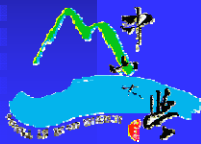


微生物在工業、環境 及再生能源上的應用

主講人: 劉仲康

國立中山大學
生物科學系教授



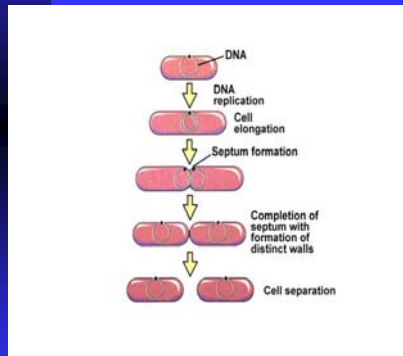
1

大綱

- 微生物之商業化生產
- 微生物在食品、醫藥及一般工業上的應用
- 微生物在農業上的應用
- 微生物在環境科技上的應用
- 微生物與能源
- 石油與礦物開採

2

細菌繁殖的特色



Time (hours)	Number of cells
0	1
0.5	2
1	4
1.5	8
2	16
2.5	32
3	64
3.5	128
4	256
4.5	512
5	1024
5.5	2048
6	4096
.	.
.	.
10	1,048,576

3

細菌繁殖的特色

細菌在適宜生長的條件下,十小時內可從一個細胞成長為一百萬個,十二小時超過一千萬個,十四小時則超過二億五千萬個

Time (hours)	Number of cells
0	1
0.5	2
1	4
1.5	8
2	16
2.5	32
3	64
3.5	128
4	256
4.5	512
5	1024
5.5	2048
6	4096
.	.
.	.
10	1,048,576

4

微生物之大量培養

實驗室研究用

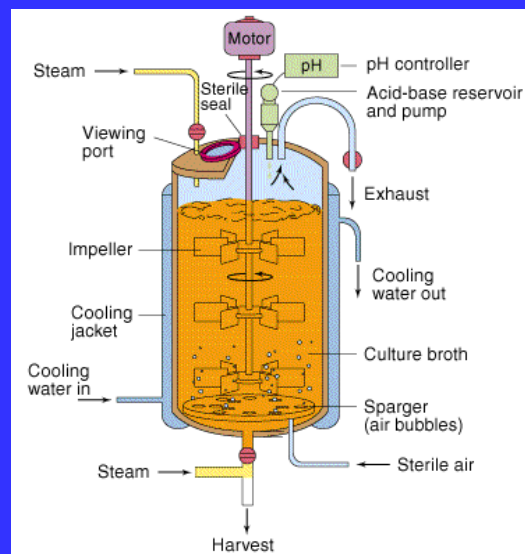


工業大規模生產



5

發酵槽設計與原理



6

微生物發酵生產之優點

- ✿ 生產成本較工業合成低廉
- ✿ 降低工業合成的複雜性與危險性
- ✿ 效率高
- ✿ 安全
- ✿ 污染性較低

7



vs.



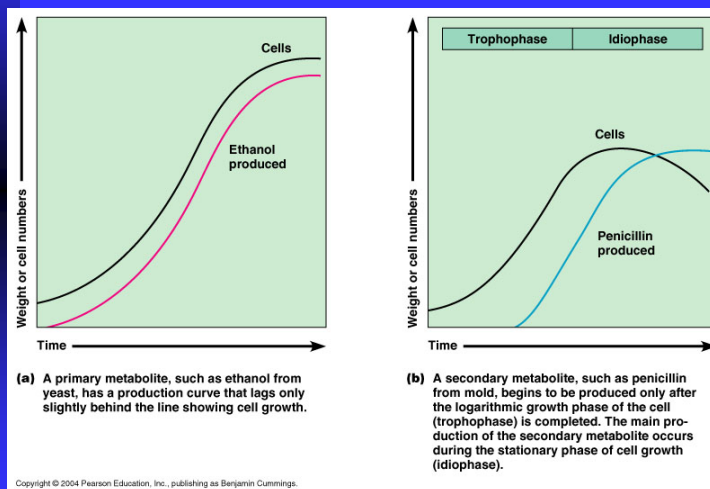
8

發酵槽培養方式

1. 批式培養 (batch culture) —
例如一些藥物與氨基酸的生產
2. 饋料批式培養 (fed-batch culture) —
例如二次代謝物 (如抗生素、維生素) 的生產
3. 連續式培養 (continuous culture) —
例如酵母、單細胞蛋白質、酒精、活性污泥法...等

9

發酵槽生產各種產品



10

操作發酵槽培養之基本步驟

1. 發酵設備滅菌
2. 培養基的配製與滅菌
3. 種菌 (seed culture) 的準備
4. 接種
5. 發酵培養
6. 產品回收與純化
7. 廢棄物處理與發酵槽的清洗

11

固態發酵 (Solid Substrate Fermentation)

- Protein-enriched animal feed
- Bioremediation substances
- Biopesticides
- Single-cell protein from waste products
- Enzymes
- Surfactants
- Ethanol
- Biogas
- Microbial polysaccharides
- Secondary metabolites (eg. Antibiotics)

12

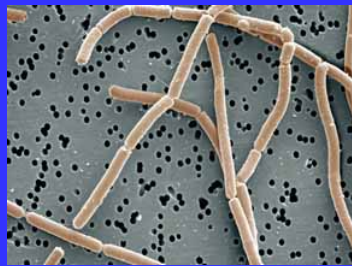
微生物在發酵食品業上的應用

- ✿ 乳酸菌產品 — 乳酪 (cheese)、優格 (yogurt)、發酵乳、酸泡菜、酸黃瓜、德國豬腳....等
- ✿ 酵母菌產品 — 麵包、發麵麵製品 (包子饅頭)、各式酒精發酵飲料 (酒、啤酒)
- ✿ 其他 — 醬油、醋、豆瓣、醬、味噌、納豆、天貝、魚露....等

13

乳酸菌製品舉例

乳酸桿菌
乳酸球菌



各種發酵乳品

14

Cheese Making



(a) The milk has been coagulated by the action of rennin (forming curd) and is inoculated with ripening bacteria for flavor and acidity. Here the workers are cutting the curd into slabs.



(c) The curd is milled to allow even more drainage of whey and is compressed into blocks for extended ripening. The longer the ripening period, the more acidic (sharper) the cheese.



(b) The curd is chopped into small cubes to facilitate efficient draining of whey.

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

15

乳酸菌真的對健康有幫助嗎？

1. 降低乳品中的乳糖含量, 使乳糖不耐症的人也可飲食乳製品
2. 降低膽固醇
3. 抑制腸道菌產生胺類化合物, 可降低罹患大腸癌的風險
4. 改善便秘, 促進排便
5. 拮抗雜菌, 降低腸道疾病的發生
6. 激發免疫系統

16

酵母菌的應用

1. 直接食用 – 健素糖
2. 發酵 – 產製各種食品與飲料, 例如麵包、包子、饅頭、啤酒、葡萄酒、米酒
3. 工業上生產酒精, 作為能源
4. 生技產業上, 作為生產各種藥物的菌種
5. 研究材料
6. 其他

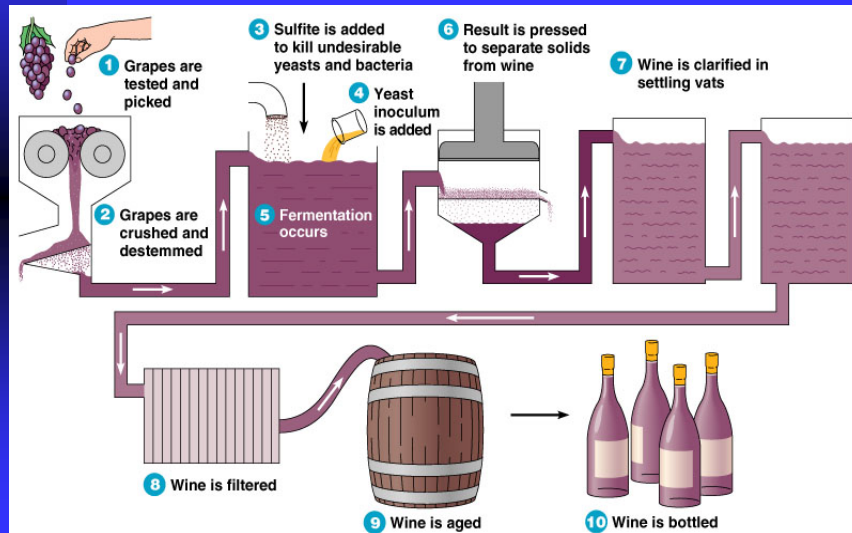
17

酵母菌的應用



18

Making Grape Wine



19

各式麴菌製品



20

微生物代謝物產品 Metabolites

- 初級代謝物 (Primary metabolites)
- 次級代謝物 (Secondary metabolites)

21

微生物產品 Metabolites

表 5-2 利用醱酵法生產的初級與次級代謝物舉例

初級代謝物	次級代謝物
胺基酸	抗生素
維他命	色素
核★酸	毒素
多醣	生物鹼
乙醇	許多活性藥用化合物 (例如免疫抑制劑環孢素， 降血壓化合物 dopastin)
丙酮	
丁醇	
乳酸	

微生物產品 Enzymes

表 5-3 微生物酵素與其應用舉例

酵素	應用
脂肪酶	製造乳酪時強化風味
乳糖酶	分解乳糖成為葡萄糖與半乳糖；不含乳糖乳品的製造
蛋白酶	清潔劑添加物；分解啤酒發酵時懸浮的蛋白質，生產較不混濁的冰涼啤酒
α -澱粉酶	用來生產高果糖漿
果膠酶	分解果膠成為可溶性物質，降低果酒與果汁冰涼後的混濁度
組織蛋白纖維分解酶活化劑 (TPA)	溶解血塊

23

重要工業酵素應用舉例

1. 蛋白質水解酵素—清潔劑、洗衣粉、乳酪製造、皮革軟化、食品成分轉化...等
2. 澱粉水解酵素—生產葡萄糖、糖漿、麵粉品質改良
3. 纖維分解酵素—飼料與紙漿製造、紡織業
4. 同分異構酵素—將低價位或無活性的分子轉化為高價位產品, 例如果糖
5. 油脂分解酵素—洗衣業、皮革業、改善麵粉品質、增進 cheese 風味
6. 氧化還原酵素—工業應用例子不多, 可防止食品褐變、去除殘餘雙氧水、染料呈色...等

24

酵素的工業應用

1. 清潔劑業
2. 紡織業
3. 澱粉與糖業
4. 動物飼料
5. 酒精發酵與烘焙業
6. 食品機能改進
7. 紙漿與造紙
8. 皮革業
9. 油脂業

25

酵素市場分析

- ✿ 用途: 工業酵素約佔 70%, 研究與醫療約佔30%
- ✿ 行業:
 - 清潔劑 27%
 - 食品與飲料 16%
 - 紡織業 10%
 - 澱粉與糖業 9%
 - 其他
- ✿ 成長率: 過去數十年來, 每年成長率約為 10~15%
- ✿ 消費區域: 美國 (24.7%), 歐洲 (23%), 其他地區



26

微生物代謝物產品

抗生素

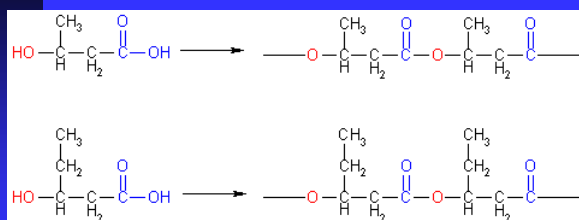
- 傳統菌種與醱酵技術
- 基因工程技術
- 新醱酵技術



27

微生物與塑料

- 原料: 一般微生物培養基
- 菌種: 可產生 polyhydroxybutyrate (PHB) 顆粒或 polyhydroxyvalerate (PHV) 顆粒的細菌
- 聚合塑膠可被生物分解



28

生物可分解塑膠在環境中分解為 CO_2 和 H_2O



29

生物轉換法 (Bioconversion)

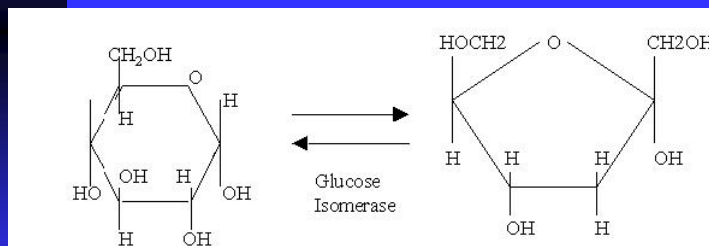
1. 利用微生物或酵素, 將某一化合物修飾轉換為另一化合物的方法
2. 效率極高, 可同時進行多個生化反應步驟
3. 可採用固定化細胞與酵素方式來進行
4. 舉例—果糖的合成、維他命C的合成、類固醇 prednisone 的生化合成....等

30

果糖的生產 (生化轉換法)

Starch

↓ amylase



31

微生物在農業上的應用

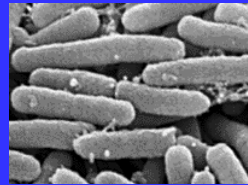
1. 抗凍菌的應用 — 預防作物霜害
2. 微生物殺蟲劑 — 細菌、病毒、黴菌
3. 線蟲的防治 —
4. 固氮菌的應用 — 增加土壤肥力
5. 水產養殖上的應用 — 疾病防治、水質控制
6. 其他

32

微生物在農業上的應用

抗凍菌 (Ice-Minus bacterium)

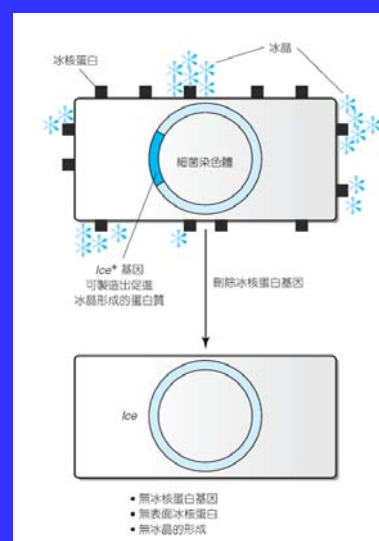
- *Pseudomonas syringae* 是植物的正常表生菌株
- 一般植物在 0 °C ~ 2 °C 下結冰
- 一株基因改造的 *Pseudomonas syringae* 菌
- 以分子生物學法破壞其冰核蛋白基因功能
- 基因改造後的菌株無法產生冰核蛋白, 植物需達到 -6 °C ~ -8 °C 方結冰
- 可應用於草莓及柑橘等作物



33

微生物在農業上的應用

抗凍菌 (Ice-Minus bacterium) 美國AGS公司產品



科學家進行抗凍菌田間實驗

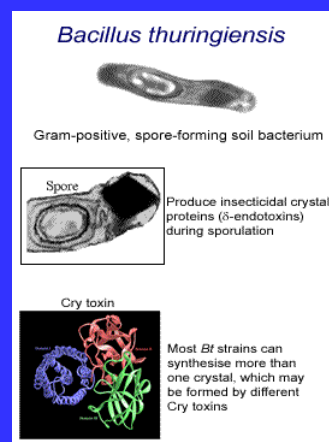


35

微生物殺蟲劑(細菌製品)

蘇力菌 (Bt)

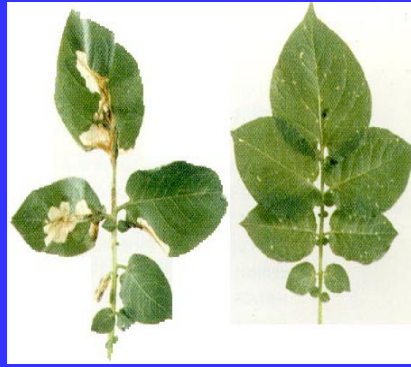
- 細胞產生毒晶蛋白毒，殺鱗翅目昆蟲幼蟲
- 昆蟲幼蟲食後造成腸道麻痺，無法進食而死亡
- 對人類、脊椎動物與非目標昆蟲完全無害
- 施用安全，無農藥殘留問題
- 已基因轉植到一株可高度表現Bt毒素的細菌中
Pseudomonas fluorescens



36

微生物殺蟲劑 (細菌製品)

蘇力菌 (Bt)



37

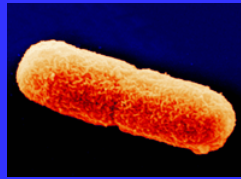
共生性固氮菌

根瘤菌



38

自生性固氮菌 (Free-Living)



39

微生物在水產養殖上的應用

- ✿ 疾病防治 — 利用與病原菌相拮抗或相剋的原理, 例如虱目魚紅斑病可用病毒來防治
- ✿ 養殖水質控制 — 利用各種生物製劑改良水質
- ✿ 仔稚種苗的餌料 — 各種微細藻類與浮游生物



40

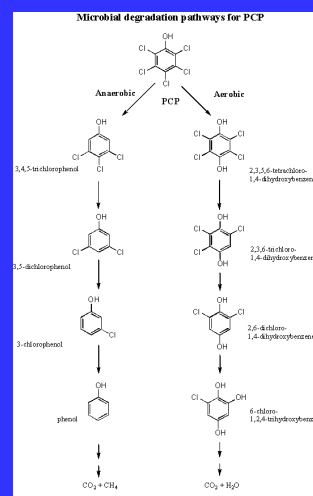
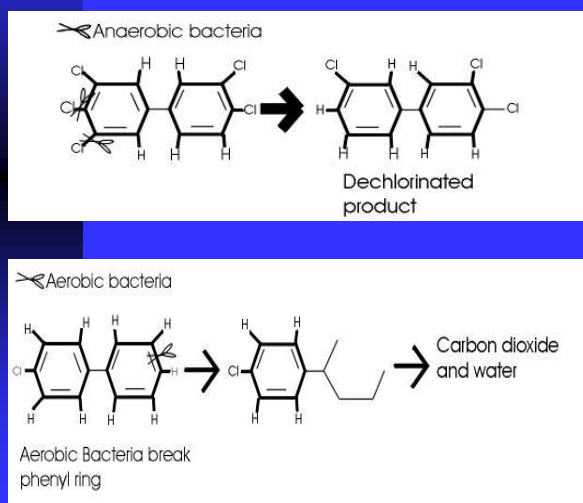
微生物在環保上的應用

- 有毒廢棄物的分解 — 例如PAHs, PCBs, PCP, Dioxin等
- 油污分解
- 有機堆肥
- 廢水處理
- 生物製劑
- 指標微生物

41

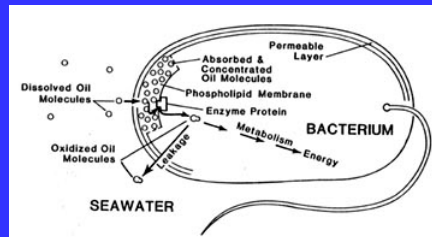
微生物在環保上的應用

有毒廢棄物的分解



微生物在環保上的應用

油污的分解



43

微生物在環保上的應用

油污的分解



圖 5-11

生物復育法處理愛可森瓦得茲 (Exxon Valdez) 油輪意外所造成的阿拉斯加海岸石油污染。未處理的海灘覆滿了石油 (左)，但以肥料 (Inipol) 處理不久後，鵝卵石床上沉積的石油已大為減少 (右)。

44

微生物在環保上的應用

化腐朽為神奇的有機堆肥



45

微生物在環保上的應用

廢水處理

1. 活性污泥
2. 滴濾槽
3. 生物旋轉膜盤
4. 厭氧分解槽

46

微生物在環保上的應用

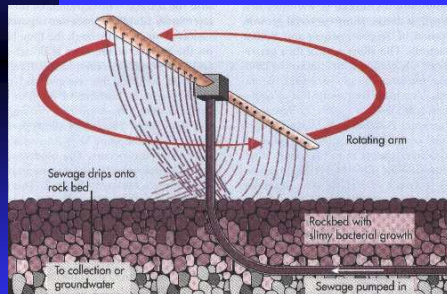
活性污泥



47

微生物在環保上的應用

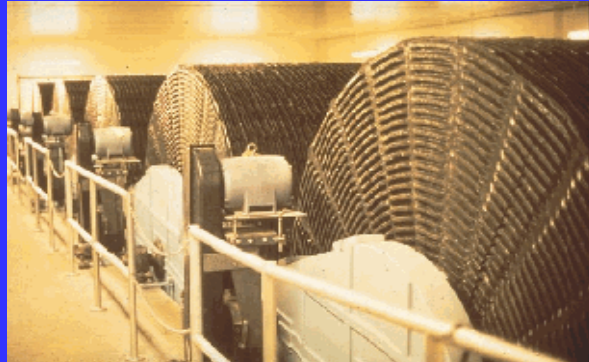
滴濾槽



48

微生物在環保上的應用

生物旋轉膜盤



49

微生物在環保上的應用

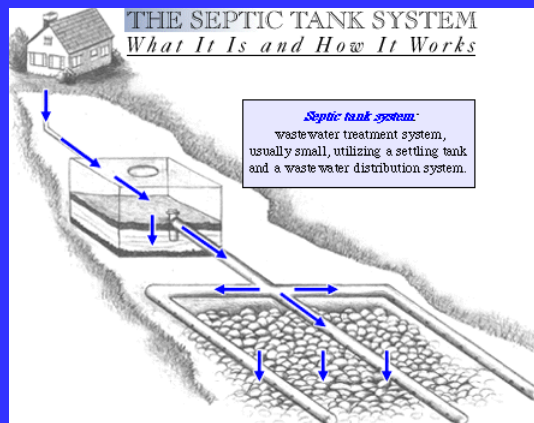
厭氧分解槽



50

微生物在環保上的應用

簡易家庭化糞池 (Septic Tank)



51

微生物在環保上的應用

生物製劑

1. 利用微生物配方添加到廢棄物、廚餘、或污水處理系統, 加速處理效果
2. 亦可應用於污染現場的整治, 如土地、河川、湖泊、水庫、海岸、地下水, 也有人應用於養殖池水的水質控制

52

微生物在環保上的應用

各種市售生物製劑



53

微生物在環保上的應用

生物製劑

- 一般分解性細菌 — 如 *Bacillus* sp.
- 光合菌 — 消除臭味 (H_2S) 、維持 pH
- 硝化菌 — 轉化 $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^+$
- 脫硝菌 — 轉化 $\text{NO}_3^+ \rightarrow \text{N}_2$

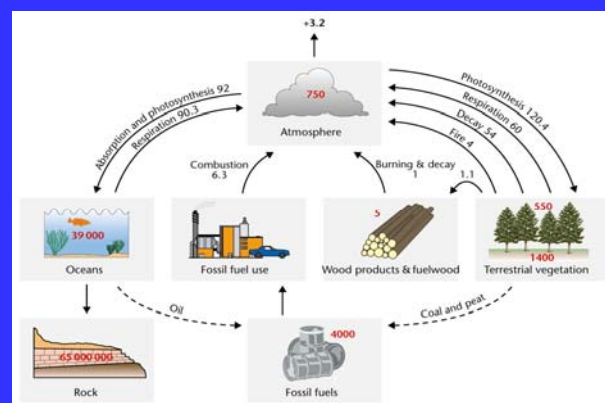
54

微生物代謝產生的能源物質

- 酒精
- 丁醇－丙酮
- 甲烷（沼氣）
- 氫氣

55

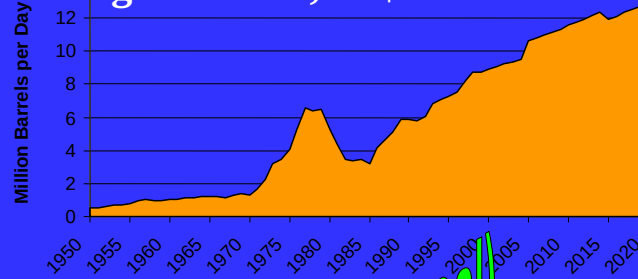
碳循環



Contribution	Emitted (source)	Absorbed (sink)
Burning fossil fuels	6.3	
Land use change	1.6	
Enhanced		3.0
Ocean-atmosphere		1.7
Total	7.9	4.7
Balance	3.2	

56

U.S. Crude Oil Imports ~ Automotive Fuel (>200 billion gal in 2004; >\$200 billion in 2005)



Ancient Biomass? (Oil, gas, coal)
or
Renewable Energy!



Source: U.S. Department of Energy, Energy Information Administration; modified

57

WHAT'S IN THE TRASH?



微生物與能源 — 酒精

■ 原料:

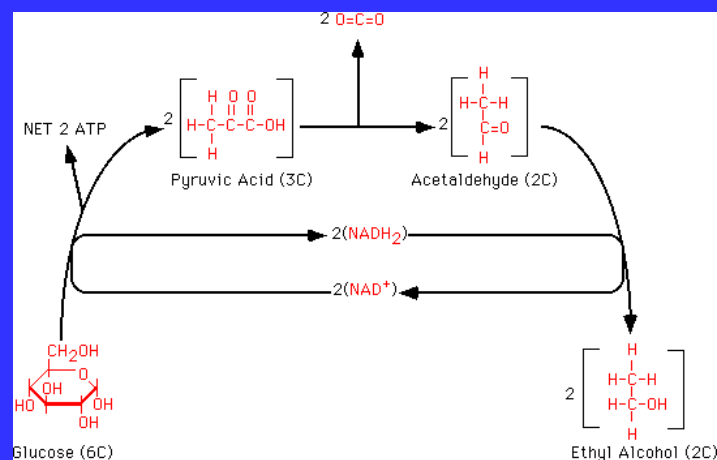
1. 傳統原料 — 蔗糖、蔗糖汁、糖蜜、玉米澱粉
2. 近代開發 — 木薯粉、馬鈴薯、**草木纖維**

■ 菌種:

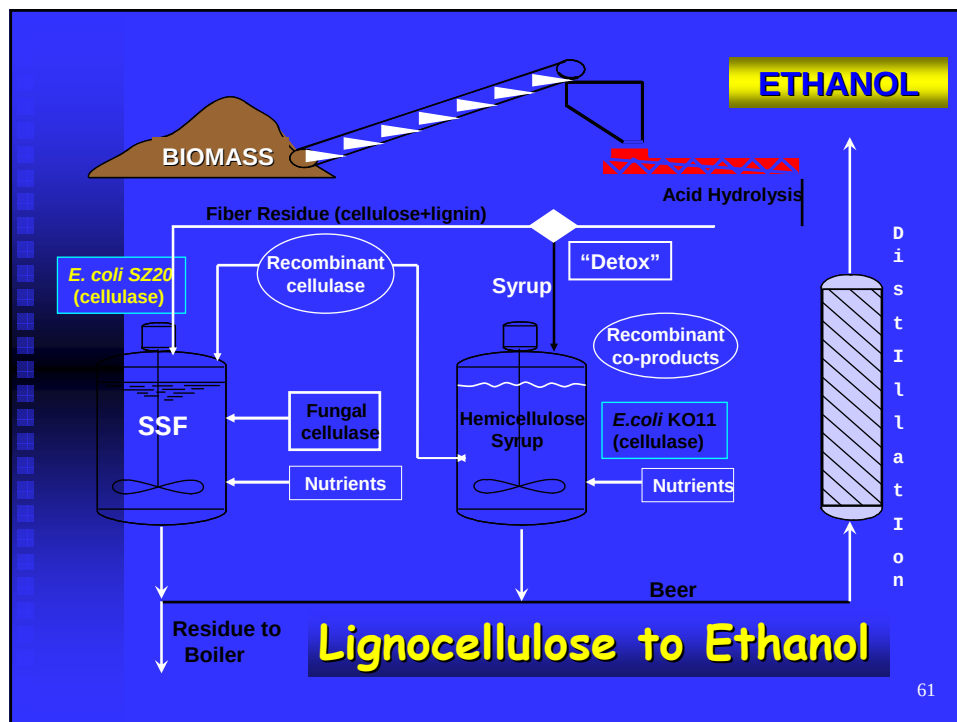
1. 轉化多醣為單糖 — 以黴菌為主
2. 酒精發酵菌株 — 酵母菌以及其他耐高溫菌種

59

酒精發酵反應式



60



汽油醇 (Gasohol)

- 酒精 (乙醇) — 透過微生物發酵醣類、澱粉、或植物纖維產生
- 需經蒸餾濃縮方可成為燃料
- Gasohol (汽油醇) — 汽油中添加乙醇
- Gasohol 產生的動力比汽油低，但是較清潔
- 巴西與美國實施最成功



62



DOE, 2005

BioDiesel (B20)
15% Ethanol Gasoline
10% Ethanol Gasoline

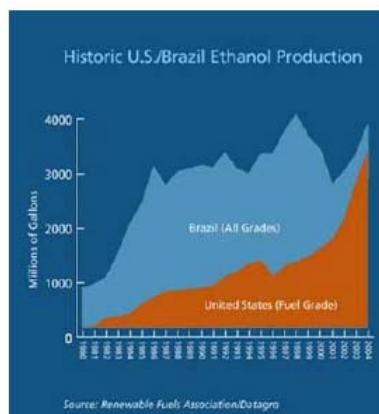
Brazil currently burns E85 in many vehicles. There are no technology barriers to expanding the level of ethanol in automotive fuel.



63



Brazil and The U.S. Lead Fuel Ethanol Use



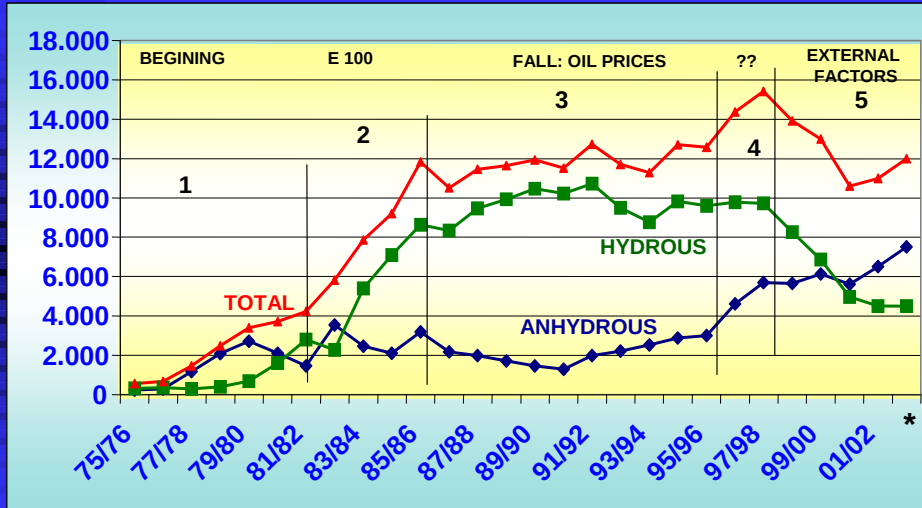
2004 World Ethanol Production
(All grades, million gallons, from F.O. Licht)

Brazil	3,989	Italy	40
U.S.	3,535	Australia	33
China	954	Japan	31
India	452	Pakistan	26
France	219	Sweden	26
Russia	198	Philippines	22
South Africa	110	South Korea	22
U.K.	106	Guatemala	17
Saudi Arabia	79	Cuba	16
Spain	79	Ecuador	12
Thailand	74	Mexico	9
Germany	71	Nicaragua	8
Ukraine	66	Mauritius	6
Canada	61	Zimbabwe	6
Poland	53	Kenya	3
Indonesia	44	Swaziland	3
Argentina	42	Others	338

4

64

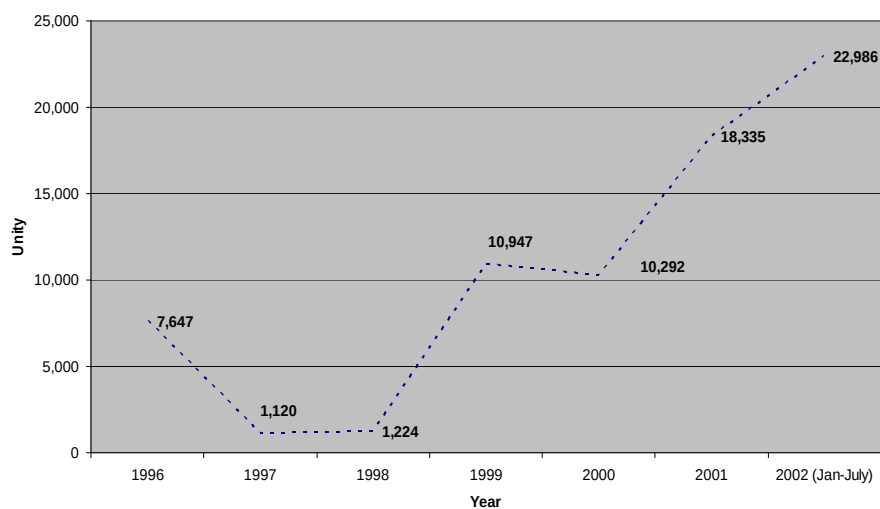
BRAZIL: ETHANOL PRODUCTION



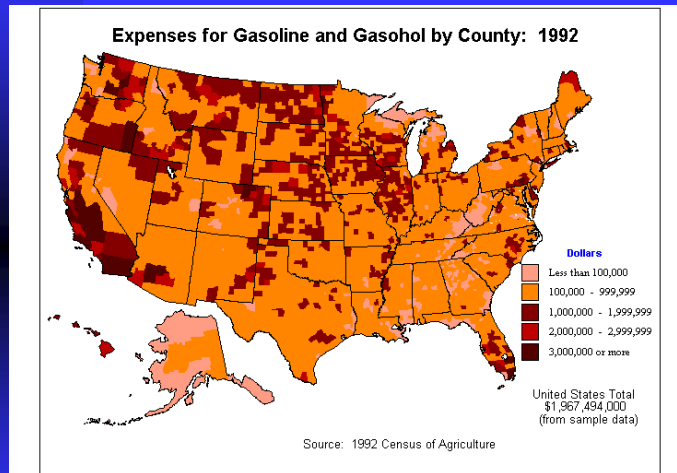
Note: (*) Projection

65

Alcohol Vehicles Sales in Brazil



66



67

使用 Gasohol 對環境的好處

- 減少對石油的依賴
- 減少 CO 及 NOx 的排放
- 減少氧化性硫化物的排放（酸雨）
- 減緩 CO₂ 在大氣中的累積
- 降低溫室效應

68

使用 Gasohol 對健康的好處

- 減少汽油中苯（Benzene）的釋放
- 降低罹癌風險

69

Alternatives for Fuel Ethanol Usage

POTENTIAL USAGE

DIESOHOL

- ◆ blends from E3 to E15 – experimental stage

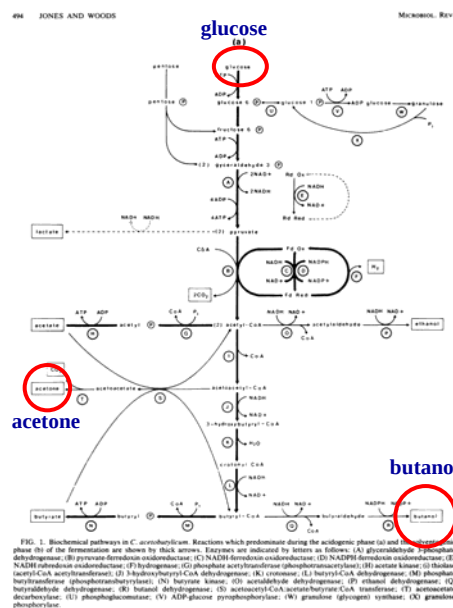
FUEL CELL – research stage

DI Otto Engines (neat / blend) – research stage

70

微生物與能源 — butanol-acetone 丁醇—丙酮

- 原料: 糖蜜、玉米 (澱粉與玉米軸、莖)
- 菌種: 細菌 *Clostridium acetobutylicum* (德國人 Chaim Azriel Weizmann 於1916年首先發現)
- 發酵與溶劑回收 (分液與蒸餾)



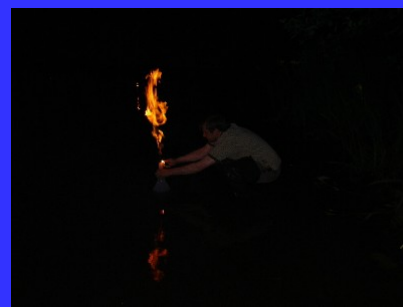
丁醇做為燃料的優點

- 丁醇產生之動力較汽油高
- 可100%使用於一般汽車引擎
- 不傷害引擎
- 燃燒完全，廢氣比汽油少
- 水溶性低，受氣候影響程度比酒精低
- 隨醱酵生產技術之改進，未來價格可更具競爭性

73

微生物與能源 — 甲烷

- 厭氧細菌分解有機廢物時可釋放出富含甲烷氣體（Biogas）
- Biogas 可用來燃燒或發電作為能源



Volta fire

74

微生物與能源 — 甲烷

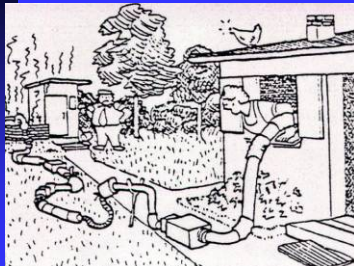
Biogas 來源

- 沼澤
- 家畜糞便
- 家庭污水
- 垃圾掩埋場



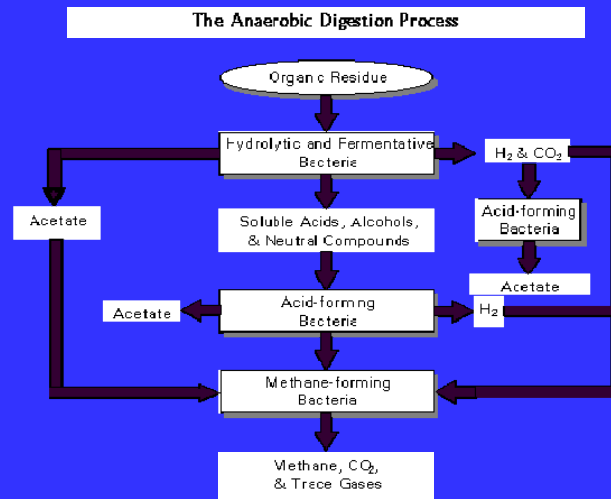
甲烷使用上的限制

- 引擎或發電機須特別設計
- 直接燃燒加熱或烹飪使用效果較佳



76

甲烷是如何產生的？



77

使用甲烷對環境的影響

- 清潔且無污染
- 生產甲烷需較小的規模，此過程有助於改善環境衛生與臭味
- 減低溫室效應 (甲烷的溫室效應是二氧化碳的21倍)

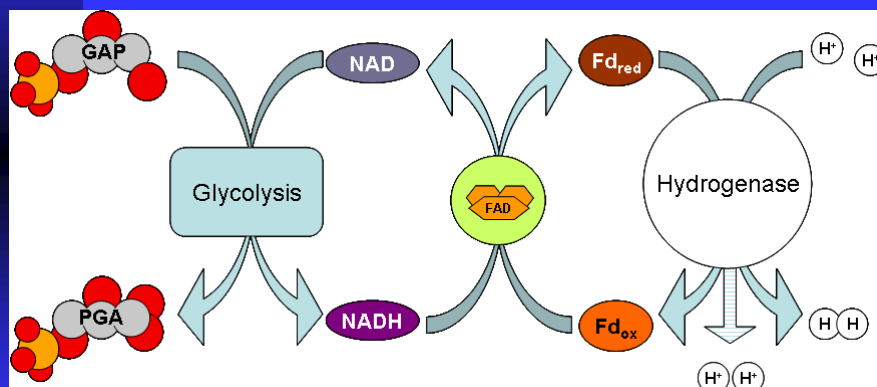
78

微生物與能源 — 氫氣

- 原料: 光合作用、或是直接供應糖類
- 菌種: 具有氫化酵素 (hydrogenase) 的微生物, 如細菌 *Clostridium butyricum*, 藻類 *Chlorella pyrenoidosa* 等
- 為最清潔的燃料
- 目前仍在研發階段

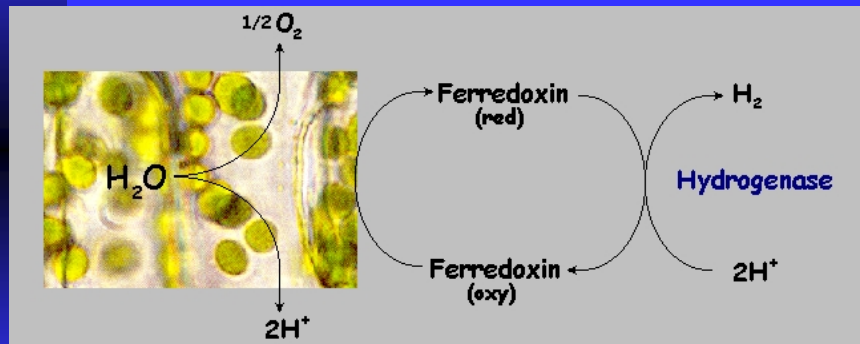
79

氫化酵素產氫反應



80

利用藻類產製氫氣

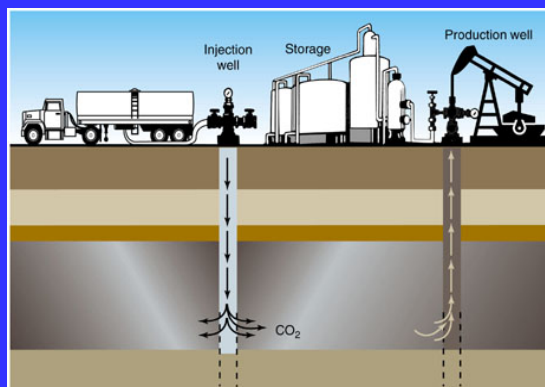


81

微生物在石油開採上的應用

Micorbe-Enhanced Oil Recovery (MEOR)

- 將微生物製造的膠質注入油井四周, 改變石油黏度, 促使石油由吸附的岩石上流入油井, 增加油產量



82

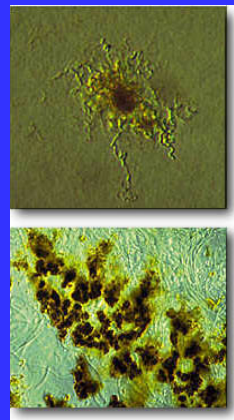


83

微生物在石油開採上的應用

微生物採礦 (Microbial Mining)

1. 吸附與濃縮一些貴重金屬, 造成礦脈
2. 溶解、還原、析出
3. 亦可應用於金屬污染整治



84

微生物在石油開採上的應用

微生物採礦 — 以銅的開採為例

1. 直接萃取法: $\text{CuS} + 2 \text{O}_2 \longrightarrow \text{CuSO}_4$
2. 間接萃取法:
 $4 \text{FeS}_2 + 15 \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2 \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 2 \text{H}_2\text{SO}_4$
 $\text{CuS} + \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \longrightarrow \text{CuSO}_4 + 2 \text{Fe}(\text{SO}_4) + \text{S}$
3. 收集 CuSO_4 ，再將銅元素沉澱出來



85

Perlman's Laws of Applied Microbiology

- The microorganism is always right, your friend, and a sensitive partner.
- There are no stupid microorganisms.
- Microorganisms can and will do anything.
- Microorganisms are smarter, wiser, more energetic than chemist, engineers, and others.
- If you take care of your microbial friends, they will take care of your future.

---- David Perlman, 1980 ----

86