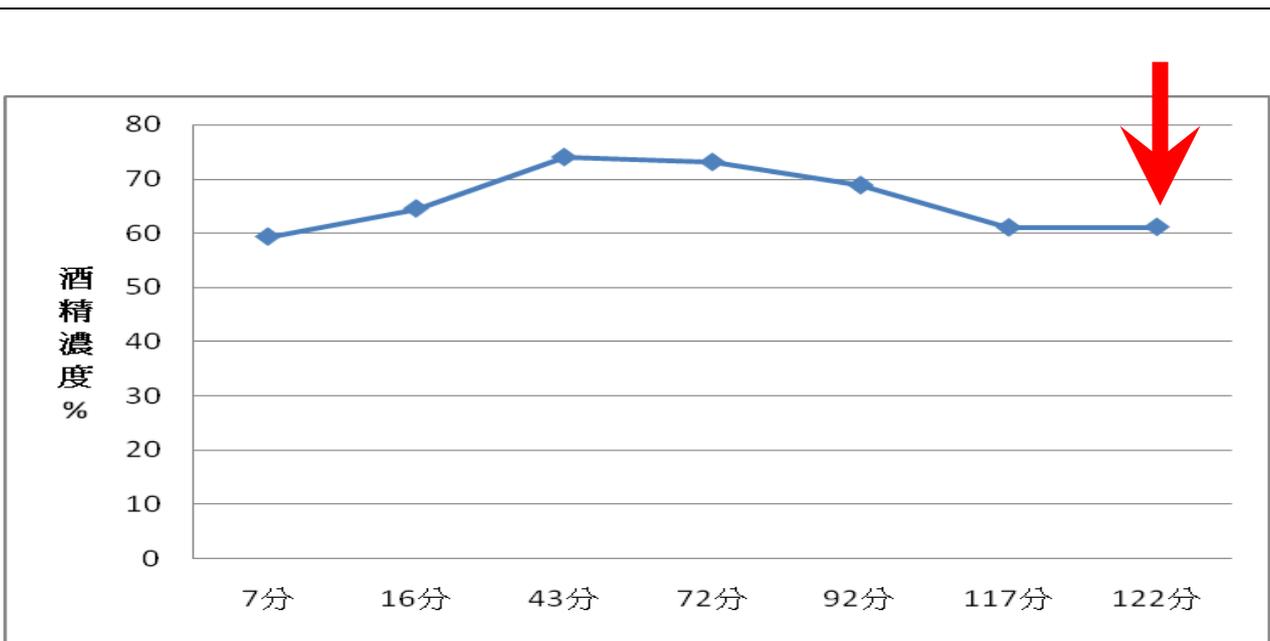
由表二及圖三十八得知，以 5 公斤的柳丁果皮及肉進行分解、發酵、**二次蒸餾後的酒精製成率可以達 13.36%**，由圖三十九~四十得知製成的酒精在第一次蒸餾時平均濃度只達 4% 左右，**但第二次蒸餾時總酒精度已可高達 60% 以上**，代表以福壽螺消化酵素製成之酒精確實可以經由二次蒸餾提升酒精濃度。

表三、柳丁果皮及肉以福壽螺消化腺酵素水解製成酒精進行第二次蒸餾所得酒精濃度表

	第一次蒸餾	第二次蒸餾
酒精濃度 (%)	4.0%	60%



圖三十九、第一次蒸餾濃度變化(酒精度/每 100ml)

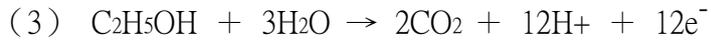
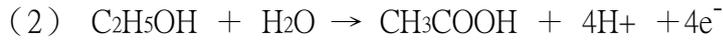


圖四十、第二次蒸餾濃度變化(酒精度/每 100ml)

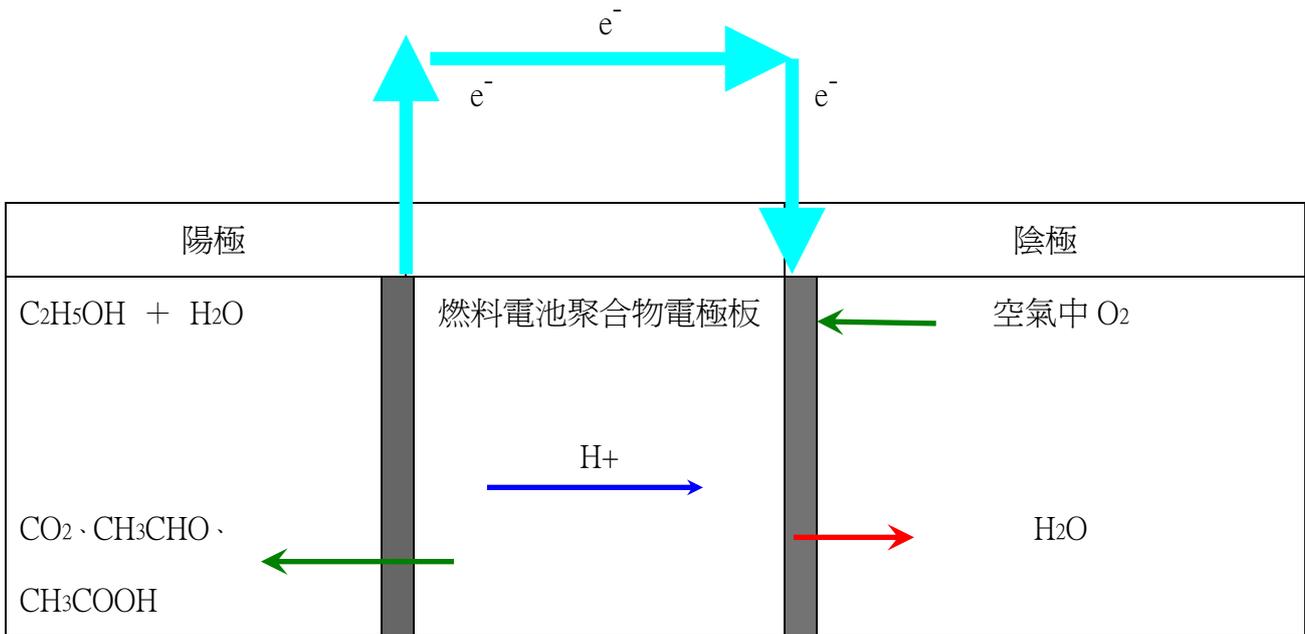
七、柳丁果皮及肉為原料以福壽螺消化腺萃取液進行水解製成之生質酒精進行電力試驗結果：

在高一基礎化學實習課程曾學習到化學電池，因此我們想探討是否可嘗試以此酒精成品利用酒精燃料電池進行電力試驗，原理如下所示

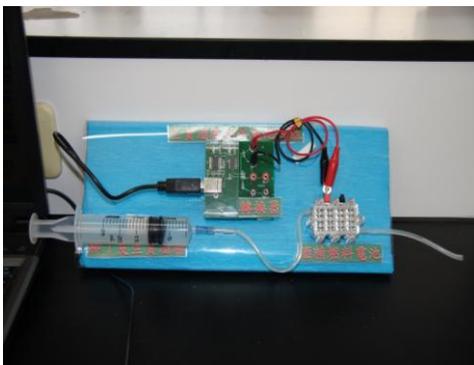
陽極



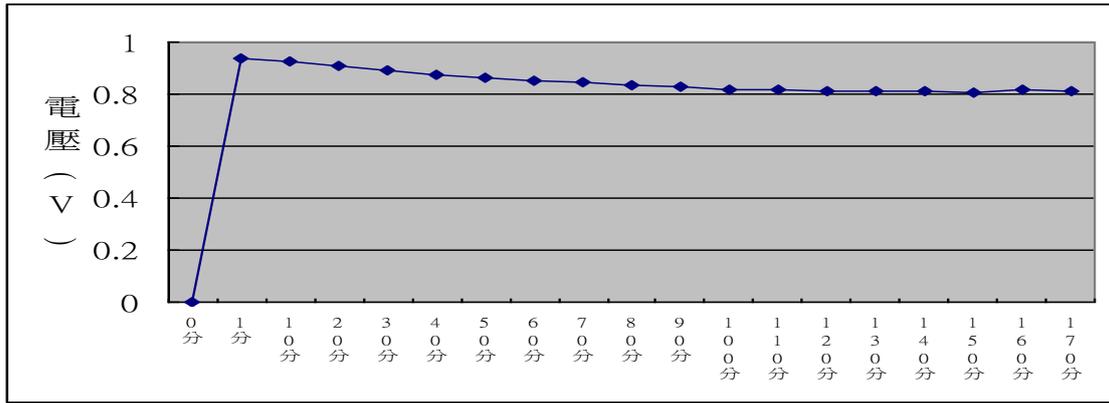
陰極



我們以此原理組裝酒精燃料電池（圖四十一），並以固定濃度(15%)酒精為原料進行電壓測量結果如圖四十二所示，以監控軟體測試所產生平均電壓約在 0.8V 以上，並持續維持穩定電壓達 3 小時以上，若再經過電池串聯，則電壓更可等比提升以增加可用性。



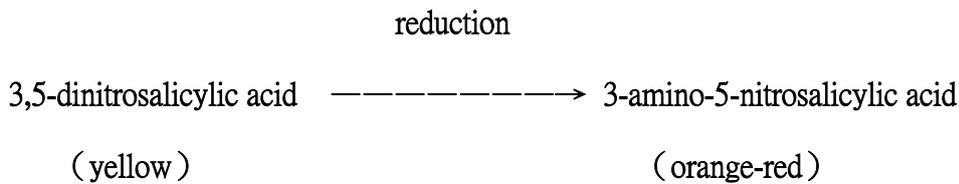
圖四十一、生質酒精燃料電池進行電力試驗示意圖

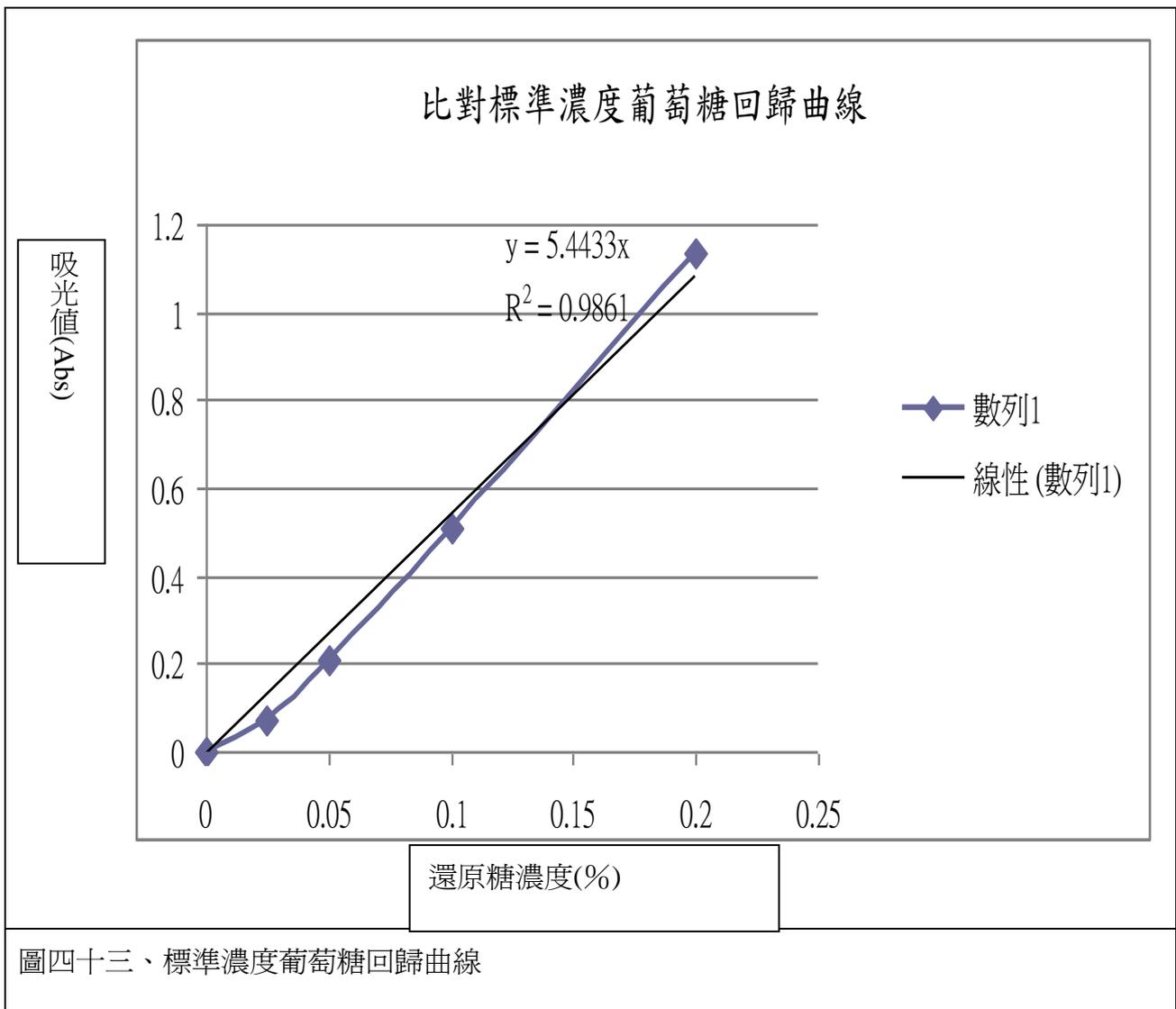


圖四十二、生質酒精燃料電池進行電力試驗示意圖

八、進一步以福壽螺消化腺萃取液及商業用纖維質分解酵素分別進行纖維質分解試驗測試酵素活性：

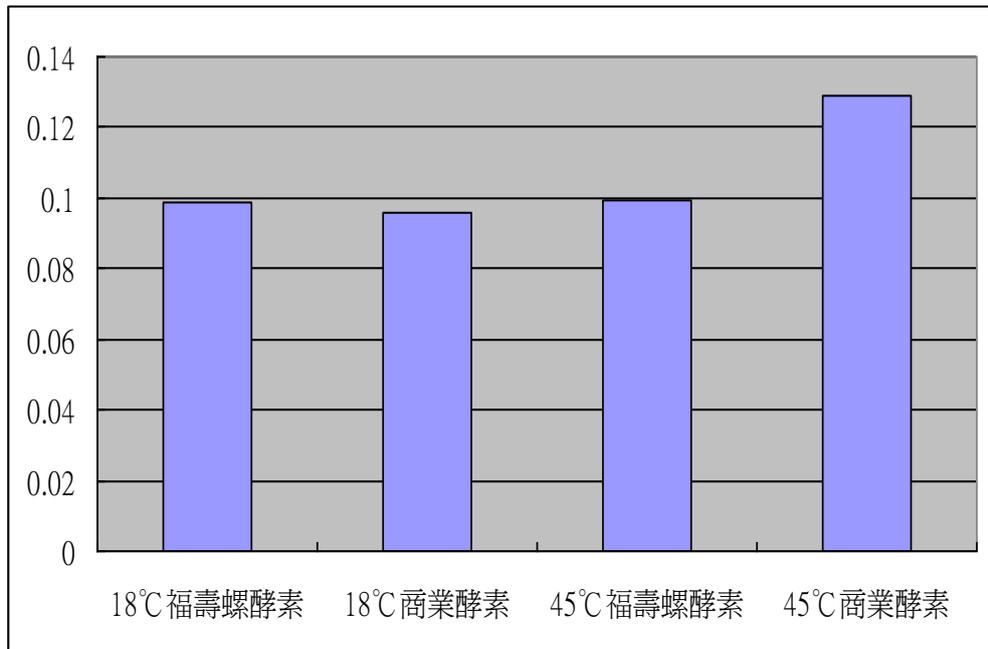
爲了確認福壽螺消化腺萃取液內是否存在纖維質分解酵素，參考相關文獻對於纖維素分解酵素活性之測量方法均以 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 試劑試驗 (林彥行, 1995) ，利用 DNS 具還原力之特性，因此若檢體含有纖維質分解酵素活性，可將纖維素分解而生成還原糖，此游離或游離趨勢之醛或酮基，即能在鹼性溶液下有還原的能力而進行以下反應。於一定範圍內，顏色的深淺強度和還原糖濃度成正比，故以標準葡萄糖檢量線來定量樣品中還原糖的比例 (圖四十三)。





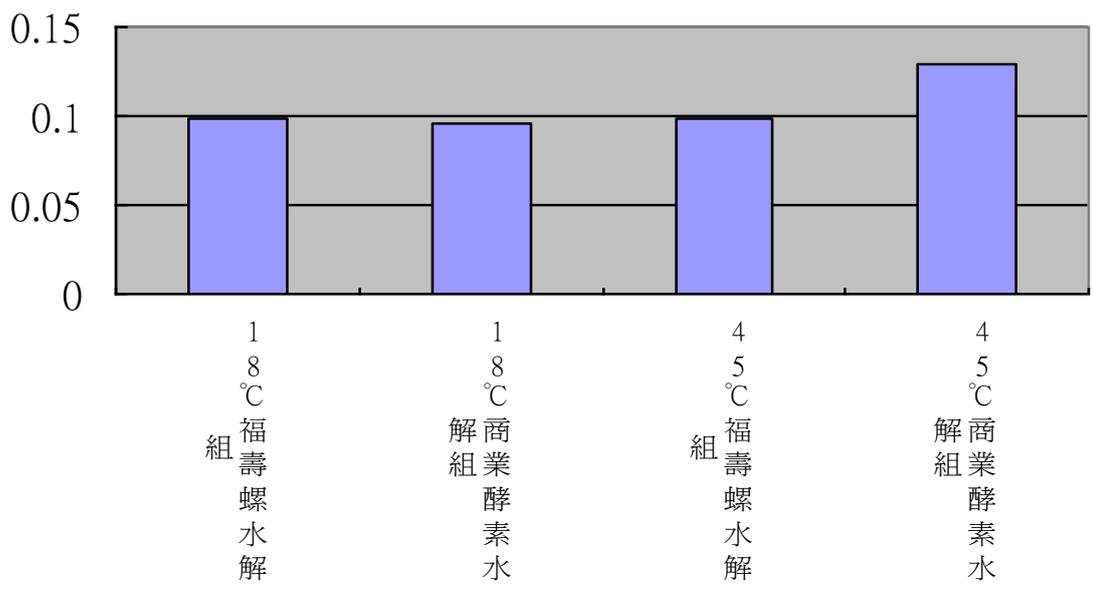
實驗結果如圖四十四~四十五所示，將福壽螺酵素與商業纖維質酵素於 18°C、45°C 分解 CMC 後測得吸光值扣除空白試驗吸光值後，帶入標準濃度葡萄糖回歸曲線 $y = 5.4433x$ 可求出還原糖之含量，結果發現無論福壽螺酵素與商業纖維質酵素分解纖維素所生成之還原糖含量均不分上下，證實福壽螺消化腺萃取液中的確存在可分解纖維質之酵素。

吸光值 (Abs)



圖四十四、福壽螺酵素與商業纖維質酵素於 18°C、45°C 分解 CMC 後測得吸光值比較圖

還原糖含量 (%)



圖四十五、福壽螺酵素與商業纖維質酵素於 18°C、45°C 分解 CMC 換算還原糖比較圖

陸、結論：

- 一、甘蔗渣、柳丁果皮及肉添加福壽螺消化腺萃取液均能有效分解纖維素並經發酵產生酒精濃度均比對照組高。
- 二、柳丁果皮及肉以添加 5~10%福壽螺消化腺萃取液並模擬福壽螺體溫環境 18°C 所進行水解，並配合米麴酵母在 35°C 酒精發酵時或以紅葡萄酒酵母在 45°C 酒精發酵時，所測得酒精濃度最高。
- 三、以福壽螺消化腺萃取液分解纖維素所生成生質酒精濃度可利用二次蒸餾提高至 60% 以上，總製成率達 13.36%；以此酒精利用酒精燃料電池進行電力試驗，可有效轉變化學能為電能產生 0.8V 穩定電壓，持續 3 小時以上。
- 四、以 DNS 纖維質分解試驗發現福壽螺消化腺萃取液與商業纖維質分解酵素均能有效分解纖維質生成還原糖，證實福壽螺消化腺萃取液中確存在纖維質分解酵素及活性。

柒、參考資料：

- 李秀、賴滋漢 (1986)。食品分析與檢驗。台中市：精華出版社。
- 李玫琳、林頌生 (2008)。食品化學與分析。台南市：台灣復文興業。
- 林彥行 (1995)。耐高溫放線菌之分離及應用。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文，未出版，台北市。
- 孫偉禎 (2009)。動物性誘引劑誘捕福壽螺成效之探討。國立中山大學海洋生物研究所碩士論文，未出版，高雄市。
- 莊榮輝網頁系統。<http://juang.bst.ntu.edu.tw/>。
- 張文重 (1982)。福壽螺之生態與防治。興農，162：12-14。
- 張獻瑞、賴滋漢 (2007)。食品加工實習。台中市：林富出版社。
- 張寬敏 (1986)。在台灣猖獗的福壽螺。貝有，10：34-43。
- 黃忠村 (2008)。食品微生物。台南市：台灣復文興業。
- 戴上凱 (2004)。熱穩定性纖維素分解細菌分離株之特性探討與親緣關係之研究。國立中山大學生物科學研究所博士論文，未出版，高雄市。

【評語】 091103

1. 實驗設計考量完整，表達能力佳，表達方式生動。
2. 研究題材選取福壽螺消化酵素進行柳丁纖維分解，具鄉土性與創意性。
3. 研究主題考量處理危害台灣作物之外來種生物與水果廢棄物，並探討產生生質能源之最適化條件，研究成果闡揚廢棄物資源化之環保精神。