

以白米作為基質進行長期紅麴菌種保存

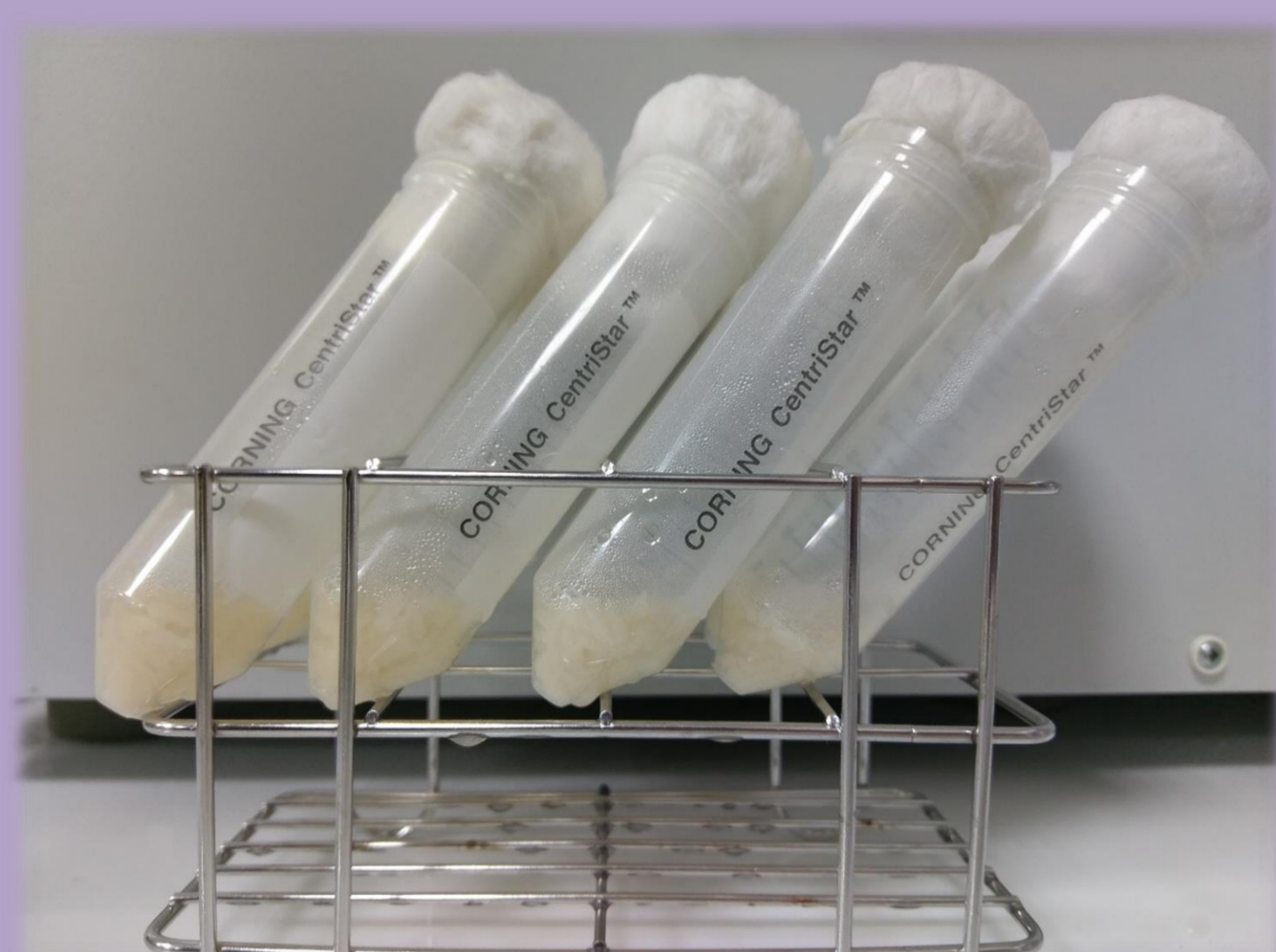
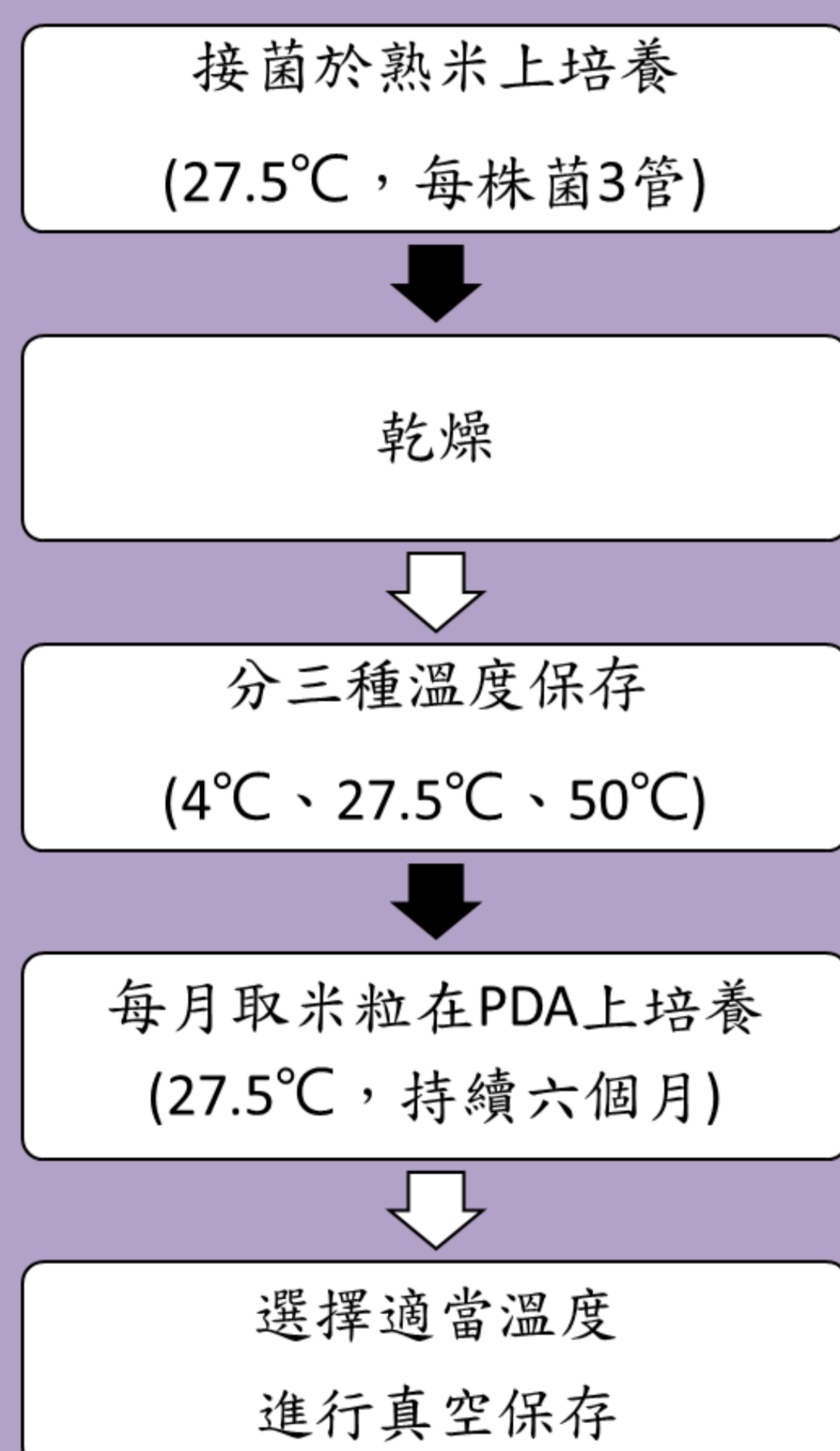
Preparation of long-term *Monascus* stock by cultivation on white rice

摘要

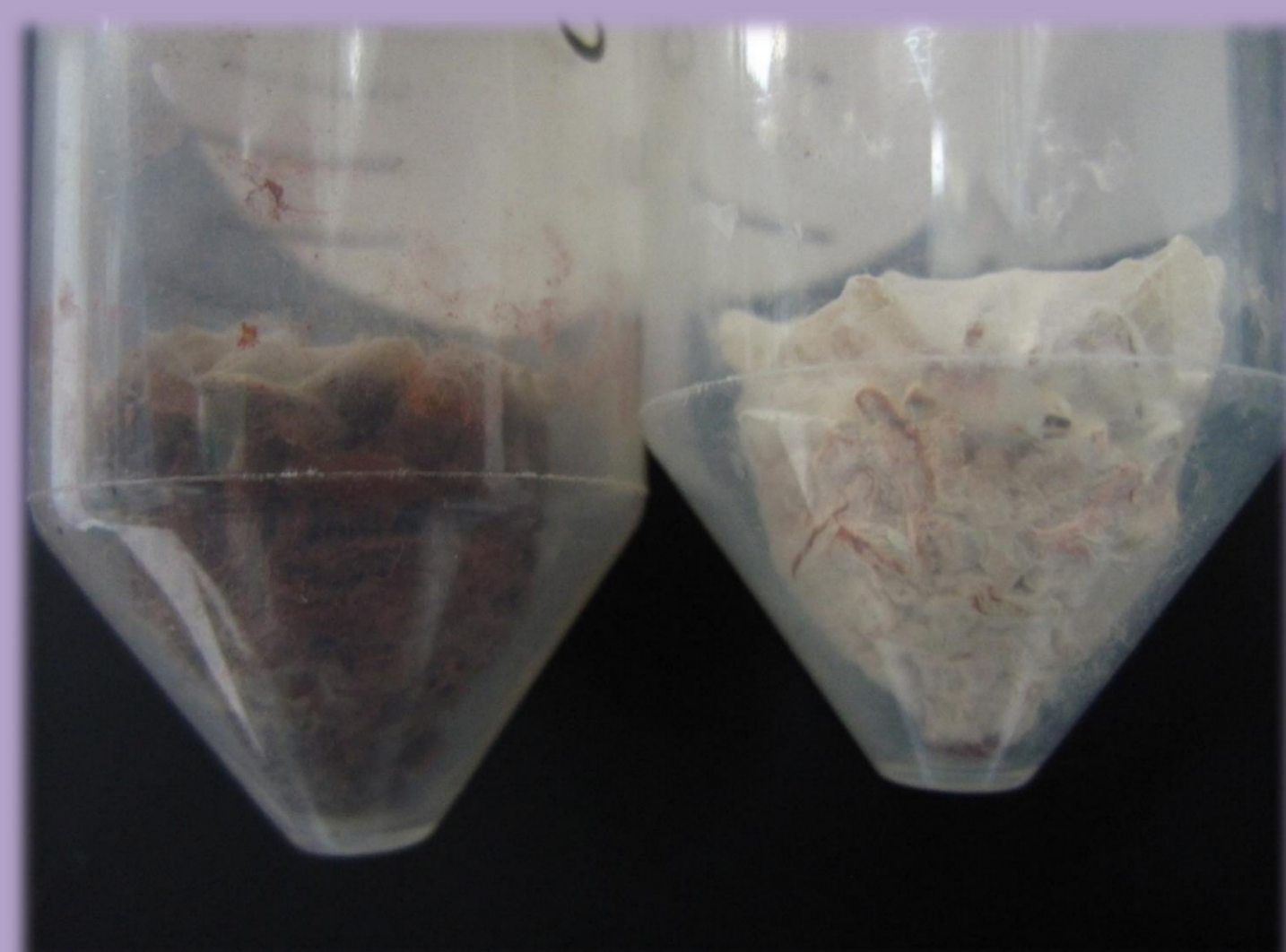
紅麴菌 (*Monascus* spp.) 為重要的經濟真菌，紅麴菌種的保存受限於部分菌株凍乾後存活率不高，無法全面長期保存，僅能以斜面繼代方式保存。長期的繼代保存耗時耗力 (至少每個月須繼代一次)、占空間且易汙染，而菌種經多次移植後，也可能發生形態特徵的改變。傳統紅麴菌以米為基質進行培養，除了乾燥紅麴米之外並無其他形式的保存方法。本研究嘗試以白米為基質培養紅麴菌並經過自然乾燥之後直接做為菌種長期保存方式，並探討此種形式的菌保在不同溫度下的存活時間。結果顯示本研究室已以此種形式進行菌種保存並完成六個月保存測試的 82 株菌株中，在 4°C 下保存之存活時間均大於六個月，在 27.5°C 下保存除了兩株菌株之外存活時間均大於六個月，而在 50°C 下保存甚至還有 38 株菌株存活時間超過六個月。本研究結果顯示以白米作為基質進行紅麴菌種長期保存簡易且十分具有潛力，將進一步搭配真空密封的方式於 4°C 下進行紅麴菌種長期保存。

材料與方法

以臺梗九號米為基質，在 27.5°C 下培養 82 株紅麴菌株 (表一)。在 50 mL 離心管中加入 2 g 米及 2 mL RO 水，塞棉花塞後進行滅菌並接種紅麴菌株 (圖一)。培養過程適時補水，待長滿後不再補水使其自然乾燥一個月至水分含量約 10% (圖二及表二)。每株菌培養三管，乾燥後分別置於 4°C、27.5°C 及 50°C 下保存。每月以無菌鑷子取出紅麴米粒置於 PDA 培養基上培養觀察是否存活，持續六個月。以研究探討紅麴菌較適宜的保存溫度，並在該溫度下進行長期的真空保存 (圖三)。



圖一、已滅菌的熟米基質。



圖二、自然乾燥之紅麴米菌保。

表一、本研究所使用的紅麴菌株在不同溫度下的菌保存活時間。紅色字體為存活時間小於六個月。

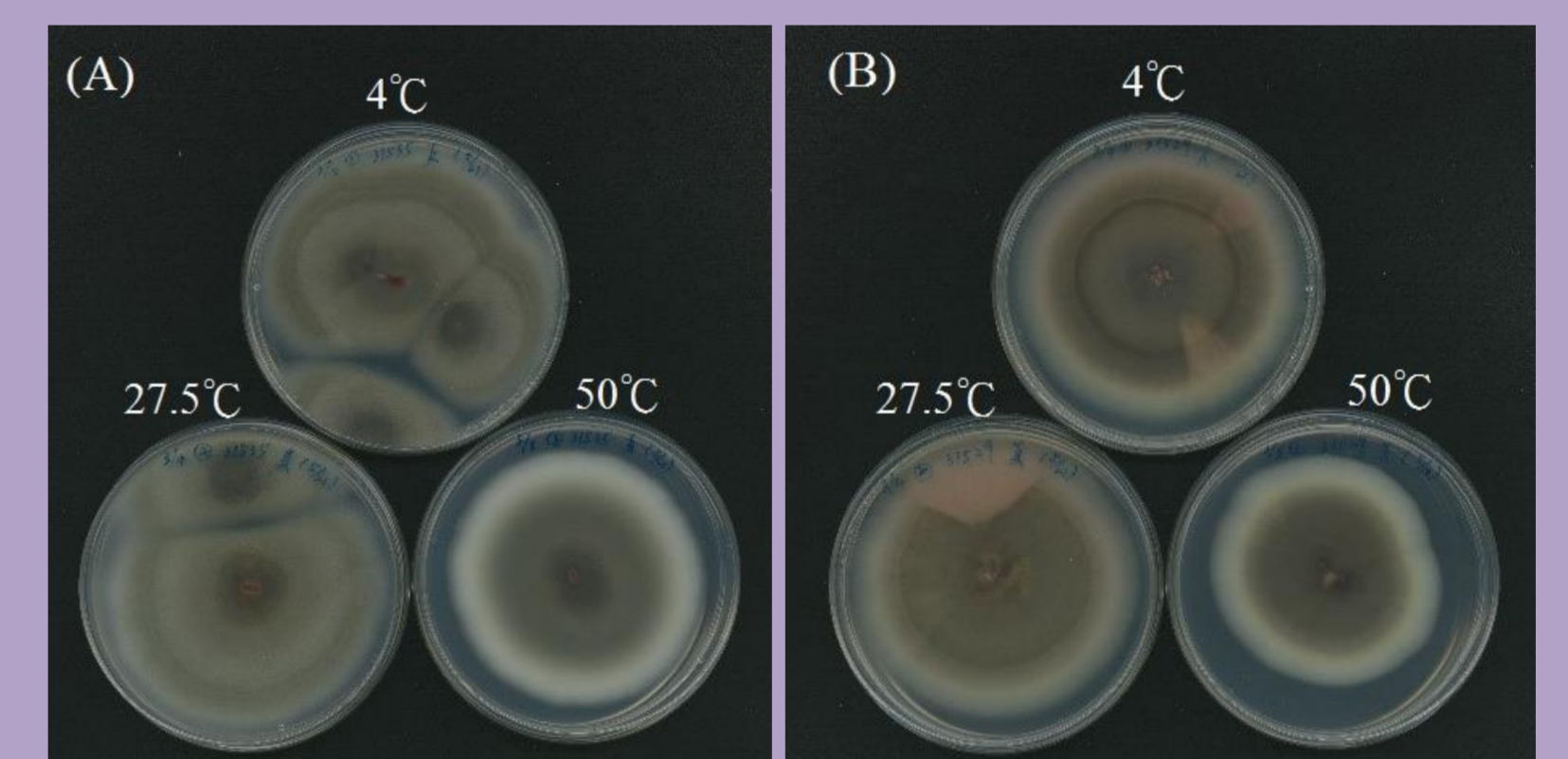
Strain	Species	Survival time (months)		
		4°C	27.5°C	50°C
BCRC 33998 ^T	<i>M. argentinensis</i>	>6	>6	<4
BCRC 33309	<i>M. barkeri</i>	>6	>6	<6
BCRC 33310 ^T	<i>M. floricidans</i>	>6	<5	<1
BCRC 31506 ^T	<i>M. kaoliang</i>	>6	>6	<1
BCRC 33640 ^T	<i>M. lunisporus</i>	>6	>6	>6
BCRC 31641 ^T	<i>M. pallens</i>	>6	>6	<4
BCRC 31502 ^T	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	<1
BCRC 31505	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	<5
BCRC 33947	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	>6
BCRC 31527	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	>6
BCRC 31537	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	<4
BCRC 31526	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	<1
BCRC 31499	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<1
BCRC 31530	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<6
BCRC 31540	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<1
BCRC 31615	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
BCRC 32808	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<1
BCRC 31542 ^T	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
BCRC 31615 white	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<4
BCRC 31615 red	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<6
BCRC 33323 black	<i>M. ruber</i>	>6	>6	>6
BCRC 33323 red	<i>M. ruber</i>	>6	>6	>6
BCRC 33329 black	<i>M. ruber</i>	>6	>6	>6
BCRC 33329 red	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<4
BCRC 31529	<i>M. ruber</i>	>6	>6	>6
BCRC 31535	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<6
BCRC 31523	<i>M. ruber</i>	>6	>6	>6
BCRC 31533	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<6
BCRC 31538	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<6
BCRC 33303	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<6
BCRC 33314	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<6
BCRC 33448	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<6
BCRC 31532 ^T	<i>M. ruber</i>	>6	>6	>6
BCRC 31534	<i>M. ruber</i>	>6	>6	>6
BCRC 33324	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<5
BCRC 33326	<i>M. ruber</i>	>6	>6	<4
BCRC 33446 ^T	<i>M. sanguineus</i>	>6	>6	>6
CAS05	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	>6
M. sp ch30	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	>6
M. sp china	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	>6
M. sp DH	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	>6
M. sp NiB	<i>M. pilosus</i>	>6	>6	>6
香安 SA	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
黃正一 HJY	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<6
宏達堂 Hong-JT	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<6
和仁堂 A-1 HRT	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<6
和仁堂 A-2 HRT	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<4
和仁堂 B-1 HRT	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
和仁堂 B-2 HRT	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
棟德 JD	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
調元 A TY	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
調元 B TY	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
調元 C TY	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
賜安 A CA	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<6
賜安 B CA	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
樹林 SL	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
聯勝 LC	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
鴻福 HS	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
懷培堂 HJT	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<5
寶樹 BS	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<6
803	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<6
A-1	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
A-2	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
BM	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<2
CH301	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<2
M13 M. anka	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
NTU 301	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
NTU 568	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
NTU 568 裏	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
TW	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
UN	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
YML	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
元臣 J-SIN	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
永豐 YF	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<2
同元堂 TYT	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<2
同生堂 TST	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<2
存厚 CH	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<2
隆安 LA	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
冠惠 A GH	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
冠惠 B GH	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<3
明德 MD	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
TPNA	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
TPNB	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	<2
TPNC	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
sw3	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
sw4	<i>M. purpureus</i>	>6	>6	>6
新達源 SIY	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<4
德惠堂 A DHT-A	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<4
德惠堂 B DHT-B	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<4
德惠堂 C DHT-C	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<4
德惠堂 D DHT-D	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<4
德惠堂 E DHT-E	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<4
德興 DS	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<2
調元 D TY	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<5
賜安 B-1 CA	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<4
賜安 C CA	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<5
安保 A AB	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<5
安保 B AB	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<5
香泰芬 STS	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<5
忠興 JS	<i>M. purpureus</i>	>5	>5	<5
430	<i>M. pilosus</i>	>4	>4	>4
860	<i>M. pilosus</i>	>4	>4	>4
聯益 SY	<i>M. purpureus</i>	>4	>4	<2
登源 S-YUAN	<i>M. purpureus</i>	>4	>4	>4
修濟 SJ	<i>M. purpureus</i>	>4	>4	>4
金豐春 JFC	<i>M. purpureus</i>	>4	>4	<2
協泰 ST	<i>M. purpureus</i>	>4	>4	>4
NTU568 國際種原中心	<i>M. purpureus</i>	>4	>4	>4
東英行 DYH	<i>M. ruber</i>	>4	>4	>4

表二、部分紅麴菌株所製備的紅麴米在自然乾燥後的含水率。

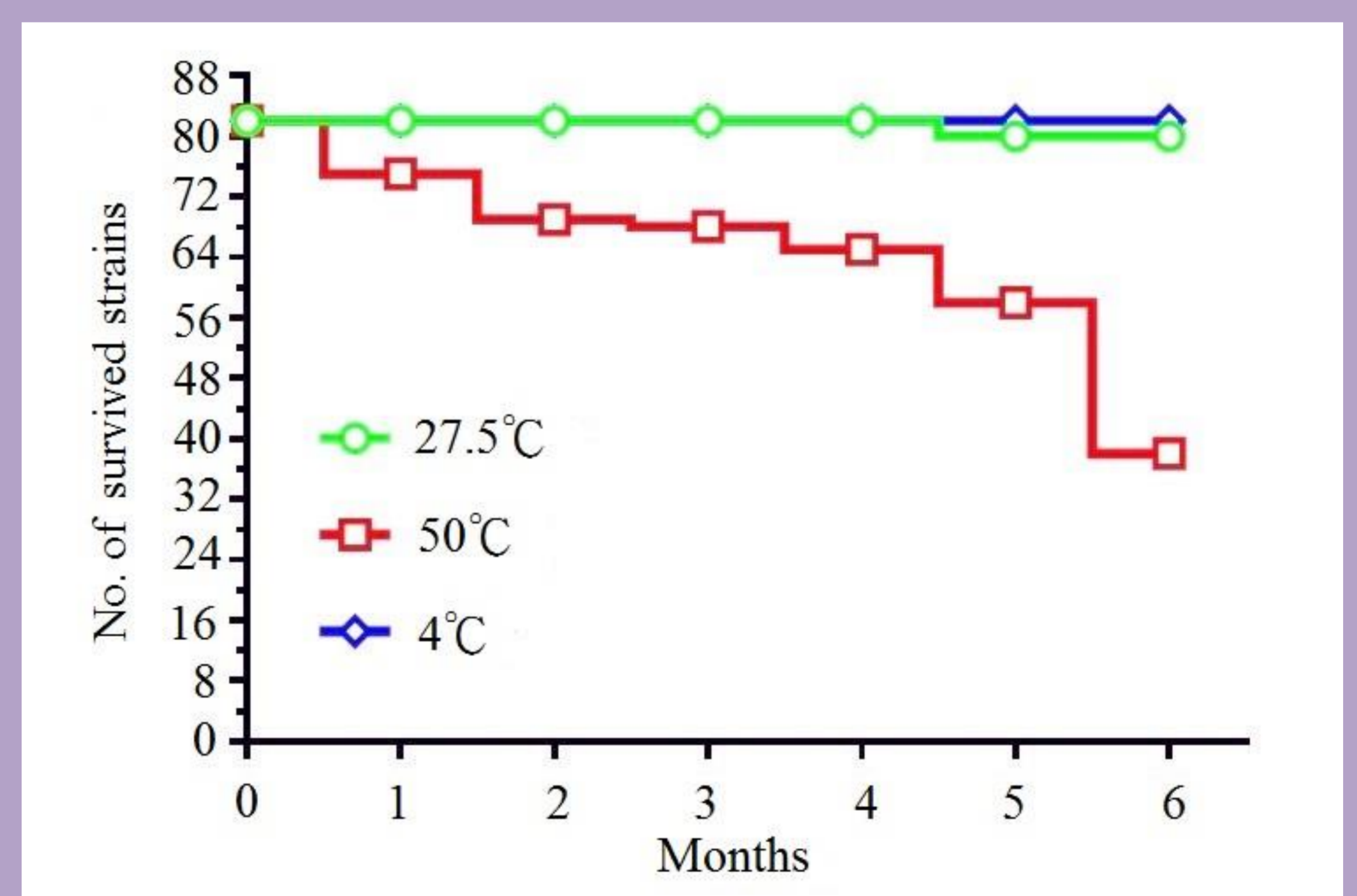
Strain	含水率 (%)
BCRC 31526	10.3
BCRC 31532 ^T	11.8
BCRC 31542 ^T	10.7
TPNA	9.8
TPNB	10.4
TPNC	11.3
sw3	10.9
sw4	7.8
黃正一	9.7
杏泰芬	10.7
安保 A	10.5
安保 B	10.6
冠惠 A	9.9
冠惠 B	9.2
和仁堂 A-1	11
和仁堂 A-2	6.7
和仁堂 B-1	9.6
和仁堂 B-2	6.7
明德	10
隆安	10.3
杏安	9.6
勝益	9.4
金豐春	10.2
忠興	9.4
修濟	10.6
協泰	10
宏達堂	9.7
笙源	9.5



圖三、真空密封保存之紅麴菌種。



圖四、(A) *M. ruber* BCRC 31535 (B) *M. ruber* BCRC 31529 於不同溫度下保存五個月後的菌落形態差異。



圖五、不同保存溫度下，紅麴米菌保中紅麴菌株的存活曲線。

結果與討論

目前有 82 株紅麴菌完成六個月的保存試驗，82 株菌在 4°C 下均存活，27.5°C 僅 *M. floricidans* BCRC 33310 與 *M. purpureus* 賜安B 死亡，50°C 則有 48 株菌死亡。有 23 株菌保存至第四及五個月，其中 23 株菌在 4°C 下均存活，27.5°C 僅 *M. purpureus* 賜安B-1 死亡，50°C 則有 16 株菌死亡。結果顯示，在這三種溫度條件下，以 4°C 保存的紅麴菌具有較長的存活時間，因此，我們選擇該溫度進行紅麴菌的真空保存。此外某些菌株在不同溫度下保存後形態會產生變化，須進一步探討其機制。