

行政院原子能委員會
委託研究計畫研究報告

有效利用海藻生質材料生產生質能源 (三)：多醣高分解率菌株 N6
之酵素生產、酵素分離純化、及其酵素之多醣水解特性研究

Studies on the production of bio-energy by the effective utilization of of
algal biomass(III): Production, purification, and characterization of the
polysaccharide hydrolytic enzyme of the N6 strain.

計畫編號：962001INER033

受委託機關(構)：國立台灣大學生化科技系

計畫主持人：陳建源

核研所參與人員：陳威希

聯絡電話：02-3366-4449

E-mail address：spacefly@mail2000.com

報告日期：96 年 11 月 30 日

中文摘要

以生物程序對陸生或海生生質材料進行水解，再以水解所得之單糖或寡糖等產物為原料，經由醱酵程序生產乙醇等能源產物，是生產生質能源的通用程序之一。

我國可耕地有限，只有從周圍海域才可能取得大量生質材料生產自主能源，海藻多醣因而成為我國具有開發潛力之生質原料。同時，以海藻為多醣材料來源，不僅供應豐富，生產成本低，還可避免因木質素而造成分解效率不佳的問題。

此外，纖維性生質在地球上之儲存量最多，且每年均能大量再生，纖維素經水解生成可醱酵糖再經醱酵成為乙醇可以做為液態燃料，對於紓解石化燃料存量有限的能源問題有所助益。因此，自能源危機以來，各界對纖維性生質能做為替代能源之相關研究開發都寄予厚望。

由前年度篩選菌株持續以人工突變法誘導，由其中獲得較原菌株 CMC_{Case} 表現高之突變株，其中 B33 菌株來自源自原計畫中之 N6 菌株，剛果紅分解環與菌落大小比值約為 3.5~4，為 *Bacillus pumilus*；G 系列菌株則來自 O2 菌株，G27 菌株剛果紅分解環與菌落大小比值約為 17~20 倍明顯具有強酵素表現活性，為 *Jonesia quinghaiensis*。計劃已完成 B33、G27 酵素反應之基本條件、安定性、溫度穩定性等測試，最適酵素反應溫度為在 pH7、30°C。B33 以 YE 培養基為基底培養基進行培養基最適化，發現最適化培養基為：2.5% Soy meal、0.5% Tryptone、0.5% Yeast extract、1% NaCl、0.2% MgSO₄·7H₂O、0.25% KH₂PO₄、0.1% CaCl₂。於醱酵槽實驗中可得到高濃度菌體與高度的酵素表現。B33 多醣水解酵素實驗室級最

適化醱酵條件為攪拌速率 300 rpm、培養溫度 30°C、初始 pH 值 7、通氣量 1.5 L/min、種菌菌齡 1 天，接種量 1%，在最佳化條件下於六聯式醱酵槽第 4 天可得 0.27 IU/mL 的 CMC_{Case} 酵素活性。

B33 菌株多醣水解酵素經由丙酮及膠體過濾純化後可得到比活性為粗酵素液 16.28 倍的水解酵素，由電泳實驗與活性染色法，可以定出 B33 菌株 CMC_{Case} 分子量約為 80kD，為 B33 菌株主要外泌之蛋白質。B33 粗酵素液濾紙分解活性可達 0.139 FPU，經丙酮純化後的對原粗酵素液相同體積比可提升 5 倍分解活性達 0.682 FPU。推測其原因可能為純化過程中糖類或其它小分子抑制物質被移除，間接導致活性增加。B33 丙酮純化後酵素液對天然生質物的分解上以蔗渣>馬尾藻>芒草>稻草>石蓴>龍鬚菜，B33 菌株多醣水解酵素對陸基的蔗渣與海基的馬尾藻都有超過 0.2 IU/mL 的分解能力，可同時分解陸基與海基的多醣類受質。