

知識天地

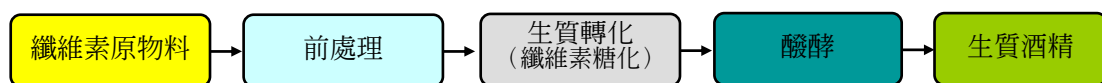
中研院南部生物技術計畫中心生質轉化研究簡介

董啓功（植微所南部生物技術計畫中心研究助技師）

前言

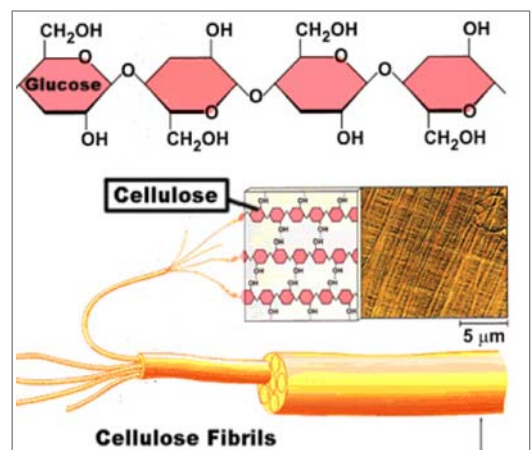
第一次石油危機發生 40 年後的今天，石油仍舊是最大宗的燃料來源，全球性的能源壓力絲毫沒有減輕。據估計，全球石油的存量估計將於 35 年至 50 年內耗盡，加上新興工業國家的崛起使得石油儲量減少更雪上加霜。近年來，由於全球石油需求劇增，加上國際政治處於不穩定的狀態，使得油價居高不下。以我國能源需求情況，乃大量仰賴石油進口，在經濟上導致工業的製造成本與消費物價大幅上揚，造成民生不穩定，這現象其實已間接影響國家的安全。鑑於此考量，我國政府於 2005 年全國能源會議之結論中，明白宣示再生能源技術開發的迫切性，其中又以生質能研發列入重要補助要項。然而整體技術開發而言，以美國能源署（DOE）領導的先進技術之評估顯示，雖然過去近 20 年以高澱粉材料如玉米或蔗糖醱酵生成酒精供作汽車燃料的技術已經成熟，然而以纖維素為材料所開發出的能源，更符合經濟效益與環保規範。纖維素的來源，由於未包含於人類的食用鏈，非常豐富廣泛，其轉化酒精技術預計將於公元 2010 年成熟並逐漸取代澱粉與糖質轉化技術，因此世界上主要的工業經濟體如美國、歐盟、加拿大與日本等近年來致力改進生物技術與生物工程方法處理纖維性廢棄物與或能源作物以生產生質酒精。在 2004 年，由美國國家能源署所屬再生能源實驗室（NREL）與兩大工業酵素公司 Novozymes Biotech 與 Genencor International 合作，獲得纖維素水解酵素系統突破性改進，可降低利用玉米秸稈生產酒精成本 20~30 倍，達到生產每加侖酒精僅美金 1.0 至 1.8 角的成本，也因此榮獲 R&D 100 Award 的極高榮譽。而這裡里程碑的建立，已經宣示纖維素酒精（cellulosic ethanol）成為主要燃料的時代即將來臨。我國纖維素酒精生產開發起步較晚，然而因應國際技術競爭壓力，國內生產技術所面臨的瓶頸必需在 2010 年突破。因此以行政院的規劃，整合國內產、學、研機構全力推動符合我國最有利利益的生產平臺。當中，本院則被賦予主導學界進行纖維轉化酵素系統與酒精醱酵菌株的研發核心角色。而位於臺南科學園區的南部生物技術計畫中心也提早在 2006 年起就開始執行相關酵素系統的來源分析與篩選，積極地推動纖維素酒精生產過程中生質轉化（Bioconversion）的研發。而所謂生質轉化，是指將纖維素分解為糖份的過程，而糖份乃提供後續醱酵過程生成酒精的原料，其在纖維素酒精產程中居於上游的位置。至於所用的原物料（feedstock），我們鎖定為稻草，原因是我國每年產生超過兩百萬噸的農業廢棄物中，近三分之二就是稻草，以往處理方式不外乎就地掩埋或露天燃燒，假如能全數用於生質酒精生產，所衍生出的效益包括能源、環保、活絡農村經濟等等，不可謂小。

纖維素酒精的產程以下列圖示之。



生質轉化與纖維素酒精生產的瓶頸

目前生質能源用纖維素（cellulose）的來源除了少數藻類與細菌外，大都是在植物的細胞壁中。不僅是木本植物，草本植物也富含纖維素。纖維素的組成是由葡萄糖（glucose）聚合成的長鏈分子，通常由數千至數萬葡萄糖所組成，雖然其成份簡單，但是在植物發育與成長過程中，數條纖維素會被組合成“微纖維”（microfibril）的型態，繼而由許多條“微纖維”再組成體積較大的“纖維束”（fibril），許多“纖維束”在空間上並行而構成“層”（layer），然後進一步由數十至上千“層”堆疊成細胞壁的構造（圖一），許多植物細胞甚至含有二到三重細胞壁，形成甚為複雜又堅固的結構。當檢視細胞壁顯微構造會發現纖維素分子形成之複雜結構中，有較鬆散的（amorphous）區域，也有結晶狀（crystalline）的狀態。結晶性纖維



圖一、纖維素構成纖維束

具有非常密實的結構，由於其特殊的物理特性，造成酵素對之分解不易，這就是工業界眾所周知造成生質轉化過程效率不彰的主要因素。然而，生質轉化的瓶頸還不僅如此，除了纖維素物理結構因素外，我們觀察植物體與其細胞的結構就會發現，纖維素其實只是位在細胞壁的成員之一而已，其纖維束則被其他的聚合分子所糾纏環繞而導致遮蔽效應，這些聚合分子包括了半纖維素（hemicellulose）、木質素（lignin）與果膠質（pectin），它們的結構與成份與纖維素截然不同。除了這些非纖維素物質外，植物體最外的表皮組織（epidermis）的上皮層中的特殊脂質 cutin 具有防止外物滲透入侵的防護功能，這些都是纖維素水解酶接近纖維素途徑過程中的障礙。

在纖維素酒精產程過程的設計，通常在纖維素轉化成糖份前會加上所謂“前處理”（pre-treatment）的步驟，其目的就是要破壞或降低這些障礙物所產生的遮蔽效應，常使用的技術包括物理性的粉碎、蒸煮、真空爆破，然而這些方法需要的能量輸入常常就佔去了全部產程消耗能量的一半；另外，也有增加化學性的酸鹼處理方式，但其會產生對環境有毒物質的大量廢液。雖然這些做法在產業上已行之有年，唯以經濟與環保考量，其實已增加了整體成本。因此，開發其他處理方式有其必要，藉以減輕能源負擔與衍生的問題，甚至完全取代既有技術。我們的研發方向則提出生物性處理方式，主要是利用各相關水解酵素來分解這些遮蔽纖維素的各項聚合物，例如半纖維素水解酶、木質素水解酶、果膠酶與酯酶，以達到纖維素分子能充分顯露，使其水解轉化更有效率。而我們提出這方式的同時，美國國家能源署在 2006 年的評估報告中，也呼應了此論點。當然，此新方法需要有其立足點，這不外乎是達成整體成本降低，並能維持或超越原有技術所達成的生質能轉化效率。

初步成果

針對以上提到的生質轉化瓶頸，我們現階段的研究主軸有二，其目標乃因應於纖維素轉化的瓶頸。

(1) 纖維素分解酵素系統的篩選

自然界分解植物纖維素的酵素最大的來源是微生物，這也反應在目前工業用酵素生產所用的材料。我們利用傳統方式進行菌種篩選，從不同來源堆肥獲得具高纖維素分解細菌，例如 *Geobacillus*、*Paenibacillus* 等等，特別是，大部分是臺灣本土菌種。我們也成功地選殖 *Geobacillus* 菌種的纖維素水解酶的基因，其從未有任何學術與工業界發現，因此具有新穎性之優點，目前分析其酵素具有在高溫下穩定的特性，將進一步評估是否符合目前生質轉化產程的使用條件。

地球上微生物（細菌、真菌、原生動物、藍綠藻）種類繁多，據估計有 10^6 至 10^8 不同種類，而超過九成是目前無法以人為方式培養而鑑定者，這意味著目前工業上使用的微生物酵素僅是冰山的一角，還有非常大量的有價值的微生物及其酵素值得大力開發。因此，除了選用可馴養的微生物之外，我們也致力於更新既有的技術，例如使用快速篩選平臺如異源性基因體與蛋白質體（meta-genomics, -proteomics）的方法，將可由環境中眾多的混合菌體直接篩選出它們的纖維素水解酵素系統的基因與蛋白質。這將使我們獲得更多具新穎性或高功能性的酵素種類。

(2) 前處理相關酵素的篩選

我們也著手進行半纖維素水解酶（hemicellulase）、木質素水解酶（ligninase）與分解表皮細胞的酯酶的微生物與酵素基因之篩選。除了利用上述的平臺正在進行開發外，我們大量使用已發表的基因庫資料，經由基因比對（gene alignment）所獲得的資訊，再運用分子生物技術將已篩選的微生物其酵素基因選殖出來。目前已獲得 *Geobacillus* 的聚木糖水解酶（xylanase），此類酵素是半纖維素水解酶系統中最常被利用的成員；數種白腐真菌的漆酶（laccase，木質素水解酶的一種），及特定高溫細菌的酯酶。

結語

我們的研究最大特色之一是新穎性（novelty）。在國際日益競爭的研發壓力下，開創智慧財產是保障研究成果必要的一環，因此需要有區別他人技術或產品的條件。我們認為這新穎性是植基於臺灣特有的生物本土性。縱觀我們的地理環境是富有極大的變化，也因此孕育著非常豐富的生物資源，這當然包括了各式各樣的細菌與真菌，實在非常值得我們去了解與發掘，並作最適當的開發。我們研發的里程，希望在兩年內搜集到更多具生質轉化特色的微生物與酵素；中長程將配合院內其他團隊與國內相關大學，進一步改良出符合纖維素酒精產程的高功能性菌種與酵素系統，並結合國內生質能源工程單位如核能所、臺灣中油等機構開發出針對稻草與其他纖維素作物高效率生產酒精的產程。冀望同心協力為我們的社會與下一代創造出更乾淨與更進步的生活環境。