

# 組織培養自動化機械之研究開發與應用

當一個原始屬於勞力密集製造產業的產品，在面臨生產成本壓力或產品需求面增加時，就會開始思考對製程的簡化及自動化，簡化的重點在於生產環境及流程的順暢性，達到產程縮短；自動化的重點在於單位時間內增加產品製成率，在不影響或提高品質下，提高產能，如此可降低生產成本中的人力、物力及時間，減少浪費及重覆性，因此製程的一貫化、自動化及循環式生產流程因應而生。

台灣在30多年前植物組織培養商業生產有了簡單的雛型，因產品為生物性，加上種類及量少而歸類於農業生產中，且多以小型工作室及實驗室為經營型態，近20年來由於：1. 分子生物技術的導入。2. 組織培養大量生產技術的進步。3. 無病毒健康種苗及二次代謝物的概念，使得組織培養種類與數量增加（從食用、觀賞到藥用植物），培養產品多樣性（種苗、二次代謝物來自器官及細胞培養），隨資本投入，經營規模已由農場、蘭園擴增為企業公司及生技公司，組織培養企業經營及工業管理模式已是今日必然的趨勢，組織培養屬於「高技術、高成本」產業，其中人工成本佔總成本60-80%，從生產作業各階段所需人工成本分布，發現三種作業需要固定持續的人工，佔人工成本總支出分別為培養基配製工佔10-20%，組培無菌操作台移植工佔50-75%，洗瓶工佔10-15%，自動化的目的在於減少人工支出，在國外為了降低生產成本，利用電腦(Cunha *et al.*, 1996)與機械作為輔助的例子相當多，Kozai 氏(1990)及其實驗室(Kozai *et al.*, 1991)亦曾針對組織培養設計一套機械化生產流程，Kondo 等人(1996)利用機械手臂與影像掃描處理配合切割芽

體；因此種苗改良繁殖場在民國84年前就開始著手研究開發組織培養苗大量生產的管理模式、品質管控點的建立、健康種苗及自動化機械的開發，在自動化機械方面，目前已開發多項應用於組織培養生產流程中的機械，實際線上應用，其中包括培養基自動配藥系統、培養基自動充填系統、塑膠培養瓶自動封膜系統、培養瓶自動洗瓶機、及組織培養條碼管理系統，分述如下：

## （一）培養基自動配藥系統

分析植物組織培養之培養基，以MS基本鹽類為例，就有13-15種已知無機鹽類，加上數種維他命、氨基酸（蛋白質）、其它有機成分（香蕉、蘋果及馬鈴薯泥）、生長調節劑、糖類、agar及水，定量後尚需利用加入HCl及NaOH來調整pH值，共有約25-30種或更多已知與未知成分，在系統設計前需了解在大量生產中母液的配製都是量大、高濃度且多種成分混合配製，之後再考慮：1. 配成母液的種類與數量，量大者採用直接添加（如agar與糖）。2. 高濃度化合物間的結晶沉澱，不同化合物鹽類水中溶解及解離後產生之陰、陽離子，經不同溶液混合之再結晶形成沉澱。3. 培養基總體積可定量。4. pH值為可自由設定及自動加酸鹼調整。5. 母液冷藏方式，由使用頻度決定。之後，尚須設計如何作確效，以確定培養基的配製過程有無錯誤，利用配製中的確效法與配製完成後的檢驗法作確認，此對培養基配製非常重要，為後續組織培養是否成功主要關鍵之一，設計完成後，開始思考配製流程，此包括1. 系統前給水連接與水質控制，2. 系統後連接自動充填系統，3. 培養基配製槽用畢之管線



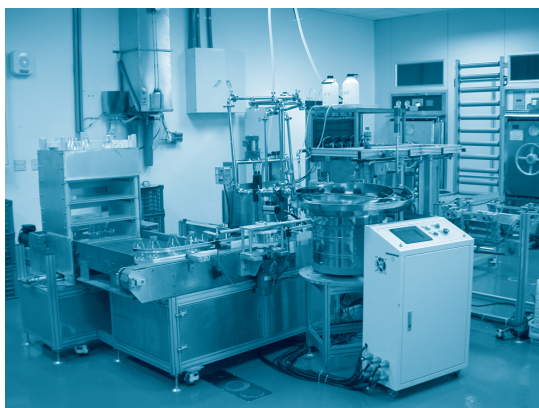
圖一 培養基自動配藥系統

清洗與排水程序。最後形成一個系統，而本場研發之培養基自動配藥系統設計概念來自水耕栽培的想法，該系統（圖一）結合母液自動攪拌、可設定式母液定量抽取及pH值自動調整校正之三大功能，設計簡單易於操作，並利用流量計、母液暫存管及目視作培養液定量確認，經自動定量，pH值可自由設定，最後利用自動感應培養液，加酸加鹼，完成培養基配製動作，只須一人可完成操作動作，平均12-15分鐘，可完成100公升之固體或液體培養基之配製，包括pH值調整至設定值，且業者可以根據培養基一次配製需求量更換零件，以達到更縮短配製時間，及增加配製次數，該系統適合應用於多種及多個大型培養液槽及不同類型培養基（如MS、B5、WPM）之配製、亦可做不同濃度配製（如1/2、1/4、1/8MS），在整個系統中我們導入了一個在培養基配製中作檢測點的double check觀念（此技術已獲得專利），我們經常使用儀器設備，常犯太相信及依賴機器，雖然定時會作機器校正，有時機器偶爾出錯

常不自覺，直到成品出來，經檢驗已來不及，只好作廢而浪費成本，對組織培養而言，最怕培養基配錯，尤其是微量的生長調節劑，故部分業者排斥一次配大量培養基，培養基配製後確認檢驗，確實不易作到，分析檢驗成本高，其亦無像藥品檢驗有其必要性，因此少有業者注意此點，僅有在發生瓶苗生長不對時，才會懷疑是否培養基配錯，故本場開發這項配製中檢查技術的目的，在於作人與機器的雙重確認，發現有問題時尚可及時更正，減少培養基配製錯誤的風險。

## （二）培養基自動充填系統

培養基自動充填系統原始概念來自食品之汽水飲料的充填模式，業者若要自行開發製作，設計前須考慮下面因素，包括：1. 培養基產能大小，因為產能大小決定機械採用單瓶一次充填或多瓶一次充填模式（增加充填頭）、充填速度、一天是否採用三班制運作等。2. 培養基為固體或液體，若為液體，則無需添加 agar，製程較簡單，但業者較少使用，多數仍使用固體培養基，此時需考慮 agar 何時添加，是否需要加熱溶解，因此而衍生不同製程與作法。3. 操作該系統配合人數（自動化程度），自動化程度有時要考慮投入資金的多寡，全自動型亦仍需一人操控，並負責空瓶準備，總體充填過程包括空瓶準備、充填、蓋瓶及堆疊四步驟，但為節省經費或具有足夠人工時可單獨只作充填部分，其它列為選配，後者由人工準備空瓶，培養基充填完由另一人工蓋瓶及堆疊，視為半自動型。4. 機器安全性（勞工安全）、警告及防呆措施。為配合台灣組織培養業者的現況需求及符合上述四條件，過去曾研發三型自動充填系統：1. 蘭花玻璃瓶單瓶自動充填分注系統（圖二）。2. 多瓶自動充填分注系統。3. GA7 塑膠方瓶單瓶自動充填分注系統。此三項均可作固體或液體培養基，其中一及二項差別在一次充填培養瓶數量的多寡，另外前者為全自動型，後者為半自動型（僅具充填部分）。第三項系統為培養液與 agar 分開充填（agar 不需溶解）；充填系統研發中最大的突破在於打破傳統固體培養基的配製方法，即 agar 與培養液混合後不需高溫溶解，在不另添加分散劑下，“agar”可均勻灌注在每一培養瓶中，該技術



圖二 培養基自動充填系統



圖三 自動洗瓶機

已獲得專利；另外因台灣 90% 業者仍以蘭花玻璃瓶蓋橡膠塞為主，因此研發橡膠塞自動導正及蓋瓶裝製，本項亦獲得專利。以下針對玻璃瓶單瓶自動充填分注系統說明之，該系統整合 1. 空瓶自動堆疊機，2. 單瓶自動分注機組，3. 培養基可加熱攪拌器，4. 振動自動蓋瓶，5. 自動抓取上籃，6. 自動堆疊機組，7. 控制台。建構而成，最後連接雙門式高溫高壓殺菌釜，此為一全自動型系統。其中空瓶自動堆疊機：一層堆疊 20 瓶，共五層可同時堆疊 100 空瓶，外加輸送帶預備區可儲放 40 瓶，共 140 瓶可待充填備用；單瓶自動分注機組：由一充填頭、定量充填控制器、輸送帶及分段可拆卸式清洗不鏽鋼流通管構成，該充填頭可充填高濃稠度且具有顆粒之液體如果汁及果泥（培養基添加香蕉泥或馬鈴薯泥）；培養基可加熱攪拌器（目的為 agar 溶解）：由一 50 公升可加熱及保溫之雙層鍋、加熱控制器及攪拌器組合而成，利用熱油加熱原理，其加熱溫度可自由設定且具警報裝置，加熱與否可選擇之（若採用不加熱，則可採用其它或上述專利技術方法）；振動自動蓋瓶機：由一具有可選擇正向橡膠塞存放盤以振動方式輸送塞子再以直接下壓的方式蓋緊瓶口；自動抓取上籃機：以感應器感應，機械臂同時抓取 4 個培養瓶入塑膠籃框；自動堆疊機包括空籃堆疊機、培養瓶堆疊機及滾輪式輸送帶暫存區構成，培養瓶上籃裝滿後可自動堆疊三層存放暫存區，等待殺菌；控制台，為觸控式面板，其功能除作為上述子系統連結與開關外，另具充填量調整、

充填速度調整、蓋瓶與否（有些業者需求封鋁箔紙）等功能，由於組培進步目前部分業者採用塑膠培養容器，在培養基充填的部分，仍可將這樣概念套入即可設計開發，最後要提的是自動配藥系統與自動充填系統是可分開設計但為合併連接使用，一台配藥系統可同時搭配多台自動充填機組，配合運用。

### （三）培養瓶自動洗瓶機

此為一多瓶自動洗瓶機（原創構想來自中興大學生物產業機電工程系陳加忠教授），設計為以籃為單位，一次可洗一籃 20 瓶，其組成由儲水槽、小型空壓機、清洗本體（具有 20 個可螺旋噴水頭）、殘渣及廢水收集籃、高壓產生器五部分構成，其中，本機利用水經高壓處理，形成類似水刀作用，瞬間射出，直接作用於瓶內植物殘體及固體 agar，將其打碎後順水流出，多瓶同時清洗，流出之殘雜及廢水，經殘渣收集籃將植物碎片及廢水分離，在環保的前提下，廢水處理後，再排出，殘雜另外處理。本機（圖三）設計，其水注壓力、清洗時間、間隔及清洗次數均可依培養瓶實際狀況設定清洗之，正常清洗效率為一分鐘可洗三籃共 60 瓶，適用於蘭花玻璃培養瓶，該機原型主要清洗對象為針對組培室出來的培養瓶，後因有業者回收玻璃瓶重覆使用，瓶外灰塵及垢物多，故再改良成可清洗內外瓶型，業者在實際應用上，可根據不同培養容器形狀及瓶口而修正設計。

### （四）塑膠培養瓶自動封膜系統

塑膠製培養瓶取代玻璃培養瓶已是必然的趨

勢，國際間瓶苗運輸與流通，由於瓶苗不耐長期海運，多以空運為主，重量成本，成為最大的負擔，採用塑膠製其空運成本可減少50-70%，運輸距離愈遠，效益差別愈大，現都被塑膠培養瓶取代之，質輕不易打破，為其最大優點，台灣在市面上已有多種進口及自製型式培養瓶，但多數僅能應用於無塵培養室(clean room)，在溫室培養或馴化易致發霉，部分業者以保鮮膜再包一層，以防止發霉，但其費工，且增加成本，本場自92年開始場嘗試利用中華豆腐及泡沫紅茶封膜的概念導入塑膠培養瓶，而開發自動封膜系統，其由市售封膜機延伸出來，亦具有標示移植日期的打印功能，塑膠膜上亦可設計公司圖案及mark，連接標示組培條碼，即可成為一商品，在此研究中並發現組培苗在封膜密閉的環境下培養，可依適應性分為二類，但其無絕對關係，視瓶內微氣候的改變，當瓶苗在瓶內生理條件，即呼吸作用與光合作用間達成平衡時，則瓶苗可繼續生存，若失去平衡，則會造成瓶苗死亡，因此塑膠瓶材質影響大，過去曾有業者開發一塑膠培養瓶，由於材質不對，導致瓶苗在瓶內生長品質低落，重點在於光線中不同光質穿透性差異，瓶苗生長必需光質波長一定要能穿透達到瓶內植物體上，至於瓶內氣體流通，對瓶苗影響最大有害的氣體為 $C_2H_4$ ，對此氣體敏感的組培苗，則必需使用透氣性佳的培養容器， $O_2$ 和 $CO_2$ 的濃度係由光合作用之光反應及暗反應，及呼吸作用產生，二者都屬於生長必需氣體，可以利用光質、光期與培養瓶材質來調整濃度及比例。因此，從另外一角度而言，在封膜密閉的環境下，增加容器的透氣性有時有助於瓶苗的品質，端視瓶苗種類與生長階段而定，在若干蓋瓶之塑膠培養瓶亦可看到透氣的設計，從試驗中發現即使均為蝴蝶蘭瓶苗，對密閉的環境適應性有品種及生長階段差別。封膜系統使用最大的優勢為提供一個完全隔離外界污染原的功能，從實際應用上發現封膜系統，可使用於芽體移植後之封瓶，對於前面培養基配製過程宜採蓋蓋子的模式，此有利於高壓滅菌後時，殺菌鍋內瓶內升、降壓之壓力從蓋子與瓶身接合處進出，為配合封膜系統的使用，塑膠培養瓶宜採可重覆使用及重覆封膜之材質構造。

#### (五) 組織培養條碼管理系統

組織培養的繁殖生產與管理，與工業及食品生產有很大差別，在生產控管上：1. 組培原料(母瓶)自行生產，組培生產的原料來自上代，除原始母瓶可委外生產購買外，餘世代均需自行生產，無法用外購取得，2. 芽體生產總量為客戶訂單量加生產原料量，上一世代生產產品，部分在下一世代變為生產的原料。3. 原料生產不可中斷。4. 組培產品需二階段處理，培養基配製完成，培養瓶尚需打開植入芽體發根才是成品。5. 無菌下生產，無菌生產成本高。6. 即時生產，生產壓力及風險高，因產品為活體，芽體發根後需立即出貨，庫存導致苗體死亡或芽體老化降低移植成活率。7. 產品不能庫存，有效期短，生產與庫存間轉換率零。甚至與一般傳統種苗生產不同，傳統種苗之原料來自種子或插穗，生產成品(種苗)，在一定時間內立刻銷售，且無明顯世代關係，組織培養繁殖具有下列特性：1. 世代關係及世代內時間短，由繼代培養作為世代的區隔，即此代芽體來自上一代母芽增殖而來，隨世代增加成樹狀圖生產結構，世代長短視繼代培養時間長短而定，如彩色海芋組培苗 12 世代/年，蝴蝶蘭 3-4 世代/年。2. 增殖性，芽體增殖倍率為人為控制可調整，故每一世代倍率非固定值。同一作物，不同業者可有不同生產模式(增殖倍率不同)。3. 變異性，在培養的過程中為了穩定的產量(增殖倍率)與發根效率，芽體均處於高生長調節劑的培養基下，隨世代增加有荷爾蒙累積的效應，經長期培養致突變機率增加。由於組培生產特異性，突顯效率管理更為重要，為了突破「組織培養生產記錄簿」，使更清楚管理瓶苗，採用工業上物流管理模式，自行研發設計電腦組織培養條碼管理程式系統(圖四)，該系統集合訂單、客戶、供應商、員工、物料、種苗、培養基七大資料庫管理程式，並有瓶苗產能統計、發霉率統計及世代追蹤功能再加上庫存異動管理及銷貨報表輸出，使得瓶苗的訂購到出貨都獲得完整的管理，可減少人力管理及不必要的錯誤，最重要的是在有關物料集約管理上，使得生產原料買價、庫存及安全存量一目了然，原料充分利用，作到物料零庫存；員工管理上，從基本資料、



圖四 組織培養條碼管理系統

影像檔到員工每日移植瓶數及產能確實記錄，使員工薪資合理計算；種苗的管理上，從品種的基本性狀資料（含影像檔）、分類及編碼詳細清楚，使瓶苗生產始末，獲得品質保障且產品零庫存；客戶及物料供應商管理上，從基本通訊資料建立到與訂單連接，暢通銷貨的管道，使市場供需及生產效能維持平衡；以上完整的線上追蹤、查詢及考核，加上各式報表的列印存檔考核，使得條碼系統建構目的在使組培苗生產維持一定品質下達到「零原料零庫存」。本軟體設計創新部分在利用芽體世代傳承關係中，以條碼作為瓶苗的身份証，將世代間作串連形成條碼樹狀圖，藉由後代發根瓶條碼的比對，可以了解瓶苗間的親屬關係，向上追蹤最原始母瓶的條碼，追蹤目的在於了解瓶苗長期培養世代數，及當瓶苗售出後發生變異時可藉由該條碼回推該樹狀圖下的現有培養室的母瓶可能也有變異發生，進而將其淘汰，避免繼續繼代培養，立即進行母瓶更新動作，對於該樹狀圖下，發生變異同批及往後世代

售出的瓶苗（條碼辨識），追蹤至客戶，了解評估進行可能發生之賠償，此條碼世代追蹤技術亦已獲得發明專利。九十二年間系統二次版本將原來培養室設計以室為單位，擴充為可以廠、棟、樓區分，及增加生產時間計畫表（生產排程），使得從接下訂單到預定交貨時間準確規畫計算，94年再度改版新增組培苗生產「按件計酬」功能，以附合現階段若干組培公司，為鼓勵績效，對於操作台上移植的工作人員進行以瓶計價（需扣除發霉瓶），核算工資，對於配培養基人員可採用以量（配製公升數計算），洗瓶人員亦採清洗數量計算，溫室移植管理人員另法計價。

以上所提系統與軟體僅提供一個可以從組培生產管理為思考出發點的觀念供業者參考，目前自動化機械使用有限，大公司使用，效率較為顯著，雖然可減少人力，最終仍需至少一人操控，但由於培養基製作產能提高，相對降低人工成本，目前上述機械本場已取得四項專利，其實應用這些機械，並不是鼓勵業者使用機械，而是要傳達的一個組織培養自動化的概念，各組培公司可依該廠實際情形，規畫生產動線及生產機型，最後，強調當組織培養的人工成本佔總成本的60-80%的時候，而人工費用又居高不下時，利用有效節約的生產流程配合自動化機械的應用，將是提高產能，降低人工單位成本的方法之一，如此將可增加及提高組培產品數量及品質，提升台灣組培苗在國際競爭力。

|     |              |       |
|-----|--------------|-------|
| 文紀鑾 | 種苗改良繁殖場繁殖技術課 | 助理研究員 |
| 陳駿季 | 種苗改良繁殖場生物技術課 | 副研究員  |
| 楊佐琦 | 種苗改良繁殖場繁殖技術課 | 副研究員  |
| 蕭吉雄 | 種苗改良繁殖場      | 場長    |