

Deproteinization of shrimp and crab shell with protease of *Bacillus subtilis*

楊政國、王三郎

E-mail: 8812473@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

The fermentation broth of the protease bacterium *Bacillus subtilis* Y-108, was isolated from soil in the northern Taiwan. Under the optimized culture condition that the culture was shaken in 250 mL Erlenmeyer flasks with 100 mL medium (7% shrimp and crab shell powder (SCSP), 0.1% K₂HPO₄, 0.05% MgSO₄, 1.0% arabinose, 1.5% NaNO₃, and 1.5% CaCl₂, pH 6.0 adjusted by phosphate buffer solution) at 30 °C for 3 days, the protease activity of *Bacillus subtilis* Y-108 was as high as 8.64U/mL. It was about fifty fold of the activity (0.17U/mL) of *Bacillus subtilis* Y-108 under the unoptimized basal culture condition. The protease of *Bacillus subtilis* Y-108 in the optimum produce condition was used to test as protein cleaner. In liquid state culture, the efficiency of deproteinization of NSS (natural shrimp shell), crab, lobster and squid was 88%, 73%, 84% and 75%, then after acid treated the NSS, crab and lobster was up to 76%, 62% and 59%. In comparison with *Pseudomonas maltophilia* and *Bacillus subtilis* (CCRC10029, 11602, 16048), the efficiency of protein cleaning of marine waste for *Bacillus subtilis* Y-108 are the highest one. The protease of *Bacillus subtilis* Y-108, produced under the optimized culture condition, the first step was precipitated and dialyzed by using ammonium sulfate. The further purification and separation procedures of the protease were processed by the use of DEAE-Sephacel ionic exchange chromatography, Sephacryl S-200 gel permeation chromatography and chromatofocusing. Purification was 37-fold with the crude enzyme solution. After purification and separation, the activity of the protease was still stable at 40 °C and pH 6.9, while the optimal temperature and pH for the enzyme reaction were at 50 °C and pH 8, respectively. By SDS-PAGE electrophoresis and gel permeation chromatography, the molecular weight of the protease was identified as 44KDa. The protease produced from *Bacillus subtilis* Y-108 can covalently linked to the supporting AS-L (hydroxypropyl methyl cellulose acetate succinate) polymers. Therefore, the crude solution of protease was used for enzyme immobilization with the AS-L polymer carriers. The efficiency of enzyme activity immobilization was 81% (Protease 80%, Ficin 78%, Bromelain 49%, Papain 34%), and the protein immobilization was 59% (Protease 7%, Ficin 53%, Bromelain 32%, Papain 42%). The pH- and heat-stability ranges of the immobilized enzyme were at pH 6.7 and 50 °C, respectively. The optimal enzyme reaction for the immobilized protease activity were under 50 °C and pH 8.

Keywords : *Bacillus subtilis* ; deproteinization ; immobilized enzyme ; protease ; shrimp and crab shell waste

Table of Contents

目錄封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 v 英文摘要 vii 誌謝 ix 目錄 x 圖目錄 xvi 表目錄 xx
第一章 緒言 1
第二章 文獻回顧 4
2.1 幾丁質之發現及分布 4
2.2 幾丁質之構造 7
2.3 幾丁質之物理和化學性質 9
2.3.1 物理性質 9
2.3.2 化學性質 10
2.4 蛋白質之發現及特性 11
2.4.1 蛋白質之發現 11
2.4.2 蛋白質之分類 12
2.4.3 蛋白質之一般性質 14
2.5 蛋白質之應用 15
2.5.1 醫學方面 17
2.5.2 食品方面 17
2.5.3 其他方面 19
2.6 酵素固定化 20
2.6.1 固定化的方法 20
2.6.2 利用固定化增加酵素之穩定性 23
2.6.3 穩定性的探討 23
2.7 固定化酵素之擔體 27
2.7.1 非可溶型擔體 27
2.7.2 可逆溶解型擔體 30
2.8 利用AS-L可逆溶解型擔體作固定化研究 31
2.8.1 使用的固定化擔體系統 31
2.8.2 使用化學活性劑 34
第三章 蛋白質生產菌之篩選與鑑定 36
3.1 前言 36
3.2 實驗材料與方法 36
3.2.1 化學材料 36
3.2.2 生產菌株之分離與篩選 36
3.2.3 蛋白質活性測定方法 37
3.2.4 蛋白質生產菌之菌學鑑定 37
3.2.4.1 初步測試 37
3.2.4.2 菌體脂肪酸分析 38
3.2.4.3 微生物鑑定系統 38
3.2.4.4 API 20E與API 50 CHB鑑定套組 38
3.3 結果與討論 39
3.3.1 蛋白質生產菌之篩選 39
3.3.2 菌株鑑定 39
3.3.3 結語 40
第四章 <i>Bacillus subtilis</i> Y-108之最適蛋白質生產條件 41
4.1 前言 41
4.2 實驗材料與方法 41
4.2.1 微生物材料 41
4.2.2 化學材料 41
4.2.3 蛋白質活性測定方法 42
4.2.4 蛋白質最適生產條件探討 42
4.2.5 綜合比較 44
4.4 結果與討論 44
第五章 <i>Bacillus subtilis</i> Y-108醱酵水產廢棄物生產蛋白質及其蛋白質去除率之探討 61
5.1 前言 61
5.2 實驗材料與方法 62
5.2.1 微生物材料 62
5.2.2 化學材料 62
5.2.3 蛋白質定量分析 63
5.2.4 酸處理 63
5.2.5 鹼處理 63
5.2.6 含水量的測定 63
5.2.7 微生物以液態培養進行蛋白質去除率之探討 64
5.2.8 進行灰燼處理 64
5.2.9 幾丁質回收率 64
5.3 結果 65
5.3.1 各種水產廢棄物之含水量 65
5.3.2 各種水產廢棄物經微生物去蛋白之效果 65
5.3.3 幾丁質的回收 70
第六章 蛋白質之純化與分離 83
6.1 前言 83
6.2 實驗材料與方法 83
6.2.1 微生物材料 83
6.2.2 化學材料 84
6.2.3 蛋白質活性測定方法 84
6.2.4 蛋白質之純化分離 84
6.2.4.1 大量培養及離心 84
6.2.4.2 硫酸銨沉澱 85
6.2.4.3 離子交換樹脂層析法 85
6.2.4.4 分子量標定與膠體過濾層析 86
6.2.5 胺基酸組成分析 86
6.2.6 電泳分析 86
6.2.7 等電點之測定 87
6.2.8 各種基質對酵素之影響 88
6.2.9 熱安定性及最適反應溫度測試 88
6.2.10 pH安定性及最適反應pH值測試 88
6.3 結果與討論 88
6.3.1 粗酵素液的製備 88
6.3.2 離子交換管柱層析法 90
6.3.3 分子量標定與膠體過濾層析法 92
6.3.4 胺基酸組成分析

96 6.3.5 電泳分析 96 6.3.6 等電點 96 6.3.7 各種基質對酵素活性之影響 96 6.3.8 純化後蛋白質之最適反應溫度及熱安定性
96 6.3.9 純化後蛋白質之最適反應pH值及pH安定性 104 第七章 Bacillus subtilis Y-108醱酵蝦蟹殼粉所生產蛋白質與市售蛋白質固定化之研究 107 7.1 前言 107 7.2 實驗材料與方法 107 7.2.1 化學材料 108 7.2.2 粗酵素液的製備 109 7.2.3 酵素固定化
109 7.2.4 蛋白質活性測定方法 109 7.2.5 蛋白質定量分析 110 7.2.6 pH值對游離和固定化酵素活性及穩定性的影響 110 7.2.7
溫度對游離和固定化酵素活性及穩定性的影響 110 7.2.8 酵素與市售蛋白質其蛋白質及活性固定量之比較 110 7.3 結果與討論 111 7.3.1 溫度對酵素活性及安定性的影響 111 7.3.2 pH值對酵素活性及安定性的影響 114 7.3.3 酵素與市售蛋白質其蛋白質及活性固定量之比較 115 第八章 結論 119 8.1 Bacillus subtilis Y-108之最適蛋白質生產條件 119 8.2 利用Bacillus subtilis
Y-108進行各種水產廢棄物之蛋白質去除率之探討 120 8.3 蛋白質之純化與分離 120 8.4 Bacillus subtilis Y-108醱酵析蟹殼粉
生產蛋白質與市售蛋白質固定化之研究 121 參考文獻 122 圖目錄 第二章 文獻回顧 圖2.1 幾丁質之化學構造 8 圖2.2 纖維
素、幾丁質以及幾丁聚醣之化學構造 8 圖2.3 酵素的各種固定化法 22 圖2.4 酵素熱展開的概念圖 26 圖2.5 AS-L之化學結構
式 32 圖2.6 EDC之化學結構 35 圖2.7 EDC、AS-L擔體和酵素間的化學反應 35 第四章 Bacillus subtilis Y-108之最適蛋白質
生產條件 圖4.1 蝦蟹殼粉添加量對蛋白質活性之影響 45 圖4.2 不同碳源添加量對蛋白質活性之影響 48 圖4.3 氮源添加量
對蛋白質活性之影響 51 圖4.4 無機鹽類添加量對蛋白質產量之影響 53 圖4.5 pH值對蛋白質活性之影響 55 圖4.6 溫度對
蛋白質活性之影響 56 圖4.7 充填體積對蛋白質產量之影響 58 圖4.8 培養時間對蛋白質產量之影響 59 第五章 利用Bacillus
subtilis Y-108 醱酵水產廢棄物生產蛋白質及其蛋白質去除率之探討 圖5.1 微生物醱酵蝦殼去蛋白之比較 67 圖5.2 微生物醱
酵斜殼去蛋白之比較 68 圖5.3 微生物醱酵龍蝦殼去蛋白之比較 69 圖5.4 微生物醱酵烏賊螺蛸去蛋白之比較 72 圖5.5 天然蝦
殼 (A) ; 經微生物處理後之天然蝦殼 (B) 76 圖5.6 酸處理過之天然蝦殼 (A) ; 經微生物處理後之酸蝦殼 (B) 76
圖5.7 天然蟹殼 (A) ; 經微生物處理過之蟹殼 (B) 77 圖5.8 酸處理之蟹殼 (A) ; 經微生物處理後之酸蟹殼 (B) 77
圖5.9 天然龍蝦殼 (A) ; 經微生物處理後之龍蝦殼 (B) 78 圖5.10 酸處理後之龍蝦殼 (A) ; 經微生物處理後之酸龍蝦殼
(B) 78 圖5.11 天然烏賊螺蛸 (A) ; 經微生物處理後之烏賊螺蛸 (B) 79 圖5.12 烏賊螺蛸之電顯圖 (×300) (A) ;
經微生物處理後烏賊螺蛸之電顯圖 (×300) (B) 79 圖5.13 蝦殼之電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理後蝦殼之電
顯圖 (×300) (B) 80 圖5.14 酸處理過蝦殼之電顯圖 (×5000) (A) ; 經微生物處理後之酸蝦殼之電顯圖 (×5000)
(B) 80 圖5.15 蟹殼之電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理後蟹殼之電顯圖 (×300) (B) 81 圖5.16 酸處理過蟹殼之
電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理後之酸蟹殼之電顯圖 (×300) (B) 81 圖5.17 龍蝦殼之電顯圖 (×5000) (A)
; 經微生物處理後龍蝦殼之電顯圖 (×5000) (B) 82 圖5.18 酸處理過龍蝦殼之電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理
後之酸龍蝦殼之電顯圖 (×300) (B) 82 第六章 蛋白質之分離與純化 圖6.1 Bacillus subtilis Y-108所生產蛋白質之純化分
離流程圖 89 圖6.2 DEAE Sephacel 之蛋白質層析圖譜 91 圖6.3 分子量標準品於Sephacryl S-200之層析圖譜 93 圖6.4
Sephacryl S-200 之蛋白質層析圖譜 94 圖6.5 蛋白質之SDS-PAGE 98 圖6.6 SDS-PAGE分子量與相對移動速率之關係 99
圖6.7 蛋白質之等電點層析圖譜 100 圖6.8 蛋白質純化前後之熱安定性 (pH7.0) 102 圖6.9 蛋白質純化前後之最適反應溫
度 (pH7.0) 103 圖6.10 蛋白質純化前後之pH安定性 (37) 105 圖6.11 蛋白質純化前後之最適反應pH值 (37) 106
第七章 Bacillus subtilis Y-108醱酵蝦蟹殼粉生產蛋白質與市售蛋白質固定化之研究 圖7.1 各種蛋白質之游離酵素和固定化
酵素之pH安定性 112 圖7.2 各種蛋白質之游離酵素和固定化酵素之最適反應 pH值 113 圖7.3 各種蛋白質之游離酵素和固
定化酵素之熱安定性 116 圖7.4 各種蛋白質之游離酵素和固定化酵素之最適反應 溫度 117 表目錄 第二章 文獻回顧 表2.1
一些甲殼類昆蟲軟動物器官和真菌之幾丁質含量 5 表2.2 列出一些工業上常見蛋白質及一些特性 13 表2.3 一些工業上重
要的鹼性蛋白質 16 表2.4 各種蛋白質在醫學上之治療概況 18 表2.5 各種固定化法的優缺點 24 表2.6 以不同固定化模式修
飾鹼性蛋白質之穩定性 25 表2.7 提高熱穩定性的酵素種類 28 表2.8 對熱穩定性有負面影響的酵素種類 28 表2.9 不同固
定化酵素的保存穩定性 29 表2.10 固定化酵素於填充床的操作穩定性 29 表2.11 AS-L的性質說明 33 第四章 Bacillus subtilis
Y-108之最適蛋白質生產條件 表4.1 不同碳源對蛋白質活性之影響 47 表4.2 氮源對蛋白質產量之影響 49 表4.3 無基鹽對
蛋白質活性之影響 52 表4.4 探討前後之培養基組成及培養條件之比較 60 第五章 利用Bacillus subtilis Y-108醱酵水產廢棄物
生產蛋白質及其蛋白質去除率之探討 表5.1 各種水產廢棄物之含水量 66 表5.2 各種水產廢棄物經微生物醱酵去蛋白之比較
73 表5.3 水產廢棄物幾丁質回收率 74 第六章 蛋白質之純化與分離 表6.1 Bacillus subtilis Y-108所生產蛋白質之純化概要 95
表6.2 蛋白質純化後其胺基酸之組成 97 表6.3 各種基質對蛋白質活性之影響 101 第七章 Bacillus subtilis Y-108醱酵蝦蟹
殼粉生產蛋白質與市售蛋白質固定化之研究 表7.1 酵素與市售蛋白質固定化後其蛋白質及活性固定化量之比較

REFERENCES

目錄 封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 v 英文摘要 vii 誌謝 ix 目錄 x 圖目錄 xvi 表目錄 xx 第一章 緒言 1 第二章 文獻回顧 4 2.1 幾丁質
之發現及分布 4 2.2 幾丁質之構造 7 2.3 幾丁質之物理和化學性質 9 2.3.1 物理性質 9 2.3.2 化學性質 10 2.4 蛋白質之發現及特性 11 2.4.1
蛋白質之發現 11 2.4.2 蛋白質之分類 12 2.4.3 蛋白質的一般性質 14 2.5 蛋白質之應用 15 2.5.1 醫學方面 17 2.5.2 食品方面 17 2.5.3 其
他方面 19 2.6 酵素固定化 20 2.6.1 固定化的方法 20 2.6.2 利用固定化增加酵素之穩定性 23 2.6.3 穩定性的探討 23 2.7 固定化酵素之擔體
27 2.7.1 非可溶性擔體 27 2.7.2 可逆溶解型擔體 30 2.8 利用AS-L可逆溶解型擔體作固定化研究 31 2.8.1 使用的固定化擔體系統 31 2.8.2 使
用化學活性劑 34 第三章 蛋白質生產菌之篩選與鑑定 36 3.1 前言 36 3.2 實驗材料與方法 36 3.2.1 化學材料 36 3.2.2 生產菌株之分離與篩
選 36 3.2.3 蛋白質活性測定方法 37 3.2.4 蛋白質生產菌之菌學鑑定 37 1) 初步測試 37 2) 菌體脂肪酸分析 38 3) 微生物鑑定系統 38 4) API

20E與API 50 CHB鑑定套組 38 3.3 結果與討論 39 3.3.1 蛋白質?生產菌之篩選 39 3.3.2 菌株鑑定 39 3.3.3 結語 40 第四章 Bacillus subtilis Y-108之最適蛋白質?生產條件 41 4.1 前言 41 4.2 實驗材料與方法 41 4.2.1 微生物材料 41 4.2.2 化學材料 41 4.2.3 蛋白質?活性測定方法 42 4.2.4 蛋白質?最適生產條件探討 42 4.2.5 綜合比較 44 4.4 結果與討論 44 第五章 Bacillus subtilis Y-108醱酵水產廢棄物生產蛋白質?及其蛋白質去除率之探討 61 5.1 前言 61 5.2 實驗材料與方法 62 5.2.1 微生物材料 62 5.2.2 化學材料 62 5.2.3 蛋白質定量分析 63 5.2.4 酸處理 63 5.2.5 鹼處理 63 5.2.6 含水量的測定 63 5.2.7 微生物以液態培養進行蛋白質去除率之探討 64 5.2.8 進行灰燼處理 64 5.2.9 幾丁質回收率 64 5.3 結果 65 5.3.1 各種水產廢棄物之含水量 65 5.3.2 各種水產廢棄物經微生物去蛋白之效果 65 5.3.3 幾丁質的回收 70 第六章 蛋白質?的純化與分離 83 6.1 前言 83 6.2 實驗材料與方法 83 6.2.1 微生物材料 83 6.2.2 化學材料 84 6.2.3 蛋白質?活性測定方法 84 6.2.4 蛋白質?之純化分離 84 1) 大量培養及離心 84 2) 硫酸銨沉澱 85 3) 離子交換樹脂層析法 85 4) 分子量標定與膠體過濾層析 86 6.2.5 胺基酸組成分析 86 6.2.6 電泳分析 86 6.2.7 等電點之測定 87 6.2.8 各種基質對酵素之影響 88 6.2.9 熱安定性及最適反應溫度測試 88 6.2.10 pH安定性及最適反應pH值測試 88 6.3 結果與討論 88 6.3.1 粗酵素液的製備 88 6.3.2 離子交換管柱層析法 90 6.3.3 分子量標定與膠體過濾層析法 92 6.3.4 胺基酸組成分析 96 6.3.5 電泳分析 96 6.3.6 等電點 96 6.3.7 各種基質對酵素活性之影響 96 6.3.8 純化後蛋白質?之最適反應溫度及熱安定性 96 6.3.9 純化後蛋白質?之最適反應pH值及pH安定性 104 第七章 Bacillus subtilis Y-108醱酵蝦蟹殼粉所生產蛋白質?與市售蛋白質?固定化之研究 107 7.1 前言 107 7.2 實驗材料與方法 107 7.2.1 化學材料 108 7.2.2 粗酵素液的製備 109 7.2.3 酵素固定化 109 7.2.4 蛋白質?活性測定方法 109 7.2.5 蛋白質定量分析 110 7.2.6 pH值對游離和固定化酵素活性及穩定性的影響 110 7.2.7 溫度對游離和固定化酵素活性及穩定性的影響 110 7.2.8 酵素與市售蛋白質?其蛋白質及活性固定量之比較 110 7.3 結果與討論 111 7.3.1 溫度對酵素活性及安定性的影響 111 7.3.2 pH值對酵素活性及安定性的影響 114 7.3.3 酵素與市售蛋白質?其蛋白質及活性固定量之比較 115 第八章 結論 119 8.1 Bacillus subtilis Y-108之最適蛋白質?生產條件 119 8.2 利用Bacillus subtilis Y-108進行各種水產廢棄物之蛋白質去除率的探討 120 8.3 蛋白質?之純化與分離 120 8.4 Bacillus subtilis Y-108醱酵析蟹殼粉生產蛋白質?與市售蛋白質?固定化之研究 121 參考文獻 122 圖目錄 第二章 文獻回顧 圖2.1 幾丁質之化學構造 8 圖2.2 纖維素、幾丁質以及幾丁聚醣之化學構造 8 圖2.3 酵素的各種固定化法 22 圖2.4 酵素熱展開的概念圖 26 圖2.5 AS-L之化學結構式 32 圖2.6 EDC之化學結構 35 圖2.7 EDC、AS-L擔體和酵素間的化學反應 35 第四章 Bacillus subtilis Y-108之最適蛋白質?生產條件 圖4.1 蝦蟹殼粉添加量對蛋白質?活性之影響 45 圖4.2 不同碳源添加量對蛋白質?活性之影響 48 圖4.3 氮源添加量對蛋白質?活性之影響 51 圖4.4 無機鹽類添加量對蛋白質?產量之影響 53 圖4.5 pH值對蛋白質?活性之影響 55 圖4.6 溫度對蛋白質?活性之影響 56 圖4.7 充填體積對蛋白質?產量之影響 58 圖4.8 培養時間對蛋白質?產量之影響 59 第五章 利用Bacillus subtilis Y-108 醱酵水產廢棄物生產蛋白質?及其蛋白質去除率之探討 圖5.1 微生物醱酵蝦殼去蛋白之比較 67 圖5.2 微生物醱酵斜殼去蛋白之比較 68 圖5.3 微生物醱酵龍蝦殼去蛋白之比較 69 圖5.4 微生物醱酵烏賊螺蛸去蛋白之比較 72 圖5.5 天然蝦殼 (A) ; 經微生物處理後之天然蝦殼 (B) 76 圖5.6 酸處理過之天然蝦殼 (A) ; 經微生物處理後之酸蝦殼 (B) 76 圖5.7 天然蟹殼 (A) ; 經微生物處理過之蟹殼 (B) 77 圖5.8 酸處理之蟹殼 (A) ; 經微生物處理後之酸蟹殼 (B) 77 圖5.9 天然龍蝦殼 (A) ; 經微生物處理後之龍蝦殼 (B) 78 圖5.10 酸處理後之龍蝦殼 (A) ; 經微生物處理後之酸龍殼 (B) 78 圖5.11 天然烏賊螺蛸 (A) ; 經微生物處理後之烏賊螺蛸 (B) 79 圖5.12 烏賊螺蛸之電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理後烏賊螺蛸之電顯圖 (×300) (B) 79 圖5.13 蝦殼之電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理後蝦殼之電顯圖 (×300) (B) 80 圖5.14 酸處理過蝦殼之電顯圖 (×5000) (A) ; 經微生物處理後之酸蝦殼之電顯圖 (×5000) (B) 80 圖5.15 蟹殼之電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理後蟹殼之電顯圖 (×300) (B) 81 圖5.16 酸處理過蟹殼之電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理後之酸蟹殼之電顯圖 (×300) (B) 81 圖5.17 龍蝦殼之電顯圖 (×5000) (A) ; 經微生物處理後龍蝦殼之電顯圖 (×5000) (B) 82 圖5.18 酸處理過龍蝦殼之電顯圖 (×300) (A) ; 經微生物處理後之酸龍蝦殼之電顯圖 (×300) (B) 82 第六章 蛋白質?的分離與純化 圖6.1 Bacillus subtilis Y-108所生產蛋白質?之純化分離流程圖 89 圖6.2 DEAE Sephacel 之蛋白質?層析圖譜 91 圖6.3 分子量標準品於Sephacryl S-200之層析圖譜 93 圖6.4 Sephacryl S-200 之蛋白質?層析圖譜 94 圖6.5 蛋白質?之SDS-PAGE 98 圖6.6 SDS-PAGE分子量與相對移動速率之關係 99 圖6.7 蛋白質?之等電點層析圖譜 100 圖6.8 蛋白質?純化前後之熱安定性 (pH7.0) 102 圖6.9 蛋白質?純化前後之最適反應溫度 (pH7.0) 103 圖6.10 蛋白質?純化前後之pH安定性 (37) 105 圖6.11 蛋白質?純化前後之最適反應pH值 (37) 106 第七章 Bacillus subtilis Y-108醱酵蝦蟹殼粉生產蛋白質?與市售蛋白質?固定化之研究 圖7.1 各種蛋白質?的游離酵素和固定化酵素之pH安定性 112 圖7.2 各種蛋白質?的游離酵素和固定化酵素之最適反應 pH值 113 圖7.3 各種蛋白質?的游離酵素和固定化酵素之熱安定性 116 圖7.4 各種蛋白質?的游離酵素和固定化酵素之最適反應 溫度 117 表目錄 第二章 文獻回顧 表2.1 一些甲殼類昆蟲軟體動物器官和真菌之幾丁質含量 5 表2.2 列出一些工業上常見蛋白質?及一些特性 13 表2.3 一些工業上重要的鹼性蛋白質? 16 表2.4 各種蛋白質?在醫學上之治療概況 18 表2.5 各種固定化法的優缺點 24 表2.6 以不同固定化模式修飾鹼性蛋白質?之穩定性 25 表2.7 提高熱穩定性的酵素種類 28 表2.8 對熱穩定性有負面影響的酵素種類 28 表2.9 不同固定化酵素的保存穩定性 29 表2.10 固定化酵素於填充床的操作穩定性 29 表2.11 AS-L的性質說明 33 第四章 Bacillus subtilis Y-108之最適蛋白質?生產條件 表4.1 不同碳源對蛋白質?活性之影響 47 表4.2 氮源對蛋白質?產量之影響 49 表4.3 無基鹽對蛋白質?活性之影響 52 表4.4 探討前後之培養基組成及培養條件之比較 60 第五章 利用Bacillus subtilis Y-108醱酵水產廢棄物生產蛋白質?及其蛋白質去除率之探討 表5.1 各種水產廢棄物之含水量 66 表5.2 各種水產廢棄物經微生物醱酵去蛋白之比較 73 表5.3 水產廢棄物幾丁質回收率 74 第六章 蛋白質?的純化與分離 表6.1 Bacillus subtilis Y-108所生產蛋白質?之純化概要 95 表6.2 蛋白質?經純化後其胺基酸之組成 97 表6.3 各種基質對蛋白質?活性之影響 101 第七章 Bacillus subtilis Y-108醱酵蝦蟹殼粉生產蛋白質?與市售蛋白質?固定化之研究 表7.1 酵素與市售蛋白質?固定化後其蛋白質及活性固定 化量之比較