

Preliminary Study on Isolation and Culture Condition of Microorganism for Degrading Coconut Meat

蔡鈺騏、張耀南；洪淑嫻

E-mail: 9318420@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

The three microorganism strains of dyu-CS-1, KS-3 and CS-8, which were better selected from 17 strains of our laboratory, were used to preliminarily study the production of reduced sugar hydrolyzed from coconut meat. Several different strategies of manipulating variables, such as cultural temperature, initial pH and volume of cultural medium, cultural time course, were investigated. It was found that the optimal cultural temperature, time course and initial pH of medium were at 30°C, 48 hr and 8.0, respectively, for three strains. The optimal volume of cultural medium for dyu-CS-1 and CS-8 was 50mL in 250mL flask, while this for dyu-CK-3 was 25mL. At 48 hr cultural time, the high concentration of reduced sugar for dyu-CS-1, KS-3 and CS-8 was 17.1, 19.6 and 16.8mg/mL, respectively. After 48 hr cultivation, the production of reduced sugar decreased as cultural time increased. This result may be due to the use of reduced sugar as medium source for three strains to growth.

Keywords : coconut meat ; reduced sugar ; microbial degradation (hydrolysis)

Table of Contents

封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 v 英文摘要 vi 誌謝 vii 目錄 viii 圖目錄 xi 表目錄 xiii 第一章 前言 1 第二章 文獻回顧 2
2.1椰子 2 2.1.1 椰子之構造 2 2.1.2 椰子之成分 4 2.2寡糖 5 2.2.1 寡糖之命名與分類 5 2.2.2 功能性寡糖 6 2.2.3 功能性寡糖之應用 8 2.2.4 功能性寡糖之製備與純化方式 11 2.3甘露聚糖 13 2.3.1 甘露聚糖之種類 14 2.3.2 甘露寡糖 19 2.4甘露聚糖分解酵素 19 2.4.1 α -甘露聚糖之作用方式及水解產物 20 2.4.2 α -甘露聚糖之來源 23 2.4.3 α -甘露聚糖之應用 27 第三章 材料與方法 28 3.1材料 28 3.2儀器設備 29 3.3方法與流程 29 3.3.1 菌株篩選方法 29 3.3.2 培養方法 30 3.3.3 還原糖測定 31 3.3.4 培養溫度的影響 31 3.3.5 培養基之起始酸鹼值的影響 31 3.3.6 培養時間的影響 34 3.3.7 培養基體積的影響 34 3.3.8 最適化培養時間的探討 35 第四章 結果與討論 36 4.1菌種篩選 36 4.2培養溫度的影響 36 4.3培養基之起始酸鹼值的影響 41 4.4培養時間的影響 41 4.5培養基體積的影響 46 4.6最佳條件的探討 46 第五章 結論 52 參考文獻 53 圖目錄 圖2.1 椰子的縱剖面圖 3 圖2.2 甘露聚糖的單元化學結構 15 圖2.3 葡甘露聚糖的單元化學結構 16 圖2.4 半乳甘露聚糖的單元化學結構 17 圖2.5 半乳葡甘露聚糖的單元化學結構 18 圖2.6 α -甘露聚糖和1,4- β -D甘露聚糖鏈結合模式 22 圖3.1 葡萄糖為還原糖之檢量曲線 32 圖3.2 DNS檢測流程 33 圖4.1 CS-1菌株初步篩選圖 37 圖4.2 KS-3菌株初步篩選圖 38 圖4.3 CS-8菌株初步篩選圖 39 圖4.4 培養溫度對CS-1、KS-3、CS-8菌株降解椰果成還原糖相對百分比(%)之影響 40 圖4.5 培養基起始酸鹼值對CS-1、KS-3、CS-8菌株降解椰果成還原糖相對百分比(%)之影響 42 圖4.6 CS-1菌生長曲線與其降解椰果成還原糖之濃度變化 43 圖4.7 KS-3菌生長曲線與其降解椰果成還原糖之濃度變化 44 圖4.8 CS-8菌生長曲線與其降解椰果成還原糖之濃度變化 45 圖4.9 培養體積對CS-1、CS-8、KS-3菌株降解椰果成還原糖相對百分比(%)之影響 48 圖4.10 CS-1菌生長曲線與其降解椰果成還原糖之濃度變化 49 圖4.11 KS-3菌生長曲線與其降解椰果成還原糖之濃度變化 50 圖4.12 CS-8菌生長曲線與其降解椰果成還原糖之濃度變化 51 表目錄 表2.1 功能性寡糖 7 表2.2 細菌類所產生 α -甘露聚糖的性質 24 表2.3 真菌類所產生 α -甘露聚糖的性質 25 表2.4 植物類所產生 α -甘露聚糖的性質 26

REFERENCES

1. 于紅、盧雪梅、秦夢華、曲音波、高培基，2002， α -法漂白的現狀和机理研究進展，中國造紙學報，17(2):112-115。
2. 孔繁柞，2000，寡糖類農藥的研製，環境化學，19(4):293-299。
3. 石軍、李俊廷、陳安國，2002，甘露寡糖的生理功能及其在動物生產中的應用，糧油食品科技，10:10-11。
4. 吳建平，1996，生理活性低聚糖的研究進展，山西食品工業，2:6-9。
5. 李秀娟、李小慧，1999，新鮮椰子的綜合加工，食品加工，1:47-48。
6. 李映麗、方萬興、鮑德虎、袁秉祥、郭增軍、張忠良，1999，魔芋甘露聚糖免疫作用的研究，陝西林業科技，68-70。
7. 岳振峰、陳小霞、彭志英、趙謀明，2001，功能性低聚糖分離純化方法概述，鄭州工程學院學報，22(1):89-92。
8. 邱偉芬，2001，功能性低聚糖的開發應用前景，食品科技，3:27-31。
9. 香紅星、查仲華、劉亞力，2001，功能性寡糖的研究應用進展（上），飼料研究，7:9-11。
10. 洪楓、陳琳、余世袁、沈兆邦，1999，新型功能性低聚糖的生產與研究，林產化工通訊，33(4):14-20。
11. 馬延和、周培瑾，1992，淺談寡糖的開發和應用，食品與發酵工業，(1):80-82。
12. 張慧堅，2002，世界與中國的椰子業，22(3):41-56。
13. 曹勁松、王曉琴、彭志英，1998，微生物 α -法合成低聚糖的問題與策略，25(4):41-47。
14. 劉同軍、張玉臻，1998，半纖維素的應用進展，Food and Fermentation Industries，24(6)，58-61。
15. 鄒新裕、謝美然，1995，魔芋葡甘露聚糖的研究進展，現

代化工, 15, 15-17. 16. 楊艷燕、高尚、王慧平、程 珊、馬立新, 2001, 魔芋低聚糖降低糖尿病小鼠血糖和膽固醇效應的研究, 湖北大學學報, 23(3), 277-279. 17. 楊艷燕, 高尚, 王慧平, 熊燕飛, 倪紅, 馬立新, 1999, 魔芋低聚糖對小鼠實驗性高脂血症防治作用的研究, 湖北大學學報, 21(4):386-388. 18. 楊海軍, 2003, 功能性食品配料-水溶性膳食纖維, 食品工業, 3:29-31. 19. 魯周民、王照利, 1999, 魔芋甘露聚糖對水果蔬菜保鮮效果研究, 陝西林業科技, 65-67. 20. 龍健兒、陳一平, 1998, α -甘露糖苷酶的研究現狀, 微生物學雜誌, 18(3), 44-57. 21. 關榮發、王淑彩、許梓榮, 2002, 甘露低聚糖及其衍生物的研究與應用, 中國飼料, 20:13-14. 22. 石波、李里特, 2001, 玉米芯 α -D-木糖的製取, 中國農業大學學報, 6(2):92-95. 23. Gubitz, G. M., Schnitzhofer, W., Balakrishnan H., Steiner W., 1996, Two mannanases from *Sclerotium rolfsii* in total chlorine free bleaching of softwood kraft pulp. *Journal of Biotechnology*. 50:181-188. 24. Gubitz, G. M., 1996, Purification and properties of an acidic α -mannanase from *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Biotechnol.* 45: 165-172. 25. Ademark P., Varga A., Medve J., Harjunpaa V., Drakenberg T., Tjerneld F., Stalbrand H., 1998, Softwood hemicellulose-degrading enzymes from *Aspergillus niger*: Purification and properties of a β -mannanase. *Journal of Biotechnology*. 63: 199-210. 26. Sachslehner A. and Foidl G., 2000, Hydrolysis of isolated coffee mannan and coffee extract by mannanases of *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Biotechnology*. 80:127-134. 27. Jun Ichi Abe, Mohammad Z., Hossain, and Susumu Hizukuri., 1994, Isolation of α -mannanase-producing Microorganism. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 78(3):259-261. 28. Mohammad Z., Jun Ichi Abe., and Susumu Hizukuri., 1996, Multiple forms of α -mannanase from *Bacillus* sp KK01. *Enzyme Microb. Technol.* Vol. 18:95-98. 29. Maija Tekanen., 1997, Action of *Trichoderma reesei* mannanase on galactoglucomannan in pine kraft pulp. *Journal of Biotechnology*. 57:191-204. 30. He Z., Zhang J., Huang D., 2001, A kinetic correlation for konjac powder hydrolysis by α -mannanase from *Bacillus licheniformis*. *Biotechnology Letters*. 23:398-393. 31. Zhang J., He Z, Hu K., 2000, Purification and characterization of α -mannanase from *Bacillus licheniformis* for industrial use. *Biotechnology Letters*. 22:1375-1378. 32. Akino T., Nakamura N., Horirosi K., 1988, Characterization of three α -mannanase of an alkalophilic *Bacillus* sp. *Agric. Biol. Chem.* 52(3):773-779. 33. Araujo A Ward OP., 1990, Hemicellulase of *Bacillus* species: preliminary comparative studies on production and properties of mannanase and galactanase. *J Appl. Bacteriol.* 68:253-261. 34. Shigenori EMI, Fukumoto J., Yamamoto T., 1972, Crystallization and some properties of mannanase. *Agric Biol. Chem.* 36: 991-1001. 35. Ratto, M., and Poutanen, K., 1988, Production of mannan-degrading enzymes. *Biotechnology Letter* vol.10, No.9:661-664. 36. Shigenori EMI, Juichiro Fukumoto, and Takehiko Yamamoto., 1972, Crystallization and Some Properties of Mannanase. *Agr. Biol. Chem.* Vol. 36, No. 6:991-1001.