

第一章 前言

1.1 研究緣起

都市及農業活動所產生含有纖維的廢棄物數量相當可觀，目前常用掩埋法和焚化法來處理這些廢棄物，而掩埋法伴隨有佔地面積廣和臭味等問題，焚化法則會大量產生 CO₂ 等溫室氣體，且這些纖維廢棄物中常含較高之水份，造成燃燒不完全，易產生一些有害的氣體如 CO 及懸浮微粒等物質。故近年來有許多的學者提出，可利用厭氧微生物轉化的方法，將這些纖維廢棄物轉變成生質能源，如甲烷或乙醇等再生能源，此種生物轉化方法可以有效的減少這些固體廢棄物的污染並產生各種不同的生質能 (Romana and Rajoka, 2000)。

厭氧環境下纖維素的分解，會先被水解菌群產生纖維水解酵素，水解成醣類，再由酸生成菌群進行醱酵作用，產生揮發性脂肪酸(Volatile Fatty Acid, VFA)，這些揮發性脂肪酸再由甲烷生成菌群利用，形成最終產物甲烷(Irene and Banks, 2005)。

使用高溫降解纖維主要是由於在醱酵過程中，其核心的溫度可高達 45-55°C，甚至更高的溫度。且在高溫下可提高基質的溶解度。耐熱性纖維水解酵素在高溫下熱穩度性高，生化反應速率較中溫酵素快。另一原因則是在高溫醱酵下致病菌不易生存，可減

低並抑制有害病菌，故使用高溫降解纖維素廢棄物是一種理想的處理方式。

為了解纖維素的降解菌群及甲烷生成菌群這兩種族群在生物反應中對於彼此的影響，必需有效的觀察掌握菌群之間的變化。在過去傳統微生物菌群的研究方法中，主要是利用顯微鏡觀察細胞形態或是使用培養方式，但此種方法對於一些複雜的菌相和不容易被培養出的菌群難以有效的區別或鑑定。隨著分子生物技術的發展，利用 16S rRNA gene 做為分類之依據，可以改善傳統培養方式對菌種具有選擇性的缺點。故本研究擬利用分子生物技術方式探討菌群的結構。

目前國際上有許多針對甲烷生成菌的研究，這些研究所分離出的甲烷菌生長的最佳溫度大都處於中溫菌的生長溫度範圍(20-45°C)，而嗜熱性(50-98°C)甲烷菌株相對而言較少。因此本研究期望由嗜熱纖維降解產甲烷之菌群中分離出嗜熱性的甲烷生成菌，以利未來對嗜熱性甲烷菌作進一步的研究。

1.2 研究目的

微生物分解作用有如一個黑盒子，一般要了解這些菌群在分解過程中所扮演的角色，使用一般傳統培養方法，相當耗時且不一定完整了解這些菌群在不同分解階段的變化，因此本研究使用

PCR-DGGE 方法來探討一混合菌群中真細菌與古細菌之族群種類。此外，本研究的菌群來源為嗜熱纖維降解產甲烷批次系統，目前所知嗜熱性甲烷菌種類並不多見，成功分離僅有 20 株，故也以此作更進一步研究。本研究目的包含：

1. 以變性梯度凝膠電泳(Denature Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)分析菌相變化，並利用分子生物技術將所得之 16S rDNA 核酸片段定序探討菌群親源關係。
2. 嘗試由嗜熱纖維降解產甲烷批次系統中，分離嗜熱性甲烷菌株並加以鑑定及探討其生長參數。