

竹纖維分解菌株篩選及其分解酵素之探討 = Isolation and cellulase characteristics for bamboo cellulolytic microbes

陳錠玄、林啟文

E-mail: 9708327@mail.dyu.edu.tw

摘要

本研究自竹筍殼廢棄物中，篩選、分離及純化出具可分解竹纖維能力之微生物，以進行其生長條件與纖維素分解酵素之特性探討。此外，利用物化法與酵素法以評估竹粉纖維與竹漿纖維被水解成可醣酵糖類之轉換率。研究結果顯示：(1)纖維素分解菌株*Streptomyces griseoaurantiacus* ZQBC691分解carboxymethyl cellulose (CMC)之最佳生長條件為：初始pH為5.3、震盪速率為150 rpm、培養溫度為30°C 及 CMC濃度為15 g/L；(2)於不同商業碳源方面，ZQBC691有較佳水解CMC與salicin之能力，而水解avicel之能力極差；(3)於天然碳源方面，ZQBC691較無法直接分解竹粉，但能分解竹漿纖維，其產物有葡萄糖、乳酸與醋酸；(4)ZQBC691有較佳CMCase，其最適作用pH值為5且酵素活性為37.38 IU/L；最適作用溫度為50°C 且酵素活性為34.13 IU/L；(5)較佳稀酸水解竹粉條件為：處理溫度為100°C、竹粉克數為2 g、處理時間為60 min及硫酸濃度為0.2 M；商業纖維素分解酵素水解竹漿纖維之轉換率較竹粉高。

關鍵詞：竹纖維；纖維素分解菌株；纖維素分解酵素

目錄

目錄 封面內頁 簽名頁 博碩士論文暨電子檔案上網授權書.....	iii	中文摘要.....	iv	英文摘要.....
v 誌謝.....	vi	目錄.....	viii	圖目
xii 表目錄.....	xiv	第一章 緒論.....	1	1.1.1 前言.....
1.1.2 研究目的.....	2	第二章 文獻回顧.....	2	2.1 纖維素簡介.....
2.2 纖維素分解酵素介紹.....	6	2.2.1 內切型纖維素分解酵素.....	6	2.2.2 外切型纖維素分解酵素.....
2.2.3 -葡萄糖?酵素.....	7	2.2.4 Cellulose.....	8	2.3 分解纖維素之微生物種類.....
2.4 國內外纖維素分解酵素之相關研究.....	10	2.4.1 國內外纖維素分解酵素之相關研究.....	10	2.4.2 國內外纖維素分解酵素之相關研究.....
3. 竹子背景說明.....	16	第三章 材料與方法.....	18	3.1 可分解纖維素之微生物篩選.....
3.1.1 菌株來源.....	20	3.1.2 培養基組成.....	20	3.1.3 菌種馴養.....
3.1.5 菌種保存.....	23	3.2 改良式竹纖維固態培養基.....	23	3.3 纖維分解菌株之批次搖瓶生長條件實驗.....
3.4 稀酸處理竹粉之水解實驗.....	24	3.4.1 利用酸處理竹粉之水解實驗結果.....	34	3.4.2 比較竹粉於不同水解條件之各糖類轉換率.....
3.4.3 不同初始pH對ZQBC691分解CMC之影響.....	46	3.4.3.1 不同初始pH對ZQBC691分解CMC之影響.....	46	3.4.3.2 不同震盪速率對ZQBC691分解CMC之影響.....
3.4.3.3 不同培養溫度對ZQBC691分解CMC之影響.....	48	3.4.3.3 不同培養溫度對ZQBC691分解CMC之影響.....	50	3.4.3.4 不同纖維素碳源種類與濃度對ZQBC691分解纖維素能力之影響.....
3.4.3.5 不同CMC濃度對ZQBC691水解CMC能力之影響.....	53	3.4.3.4.1 不同CMC濃度對ZQBC691水解CMC能力之影響.....	53	3.4.3.4.2 不同avicel濃度對ZQBC691水解avicel能力之影響.....
3.4.3.6 不同salicin濃度對ZQBC691水解salicin能力之影響.....	57	3.4.3.4.3 不同salicin濃度對ZQBC691水解salicin能力之影響.....	57	3.4.3.4.4 不同竹粉濃度對ZQBC691水解竹粉能力之影響.....
3.4.4 不同竹粉濃度對ZQBC691水解竹粉能力之影響.....	60	3.4.4.1 不同竹粉濃度對ZQBC691水解竹粉能力之影響.....	60	3.4.4.2 異構酶活力試驗.....
3.4.5 商業纖維素分解酵素分解竹粉與竹漿之試驗.....	64	3.4.5.1 商業纖維素分解酵素活力試驗.....	64	3.4.5.2 商業纖維素分解酵素活力試驗.....
3.5 結論與建議.....	72	3.5.1 結論.....	72	3.5.2 建議.....
參考文獻.....	75	附錄一 本研究菌種定序結果.....	79	

參考文獻

- 尤智立，(2003)，嗜高溫纖維分解菌纖維分解酵素的探討，國立中山大學生物科學研究所，碩士論文。行政院農業委員會
http://www.coa.gov.tw/show_index.php 李建政、汪群慧，(2004)，廢棄物資源化與生物能源，化學工業出版社，北京。李鐵民、馬溪平、劉宏生，(2005)，環境微生物資源原理與應用，化學工業出版社，北京。李文龍，(2003)，澱粉葡萄糖化酵素固定在幾丁聚醣之研究，國立雲林科技大學工業化學與災害防治研究所，碩士論文。周柏伸，(2006)，利用酸前處理提高纖維酵素水解蔗渣效率之研究，國立台

灣大學生物產業機電工程學研究所，碩士論文。周姿佑，(1999)，農業纖維素誘導嗜高溫菌生產纖維素？之探討，國立台灣大學食品科技研究所，碩士論文。郁儀豪，(2003)，蔗渣堆肥中嗜高溫菌之分離與應用，國立臺灣大學環境工程學研究所，碩士論文。陳威廷，(2004)，纖維素水解菌之培養策略與纖維素水解酵素之鑑定，國立成功大學化學工程學系，碩士論文。張元銘，(2004)，快速熱裂解技術應用於生質燃料之製作，嘉南藥理科技大學環境工程與科學系，碩士論文。黃宜瑾，(2007)，介質研磨對纖維素之酵素水解動力學的影響，國立台灣大學生農學院食品科技研究所，碩士論文。葉丁源，(1997)，嗜高溫放線菌纖維素分解酵素之探討，國立台灣大學農業化學研究所，碩士論文。齊倍慶，(2001)，從堆肥中篩選纖維素分解酵素生產菌及其酵素性質研究，國立清華大學生命科學系，碩士論文。Alexander, M., (1977) "Introduction to Soil Microbiology, 2nd ed." John Wiley & Sons, New York, pp: 1-554. Beguin, P., (1987) "Cloning of cellulase gene" Critical Reviews in Biotechnology, 6: 129-162. Bhat, M.K., and S. Bhat, (1997) "Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications" Biotechnology Advances, 15: 583-520. Cosgrove, D.J., (1998) "Cell walls: structures, biogenesis, and expansion" In: Plant Physiology, Taiz L., Zeiger E., Eds., Sinauer Associates, Inc., Sunderland, pp: 409-443. Desvaux, M., (2005) "Clostridium cellulolyticum: model organism of mesophilic cellulolytic clostridia" FEMS Microbiology Reviews, 29: 741-764. Ghose, T.K., (1987) "Measurement of cellulase activities" Pure and Applied Chemistry, 59: 257-268. He, L., W. Li, Y. Huang, L. Wang, Z. Liu, B. Lanoot, M. Vancanneyt, and J. Swings, (2005) "Streptomyces jetaisiensis sp. nov., isolated from soil in northern China" International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 55: 1939-1944. Ilme'n M., A. Saloheimo, M.L. Onnela, and M.E. Penttila, (1997) "Regulation of cellulase gene expression in the filamentous fungus Trichoderma reesei" Applied and Environmental Microbiology, 63: 1298-1306. Kidby, D.K., and D.J. Davidson, (1973) "A convenient ferricyanide estimation of reducing sugars in the nanomole range" Analytical Biochemistry, 55: 321-325. Kim, Y.S., H.C. Jung, and J.G. Pan, (2000) "Bacterial cell surface display of an enzyme library for selective screening of improved cellulase variants" Applied and Environmental Microbiology, 66: 788-793. Lever, M., (1972) "A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates next term" Analytical Biochemistry, 47: 273-279. Mandels, M., E.T. Reese, (1957) "Induction of cellulase in Trichoderma Viride as influenced by carbon sources and metals" Journal of Bacteriology, 73: 269-278. Matsumoto, N., I. Momose, M. Umekita, N. Kinoshita, M. Chino, H. Iinuma, T. Sawa, M. Hamada, T. Takeuchi, (1998) "Diperamycin, a new antimicrobial antibiotic produced by Streptomyces griseoaurantiacus MK393-AF2. I. Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical properties and biological activities" The Journal of Antibiotics, 51: 1087-1092. Miller, G.L., (1959) "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar" Analytical Chemistry, 31: 426-428. Murai, T., M. Ueda, T. Kawaguchi, M. Arai, and A. Tanaka, (1998) "Assimilation of cellooligosaccharides by a cell surface-engineered yeast expressing -glucosidase and carboxymethylcellulase from Aspergillus aculeatus" Applied and Environmental Microbiology, 64: 4857-4861. Ortega, N., M. D. Bustó, and M. P. Mateos, (2001) "Kinetics of cellulose saccharification by Trichoderma reesei cellulases" International Biodeterioration & Biodegradation 47: 7-14. Ramos, L.P., (2003) "The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials" Qui'mica Nova, 26: 863-871. Scurlock, J.M.O., D.C. Dayton, B. Hames, (2000) "Bamboo: an overlooked biomass resource" Biomass and Bioenergy, 19: 229-244. Singh, A., and K. Hayashi, (1995) "Microbial cellulase: protein architecture, molecular properties, and biosynthesis" Advances In Applied Microbiology, 40: 1-44. Somogyi, M., (1952) "Notes on sugar determination" Journal of Biological Chemistry, 195: 19-23. Teather, R.M., and P.J. Wood, (1982) "Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen" Applied and Environmental Microbiology, 43: 777-780. Wen, Z., W. Liao, and S. Chen, (2005) "Production of cellulase by Trichoderma reesei from dairy manure" Bioresource Technology, 96: 491-499. Wood, T.M., (1985) "Properties of cellulolytic enzyme systems" Biochemical Society Transactions, 13: 407-410. Zhang, L., D. Ruan, and S. Gao, (2002) "Dissolution and regeneration of cellulose in NaOH/thiourea aqueous solution" Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 40: 1521-1529. Zhang, Y.H.P., M.E. Himmel, and J.R. Mielenz, (2006) "Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies" Biotechnology Advances, 24: 452-481. Zhang, Y.H.P., and L.R. Lynd, (2005) "Determination of the number average degree of polymerization of cellobextrins and cellulose with application to enzymatic hydrolysis" Biomacromolecules, 6: 1510-1515.