

以 Chitinibacter tainanensis 生產 N-乙醯葡萄糖胺之研究

曾士維、?瑞澤 吳淑姿

E-mail: 9510864@mail.dyu.edu.tw

摘要

N-乙醯葡萄糖胺具有治療關節炎、小兒腸道發炎及促進皮膚保濕等生理功效，應用價值相當高，在食品加工與醫學方面有廣泛研究與應用。目前多種的N-乙醯葡萄糖胺製備方法各有其優缺點。本研究以兩階段方式發酵培養菌株Chitinibacter tainanensis生產。第一階段：改變培養基中葡萄糖濃度，以提高菌體生質量；第二階段：調控發酵培養基之pH值與幾丁質濃度，以增加N-乙醯葡萄糖胺產量。Chitinibacter tainanensis菌株以不同濃度葡萄糖於搖瓶培養，其中以含0.3%葡萄糖之培養基的生質量最高。此菌株培養於含有0.3%葡萄糖BH培養基，培養8 h，轉換至含有2%幾丁質濃度之BH培養基，於培養96 h時具有最高還原醣量，為14.7 g/L；幾丁質活性於培養至72 h時最高，為725.3 U/L；N-乙醯葡萄糖胺產量於培養至144 h達最高，為15.8 g/L，幾丁質轉化率為79%。以不同葡萄糖濃度於發酵槽培養菌株Chitinibacter tainanensis，結果以含2.5%葡萄糖之菌體生質量最高，因此在第一階段之培養，均以2.5%葡萄糖為其碳源。於發酵槽中，以兩階段調控pH，培養菌株Chitinibacter tainanensis，第一階段pH為7，以BH-1培養基含2.5%葡萄糖培養Chitinibacter tainanensis，菌體生質量於24 h時為2.42 g/L。培養至24 h，轉換至含有2%幾丁質的培養基，進行第二階段發酵培養，還原醣於培養至96 h時達最高，為16.1 g/L，菌株生質量於轉換培養基後，培養至96 h時，生質量達最高，為1.99 g/L。幾丁質活性於培養至96 h時達最高，為800.3 U/L。Chitinibacter tainanensis分解幾丁質，於72 h時可生成N-乙醯葡萄糖胺15.6 g/L，幾丁質轉化率為77.8%。菌株Chitinibacter tainanensis以兩階段培養，於第二階段不調控pH值，於培養24 h後，轉換為第二階段培養(不調控pH值)，轉換之後，培養基之pH培養至48 h時，降至5.31，幾丁質活性於培養72 h時達最高，為710 U/L，還原醣於96 h時最高，為16.7 g/L。第二階段發酵培養生成的N-乙醯葡萄糖胺，於培養120 h時達最高，為16.1 g/L，幾丁質轉化率為80.1%。提高幾丁質濃度為4%，以兩階段於發酵槽中培養Chitinibacter tainanensis菌株，於第二階段(不調控pH)培養，其還原醣於120 h時達最高，為33.7 g/L，菌株生質量於轉換培養基後，於120 h生質量達最高，為2.47 g/L。幾丁質活性於培養72 h時達最高，為650.0 U/L。第二階段培養之N-乙醯葡萄糖胺生成量，於96 h時達最高，為31.2 g/L，幾丁質轉化率為78.0%。

關鍵詞：N-乙醯葡萄糖胺；Chitinibacter tainanensis；兩階段培養

目錄

授權書iii 中文摘要iv 英文摘要vi 致謝viii 目錄ix 圖目錄xii 表目錄xiv 第一章 緒言 1 第二章 文獻回顧 3 2.1 幾丁質 3 2.1.1 幾丁質類之分子結構與性質 3 2.1.2 幾丁質之功能與應用 4 2.1.3 幾丁質之製備 7 2.2 幾丁質？ 7 2.2.1 幾丁質水解酵素之分類 7 2.2.2 幾丁質？ 漣@用形機制 8 2.2.3 幾丁質？ 漢掠M分佈 11 2.2.4 幾丁質？ 瑰野？ 3 2.2.5 幾丁質？ “噸懶R 14 2.3 N-乙醯葡萄糖胺 15 2.3.1 N-乙醯葡萄糖胺的功能與應用 16 2.4 N-乙醯葡萄糖胺之製造方法 17 2.4.1 化學法 17 2.4.2 酵素水解法 17 第三章 材料與方法 20 3.1 實驗架構 20 3.2 實驗儀器 20 3.3 實驗藥品 22 3.4 培養基 23 3.4.1 基礎培養基 23 3.4.2 發酵培養基 23 3.5 實驗菌株 25 3.5.1 Chitinibacter tainanensis 25 3.5.2 菌種保存 25 3.6 菌體顯微鏡觀察 25 3.6.1 光學顯微鏡之觀察 25 3.6.2 位相差顯微鏡之觀察 25 3.7 膠態幾丁質之製備 27 3.8 批次發酵槽培養 27 3.8.1 批次發酵培養條件 27 3.8.2 操作步驟 29 3.9 分析方法 30 3.9.1 生長曲線 30 3.9.2 N-乙醯葡萄糖胺？ “ 30 3.9.3 還原醣 31 3.9.4 生質量 31 3.9.5 殘餘葡萄糖 31 3.9.6 水解產物 32 第四章 結果與討論 33 4.1 菌株基本特性 33 4.2 菌株Chitinibacter tainanensis之生長型態 33 4.3 菌株Chitinibacter tainanensis之生長曲線 33 4.4 葡萄糖濃度的效應(搖瓶培養) 37 4.5 葡萄糖濃度的效應(發酵槽培養) 44 4.6 Chitinibacter tainanensis之兩階段培養 44 4.6.1 pH調控 47 4.6.2 第二階段培養pH不調控 49 4.6.3 以4%幾丁質於發酵槽之培養 51 第五章 結論 55 參考文獻 57 附錄 64 圖目錄 圖2.1 纖維素、幾丁質及幾丁聚糖之結構 5 圖2.2 幾丁質之製備 9 圖2.3 幾丁質酵素的水解路徑 10 圖2.4 以化學法製造N-乙醯葡萄糖胺 18 圖3.1 實驗架構流程圖 21 圖4.1於位相差顯微鏡下(1,000x)觀察之Chitinibacter tainanensis 34 圖4.2 Chitinibacter tainanensis培養於膠態幾丁質平板培養基 35 圖4.3 Chitinibacter tainanensis於BH培養基中之生長曲線 36 圖4.4不同葡萄糖濃度培養Chitinibacter tainanensis之生質量的變化 38 圖4.5不同葡萄糖濃度培養Chitinibacter tainanensis之pH的變化 39 圖4.6以2%幾丁質粉末之BH培養基培養Chitinibacter tainanensis之N-乙醯葡萄糖胺？ “ 40 圖4.7 Chitinibacter tainanensis生產之N-乙醯葡萄糖胺的高效能液相層析圖 42 圖4.8以2%幾丁質粉末BH培養基培養Chitinibacter tainanensis 生產N-acetylglucosamine 43 圖4.9不同葡萄糖濃度培養於Chitinibacter tainanensis之生質量變化 45 圖4.10不同葡萄糖濃度於Chitinibacter tainanensis培養過程之葡萄糖的變化 46 圖4.11 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 48 圖4.12 Chitinibacter tainanensis於2.5%葡萄糖生長培養基中生質量、葡萄糖及pH值之變化 50 圖4.13 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 51 圖4.14 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 52 圖4.15 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 53 圖4.16 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 54 圖4.17 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 55 圖4.18 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 56 圖4.19 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 57 圖4.20 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 58 圖4.21 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 59 圖4.22 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 60 圖4.23 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 61 圖4.24 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 62 圖4.25 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 63 圖4.26 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 64 圖4.27 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 65 圖4.28 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 66 圖4.29 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 67 圖4.30 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 68 圖4.31 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 69 圖4.32 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 70 圖4.33 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 71 圖4.34 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 72 圖4.35 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 73 圖4.36 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 74 圖4.37 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 75 圖4.38 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 76 圖4.39 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 77 圖4.40 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 78 圖4.41 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 79 圖4.42 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 80 圖4.43 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 81 圖4.44 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 82 圖4.45 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 83 圖4.46 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 84 圖4.47 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 85 圖4.48 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 86 圖4.49 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 87 圖4.50 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 88 圖4.51 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 89 圖4.52 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 90 圖4.53 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 91 圖4.54 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 92 圖4.55 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 93 圖4.56 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 94 圖4.57 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 95 圖4.58 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 96 圖4.59 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 97 圖4.60 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 98 圖4.61 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 99 圖4.62 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 100 圖4.63 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 101 圖4.64 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 102 圖4.65 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 103 圖4.66 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 104 圖4.67 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 105 圖4.68 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 106 圖4.69 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 107 圖4.70 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 108 圖4.71 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 109 圖4.72 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 110 圖4.73 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 111 圖4.74 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 112 圖4.75 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 113 圖4.76 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 114 圖4.77 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 115 圖4.78 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 116 圖4.79 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 117 圖4.80 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 118 圖4.81 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 119 圖4.82 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 120 圖4.83 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 121 圖4.84 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 122 圖4.85 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 123 圖4.86 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 124 圖4.87 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 125 圖4.88 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 126 圖4.89 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 127 圖4.90 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 128 圖4.91 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 129 圖4.92 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 130 圖4.93 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 131 圖4.94 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 132 圖4.95 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 133 圖4.96 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 134 圖4.97 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 135 圖4.98 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 136 圖4.99 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 137 圖4.100 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 138 圖4.101 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 139 圖4.102 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 140 圖4.103 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 141 圖4.104 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 142 圖4.105 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 143 圖4.106 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 144 圖4.107 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 145 圖4.108 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 146 圖4.109 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 147 圖4.110 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 148 圖4.111 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 149 圖4.112 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 150 圖4.113 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 151 圖4.114 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 152 圖4.115 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 153 圖4.116 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 154 圖4.117 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 155 圖4.118 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 156 圖4.119 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 157 圖4.120 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 158 圖4.121 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 159 圖4.122 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 160 圖4.123 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 161 圖4.124 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 162 圖4.125 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 163 圖4.126 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 164 圖4.127 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 165 圖4.128 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 166 圖4.129 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 167 圖4.130 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 168 圖4.131 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 169 圖4.132 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 170 圖4.133 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 171 圖4.134 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 172 圖4.135 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 173 圖4.136 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 174 圖4.137 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 175 圖4.138 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 176 圖4.139 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 177 圖4.140 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 178 圖4.141 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 179 圖4.142 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 180 圖4.143 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 181 圖4.144 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 182 圖4.145 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 183 圖4.146 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 184 圖4.147 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 185 圖4.148 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 186 圖4.149 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 187 圖4.150 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 188 圖4.151 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 189 圖4.152 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 190 圖4.153 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 191 圖4.154 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 192 圖4.155 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 193 圖4.156 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 194 圖4.157 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 195 圖4.158 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 196 圖4.159 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 197 圖4.160 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 198 圖4.161 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 199 圖4.162 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 200 圖4.163 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 201 圖4.164 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 202 圖4.165 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 203 圖4.166 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 204 圖4.167 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 205 圖4.168 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 206 圖4.169 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 207 圖4.170 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 208 圖4.171 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 209 圖4.172 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 210 圖4.173 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 211 圖4.174 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 212 圖4.175 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 213 圖4.176 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 214 圖4.177 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 215 圖4.178 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 216 圖4.179 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 217 圖4.180 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 218 圖4.181 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 219 圖4.182 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 220 圖4.183 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 221 圖4.184 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 222 圖4.185 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 223 圖4.186 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 224 圖4.187 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 225 圖4.188 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 226 圖4.189 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 227 圖4.190 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 228 圖4.191 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 229 圖4.192 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 230 圖4.193 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 231 圖4.194 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 232 圖4.195 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 233 圖4.196 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 234 圖4.197 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 235 圖4.198 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 236 圖4.199 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 237 圖4.200 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 238 圖4.201 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 239 圖4.202 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 240 圖4.203 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 241 圖4.204 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 242 圖4.205 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 243 圖4.206 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 244 圖4.207 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 245 圖4.208 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 246 圖4.209 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 247 圖4.210 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 248 圖4.211 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 249 圖4.212 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 250 圖4.213 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 251 圖4.214 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 252 圖4.215 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 253 圖4.216 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 254 圖4.217 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 255 圖4.218 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 256 圖4.219 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 257 圖4.220 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 258 圖4.221 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 259 圖4.222 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 260 圖4.223 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 261 圖4.224 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 262 圖4.225 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 263 圖4.226 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 264 圖4.227 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 265 圖4.228 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 266 圖4.229 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 267 圖4.230 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 268 圖4.231 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 269 圖4.232 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 270 圖4.233 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 271 圖4.234 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 272 圖4.235 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 273 圖4.236 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 274 圖4.237 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 275 圖4.238 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 276 圖4.239 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 277 圖4.240 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 278 圖4.241 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 279 圖4.242 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 280 圖4.243 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 281 圖4.244 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 282 圖4.245 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 283 圖4.246 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 284 圖4.247 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 285 圖4.248 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 286 圖4.249 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 287 圖4.250 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 288 圖4.251 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 289 圖4.252 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 290 圖4.253 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 291 圖4.254 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 292 圖4.255 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 293 圖4.256 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 294 圖4.257 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 295 圖4.258 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 296 圖4.259 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 297 圖4.260 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 298 圖4.261 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 299 圖4.262 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 300 圖4.263 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 301 圖4.264 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 302 圖4.265 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 303 圖4.266 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 304 圖4.267 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 305 圖4.268 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 306 圖4.269 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 307 圖4.270 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 308 圖4.271 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 309 圖4.272 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 310 圖4.273 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 311 圖4.274 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 312 圖4.275 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中幾丁質？ “ 313 圖4.276 Chitinibacter tainanensis於發酵培養基中N-乙醯葡萄糖胺之變化 314

表3.1 基礎培養基 24 表3.2 發酵培養基 24 表3.3微量金屬溶液組成 26 表3.4 Chitinibacter tainanensis 之型態特性分析 28 表3.5 Chitinibacter tainanensis 之生理特性分析 28 表 4.1以不同培養條件培養菌株Chitinibacter tainanensis之活性、還原醣、生質量、N-乙醯醣葡萄糖胺產量及轉化率之變化 54

參考文獻

中文部份 1. 李宜玲、吳淑姿、余世宗、?瑞澤。2005。具分解幾丁質能力菌株之篩選。台灣農業化學與食品科學43(6): 410-418。 2. 阮勝威。1996。由靈芝子實體經萃取後之廢渣所製成之薄膜對於天竺鼠傷口及組織纖維母細胞之影響。第12-14頁。臺北醫學院醫學研究所碩士論文。台北。 3. 徐世昌。2001。生物性高分子 幾丁質與幾丁聚醣之介紹與應用。化工資訊15(2): 36-45。 4. 陳俊任。1993。Aeromonas sp. No.16.所生產幾丁質分解酵素之研究。第61-69頁。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北。 5. 陳錦坤。2005。以生物轉化法生產N-乙醯葡萄糖胺之研究。台灣幾丁質幾丁聚醣研討會:第98-99頁。5月28日。南台科技大學化學工程與材料工程系、台灣幾丁質幾丁聚醣學會。台南。 6. 陳錦坤、方炳勳、林忠亮、蔡丞佳、許清輝、廖權能、魏國銘、黃冬梨、吳奇生。2005。以共培養方式探討Chitinibacter tainanensis 生產N-乙醯葡萄糖胺的作用機轉。台灣幾丁質幾丁聚醣研討會:第173-177頁。5月28日。南台科技大學化學工程與材料工程系、台灣幾丁質幾丁聚醣學會。台南。 7. 諸葛健。2005。現代發酵微生物實驗技術。第45-47頁。化學工業出版社。北京，中國。 8. 蘇南維、李敏雄。1998。Listonella damsela NTU-FC-6幾丁質酵素之生產與基本性質之探討。中國農業化學會誌。36(1):65-76。 英文部份 1. Aiba, S. 1992. Studies on chitosan: 4. Lysozymic hydrolysis of partially N-acetylated chitosans. Int. J. Biol. Macromol. 14:225-228. 2. Aiba, S. 1993. Studies on chitosan: 6. Relationship between N-acetyl group distribution pattern and chitinase digestibility of partially N-acetylated chitosans. Int. J. Biol. Macromol. 15: 241-245. 3. Bhushan, B. 2000. Production and characterization of a thermostable chitinase from a new alkalophilic *Bacillus* sp. BG-11. J. Appl. Microbiol. 88: 800-808. 4. Boller, T., Gehri, A., Mauch, F. and Vogeli, U. 1990. Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification, properties and possible function. Planta. 157: 22-31. 5. Busam, G., Kassemeyer, H. H. and Matern, U. 1997. Differential expression of chitinase in *Vitis vinifera* L responding to systemic acquired resistance activators or fungal challenge. Plant Physiol. 115: 1029-1038. 6. Chandy, T., and Sharma, C. P. 1992. Chitosan beads and granules for oral sustained delivery of nifedipine: in vitro studies. Biomaterials. 13: 949-952. 7. Chandy, T. and Sharma, C. P. 1993. Chitosan matrix for oral sustained delivery of ampicillin. Biomaterials. 14: 939-944. 8. Chern, L. L., Stackrbrandt, E., Lee, S. F., Lee, F. L., Chen, J. K and Fu, H. M. 2004. Chitinibacter tainanensis gen. nov., sp. nov., a chitin-degrading aerobe from soil in Taiwan. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54: 1387-1391. 9. Chung, L.Y., Schmidt, R. J. and Hamlyn, P. F. 1994. Biocompatibility of potential wound management products: fungal mycelia as a source of chitin/chitosan and their effect on the proliferation of human F1000 fibroblast in culture. J. Biomed. Mat. Res. 28: 463-469. 10. Clendennen, S. P. , Jacobs, A. K. and Dry, I. B. 1997. Differential gene expression in ripening banana fruit. Plant Physiology. 115: 463-469. 11. Deshpande, M.V. 1986. Enzymatic degradation of chitin and its biological application. J. Sci. Ind. Res. 45: 273-275. 12. Drovanti, A., Bignamini, A. A. and Rovati, A. L. 1980. Therapeutic activity of oral glucosamine sulfate in osteoarthritis: A placebo-controlled double-blind investigation. Clinical Therapeutics, 3: 260-272. 13. Elad, Y. I. and Henis, Y. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. Can. J. Microbiol.. 28: 719-725. 14. Escott, G. M., Adam, D. J. 1995. Chitinase activity in human serum and leukocyte. Infect. Immun. 63: 4770-4773 15. Evans, E. E. 1962. The use of basic polysaccharides in histochemistry and cytochemistry: IV. Precipitation and agglutination of biological materials by *Aspergillus* polysaccharides and deacetylated chitin. J. Histochem. Cytochem. 10: 24-28 16. Frandberg, E. and Schnurer, J. 1994. Evaluation of a chromogenic chito- oligosaccharide analogue, p-nitrophenyl-N, N' -diacetylchitobiose, for the measurement of the chitinolytic activity of bacteria. J. Appl. Bacteriol. 76: 259-263. 17. Fukada, Y., Kimura, K. and Ayaki, Y. 1991. Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. Lipids. 26: 395-399. 18. Gomez Ramirez, M., Rojas Avelizapa, L. I., Rojas Avelizapa, N. G. and Cruz Camarillo, R. 2004. Colloidal chitin stained with Remazol Brilliant blue R, a useful substrate to select chitinolytic microorganisms and to evaluate chitinases. J. Microbiol. Meth. 56(2): 213-219. 19. Haran, S., Schickler, H. and Chet, I. 1996 Molecular mechanisms of Chitinolytic enzymes involved in the biocotrol activity of *Trichoderma harzianum*. Canadian Journal of Microbiology. 142: 2321-2331. 20. Herrmann, J. B. and Woodward, S. C. 1972. An experimental study of wound healing accelerators. Am. Surg. p 26-34. 21. Hiraga, K., Oda, K. and Aiba, S. I. 2002. Production of N-acetyl-D-glucosamine from -chitin by crude enzymes from Aeromonas hydrophila H-2330. Carbohydr. Res. 337: 761-763. 22. Imoto, T and K. Yagishita. 1971. A simple activity measurement of lysozyme. Agric. Biol. Chem. 35: 1154-1156. 23. Jeuniaux, C. 1966. In methods in Enzymology. p.644-654. Academic Press. New York, USA. 24. Kamel, M. and Alnahdi, M. 1992. Inhibition of superoxide anion release from human polymorphonuclear leukocytes by N-acetyl-galactosamine and N-acetyl- glucosamine. Clinical Rheumatology. 11 (2): 254-260. 25. Kajimoto, O., Sakamoto, K., Takamori, Y., Kajitani, N., Imanishi, T., Matsuo, R. and Kajitani, Y. 1998. Therapeutic activity of oral glucosamine hydrochloride in osteoarthritis of the knee: A placebo-controlled, double-blind, cross-over study. Nippon Rinsho Eijo Gakkaishi. 20: 41-47. 26. Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymer in food. Food Technol. 1: 85-88. 27. Kuk, J. H., Jung, W. J., Jo, G. H., Kim, Y. C., Kim, K. Y. and Park, R. D. 2005. Production of N-acetyl-D-glucosamine from chitin by Aeromonas sp. GJ-18 crude enzyme. Appl. Microbiol. Biotechnol. 68(3): 384-389. 28. Kumar, R. and Majeti, N. V. 2000. A review of chitin and chitosan applications. Reactive and functional polymers. 46: 1-27. 29. Leah, R., Tommeruo, H., Svendsen, I. and Mundy, J. 1991. Biochemical and molecular characterization of three barley seed proteins with antifungal properties. J. Biol. Chem. 266(3) : 1564-73. 30. Lorito, M. 1996. Mycoparasitic interaction relieves binding of the Cre1 carbon catabolite repressor protein to promoter sequences of the ech42 (endochitinase-encoding) gene in the *Trichoderma harzianum*. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States

of America. 93: 14868-14872. 31. Mori, T., Okumura, M., Matsura, M., Ueno, K., Tokura, S., Okamoto, Y., Minami, S. and Fujinaga, T. 1997. Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts in vitro. Biomaterials. 18: 947-951. 32. Molano, J., Duran, A. and Cabib, E. 1977. A rapid and sensitive assay for chitinase using tritiated chitin. Anal. Biochem. 83(2): 648-656. 33. Muzzarelli, R. A. A. 1985. In the polysaccharides, Aspinall, G. O.(Ed.), p.427-451. 34. Muzzarelli, R. A., Mattioli-Belmonte, M. and Tietz, C. 1994. Stimulatory effect on bone formation exerted by modified chitosan. Biomaterials. 15: 1075-1081. 35. Nakajima, M., Atsumi, K., Kifune, K. 1986. Chitin is an effective material for sutures. Japan. J. Surg. 16: 418-424. 36. Nishimura, K., Nishimura, S., Seo, H., Nishi, N., Tokura, S. and Azuma, I. 1987. Effect of multiporous microspheres derived from chitin on the activation of mouse peritoneal macrophages. Vaccine. 5: 136-140. 37. Nishimura, S., Nishi N., Tokura, S. 1986. Bioactive chitin derivatives. Activation of mouse-peritoneal macrophages by O-carboxymethyl chitins. Carbohydr. Res. 146: 251-258. 38. Otakara, A., Mitsutomi, M. and Uchida, Y. 1979. Purification and some properties of chitinase from *Vibrio* sp. J. Ferment. Technolo. 57(3): 169-177. 39. Overdijk, B. and Steijn, G. J. V. 1994. Human serum contains a chitinase: identification of an enzyme, formerly described as 4-methylumbelliferyl-tetra- N-acetylchitotetraoside hydrolase (MU-TACT hydrolase), Glycobiology. 4(6): 797-803. 40. Peluso, G., Petillo, O. and Ranieri M. 1994. Chitosan-mediated stimulation of macrophage function. Biomaterials. 15: 1215-1220. 41. Pichyangkura, R., Kudan, S., Kuttiyawong, K., Sukwattanasinitt, M. and Aiba, S. I. 2002. Quantitative production of 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose from crystalline chitin by bacterial chitinase. Carbohydr. Res. 337: 557-559. 42. Revah-Moiseev, S. and Carroad, A. 1981. Conversion of the enzymatic hydrolysate of shellfish waste chitin to single-cell protein. Biotechnol. Bioeng. 23: 1067-1078. 43. Roberts, W. K. and Selitrennikoff, C. P. 1988. Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. J. Gen. Microbiol. 134: 169-176. 44. Salvatore, S., Heuschkel, R., Tomlin, S., Davies, S. E., Walker-Smith, J. A., French, I. and Murch, S. H. Aliment. Pharmacol. Ther. 2000. 14:1567-1579. 45. Sashiwa, H., Fujishima, S., Yamano, N., Kawasaki, N., Nakayama, A., Muraki, E., Sukwattanasinitt, M., Pixhyangkura, R. and Aiba, S. I. 2003. Enzymatic production of N-acetyl-D-glucosamine from chitin. Degradation study of N-acetyl-chitooligosaccharide and the effect of mixing of crude enzymes. Polym. 51: 391-395. 46. Shyu, S. S., Mi, F. L., Wu, Y. B., Lee, S. T., Shyong, J. Y. and Huang, R. N. 2001. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. Biomaterials. 22: 165-173. 47. Sirica, A. E. 1971. Selective aggregation of L1210 leukemia cells by the polycation chitosan. J. Nat. Cancer Inst. 47: 377-388. 48. Suzuki, S., Okawa, Y., Okura, Y., Hashimoto, K. and Suzuki, M. 1982. Proceedings of the second international conference on chitin and chitosan. Sapporo, Japan., p. 210-212 49. Suzuki, S., Watanabe, T., Mikami, T., Matsumoto, T. and Suzuki, M. 1992. Immuno-enhancing effects of N-acetyl-chitohexanose. In advance in chitin and chitosan, p 96-105. 50. Usami, Y., Okamoto Y. and Minami, S. 1994. Chitin and chitosan induce migration of bovine polymorphonuclear cells. J. Veter. Med. Sci. 56: 761-762.