



財團法人  
食品工業發展研究所  
Food Industry Research and Development Institute

# 生物資源保存及研究簡訊

第30卷第3期

中華民國 106 年 9 月發行

補助單位：經濟部技術處 / 執行單位：財團法人食品工業發展研究所

## 本期內容

### 研發成果

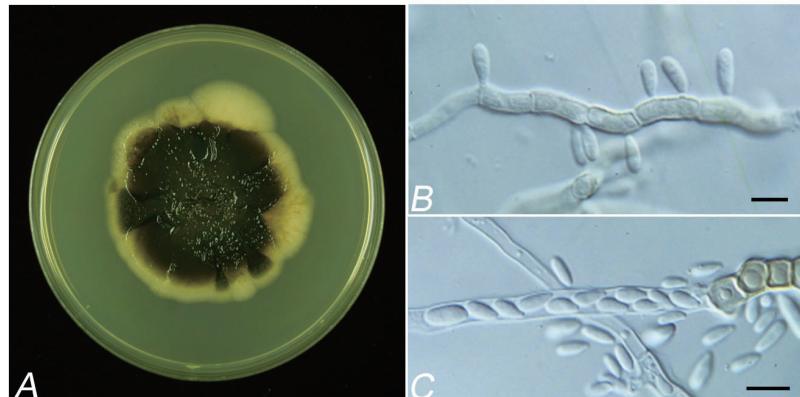
1

- ◎ *Aureobasidium* 屬真菌的價值探索
- ◎ 木黴菌之產業菌種開發與應用
- ◎ 光合菌的產業應用價值
- ◎ 放線菌在酵素產業之開發應用

## *Aureobasidium* 屬真菌的價值探索

生資中心 / 研究員

劉桂郁



A. 菌落形態；B. 芽生孢子；C. 內分生孢子 (Bar= 5  $\mu$ m)

### 前言

短梗黴屬 (*Aureobasidium*) 廣泛存在於各種生態環境，其最為人熟知的出芽短梗黴 (*Aureobasidium pullulans*) 可生產聚三葡萄糖 (pullulan)，通稱普魯蘭膠、 $\beta$ -聚葡萄糖 ( $\beta$ -glucan)、fructosyltransferase、aureobasidin 等產物，廣泛應用於食品、化工、生技、化妝品、醫藥及農業等領域。其中 pullulan 和  $\beta$ -glucan 列載於衛福部審核通過之「可供食品使用原料彙整一覽表」，此外亦拓展短梗黴屬在生物材料與生物醫學領域之應用，具有可觀之市場價值。本文著重於短梗黴屬之特性、分類進展、應用領域，以及食品所生資中

心之資源庫建置和研究現況。

### 短梗黴屬的特性與潛力

#### 1. 生長特性

*Aureobasidium* 屬的菌落形態具有多型性，快速擴展的菌落初期呈現淡黃色至粉紅色，由於出芽細胞的產生，菌落外觀呈現黏滑狀，隨後形成寬且多核的菌絲以及芽生孢子 (blastoconidia)，有些菌株的菌絲或孢子產生深色色素或是厚壁孢子 (chlamydospores)。發育之後，菌落轉變為褐色至黑色，部份種類可形成內分生孢子 (endoconidia)。*Aureobasidium* 於生活史中可產生出芽細胞及黑色菌體，被視為黑酵母之一類 (Zalar et al., 2008)。

#### 2. 分類演進

短梗黴屬 (*Aureobasidium*) 在分類學上隸屬於真菌界 (*Fungi*)、子囊菌門 (*Ascomycota*)、盤菌亞門 (*Pezizomycotina*)、座囊菌綱 (*Dothideomycetes*)、座囊菌目 (*Dothideales*)、座囊菌科 (*Dothioraceae*)，到目前為止以 *Aureobasidium pullulans* 為各項資料庫中主要使用的菌名，也是被研究最多的種。2011年之後，陸續發表，*A. iranianum*, *A. leucospermi*, *A. proteae*, *A. thailandense* 等菌種 (Gostinčar et al., 2014)。

*Aureobasidium pullulans* 種內的多型性相當明顯，Zalar等學者 (2008) 以 rDNA (internal transcribed spacers, partial 28S rDNA)，以及  $\beta$ -tubulin (TUB)、translation elongation factor (EF1 $\alpha$ )、elongase (ELO) 基因部份序列分析重新定義 *Aureobasidium pullulans* 及其變種，將 *Aureobasidium pullulans* species complex 區分為 *A. pullulans* var. *pullulans*, *A. pullulans* var. *melanogenum*, *A. pullulans* var. *namibiae*, *A. pullulans* var. *subglaciale*。分析 *Aureobasidium pullulans* 種內四個變種全基因組序列，對照 *Saccharomyces cerevisiae* 及其近似種全基因組序列之差異，顯示 *A. pullulans* 四個變種之差異足以定義為獨立的種，分別為 *A. pullulans*, *A. melanogenum*, *A. namibiae*, *A. subglaciale*。依據此定義，產業用菌株 ATCC 62921, DSM 14940, 及 DSM 14941 可鑑定為 *A. pullulans*, NRRL Y-6220 可鑑定為 *A. melanogenum* (Gostinčar et al., 2014)。

### 3. 探索及研究現況

*Aureobasidium pullulans* 生長

於 2–35°C，廣泛存在於自然界，例如植物表面、潮溼的物質、木材、土壤、海水、鹽田、岩石、羽毛等，亦於油漆、皮革、塑膠、棉花、光學鏡片、蛋糕、機械設備等基質分離得到。*A. pullulans* 可以生長在木材或塗佈油漆之木材表面，造成油漆的劣變，因此被指定為油漆、塗料、黏著劑、紡織品、聚合物以及木材抗真菌劑等多項產品防黴試驗之測試菌株。然而一類的 *A. pullulans* 為伺機性病原菌，感染人體多透過外傷途徑，亦對於植物造成褐斑病。研究人員於 1997~1998 年間調查 1986 年車諾比核電廠爆炸的四號反應爐，由其反應爐放射線屏蔽牆內分離出的真菌菌相包含 19 屬 37 種，其中 *A. pullulan* 為出現頻率最高的真菌之一，這些真菌之共同特徵為大部分具有黑色素 (Zhdanova et al., 2000)，因菌體可產生黑色素，具有抗輻射特性潛力。近年研究人員由其中挑選 8 株耐輻射真菌送至國際太空站 (International Space Station) 暴露於微重力 (microgravity) 的狀態下，顯示可產生有價值的代謝產物並具有向輻射性 (positive radiotropism)，目前已完成全基因體定序，*A. pullulans* 為其中一員，此研究對於未來人類在太空生活中，對抗輻射的研究探索具有深遠的意義 (Singh et al., 2017)。

### *Aureobasidium* 的多元化產業用途

*Aureobasidium pullulans* 可生產胞外多醣 (pullulan,  $\beta$ -glucan)、酵素 (fructosyltransferase, xylanase)、抗生素 (aureobasidin)、葡萄糖酸 (gluconic acid)、丁四醇 (erythritol)，以及次級代謝產物 (diketopiperazines, orcinotriol)。

此外，可應用於生物防治、促進植物生長、重金屬吸附、廢棄物之分解 (phenol, methanol, and formaldehyde, plastics)，於食品、生技、醫藥、農業與環保等領域具有相當之重要性，以下聚焦於胞外多醣、抗生素以及生物防治之應用。

#### 1. 普魯蘭膠 pullulan

1938 年 Bauer, R. 發現 *A. pullulans* 可產生胞外多糖，1958 年 Bernier, B. 分離此多糖並研究其特性，1959 年 Bender, H. 等學者命名胞外多糖為 pullulan，至 1960 年代 pullulan 的基本結構被解析 (Singh et al., 2008)。Pullulan 結構為  $\alpha$ -1,4/1,6 glucan，具有易溶於水、低黏度、被模形成性、成型性、接著性及固接性，再加上能被微生物完全分解，有別於其他水溶性高分子，因此在食品及工業上有相當廣泛的用途，QYR Research (<http://www.qyresearchglobal.com/goods-459729.html>) 報導指出 pullulan 全球市場 2016–2022 之年均複合增長率 (CAGR, Compounded Annual Growth Rate) 約為 6.12%。

##### (1) 食品業

應用於食品之包裝、安定及成型，如普魯蘭膜 (pullulan film) 對於注重風味之食品、於空氣中不安定之油脂、酵素、醫藥品以及茶包等，可用於新穎包裝型態之開發；普魯蘭塗膜 (pullulan coating) 對於核果、魚、水果等食品可防止氧化及變色並保持鮮度；高鹽度食品的增黏安定化，用於油膏、烤肉醬之加工品、海膽醬等珍味類之增黏、光澤性；做為食品用糊材，用於魚貝類加工之魚板或軟糖產品；其他如火腿香腸之凝膠劑、冷凍食品之

保水性、油炸物防止老化等用途  
(蕭, 2002; Singh & Saini, 2012)。

### (2) 化工業

應用於金屬防鏽膜或塗裝，例如印刷用平板保護膜、紙用塗工劑紙張塗裝、生物可分解性之絮凝劑、包裝材料等。於造紙業做為紙張覆膜，可增進印刷的光澤度，膠粘劑強度，儲存期間黏性的穩定度。比起木紙漿造的紙，pullulan paper 更具優異的強度與折疊阻力。由於高親水性及油墨可接受性，適合印刷與書寫(蕭, 2002; Singh & Saini, 2012)。

### (3) 農業

Pullulan 可做為無公害之肥料黏結劑與種子表面覆膜(Singh & Saini, 2012)。安全無毒可食，具可塑性、成膜性及化學穩定性良好，與植物(特別是與農作物)有良好的生物相容性、薄膜密封性佳且可被微生物分解，不會影響種子的正常呼吸及發芽率，適用於種子表面覆膜(China Patent CN20141840420)。

### (4) 化妝品

Pullulan 可形成透明的膜，具有保濕性、水溶性與黏性，無色無味且對人體無毒性無刺激性，因此適用於化妝品、乳液、美髮劑與洗髮精配方。水溶液可在皮膚表面成膜，提高皮膚的緊緻度，廣泛應用於眼霜、抗皺精華等產品。其水溶液潤滑性很好。乾燥後會形成薄膜，具有保濕、物理抗皺的效果，可運用於面膜產品(Singh & Saini, 2012)。

### (5) 醫藥

(a) 膠囊：空膠囊市場因老年人口的劇增、技術創新、製藥產業用途的增加及營養補充品產業迅速的擴大等因素，未來數年將大幅成長。由於法規、文化、宗教的習俗、病人的飲食敏感性

及藥品不相容性等因素，限制明膠膠囊市場，預期非明膠膠囊市場將大幅提昇。Pullulan 為非明膠膠囊重要素材之一，目前已有產品上市(Singh & Saini, 2012)。

(b) 藥物釋放載體：pullulan microspheres 具有生物分解性及生物相容性之優點應用於藥物釋放之 pH 值和溫度敏感性微球體(Fundueanu et al., 2008)。此外，pullulan 衍生物可做為疫苗的結合物，pullulan 與病毒之共價附著顯著增進免疫球蛋白 IgG、IgM 抗體的產生，減少免疫球蛋白 IgE 抗體，以及病毒之失活與去毒(US Patent 4659569; Singh & Saini. 2012)。膽固醇基普魯蘭奈米粒子可做為抗癌藥物載體(Sato et al., 2008; Singh & Saini. 2012; Zhang et al., 2013)。

(c) 組織工程之聚合物支架：pullulan 獨特之  $\alpha$ -(1,4) 及  $\alpha$ -(1,6) 糖苷鍵結構，表面有 9 個羥基，具備組織工程支架材料之物理特性，可建構出三度空間的立體框架，讓植入的細胞可以在其中增生及分化，同時具備良好之安全性、機械特性、生物相容性、生物可分解性，目前 pullulan 及其衍生物可應用於血管組織工程、骨骼修復及皮膚組織工程等(Prajapati et al., 2013; Singh et al., 2016)。

### (2) $\beta$ -聚葡萄糖 $\beta$ -glucan

許多生物可產生  $\beta$ -glucan，然而不同物種產生的  $\beta$ -glucan 化學結構不同，因而影響其水溶性與生理功效。 $\beta$ -(1,3)-D- 糖苷主鏈與  $\beta$ -(1,6)-D- 糖苷支鏈的  $\beta$ -glucan 可調節免疫系統，達到抗腫瘤、抗發炎、抗感染疾病及抗過敏等功效。*A. pullulans* 產生的  $\beta$ -glucan 具有高度  $\beta$ -(1,6)-D- 糖苷支鏈，具良好生理功效，

許多國家已核准食品添加物與保健食品的使用(Muramatsu et al., 2012)。其他物種量產  $\beta$ -glucan 則需經過萃取過程，*A. pullulans* 之  $\beta$ -glucan 係以培養液中水溶性黏性液體型式產生，因此 *A. pullulans* 產生的  $\beta$ -glucan 可直接做為食品添加物使用且產量與其他生物相當，已有多項產品上市。

### 3. 抗生素 aureobasidin

*A. pullulans* 產生之 aureobasidins 為抗真菌劑，於 1991 年由 Takesako 等學者首次發表，其中以 aureobasidin A (AbA) 之抗菌能力最強，AbA 是一種環酯肽類抗生素，與 amphotericin B 比較，aureobasidin A 對 *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichophyton*, *Microsporum* 及 *Phialophora* 有較佳之抗性，主要用於治療嚴重及具有致命危險的全身性黴菌感染。真菌生長時需 inositol phosphorylceramide (IPC) synthase 合成細胞膜所需之神經脂質(sphingolipids)，aureobasidin A 的作用機制為抑制 IPC synthase，導致 sphingolipids 的合成量不足造成細胞膜破裂，進而殺死真菌(Zhong et al., 2000)。目前此類雖為治療黴菌感染的主流，但藥物的毒性或是因劑量增加而導致的副作用，限制該藥物在臨床上的使用。此外 aureobasidin A 天然化合物的另一項缺點為對 *Aspergillus* 菌株之抗菌活性不佳，尤其是對重要病原菌 *Aspergillus fumigatus* 不具抗菌活性，使用上受限。AureoGen Bioscience 公司發明新穎性的合成化學製程，以符合成本效益的步驟，有效修飾 AbA 結構，2015 年 12 月將 AbA project (chemistry and compounds) 技術授權 Merck 公司持續進行開

發 (<http://www.aureogen.com>)。

#### 4. 生物防治

*A. pullulans* 為植物表棲優勢真菌之一，因此具有生物防治之應用潛力。奧地利生物農藥公司 BIO-FERM 的生物製劑包含 *A. pullulans* DSM 14940 以及 DSM 14941，施用於果樹與果實，可防治仁果的儲存病害以及葡萄、漿果與核果之病害，不會產生農藥殘留及抗藥菌株的疑慮 (Binder *et al.*, 2012)。

### 生資中心在 *Aureobasidium* 資源收集與開發

生資中心收存之 *Aureobasidium* 菌種資源有 390 株以上，主要分離自植物、昆蟲、軍隊設備、土壤、白雲石大理岩、菇菌、岩石、海水等多樣化基質，菌株數量最多的種是 *A. melanogenum*。*Aureobasidium* 菌種資源之中，本土菌株占比達 96% 以上，其中 135 株為清華大學李清福教授以商用回饋模式 (BCRC Partner) 寄存，可望提高本土資源的產業應用效益。台灣特有的微生物資源將可提供創新的素材，在智慧財產權的保護之下發展差異化的產品，強化本土產業的競爭優勢，為國家發展生物經濟的優勢與機會。

同時本中心建立 *Aureobasidium* 屬菌種之 DNA 條碼資料及 MALDI-TOF 蛋白質質譜指紋資料，做為菌種歸群篩選、產品研發與製程品管之依據，期能成為產業研發創新之助力。此外，針對 *A. pullulans* 生產 β-glucan 之特性，選用本土菌株進行篩選，潛力菌株經由製程產品開發與功效評估的加值，發揮經濟價值。

### 結語

出芽短梗黴之菌體及產物，廣泛應用於食品、化工、生技、化妝品、醫藥及農業等領域，已有多項產品上市，具有可觀之經濟價值。台灣蘊藏豐富多樣的菌種資源，由菌種分離純化鑑定程序，有用的生物資源得以异地保存，展現其科學價值，透過特性篩選、製程開發與產品設計，逐步實現微生物資源之市場價值。

### 參考文獻

- 蕭興仁。2002。國立交通大學出版社。85-113。
- Binder, E.M. *et al.* 2012. US patent 20120237634.
- Fundueanu, G. *et al.* Biomaterials 29:2767-2775.
- Gostin ar, C. *et al.* 2014. BMC Genomics. 15:549.
- Muramatsu, D. *et al.* 2012. PLoS One 7:e41399.
- Prajapati, V.D. *et al.* 2013. Carbohydr Polym. 95:540-549.
- Sato, K. *et al.* 2008. EJC Suppl. 6:139.
- Singh, N.K. *et al.* 2017. Genome Announc. 5: e01602-16.
- Singh, R.S. *et al.* 2016. Carbohydr Polym. 153:455-462.
- Singh, R.S. *et al.* 2008. Carbohydr Polym. 73:515-531.
- Singh, R.S. & Saini, G.K. 2012. Springer-Verlag, London. 509-553.
- Zalar, P. *et al.* 2008. Stud Mycol. 61:21-38.
- Zhang, N. *et al.* 2013. Pharmaceutics. 5:329-352.
- Zhdanova, N.N. *et al.* 2000. Mycol Res. 104:1421-1426.
- Zhong, W. *et al.* 2000. Antimicrob Agents Chemother. 44:651-653.

## 木黴菌之產業菌種開發與應用

### 生資中心 / 副研究員 余立文

### 前言

有機農業的生產體系中，生物防治是一極具潛力的作物病蟲害防治策略，其可漸漸取代一些合成化學藥劑的使用，減少土壤與水源的污染及對環境生態的破壞，並增加有益微生物存活，實為農業生物技術發展重要的一環。BCC Research 報導指出 (Chen, 2017)，2016 年生物製劑的世界市場達 33.6 億美元，預估年成長率為 17.4%，至 2025 年市場值約為 88.2 億美元，於世界農業生技產業上具有很大的發展潛力。依 Baker 和 Cook 之

定義，生物防治為「運用自然的或人為的操作調整環境，寄主植物或拮抗微生物促進一種或一種以上微生物的活性，或大量導入一種或一種以上拮抗微生物，使存在於寄生或休眠的病原之接種密度或致病能力降低的方法。」。常用於植物病害的拮抗微生物，主要包括真菌、細菌、放線菌及病毒等四類，其中木黴菌屬 (*Trichoderma*) 被研究的最多，其用途也很廣，本文以木黴菌之開發與應用，做一說明。

### 木黴菌屬 (*Trichoderma* spp.)

#### (1) 分類演進

木黴菌屬於絲狀真菌類，是一類普遍存在環境的腐生性真菌，廣泛分佈於土壤、空氣、植物殘骸枯枝落葉及各種發酵物上，從植物根圈、葉片、種子及球莖表面經常可以分離到，亦是目前最普遍應用於生物防治菌種之一。依據 Rifai 學者所作之分類，早期木黴菌屬主要分為 9 個種，*T. piluliferum*, *T. polysporum*, *T. hamatum*, *T. koningii*, *T. aureoviride*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. pseudokoningii*, *T. viride*。但因這種分類法過於粗略，Bissett 學者將此屬之下再分成 5 個部 (section)，分別為 Trichroderma, Longibrachiatum, Saturnisporum, Pachybasium, Hypocreanum，其下再細分多個不同的種。而目前木黴菌屬約有 89 種。儘管在分類上，種與種的歸屬略有差異，被應用於生物防治方面，以 *T. polysporum*, *T. hamatum*, *T. koningii*, *T. harzianum*, *T. pseudokoningii*, *T. viride* 為主。

## (2) 基本特徵

木黴菌屬其菌絲呈無色多分支，分生孢子梗直立形成次級分支，分生孢子梗兩側著生瓶狀孢子梗，其瓶狀孢子梗略呈保齡球瓶狀，而瓶狀孢子則為綠色或黃綠色，圓形或橢圓形，具有黏性，常在瓶梗集結成團。部分菌株也會形成無色的厚膜孢子，細胞外壁光滑，間生或頂生，圓形或卵圓形，具雙重細胞壁可抵抗逆境，遇不良環境時之休眠包子。在 PDA 平板上木黴菌生長速度很快，菌落呈棉絮狀或緻密外觀，未產生分生孢子時為白色，產生後為綠色。除了觀察形態特徵，查詢檢索表的傳統方式之外，應用分生技術針對 ITS1 與 ITS2 進行序列分析或以及利用 HPLC 圖

譜分析木黴菌中二次代謝物所提供的資訊，亦被運用作為分類與鑑定的工具 (陳, 2014)。

## 木黴菌的拮抗機制

木黴菌的拮抗作用包含多種機制，如抗生作用 (antibiosis)、超寄生作用 (hyperparasitism)、競爭作用 (competition)、溶解作用 (lysis)、以及誘導植物產生系統性抗病 (induced systemic resistance)。

### (1) 抗生作用

木黴菌產生之抗生物質，大致可分為 trichothecenes、cyclic peptides 及含有 isocyanide 之物質，其中 trichothecenes 之代表物質為 trichodermin；cyclic peptides 類有 alamethicin (antibiotics U-22324)、trichorzianine、suzukacillin 及 trichotoxins 等。這些親脂性物質，對原核細胞及真核細胞都有抑制作用，其作用機轉是經由抗生物質插入細胞膜之磷脂，改變離子通透進而導致細胞死亡。而 isocyanide 類之物質，如由 *T. hamatum* 所產生的 trichoviridin 可以抑制 *Micrococcus leteus* 生長。木黴菌產生的抗菌肽 (peptaibols) 廣泛對植物病原細菌與真菌皆有抑制作用，其中 *T. koningii* SMF2 產生的 Trichokonin 已被純化，並具有明顯的抗生效果 (Song, 2006)。

### (2) 超寄生作用

以木黴菌對超寄生立枯絲核病菌 (*Rhizoctonia solani*) 為例，首先木黴菌生長趨向於可產生化學刺激物之立枯絲核病菌；接著為認知作用 (recognition)，此與病原菌含有的聚血素 (lectins) 及拮抗菌表面擁有的碳水化合物接收器有關；當木黴菌菌絲與病原菌菌絲接觸後，木黴菌菌絲會纏繞

於病原菌菌絲上，並產生類似附著器的構造，以侵入病原菌細胞。

### (3) 競爭作用

木黴菌菌絲之生長速度比一般土傳性真菌快，對逆境的耐受性強，有利於土壤中之競爭。文獻指出將木黴菌處理種子，可減少 25% 玉米根的電解質流失，乃因木黴菌奪取或阻斷病原菌孢子發芽所需養分。類似情形亦被發現於木黴菌可纏據於作物根部受傷處。木黴菌纏繞植物根部，佔據根圈土壤生態位 (niche)，保護植物免受病原菌感染，並提供植物所需營養，進而促進植物根部的生長 (Schuster & Schmoll, 2010; Hermosa *et al.*, 2012)。

### (4) 溶解作用

Trichoderma 可產生細胞壁分解酵素 cellulase、 $\beta$ -(1,3)-glucanase 及 chitinase，作為分解 *R. solani* 和 *Pythium spp.* 之細胞壁，使病原菌細胞壁發生外溶解作用而死亡。*T. asperellum* 產生之 chitinase、protease 與  $\beta$ -glucanases 能有效抑制玉米莖腐病菌 (*Fusarium graminearum*) 的生長，而有效防治病害的發生 (Li, 2016)。*T. harzianum* 產生之 chitinase 能有效抑制病原菌 *F. oxysporum* 之生長，而能促進大豆幼苗的生長 (Zhang, 2017)。

### (5) 誘導植物產生抗性

Windham 等學者發現 *T. koningii* 和 *T. harzianum* 可能誘導植物產生抗病性，防治潛隱性病害的發生，因而促進植物生長增加產量。木黴菌分泌一種蛋白質誘引物 (elicitor) 刺激植物體內產生茉莉酸 (jasmonic acid) 與水楊酸 (salicylic acid)，由根部移行至植物上部枝條及葉面，刺激植物產生植物抗菌素 (phytoalexin)，及刺激植物體內 peroxidase,

表 1 常見的木黴菌可以防治的病原菌與病害

病原菌	病害名稱
<i>Fusarium</i> spp.	蔬菜萎凋病 ( <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> )、綠豆萎凋病 ( <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i> )、棉花萎凋病 ( <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> ) 及 <i>F. solani</i> 、 <i>F. colmorum</i> 所引起的根腐病
<i>Rhizoctonia solani</i>	草皮褐斑病、水稻紋枯病
<i>Pythium</i> spp.	<i>Pythium debaryanum</i> 造成白菜、瓜類、棉花、番茄、茄子、煙草、人參、高粱及玉米等作物之猝倒病及根腐病
<i>Phytophthora</i> spp.	<i>Phytophthora citrophthora</i> 引起的檸檬樹根腐病、芋頭疫病 ( <i>P. colocasiae</i> ) 及 <i>P. parasitica</i> and <i>P. cinnamomi</i> 引起的蔬菜疫病
其他	<i>Heterobasidium annosum</i> , <i>Armillaria mellea</i> , <i>Ceratocystis ulmi</i> 及 <i>Chondrostereum purpureum</i> 及 <i>Phellinus</i> spp. 所引起之根腐病； <i>Sclerotium rolfsii</i> 所引起的白絹病； <i>Sclerotium cepivorum</i> 及 <i>Sclerotinia</i> spp. 所引起的菌核病； <i>Plasmiodiophora brassicae</i> 所引起的十字花科作物根瘤病

(摘自陳, 2014)

chitinase 活性增加，與刺激植物產生細胞結構性的改變，而導致植物產生自我防禦能力 (Martínez-Medina et al., 2013)。

### 木黴菌於作物防治上之應用

生物防治在病害防治之應用與發展上，可分成抑病土的探討、有機物的添加及導入拮抗微生物等幾個方向，自 1980 年代起，導入單一拮抗微生物防治病害為主要趨勢。其中導入木黴菌於病害防治上之應用，約可區分如下：

#### (1) 植物體表之防治

夏天紅櫟槭 (*Acer morrisoneense* Hayata) 接種 *T. harzianum* 可以保護傷口抑制層菌綱 (*Hymenomycetes*) 病原菌之侵入；李樹 (*Prunus salicina* Lindl) 接種 *T. viride* 可抵抗 *Stereum purpureum* 引起的銀葉病。*Trichoderma* 不僅有預防作用而且可以治療防治銀葉病。李、桃及油桃罹患銀葉病之主幹及主枝，每隔 10cm 打一個洞，導入灌注有 *T. viride* 活菌之木片釘 (0.8×10cm)，此法可以抑制病徵的發生，甚至在許多樹木大部分病徵都消失，此試驗所用之菌

株並不會產生抗生素或酵素，而且不會感染病原菌，此生物防治是透過免疫共生 (immunizing commensals) 期所產生的生物治療效果。法國與德國已有 *T. viride* 和 *T. polysporum* 混合之商品化產品，用以防治樹木銀葉病及菇類黃萎病 (verticillium wilt)；*Trichoderma* 片劑被用來治療荷蘭榆樹病 (*Ceratocystis ulmi*)。

除了施用於植物傷口外，木黴菌對葉部病害如灰黴病 (*Botrytis cinerea*)、白黴病 (*Sclerotinia sclerotiorum*)、白粉病 (*Sphaerotheca fusca*) 和露菌病 (*Pseudoperonospora cubensis*) 等葉部病原菌具有拮抗效果。水稻田間試驗可以有效防治褐斑病 (*Bipolaris oryzae*) 的發生，明顯減少葉部病斑，而增加稻米產量 (Abdel-Fattah et al., 2007)

#### (2) 應用於土壤之防治

在自然土中，*Trichoderma* 既有能力微寄生於植物病原菌之菌絲及休眠構造，並產生有毒擴散物質毒害其他真菌。利用次致死劑量之溴甲烷 (methyl bromide) 煙蒸土壤，*T. viride* 對 methyl bromide 之耐性較病原菌

強，而族群迅速生長，因此能防治 *Armillaria mellea* 所引起的柑橘根腐病。在澳洲添加尿素於土壤，保持土壤 pH 值於 3.9 以下，可以防治鳳梨根腐及心腐病，乃因 *Phytophthora* 之游走孢子囊形成減少，且嗜酸菌 *T. viride* 之族群迅速生長的結果。

木黴菌能夠廣泛的防治土壤傳播性病害的發生，文獻所載可被木黴菌防治的病原病害整理如表 1。

#### (3) 應用於作物蟲害的防治

木黴菌除了應用於作物病害方面，近年來許多研究也將其應用於蟲害防治方面。木黴菌會寄生於根瘤線蟲 (*Meloidogyne javanica*) 的卵塊上，也會纏繞 2 歲幼蟲導致其死亡，因此能有效防治根瘤線蟲危害作物的根系 (Sharon et al., 2007)。最新的研究更發現木黴菌可以刺激番茄植株產生系統性抗病機制，誘導植株產生茉莉酸與水楊酸移行至植株全身及根部，進而刺激植物產生過氧化物質，而能有效抵抗根瘤線蟲的感染 (Medeiros et al., 2017)，此研究結果顯示木黴菌可以刺激植物產生類似免疫系統，抵抗病原菌與害蟲的感染。

### 生資中心對木黴菌菌種之探索

食品所生資中心所於 1999 年開始先後與農委會藥毒所郭克忠博士，及農試所羅朝村博士合作，至全省各地農作區與球場採集分離木黴菌菌株，經分離鑑定後保存於中心。以收存之木黴菌庫針對多種植物病原菌 (表 2)，建立拮抗功能篩選方法，獲得具有拮抗作物病害與促進植物生長雙重功效的潛力菌株。同時建立木黴菌厚膜孢子的商業化生產製程，所生產之厚膜孢子相較市售之分

表 2 生資中心收存之木黴菌對多種植物病原菌拮抗功能篩選

病原菌	作物病害
<i>Fusarium</i> spp.	苦瓜萎凋病 ( <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>momordicae</i> )
<i>Rhizoctonia solani</i>	甘藍立枯病、水稻紋枯病、草皮褐斑病
<i>Pythium</i> spp.	胡瓜猝倒病菌 ( <i>P. aphanidermatum</i> )
<i>Phytophthora</i> spp.	茄科疫病 ( <i>P. capsici</i> )
<i>Ralstonia solanacearum</i>	茄科青枯病
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	葡萄炭疽病
<i>Botrytis</i> spp.	草莓灰黴病

生孢子更能適應田間不良環境，增強防治效果，並且增加架上儲放時間，產品具有市場競爭力。

本中心已建立木黴菌之分離保存、拮抗篩選及量化生產等技術，並將技術推廣，與國內多家業者進行合作。其中福壽公司結合本所之螢光假單胞桿菌及木黴菌開發創新「複方微生物製劑」產品，且獲得中華民國專利(I290457 號)，以「活麗送」系列產品上市。

## 結語

國際上微生物製劑商品化產品雖有不少，但引進國內除價格昂貴外，因微生物生態、作物生態及土壤、氣候環境的不同，在病害防治實際應用上仍有困難，所以需積極開發本土化微生物製劑，以應農業發展之需求，並提高產業之國際競爭力。近年來，國內漸漸重視生物防治的研究，政府更以國家型計畫積極發展農業生物技術，在技術瓶頸的突破，完善的法規制定，及市場的開發等方面，仍待國內各研究人才的努力與整合，以求生物防治與生物農藥研究的突破性發展。

## 參考文獻

- 陳俊位等。2014。農業生物資材產業發展研討會專刊。121:87-115。

- Microbiology. 158:17-25.
- Li, Y. et al. 2016. Indian J. Microbiol. 56:318-327.
- Martínez-Medina, A. et al. 2013. Front Plant Sci. 4:1-12. (<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00206>)
- Medeiros, H.A. et al. 2017. Sci Rep. 7:40216. doi:10.1038/srep40216.
- Schuster, A. & Schmoll, M. 2010. Appl Microbiol Biotechnol. 87:787-799.
- Sharon, E. et al. 2007. Eur J. Plant Pathol. 118:247-258.
- Song, X.Y. et al. 2006. FEMS Microbiol Lett. 260:119-125.
- Zhang, F. et al. 2017. J Plant Physiol. 210:84-94.

## 光合菌的產業應用價值

生資中心 / 副研究員  
洪怡芳

### 前言

台灣生態環境特殊，擁有豐富多樣的生物資源，光合菌 (Photosynthetic bacteria; PSB) 屬於自營性微生物之一，可以利用光線為能源，並以二氧化碳或有機物作為碳源，提供自身營養及繁殖，其廣泛分佈於湖泊、海洋、污泥等環境。光合菌包括產氧型 (Oxygenic photosynthetic bacteria) 及不產氧型光合菌 (Anoxygenic photosynthetic bacteria)，皆可行光合作用。分類上光合菌包含進行產氧型光合菌的藍綠細菌 (Cyanobacteria) 以及不產氧型光合菌的紫色菌與綠色菌；其包括綠色非硫菌 (green non-sulfur bacteria)、綠色含硫菌

(green sulfur bacteria)、紫色非硫菌 (purple non-sulfur bacteria) 和紫色含硫菌 (purple sulfur bacteria) 等。在大自然中光合菌是具有多種生理功能的微生物，其菌體富含蛋白質，包含必須胺基酸、維生素、天然色素等，也因光合菌本身營養價值高，可作為飼料添加物、餌料、肥料等各方面應用，目前已達工業化量產規模。本文將以光合菌的生理、菌體及其代謝物之產業應用進行說明，並介紹食品所生資中心對光合菌的機能性加值開發。

### 光合菌的特性與產業應用

#### (1) 光合菌生理與菌體利用

由於光合菌在不同的自然環境下，具有固氮、脫氮、固碳等

功能，與自然界中的氮、磷、硫等循環有密切的連結。在缺氧的環境下，光合菌能將氨、亞硝酸、硫化氫等加以利用，作為其生長過程中所需之養分。由於光合菌可利用氧化還原電位 (reduction-oxidation potential) 比水還低的基質，能將還原物質轉化，增加氧化還原電位，使污水之水質加以淨化，因此光合菌對於去除水中 BOD、COD 的效果佳。光合菌除了具有分解有機質、淨化水質之功效外，於水產養殖業上對於提升魚蝦貝類幼苗的存活率以及降低魚蝦病害方面，也是關鍵有益菌種之一。由於臺灣的土地面積小，養殖業大多以集約方式為主，而集約式的養殖之池底容易具有高密度的有機代謝物堆積而產生有害化學物質。例如長期生長於底泥處的魚蝦類，容易受到細菌或病毒的傳染，因此致力於水質改善是水產養殖業預防魚蝦疾病的關鍵之一，光合菌除了可加值於改善水質外，也可用來防治魚蝦病原菌等的傳播，主要是因為光合菌可與病原菌競爭營養源，或運用生物防治的方式，以物種間相互競爭與拮抗的作用，降低魚蝦貝類受到病原菌感染機會，進而增強魚蝦苗之抗病能力。基於此利基，光合菌常被用來作為水產養殖業飼料添加劑，常見應用的光合菌種包括 *Rhodopseudomonas palustris*、*Rhodobacter sphaeroides* 等 ( 吳等 , 2013 )。光合菌菌體於飼料中添加會快速的在魚蝦腸道內增殖，可增加飼料利用率、提升魚苗成長率等功效，有效改善水產養殖業之品質與產量，並有助於水產養殖相關衍生產品的開發及提昇整體產業價值。

(2) 光合菌的代謝物探索

光合菌菌體除了應用於水產養殖業和飼料添加外，由於其菌體內富含多種生物活性物質，亦可用於具有經濟潛力之機能產品開發。如輔酶 Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>)，其具有延緩衰老、抗氧化、免疫調節等功效，可應用多樣化保健食品或化妝品原料；菌體內含多種類胡蘿蔔素 (carotenoid)，是生產天然色素的生物資源之一，其中包含番茄紅素 (lycopene)，由於自然界中大多數番茄紅素是從天然植物中萃取或由人工合成取得，但由於植物來源會有季節性的限制，人工合成則會有安全上的顧慮，因此利用微生物發酵生產番茄紅素是具有優勢與潛力。另外，光合菌細胞內含高量的胺基酸及豐富的維生素 B 群，尤其是維生素 B<sub>12</sub>，是水產養殖生物良好的營養素之一，可將富含維生素 B<sub>12</sub> 光合菌運用於飼料添加劑上有助提高水產養殖業之產量與品質。以下將針對常見 CoQ<sub>10</sub>、番茄紅素及維生素 B<sub>12</sub> 之產業應用加以說明。

光合菌其代謝產物輔酶 Q<sub>10</sub> 在生技產業上的應用更是廣泛，包括保健產品、化妝品、醫藥等各方面。近年來保健食品市場蓬勃發展，加上空氣等環境污染日益嚴重，加速人們皮膚的老化，使各種型式的抗氧化食品、化妝品紛紛湧入市面。尤其在美國與日本先後開放 CoQ<sub>10</sub> 做為保健食品及美容保養品原料後，全球市場規模達 5 億美元以上，國內衛福部已開放 CoQ<sub>10</sub> 作為保健食品及美容保養品原料，帶動生技相關產業發展之契機。CoQ<sub>10</sub> 可有效的清除身體內的自由基，進一步防止細胞老化，亦有利用將其開發成化妝品之原料，以活化肌膚細胞。CoQ10 最早被人們所

著重之角色，在於心肌能量的形成，存在於動物體內的每個細胞中，為生物體內可自行合成之脂溶性物質，也是酵素合成步驟中使細胞產生能量不可或缺的重要物質，CoQ<sub>10</sub> 因其有極佳之抗氧化力促使其被商業量產。已知可用來生產 CoQ<sub>10</sub> 的方式主要以下三種方式；分別是直接由動物器官萃取、以植物為原料進行化學合成，及利用微生物進行胞內生產。由於用動物器官直接萃取及化學合成這兩種生產 CoQ<sub>10</sub> 方法皆具有相同之缺點，即需使用昂貴的化學藥品及大量的有機溶劑。因此利用微生物發酵生產 CoQ<sub>10</sub>，相較於前兩種方法，更具產品品質穩定性與商機。

光合菌中富含大量的類胡蘿蔔素，目前已從光合菌中萃取得出將近 80 多種類胡蘿蔔素，不僅萃取容易且能大量生產。而番茄紅素屬於類胡蘿蔔素之一，多存在於植物和微生物中，動物體內不能合成，其抗氧化力強，能有效的清除自由基。由於僅靠食用番茄等製品來源所提供的番茄紅素不夠達到每日建議攝取量，因此研究來源於光合菌等微生物來源之番茄紅素規模生產，並且適量添加到食品中顯得非常重要。番茄紅素主要是從植物中萃取，利用光合菌生產番茄紅素是良好且天然之潛力基材之一，可篩選高產量菌株或進行突變、改變發酵參數方式來提升整體番茄紅素產量，將有助於量產番茄紅素之規模。目前常用來開發番茄紅素的光合菌有 *Rhodospirillum rubrum* 或 *Rhodobacter sphaeroides* (Zhenxin et al., 2008 ; 包 等 , 2009)。

另外光合菌可大量合成 5-氨基乙醯丙酸 (D-Aminolevulinic

acid; ALA) 並分泌到胞外，而 ALA 是血紅素和維生素 B<sub>12</sub> 的前驅物，應用光合菌生物發酵生成 ALA 方式比用化學法合成 ALA 更具優勢。對於魚類的養殖，維生素 B<sub>12</sub> 可以促進動物對蛋白質的利用以及個體的生長，且維生素 B<sub>12</sub> 有助於魚類抵抗水中重金屬的能力，降低魚苗的死亡率。目前常用來開發維生素 B<sub>12</sub> 的光合菌有 *Rhodopseudomonas palustris*、*Rhodobacter sphaeroides* 或 *Rhodobacter capsulatus* 等菌株 (Zhen et al., 2012)。

## 生資中心在光合菌的加值技術開發

生資中心在光合菌的保存與技術加值方面已累積多年研發能量，完成建立光合菌之分離、保存技術以及應用開發等相關技術，可提供產學研各界運用，有助於推動光合菌於生物技術等產業之發展。而在多元應用的光合菌開發項目中，主要以光合菌發酵生產 CoQ<sub>10</sub>、番茄紅素以及維生素 B<sub>12</sub> 等為開發標的，針對不同特性的機能性成分設計發酵製程，強化保健配料之產品開發。

### (1) 輔酶 Q<sub>10</sub>

在運用光合菌生產 CoQ<sub>10</sub> 之技術部分，已篩選獲得生長快速之潛力光合菌株，針對由照光及不照光條件下挑選出 CoQ<sub>10</sub> 產量較高之光合菌，分別以不同培養基成分及利用實驗設計法探討添加不同濃度之碳、氮、磷源，以及不同製程參數 (pH、轉速、溫度) 對於菌體生長與 CoQ<sub>10</sub> 產量之影響。並陸續建立光合菌 CoQ<sub>10</sub> 之 HPLC 分析技術，且以實驗設計法 (反應曲面法，RSM) 建立光合菌之最佳培養條件，並利用所得之實驗結果進行放大發

酵生產，完成相關的回收技術建立，整體生產技術已完成百公升級規模之光合菌培養生產，使光合菌生產之菌數達 10<sup>9</sup> CFU/mL、CoQ<sub>10</sub> 產量可達 9 mg/L，可滿足國內產業應用發展之需求。

### (2) 番茄紅素

番茄紅素的來源包括從天然植物中萃取或人工合成方式，近年來研究方向主要是從酵母菌 (*Rhodotorula*)、接合菌 (*Blakeslea trispora*) 和光合菌 (*Rhodobacter*) 中萃取，或以基因工程的方式進行產量提升為主。雖然台灣具有已有用合成的方式生產茄紅素，但以天然的訴求而言，針對光合菌的相關開發較少，因此利用台灣各環境收集之本土性光合菌開發生產番茄紅素，主要運用光合菌生產週期短、不受季節限制之優點，篩選出具有生產番茄紅素潛力菌株，有助於提升本土光合菌價值。利用微生物來源生產之番茄紅素，其來源較化學合成方式天然，且較無中間產物殘留問題，顯見此方式具有較高的開發潛力。藉由生資中心蘊含豐富生物資源及發酵技術能力，篩選改良光合菌生產番茄紅素技術，配合具有照光微生物培養之經驗與技術，使產量能向上提升，整合萃取條件與最適化培養基，可使番茄紅素產量比原始菌株提升五倍。另外在菌體培養過程中，添加抑制番茄紅素中間代謝途徑 (lycopene cyclase) 之化學物質

肌酸酐 (creatinine)，並且控制光照強度，可使潛力光合菌之番茄紅素產量提高至 2 mg/L 以上。

### (3) 維生素 B<sub>12</sub>

運用豐富多樣性之光合菌庫資源進行維生素 B<sub>12</sub> 探索與開發。已針對接菌量、酸鹼值、光照強度、碳氮源濃度等參數條件進行探討，完成維生素 B<sub>12</sub> 之光合菌培養條件優化，並建立光合菌生產維生素 B<sub>12</sub> 之 5 L 發酵技術，調控發酵製程並提升其維生素 B<sub>12</sub> 產量及維生素 B<sub>12</sub> 之水產飼料添加物之雛型產品。目前技術結果顯示於中性 pH 值下，可使光合菌生長良好且獲得維生素 B<sub>12</sub> 含量較高，並且以不同照度以及碳氮源濃度之培養條件測試，獲得較佳維生素 B<sub>12</sub> 產量。整體結果可使維生素 B<sub>12</sub> 產量提高達 80 μg/L，此結果可作為光合菌開發水產養殖飼料之參考指標。

## 結語

光合菌是一種多功能的細菌，具有在多種環境條件下生長的能力，並可產生許多有益物質。本文簡述光合菌於 CoQ<sub>10</sub>、番茄紅素、維生素 B<sub>12</sub> 等高價代謝物的開發概況，其具有市場特異性與優勢，可供開發多樣化保健產品、化妝品原料或飼料添加物等使用。除此之外，光合菌還可以降解農藥殘留、有機廢水和多環芳香烴類 (Polyaromatics aromatic hydrocarbons, PAHs) 等環境危

表 1 生資中心在光合菌之產業開發技術

光合菌株 / 代謝物	功能訴求	適用產業
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> 指標 : CoQ <sub>10</sub>	延緩衰老、抗氧化、免疫 調節	保健食品及美容保養 品原料
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> 指標 : 番茄紅素	降低癌細胞活性、抗氧化	保健食品
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> 指標 : 維生素 B <sub>12</sub>	增加飼料利用率、提升魚 苗成長率	飼料添加物

害物質，且光合菌也是能產氫的微生物之一，其對於新能源的開發與環境防治方面也逐漸受到重視，隨著光合菌生物活性物質的功能進一步被挖掘，其在多元應用領域上將不斷拓展，使光合菌未來具有廣闊的應用前景。

## 參考文獻

1. 包有霞等。2009。食品與生物技術學報。28:693-697。
2. 吳育甄等。2013。水產研究。21: 57-67。
3. Zhenxin ,G. et al. 2008. LWT-Food Sci Technol. 41:1082-1088.
4. Zhen, K. et al. 2012. Biotechnol Adv. 30:1533-542.

## 放線菌在酵素產業之開發應用

生資中心 / 研究員

曾敏

### 前言

早在 6000 年前就有釀造的紀錄，利用釀造的技術製造許多美味的食品，包括葡萄酒、啤酒、穀物酒、乳酪、豆腐乳、紅麴、醬油等東、西方的傳統食品。人類利用酵素的歷史悠久且廣泛，一直到約 100 年前，才開始將生物催化技術應用到非天然、人工的有機物質的化學轉化，30 年前更大量應用到製藥工業。目前已知的可以經由酵素催化的反應約有 4000 種。隨著生物科技的進步，酵素的應用也越加廣泛與有效，在生活上及各種產業應用隨處可見，不僅是各種美味的發酵食品及加工食品不可或缺的原料之一，也是工業上無可取代的，例如，藥廠用特定的酵素來合成及轉化藥物；加入酵素的清潔劑可以分解蛋白質和脂肪來幫助除去衣物上的污漬和油漬；紡織業利用酵素處理布料，做出特殊效果的產品，更利用酵素來處理染整廢水，降低對環境、生態的衝擊；造紙業也使用酵素處理紙漿、漂白，以取代傳統的化學藥劑，減少對環境的傷害。酵素可以來自植物、動物及微生物，但商業

化的酵素絕大多數還是來自微生物，因為微生物具有易於培養、後續產物處理成本低等優勢。

### 酵素及其市場發展

酵素依用途可以分為工業酵素 (industrial enzymes) 及特用酵素 (specialty enzymes)，全球的酵素市場預估每年有 6% 的成長率，2015 年全球酵素市場已達 70 億美元，預估 2022 年將達 600 億美元，成長最多的國家及地區依然是亞洲、非洲及中東地區，其次是拉丁美洲、東歐。而 2006 年全球的工業酵素市場為 22.52 億美元，其中 3/4 用於食品、澱粉加工及清潔劑。

工業酵素雖然價格低廉，但因使用量大，隨著新酵素及多功能酵素進入市場，預估每年還是會有 4% 的成長。工業酵素依產品種類可以分為醣類水解酵素、蛋白酵素、脂肪酵素及其他酵素。如果依市場應用分類，可以分為食品及飼料、清潔劑、紡織、皮革、造紙及其他用途。預估從 2017 年到 2022 年以年複合成長率 5.8% 發展，到 2022 年可達 63 億美元 (Prakash et al., 2013)。

特用酵素主要用於藥物開

發、抗生素開發、醫療診斷、食品檢測等，例如激酶 (kinase)、聚合酶 (polymerase) 等，雖然用量少但單價相形之下較高，因此市場規模反而高於工業酵素，且市場成長快速。隨著開發中國家逐漸重視預防醫療及個人醫療照護，醫學美容、化妝品市場快速成長，因此檢測及治療用的酵素也可望增加。2006 年全球特用酵素市場規模約 27.4 億美元，並以 7.88% 速度成長，2015 年已達到 43 億美元，未來產業應用性看漲。

### 放線菌在酵素市場開發上的前景

放線菌是一群具有多樣化特性及形態的革蘭氏陽性細菌，雖然以土壤為主要棲所，但也廣泛存在各種自然及人為環境中，目前有超過 200 個菌屬 (genus)，常見的有 *Streptomyces*、*Micromonospora*、*Nocardia* 等。以往在放線菌領域主要以藥物開發為主，事實上，由於放線菌的生長速度比其他微生物慢，因此在一般土壤環境中，只能利用其他微生物無法分解的物質，因此常具有分泌特異分解酵素的能力。這些酵素在工業上具有很大的潛力，例如：蛋白酶、纖維素酶、幾丁酶、澱粉酶等。以下介紹由放線菌所產生的工業酵素，其特性如表 1 所列。

#### (1) 纖維素酶 (Cellulase)

纖維素是地球上分佈最廣、含量最多的多醣，植物體有 50% 的碳存在纖維素。纖維素是由葡萄糖所組成的大分子多醣類，是植物及部分藻類細胞壁的成分，不溶於水及有機溶劑。文獻指出一株鏈黴菌 *Streptomyces sp.* 所產生的纖維素酶，其最適作用條

表 1 放線菌產生的工業酵素及其特性

Enzyme	Producing Strain	pH stability	Thermal stability	Substrate specificity
	Recombinant <i>Streptomyces</i> sp.	5.0-12.0	40-50°C	CMC (Carboxymethyl cellulose)
Cellulase	<i>Thermobifida halotolerans</i>	6.0-8.0	40-50°C	CMC
	Recombinant <i>Streptomyces</i> sp.	10.0	40°C	CMC
	<i>Thermomonospora</i> sp.	7.0-10.0	50°C	CMC
	<i>Streptomyces rubber</i>	5.5-7.0	35-40°C	CMC
Xylanase	<i>Actinomadura</i> sp.	4.0	70°C	Xylan
	Recombinant strain	5.0-7.0	70-80°C	Xylan
	Recombinant strain	5.0-7.0	60-70°C	Birch xylan
	<i>Streptomyces</i> spp.	8.0-11.0	45-60°C	Xylan
Amylase	<i>Streptomyces</i> sp.	5.0-7.0	45-50°C	Starch
	<i>Streptomyces erumpens</i>	9.0-10.0	40-50°C	Starch
	<i>Nocardiopsis</i> sp.	8.6	70-80°C	Starch
	<i>Thermobifida fusca</i>	5.0-7.0	60°C	Starch
Pectinase	<i>Nocardiopsis</i> sp.	5.0-10.0	35-45°C	Starch
	<i>Streptomyces lydicus</i>	4.0-7.0	45°C	Polygalacturonic acid
	<i>Thermoactinomyces</i> sp.	4.0	50°C	NA (Not available)
Protease	<i>Nocardiopsis</i> sp.	10.0	40-50°C	Casein
	<i>Streptomyces pactum</i>	7.5	40°C	Casein
	<i>Streptomyces thermophilaceus</i>	6.5	65°C	Keratin
Chitinase	<i>Streptomyces</i> sp.	4.0-11.0	30-60°C	Keratin azure
	<i>Nocardiopsis prasina</i>	7.0	50-60°C	Colloidal chitin
	<i>Streptomyces thermophilaceus</i>	6.0	60°C	Colloidal chitin
	<i>Microbispora</i> sp.	3.0-11.0	30-50°C	Colloidal chitin

(摘自 Prakash et al., 2013)

件為鹼性及高溫環境，此酵素可用於清潔劑、纖維的軟化及護色，此外還嘗試用在紡織品的處理、造紙、紙漿及動物飼料添加物 (Prakash et al., 2013)。除了鏈黴菌可以產生纖維素酶外，*Thermobifida*, *Micromonospora* 也可以產生商業化的重組纖維素酶 (recombinant cellulase) (Zhang F. et al., 2011)。*Streptomyces thermophilaceus* 所產生的重組纖維素酶具有耐熱及耐酸鹼的特性，優於一般的商業化纖維素酶，被用於添加在市售的清潔劑。*Thermomonospora fusca* 所產生的纖維酶被用於分解棉花及微晶纖維 (avilal) (Prakash et al., 2013)，這些酵素不僅具有應用潛力，還可以用便宜的原料，例如稻殼 (El-Sersy et al., 2010)、果皮 (Rathan & Ambili, 2011) 等農產廢棄物來生產便宜的纖維素酶。

### (2) 聚木糖酶 (Xylanase)

鏈黴菌屬所產生的另一個

重要的商業酵素是聚木糖酶，*Streptomyces* sp. 所產生的聚木糖酶用於處理稻桿紙漿時可以改善紙漿的漂白度，主要是由於沒有參雜纖維素酶，且在漂白及紙漿化過程中化學藥劑使用量減少，因此優於其他聚木糖酶。此外，放線菌的聚木糖酶在牛皮紙漿中很穩定，且粗酵素液可以直接使用，符合經濟效益。*Actinomadura* sp. FC7 (Prakash et al., 2013) 及 *Nonomuraea flexuosa* (Zhang J. et al., 2011) 所產生的聚木糖酶具有高度耐熱性及專一性，而應用在工業製程。另外，一個來自真菌及放線菌重組的聚木糖酶，因為具有高度耐熱及耐酸鹼特性而被用於造紙及紙漿工業。鏈黴菌屬放線菌可以產生高量的聚木糖酶，用以處理稻桿可以獲得生物漂白的作用 (Rifaat et al., 2006)。

### (3) 澱粉酶 (Amylase)

澱粉酶用在食品工業，將澱粉轉化為高果糖糖漿，現

在最受矚目的領域是以澱粉酶來生產特定長度的麥芽寡糖。*Streptomyces erumpens* 所產生的耐熱性及耐酸性澱粉酶，可應用於烘焙業、釀造及酒精工業 (Kar & Ray, 2008)。*Nocardiopsis* sp. 所產生的耐熱性澱粉酶在烘焙業及造紙業也有很重要的應用。*Thermobifida* sp. 所產生的澱粉酶可以將澱粉或西谷米轉化成麥芽三糖 (maltotriose) (Prakash et al., 2013)，可應用於營養及保健食品的開發，這種可以產生特定終產品，例如麥芽寡糖的澱粉酶，可以將低廉的澱粉轉化為高附加價值的產品，很具開發應用潛力。

### (4) 果膠酶 (Pectinase)

果膠酶用於讓果汁澄清、脫膠、製酒及韌皮纖維的軟化。會產生果膠酶的放線菌主要是鏈黴菌屬。最近對低溫果膠酶需求增加，因為此酵素可以保有加工食品的適口性。

### (5) 蛋白酶 (Protease)

多數來自鏈黴菌的蛋白酶都可耐鹼性環境，也有一些還能耐鹽的蛋白酶則來自其他屬的放線菌。*Nocardiopsis* 屬產生的蛋白酶添加於清潔劑及皮革工業的脫毛 (Prakash et al., 2013)。利用 *Streptomyces* sp. 產生的蛋白酶處理脫毛後的羊皮，是經濟又環保的選擇 (Mitra & Chakrabarty, 2005)。富含角蛋白 (keratin) 的廢棄物，例如羽毛、毛髮、指甲、角等農業廢棄物，*Streptomyces* sp. 產生的角蛋白酶在溫度超過 50°C 依然可以分解角蛋白 (Brandelli, 2008)。將放線菌 *Micromonospora* sp. 所產生的蛋白酶與其他蛋白酶搭配，可以從貝類廢棄物得到抗氧化物質 (Jaouadi et al., 2010)，而這些蛋白酶水解產生的勝肽可以做為便宜的飼料。

## (6) 幾丁質酶 (Chitinase)

幾丁質是N-acetylglucosamine(GlcNAc)以 $\beta$ -1,4鍵結的聚合物，也是蝦蟹殼、昆蟲骨架及真菌細胞壁的主要成分(Bhattacharya *et al.*, 2007)，因此幾丁質酶可用於製備真菌原生質體(protoplast)、防治真菌性及線蟲性病害的生物防治劑、製造幾丁聚糖做為保健食品。放線菌產生的幾丁質酶具有耐熱性及耐酸鹼性，其中以生產幾丁寡糖(chitin oligosaccharide)最受矚目，幾丁寡糖具有抗凝集(anticoagulant)、抗菌、抗膽固醇、抗腫瘤、傷口癒合及抗氧化的活性(Bhattacharya *et al.*, 2007)。幾丁寡糖可以用便宜的蝦蟹殼等水產廢棄物當原料，經過幾丁質酶作用獲得。Microbispora sp.的幾丁質酶可以產生幾丁雙糖，是具有潛力的抗氧化劑，可以用於飼料添加物及保健食品(Jaouadi *et al.*, 2010)。

**生資中心在本土放線菌的收集與探索**

台灣地處亞熱帶，地理及氣候成為生物熱點，具有高度的生物多樣性，尤其微生物無論在數量或種類均十分可觀，也為產業開發提供豐富的資源。食品所生資中心除廣泛收集世界各地的菌株，提供產、學、業界做為研究、開發之用外，亦積

極進行台灣本土放線菌資源的探索，陸續從各種環境，包括土壤、湖泊底泥、溪流、魚塭、鹽分地帶、溫泉、海水、海藻、堆肥、植物等，分離中溫、高溫、嗜鹽、嗜鹼及植物內生放線菌，除了常見的鏈黴菌外，亦包含許多稀有菌屬及新的菌種。

本中心利用放線菌產生次級代謝產物的特性，陸續建立各類本土放線菌的發酵庫及篩選標的，詳見表2。

**結語**

工業酵素可說是全球成長最快的市場，但真正被工業化使用的酵素僅約20種，也意味著還需要研發，將酵素的應用擴及各種不同的生技領域。放線菌由於具有產生多樣化酵素及代謝產物的遺傳潛力，因此是新酵素及代謝產物的重要資源庫，但是許多稀有的放線菌尚未被開發及運用，因此探索特殊的生態以發掘新菌種，是未來綠色產業的新潛力。

**參考文獻**

1. Bhattacharya, D. *et al.* 2007. Crit Rev Biotechnol. 27:21-28.

2. Brandelli, A. 2008. Food and Bioprocess Techn. 1:105-116.
3. El-Sersy, N.A. *et al.* 2010. Afr J Biotechnol. 9: 6355-6364.
4. Heumann, S. *et al.* 2006. J Biochem Biophys Methods. 69:89-99.
5. Jaouadi, B. *et al.* 2010. Bioresour Technol. 101:8361-8369.
6. Kar, S. & Ray, R.C. 2008. Pol J Microbiol. 57:49-57.
7. Kuddus, M. *et al.* 2011. Biotechnology. 10:246-258.
8. Mitra, P. & Chakrabarty, P.K. 2005. J Sci Ind Res. 64:978-983.
9. Prakash, D. *et al.* 2013. Biomed Res Int. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/264020>
10. Rathan, R.K. & Ambili, M. 2011. Aust. J. Basic & Appl. Sci. 5: 114-1118.
11. Rifaat, H.M. *et al.* 2006. Appl Ecol Environ Res. 4:151-160.
12. Zhang, F. *et al.* 2011. Bioresour Technol. 102:10143-10146.
13. Zhang, J. *et al.* 2011. Biotechnol Biofuels. 4:12.

表2 生資中心建立之放線菌發酵庫及其篩選標的

發酵庫	來源	篩選目標
中溫放線菌	田土、森林、湖泊底泥、	1. 抗菌 2. 抗癌 3. 酪胺酸酶 4. 新藥物
高溫放線菌	堆肥、土壤、溫泉	1. 脂酯分解酵素 2. 蛋白分解酵素 3. 纖維質分解酵素
耐鹽放線菌	魚塭、海水底泥、海藻、紅樹林	1. 抗菌 2. 抗癌

**生物資源保存及研究簡訊 第111期**

發行者：財團法人 食品工業發展研究所

發行人：廖啟成所長

主 編：陳倩琪

編 輯：王俐婷、吳柏宏、許瓔文、黃學聰

本著作權依補助契約歸屬財團法人 食品工業發展研究所

地 址：新竹市食品路 331 號

電 話：(03)5223191-6

傳 真：(03)5224171-2

承 印：國大打字行

電 話：(03)5264220

ISSN：1021-7932

GPN：2009001214

中華郵政新竹誌字第0030號

交寄登記證登記為雜誌交寄

