

# 聚麩胺酸之特性及其在農業上之應用

陳俊位

## 摘 要

天然聚麩胺酸〔 $\gamma$ -(D,L)-PGA,  $\gamma$ -Polyglutamic Acid, 簡稱  $\gamma$ -PGA〕係利用微生物 (*Bacillus* sp.) 或酵素 (glutamyl transpeptidase) 將麩胺酸經由生化過程聚合而成的一種生物可分解性的高分子材料。聚麩胺酸( $\gamma$ -PGA)最早被發現於 *Bacillus anthracis* 的莢膜中，在日本傳統食品—納豆的黏性物質中亦發現含有大量的  $\gamma$ -PGA。聚麩胺酸為生物性高分子聚合物，具有保濕性、高黏性、無毒性、金屬螯合性、生物可分解性及生體相容性等特性。由於其構成成份相當奇特因而具有許多一般意想不到的結構特性和多功能特性，極適合於跨領域的工業應用，具高度經濟價值。 $\gamma$ -PGA 只含有麩胺酸，為單一胺基酸所組成，其化學結構為  $\gamma$ -COOH 羧基與  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> 胺基縮水結合而成的  $\gamma$ -peptide bond 鍵結之生物高分子。由於  $\gamma$ -PGA 含有很多 -COOH 基和呈現多種結構功能形態 (Conformational states)，而具備許多化學與生物學上的多功能特性，例如在中性溶液中可與多種重金屬離子螯合 (Chelating) 並產生沉澱，能與多種具生理功能蛋白質強烈結合 (binding) 的能力，與鈣離子和鎂離子結合成離子配位錯鹽離子結構 (Coordinated ionic complex) 的功能等。因聚麩胺酸具有多機能性，在食品方面之應用可作為增黏劑、保水劑、酸味抑制劑等品質改良劑，亦可作為促進葉酸及多種礦物質吸收的營養強化劑。在化妝品應用方面，聚麩胺酸具高吸水性是絕佳的保濕素材。在醫療用素材方面可開發生醫用人工皮膚及緩釋藥劑等，亦可開發成衛生器材用尿布和衛生棉之超吸水膠體，以及生物可分解性材料用包裝器材，另外也可改良人造纖維之保濕性質；其他如奈米級生醫材料、生物晶片及生物分子感測器等特殊應用尚有待積極開發。在農業應用上，可供開發土壤改良劑、沙漠綠化、種子被覆劑、農作物生長助劑、動物飼料營養助劑等特殊產品。由於用途廣泛，對於目前化學合成高分子具有較優異的取代性，且在安全及環保上有其絕對的必要性，展望未來， $\gamma$ -PGA 將成為全球最重要的高分子素材之一。

## 前 言

$\gamma$ -(D,L)-PGA(gamma-polyglutamic acid, 聚麩胺酸)及其中性鹽類(1-3)為當前工業應用上最具潛力的多功能生物可分解性高分子(biopolymers), 具安全又環保的特性, 其單一胺基酸構成的蛋白質特性, 更具應用價值。 $\gamma$ -D-PGA、 $\gamma$ -(D,L)-PGA, 以及  $\gamma$ -L-PGA 統稱為  $\gamma$ -PGA。聚麩胺酸鹽水膠( $\gamma$ -Polyglutamate hydrogels)為最具應用潛力的  $\gamma$ -PGA 衍生產品, 除了安全性外, 其超高的吸水保濕功能、柔軟成膜特性、深具保健功效等優點, 適用於製成各種高級保濕產品, 安全而又無毒性的乳化劑產品和高吸水衛生器材產品, 以及廣大的農業用綠化和土壤改良產品, 可促進農作物成長等高價位產品, 此外亦可製成皮膚貼布及其他「類人工皮膚」的優良材料, 極具生醫應用的價值(表 1)。而枯草桿菌群細菌具有生產多種具特定功能基質的特性, 除了酵素、蛋白及抗生物質, 近年來以其麩胺酸聚合成的高分子量聚合物  $\gamma$ -PGA 受到高度重視。 $\gamma$ -PGA 為天然產物, 分子帶多價負電, 由生物產生且具可分解性、可溶性、保水性、及生物安全性, 對生態環境無不良衝擊, 由於此些結構特性與多功能特性, 使  $\gamma$ -PGA 適合應用於跨領域的工業應用, 包含食品增量劑、保濕劑、藥物載體、生物黏著劑等用途, 為目前產業發展上甚被看好的生技產品, 有關  $\gamma$ -PGA 的應用性, 在農業方面以土壤保水力與土壤結構的改善、植物生長有機氮源的提供以及植物生長的促進最受到重視。 $\gamma$ -PGA 水膠屬於新生技產品, 特此簡介其特性和本質, 以享本場同仁, 以期多參與此類新產品之開發與應用。

## 內 容

### 二、 $\gamma$ -PGA(gamma-Polyglutamic acid 聚麩胺酸)介紹：

生物高分子素材-聚谷氨酸(gamma Polyglutamic acid, 以下簡稱  $\gamma$ -PGA(圖一)), 是以谷氨酸為基礎原料, 並結合有機碳源、氮源及礦物質, 利用微生物發酵生化合成的生物高分子聚合物, 能促進營養成分的吸收。 $\gamma$ -PGA 因特殊的化學結構, 具有高吸水性、高黏性、金屬螯合性等多重機能, 再加上其為無毒性及生物可分解性, 因此  $\gamma$ -PGA 可以廣泛應用於食品工業、健康食品、化妝品, 以致於醫藥工業、農業應用及環境保護等領域。

表 1. 聚麩胺酸〔 $\gamma$ -(D,L)-Poly-glutamic acid〕及其衍生物在工業上之應用

工業別	產品別	化學與生化功能特性
食品工業	增粘劑/安定劑 動物飼料營養助劑 抗凍劑	改進液體食品之粘性，改進食品質地及口感等 促進鈣吸收與骨質成長，增加蛋殼硬度，改善蛋白及蛋黃品質 提昇冷凍食品之抗凍性
健康與保健食品	健康營養助劑	促進鈣吸收,改善骨質疏鬆問題
化妝品工業	保溼劑	改善保養皮膚，減少皺紋
淨水處理/都市用水	吸附重金屬	去除水中重金屬和放射性金屬離子
污水處理工程	生物可分解性絮凝劑	可代替 polyacryamide 或 PAC
醫藥工業	緩釋藥物載體	癌症藥劑或基因療法之生物相容性的載體
農業應用	土壤改良,種子被覆	高吸水/保水功能
衛生器材製品	尿布，衛生棉	高吸水劑
特種功能性製品	生物晶片，LCD 面板	生物體相容性
其他	生物可分解性塑膠	生物可分解特性
	生物可分解性纖維	

胺基酸聚合物(polyamino acids)種類繁多，可分為天然與人工合成，天然胺基酸聚合物存在於許多不同的環境中，主要由微生物產生，目前已知除  $\gamma$ -PGA 以外尚有聚離胺酸 poly ( $\epsilon$ -L-lysine)( $\epsilon$ -PL)與藻青素 cyanophycin(CGP)等，這些天然聚合物通常存在於細菌的胞外黏稠物質或莢膜中，可增加細菌抵抗缺水或重金屬等不良環境的抵抗力，而 McLean 等人研究發現，由枯草桿菌群細菌產生並分泌至胞外的  $\gamma$ -PGA 能與土壤中的有毒金屬離子結合，因而可降低後者對菌體本身的傷害。另外，也可作為抗生物質(extracellular antibiotic agents)、碳氮素原與能量儲存物質(intracellular nitrogen, carbon and energy storage compounds)、提升生物膜的形成、使菌體避免受到噬菌體的吞噬。而於造成炭疽病的動物病原 *Bacillus anthracis*，其莢膜中的 poly-D-glutamic acid 則為引發免疫反應的重要因子之一。

$\gamma$ -PGA 最初由 Ivánovics and Eröds 在 *Bacillus anthracis* 莢膜中發現，經由高壓滅菌或是細胞老化及分解後會釋放到胞外，之後陸續發現，許多枯草桿菌群細菌也具有產生  $\gamma$ -PGA 的能力，但是和 *Bacillus anthracis* 不同的是，非病原性的枯草桿菌群細菌所產生的  $\gamma$ -PGA 中的麩胺酸單體，具有 D-form 與 L-form 且可被分泌至胞外作為自由的聚合物(freely polymers)，已被研究發現具有這些特性的這類群成員包含 *Bacillus subtilis*、*Bacillus megaterium*、*Bacillus amyloliquefaciens*、*Bacillus licheniformis*。而  $\gamma$ -PGA 的相關製品中則以日本傳統健康食品納豆(natto)最為人所熟知，其製品中的粘稠物質即為 *Bacillus natto* 發酵產生的  $\gamma$ -PGA 與 fructan 的混合物質。

$\gamma$ -PGA 為帶多價負電的胺基酸聚合物，由同一單體所聚合而成(homopolymer)，可由 D-form glutamic acid 或 L-form glutamic acid 聚合，或是共同由 D-form 與 L-form glutamic acid 聚合成對應結構體(enantiomers)，鍵結方式主要以麩胺酸的  $\alpha$ -amino group 與另一麩胺酸的  $\gamma$ -carboxylic group 以  $\gamma$ -amide linkage 方式聚合而成，因此稱為 poly  $\gamma$ -glutamic acid，其化學結構如下：

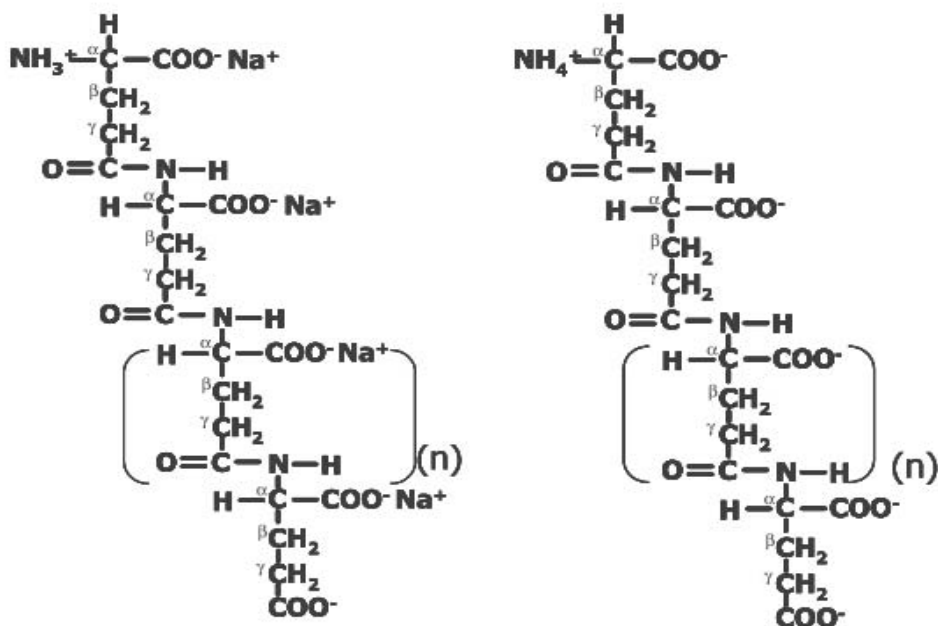


圖 1.圖左為鈉鹽型態的  $\gamma$ -PGA，圖右為 Free form  $\gamma$ -PGA。

$\gamma$ -PGA 已知可經由二種不同的生物化學轉化機制聚合而成，其一為 *de novo* Bioconversion Pathway，通常固態醱酵培養下是經由此種方式產出，其不需要額外添加 L-Glu (L-Glutamic acid)作為誘導物質；另一則為 *Salvage Bioconversion Pathway*，於液態醱酵培養下此為主要的轉化聚合機制，此生產方式需要外加 L-Glu 作為誘導物質(圖 2)。

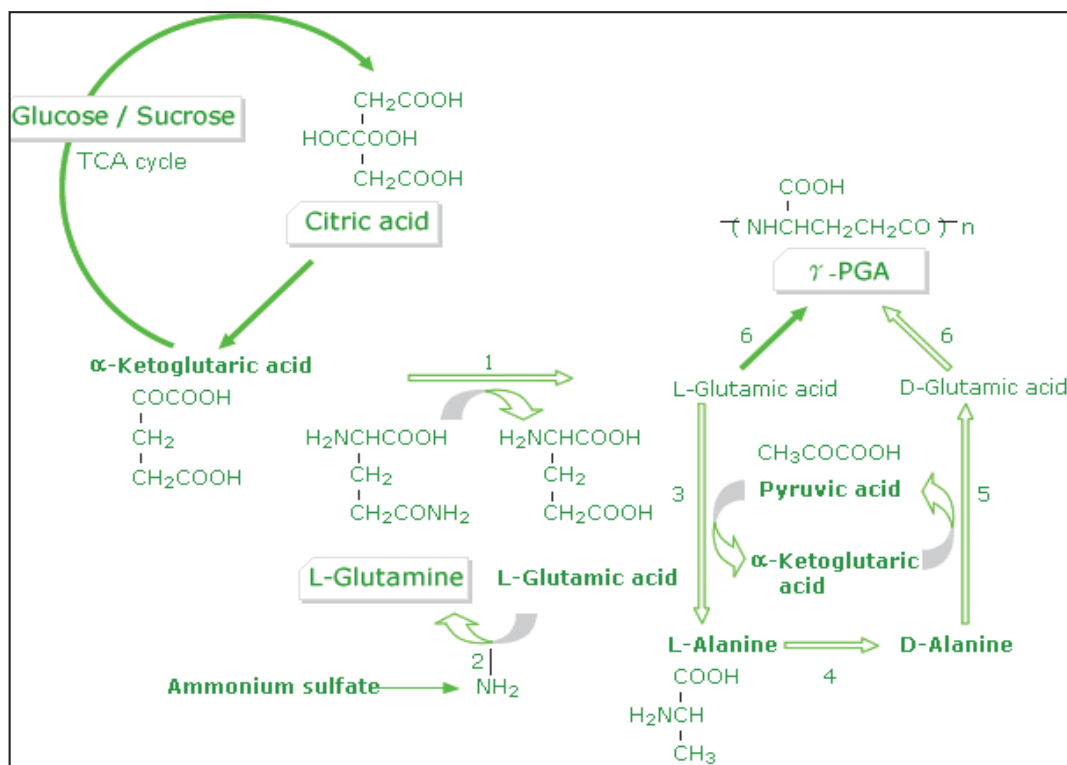


圖 2.  $\gamma$ -PGA 生化合成機制----Salvage Bioconversion Pathway。

由上述兩種對麩胺酸的需求不同的生產  $\gamma$ -PGA 方法，可將生產  $\gamma$ -PGA 的菌種分為 glutamic acid-dependent bacteria 與 glutamic acid-independent bacteria。  $\gamma$ -PGA 的生合成大部分在細胞生長對數期或穩定生長期間累積，先聚合成於細胞體內，然後再排出體外。為了要增加  $\gamma$ -PGA 的產量，固態醱酵培養(solid-state fermentation)為將微生物培養於濕潤的固態基質中，在亞洲地區，許多國家以固態醱酵培養的方式生產食品，像是日本酒麴(koji)，利用 *Aspergillus oryzae* 培養於米飯中，醱酵生產含酒精的飲料(Hölker and Lenz, 2005)。近幾年來，回收再利用農工業所產生的

殘餘物(agro-industrial residues)逐漸受到重視，回收再利用這些殘餘物除能降低生產的成本，也能幫助解決這些殘餘物的堆積對環境所造成的衝擊。嘗試利用農工業殘餘物作為培養微生物的基質，其有關研究發展有逐年增加的趨勢，在 2008 年 Wang 氏等即利用大豆與地瓜的殘餘物(soybean and sweet potato residues)作為主要固態培養基質，將 *Bacillus subtilis* B6-1 培養於此培養基，發現能共同生產抗生物質(e.g. lipopeptides)與  $\gamma$ -PGA，並有效地降低胡瓜萎凋病的發生與促進胡瓜生長。而許多學者亦研究發現根據不同菌種(strians)間對生產  $\gamma$ -PGA 的營養需求皆不太相同，除最主要對 L-glutamic acid 的需求不同之外，培養基質中碳、氮素源的含量、離子強度、通氣性與 pH 值等因子皆會影響  $\gamma$ -PGA 的產量。在 1954 年，Thorne 氏等以 *B. licheniformis* ATCC 9945A 作為生產  $\gamma$ -PGA 的菌株，並經由許多不同養分的添加測試，發現以無機鹽類、glutamic acid、citric acid 與 glycerol 均能促進  $\gamma$ -PGA 的產量，而設計為 medium C(20 g/l L-glutamic acid、12 g/l citric acid、80 g/l glycerol、7 g/l  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、0.5 g/l  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、0.04 g/l  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、0.5 g/l  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )。其後 Leonard 等人則發現  $\text{Mn}^{2+}$  有助於細胞的大量生長與延長生存能力，且會利於  $\gamma$ -PGA 的產生，另外， $\text{Ca}^{2+}$  的添加也能增加  $\gamma$ -PGA 產量，因此將 medium C 改良為 medium E，即額外再添加  $\text{Mn}^{2+}$  與  $\text{Ca}^{2+}$ ，之後許多研究皆依據此培養基配方探討不同 *Bacillus* 菌株生產  $\gamma$ -PGA 的能力。

## 結 語

聚麩胺酸為生物性高分子聚合物，具有保濕性、高黏性、無毒性、金屬螯合性、生物可分解性及生體相容性等特性，由於其構成成份相當奇特因而具有許多一般意想不到的結構特性和多功能特性，極適合於跨領域的工業應用，具高度經濟價值。由於聚麩胺酸具有多機能性，在食品方面之應用可作為增黏劑、保水劑、酸味抑制劑等品質改良劑，亦可作為促進葉酸及多種礦物質吸收的營養強化劑。在化妝品應用方面，聚麩胺酸具高吸水性是絕佳的保濕素材。在醫療用素材方面可開發生醫用人工皮膚及緩釋藥劑等，亦可開發成衛生器材用尿布和衛生棉之超吸水膠體，以及生物可分解性材料用包裝器材，另外也可改良人造纖維之保濕性質；其他如奈米級生醫材料、生物晶片及生物分子感測器等特殊應用尚有待積極開發。在農業應用上，可供開發土壤改良劑、沙漠綠化、種子被覆劑、農作物生

長助劑、動物飼料營養助劑等特殊產品。由於用途廣泛，對於目前化學合成高分子具有較優異的取代性，且在安全及環保上有其絕對的必要性，展望未來， $\gamma$ -PGA 將成爲全球最重要的高分子素材之一。

## 引用文獻

1. 何觀輝 2005 聚麩胺酸水膠及其工業應用 生物產業 16 (4): 69-77。
2. 何觀輝 2006 聚麩胺酸之結構特性與化學特性 化工資訊與商情 31: 64-71。
3. 原敏夫 2002 納豆の糸から納豆樹脂の開発とその利用 月刊うちゅう(大阪市立科學管) : No(9): 4-9。
4. Buescher, J. M., and Margaritis, A. 2007. Microbial biosynthesis of poly glutamic acid biopolymer and applications in the biopharmaceutical, biomedical and food industries. Crit. Rev. Biotechnol. 27: 1-19.
5. Candela, T., and Fouet, A. 2006. Poly- $\gamma$ -glutamate in bacteria. Mol. Microbiol. 60: 1091-1098.
6. Ezzell, Jr J. W., and Welkos, S. L. 1999. The capsule of *Bacillus anthracis*, a review. Appl. Microbiol. 87: 250.
7. McLean, R. J., Beauchemin, D., Clapham, L., and Beveridge, T. J. 1990. Metal-binding characteristics of the gamma-glutamyl capsular polymer of *Bacillus licheniformis* ATCC9945. Appl. Environ. Microbiol. 56: 3671-3677.
8. Obst, M., and Steinbüchel, A. 2004. Microbial degradation of poly amino acids. Biomacromolecules 5: 1166-1176.
9. Park, C., Choi, J. C., Choi, Y. H., Nakamura, H., Shimanouchi, K., Horiuchi, T., Misono, H., Sewaki, T., Soda, K., Ashiuchi, M., Sung, M. H. 2005. Synthesis of super-high-molecular-weight poly- $\gamma$ -glutamic acid by *Bacillus subtilis* subsp. *chungkookjang*. J. Mol. Catal., B Enzym. 35: 128-133.
10. Shi, F., Xu, Z., and Cen, P. 2006. Efficient Production of Poly- $\gamma$ -glutamic Acid by *Bacillus subtilis* ZJU-7. Appl. Biochem. Biotechnol. 133: 271-281.
11. Shih, I. L., and Van, Y. T. 2001. The production of poly-( $\gamma$ -glutamic acid) from microorganisms and its various applications. Bioresour. Technol. 79: 207-225.

12. Sung, M. H., Park, C., Kim, C. J., Poo, H., Soda, K., and Ashiuchi, M. 2005. Natural and edible biopolymer poly- $\gamma$ -glutamic acid: Synthesis, production, and applications. *Chem. Rec.* 5: 352-366.
13. Wang, Q., Chen, S., Zhang, J., Sun, M., Liu, Z., and Yu, Z. 2008. Co-producing lipopeptides and poly- $\gamma$ -glutamic acid by solid-state fermentation of *Bacillus subtilis* using soybean and sweet potato residues and its biocontrol and fertilizer synergistic effects. *Bioresour. Technol.* 99: 3318-3323.