

優化芽孢桿菌屬之菌株產蛋白酶能力及其應用

徐靖亞(5140)

2023/05/03

大綱

一、前言

二、*Bacillus subtilis* S1 和 *Bacillus amyloliquefaciens* KSM12 蛋白酶的生產及優化

三、*Bacillus licheniformis* 利用農業廢棄物生產蛋白酶、優化條件及其應用

四、*Bacillus nakamurai* PL4 胞外蛋白酶的生產、優化及其應用

五、結論

摘要

蛋白酶能將蛋白質分解成較小的胜肽片段和胺基酸，因此能應用於皮革加工、衣物洗潔劑和食品加工等產業上，利用微生物生產蛋白酶因其低成本和高效率而受到青睞，相比動植物蛋白酶，可以在更短的時間內大規模培養，並且能在實驗室條件下輕鬆優化生長條件，然而微生物的生長會受到培養基的成分的影響，進而影響蛋白酶的生產，因此優化培養基對提高蛋白酶產量具有重要作用，本篇目的為探討 *Bacillus subtilis* S1、*Bacillus amyloliquefaciens* KSM12、*Bacillus licheniformis* 和 *Bacillus nakamurai* PL4 的培養條件，以優化這四種芽孢桿菌屬菌株生產蛋白酶的培養基及分析其蛋白酶後續應用，結果顯示 *B. subtilis* S1 在 5% (w/v) NaCl、pH 8、37°C 下發酵 48 小時、*B. amyloliquefaciens* KSM12 在 10% (w/v) NaCl、pH 9、37°C 下發酵 72 小時，蛋白酶活性分別為 99.8 U/mL 和 94.6 U/mL，增加了 2.9 倍和 3.4 倍，並且生產出的蛋白酶在界面活性劑中也很穩定，此特性可能有助於被用作洗衣精配方中的添加劑；*B. licheniformis* 以 5% 麥麩作為基質，氮源為 1% 蛋白胨和酵母萃取物的等量混合物，pH 值為 8 的條件下生產出的蛋白酶具有良好的活性及穩定性，並且能夠在和市售洗衣精相容和保持穩定性的同時，也不影響原有洗衣精的血漬清除能力；*B. Nakamurai* PL4 利用酪蛋白為基質，在 pH 8 下發酵 72 小時，利用 Plackett-Burman 設計優化發酵條件，篩選出最佳碳源為木糖、氮源為蛋白胨和 $MnCl_2$ 和 KH_2PO_4 作為金屬離子，並且生產出的蛋白酶，有良好的去漬及降解動物毛效果，綜合上述，這四種芽孢桿菌屬菌株生產的蛋白酶皆具有工業應用的潛力。

參考文獻

- Adinarayana, K., Raju, K. B., & Ellaiah, P. (2004). Investigations on alkaline protease production with *B. subtilis* PE-11 immobilized in calcium alginate gel beads. *Process Biochemistry*, 39(11), 1331-1339.
- Bhaskar, N., Sudeepa, E. S., Rashmi, H. N., & Selvi, A. T. (2007). Partial purification and characterization of protease of *Bacillus proteolyticus* CFR3001 isolated from fish processing waste and its antibacterial activities. *Bioresource Technology*, 98(14), 2758-2764.
- Espoui, A. H., Larimi, S. G., & Darzi, G. N. (2022). Optimization of protease production process using bran waste using *Bacillus licheniformis*. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 39(3), 674-683.**
- Hanlon, G. W., Hodges, N. A., & Russell, A. D. (1982). The influence of glucose, ammonium and magnesium availability on the production of protease and bacitracin by *Bacillus licheniformis*. *Microbiology*, 128(4), 845-851.
- Hashmi, S., Iqbal, S., Ahmed, I., & Janjua, H. A. (2022). Production, Optimization, and partial purification of alkali-thermotolerant proteases from newly isolated *Bacillus subtilis* S1 and *Bacillus amyloliquefaciens* KSM12. *Processes*, 10(6), 1050.**
- Jellouli, K., Ghorbel-Bellaaj, O., Ayed, H. B., Manni, L., Agrebi, R., & Nasri, M. (2011). Alkaline-protease from *Bacillus licheniformis* MP1: purification, characterization and potential application as a detergent additive and for shrimp waste deproteinization. *Process Biochemistry*, 46(6), 1248-1256.
- Kole, M. M., Draper, I., & Gerson, D. F. (1988). Production of protease by *Bacillus subtilis* using simultaneous control of glucose and ammonium concentrations. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 41(3), 197-206.
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., & Deshpande, V. V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597-635.
- Shaikh, I. A., Turakani, B., Malpani, J., Goudar, S. V., Mahnashi, M. H., Al-Serwi, R. H., Ghoneim, M.M., El-Sherbiny, M., Mannasaheb, B. A., Alsaikhan, F., Sindagimath, V., Khan, A. A., Muddapur, U. M., Azzouz, S., Mohammed, T., & Iqbal, S. S. (2023). Extracellular Protease Production, Optimization, and Partial Purification from *Bacillus nakamurai* PL4 and its Applications. *Journal of King Saud University-Science*, 35(1), 102429.**