

# 利用酒糟水進行木黴菌厚膜孢子之液態發酵

巫永裕、謝建元

E-mail: 9808720@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

本研究主要以釀酒廢棄物酒糟水為主要培養基，進行木黴菌 (TV-R4-2) 厚膜孢子液態發酵，探討木黴菌在不同條件下，對菌體生長及厚膜孢子產生之研究。在菌體 - 時間生長曲線上，不同pH對菌體生長的影響以起始酸鹼值為pH 4最好，不同濃度酒水為培養基質時以80 % 酒糟水培養至第3天可得最高乾菌7.2 g/L；而在酒糟水中添加不同碳源方面以葡萄糖最好，依次為蔗糖、果糖、麥芽糖、糖蜜，而濃度則是以3 % 葡萄糖生長最好，添加有機氮源玉米浸液粉 (Corn Steep Powder) 或無機氮源硫酸銨雖能提高菌體乾重但無顯著上的差異。在厚膜孢子產量方面，以pH4，60 % 酒糟水培養至第6天可得較高厚膜孢子產量 $1.69 \times 10^7$  chlamyospore/mL；另外，於酒糟水中添加V8 juice 蔬果汁及其他添加物如Tween 80 及甘油皆可以明顯的誘導更多厚膜孢子的產生；而在酒糟水中添加不同碳源，以1 % 葡萄糖最好，而蔗糖和混合糖漿次之；在酒糟水中添加不同有機氮源如玉米浸液粉及無機氮源如硫酸銨皆有不錯效果，但是若在培養2及3天後將培養基內所含的糖濃度提高至8 % 並無法明顯提昇厚膜孢子的產量，而含有高濃度糖分会使得菌絲體生長較為細長。

關鍵詞：木黴菌；酒糟水；厚膜孢子；氧攝取速率

## 目錄

目錄	頁次
封面內頁	簽名頁
大葉大學碩士論文全文授權書	iii
中文摘要	iv
英文摘要	v
誌謝	vi
目錄	viii
圖目錄	x
表目錄	xii
第一章緒論	1
第二章文獻回顧	3
2.1 前言	3
2.2 普遍存於植物殘骸及土壤中的腐生性真菌 - 木黴菌	4
2.3 木黴菌的形態	5
2.4 木黴菌的防治機制	7
2.4.1 抗生作用 (antibiosis)	8
2.4.2 微寄生作用 (mycoparasitism)	8
2.4.3 競生作用 (competition)	8
2.5 木黴菌屬作為生物防治劑應具備的條件	9
2.5.1 優良及有效的菌株	10
2.5.2 快速生長及較長存活期	10
2.5.3 良好的傳送體系	10
2.6 木黴菌的營養需求	12
2.7 農產品廢棄物之應用	13
第三章實驗之材料與方法	16
3.1 實驗之材料	16
3.1.1 菌株 (Strain)	16
3.1.2 試驗培養基	16
3.2 實驗儀器與設備	17
3.3 實驗方法	19
3.3.1 菌體培養	19
3.3.2 分析方法	19
3.3.3 木黴菌液態發酵最適化之探討	21
3.3.4 木黴菌液態培養厚膜孢子最適化之探討	23
第四章結果與討論	26
4.1 木黴菌生長情形	26
4.2 木黴菌液態發酵最適化之探討	26
4.2.1 不同濃度酒糟水對菌體生長之影響	26
4.2.2 不同起始酸鹼值對菌體生長之影響	30
4.2.3 不同碳源對菌體生長之影響	32
4.2.4 不同碳源濃度對菌體生長之影響	32
4.2.5 不同氮源對木黴菌菌體生長之影響	35
4.3 木黴菌液態培養厚膜孢子最適化探討	35
4.3.1 不同濃度酒水及起始酸鹼值對木黴菌厚膜孢子生長之影響	35
4.3.2 界面活性劑對木黴菌厚膜孢子生長之影響	44
4.3.3 不同濃度酒糟水及不同碳源木黴菌厚膜孢子生長之影響	44
4.3.4 不同氮源對木黴菌厚膜孢子生長之影響	49
4.3.5 滲透壓木黴菌厚膜孢子生長之影響	49
第五章結論與未來展望	53
參考文獻	54

## 參考文獻

1. 吳幸娟，「以固定化酵母釀造米酒之試驗」，文化大學家政研究所碩士論文，(1990)。
2. 林意欣，「以米酒糟亦產製酸蛋白質分解酵素之試驗」，東海大學化學工程研究所碩士論文，(1997)。
3. 林俊杰、彭于瑞，「液態發酵高粱酒之研製(三)酒糟粕之再利用」，台灣省菸酒公賣局酒廠研究報告，239，85~96，(1993)。
4. 官振儀，「利用酒糟水於靈芝液體培養之研究」，東海大學化學工程研究所碩士論文，(1998)。
5. 黃賜源，「靈芝液體培養及氣舉式生物反應器應用之實驗」，東海大學化學工程研究所碩士論文，(1997)。
6. 黃濬志、謝式垚鈺，「木黴菌(Trichoderma)及黏帚菌(Gliocladium)防治土黴病害的實例與展望」，農業世界雜誌，186，16-21，(1999)。
7. 陳茂源、楊煥章、陳振輝，「米酒之酒糟水再利用」，台灣省菸酒公賣局酒廠研究報告，239，131~139，(1994)。
8. 謝建元、洪文凱、高穗生、王順成、曾耀銘，「以本土黑殭菌以固態和液態發酵生產黑殭菌素之探討」，中國農化會誌，36: 371-379，(1998)。
9. 羅朝村，「生物防治在作物病害管理上的應用」，台灣省農業試驗所特刊，57，141-150，(1996)。
10. 羅朝村「作物病害生物防治的應用與展望」，農業世界雜誌，35，11-22，(1999)。
11. 羅朝村，「木黴菌防治土煤病害的實例與展望」，農業世界雜誌，186期: 22-25，(1999)。
12. 陳瑞祥、童伯開、蔡竹固，「拮抗性木黴菌菌株之分離篩選及其生理特性之研究」，嘉義技術學院學報，59: 49-59，(1998)。
13. 劉顯達，「紅豆根瘤病拮抗菌之開發與應用」，台灣農業，28: 87-93 (1992)。
14. Cho, C-F., Lee, W-C. 1999. Formulation of a Biocontrol Agent by Entrapping Biomass of Trichoderma viride in Gluten Matrix. Journal of Bioscience and Bioengineering. 87 : 822-824.
15. Dahlberg, K. R., Etten, J. L. 1982. Physiology and biochemistry of fungal sporulation. Ann Rev. Phytopathology. 20 : 281-301.
16. DeLucca, A. J. II., Connick, W. J. Jr., and Fravel, D. R. 1990. The use of bacterial alginates to prepare biocontrol formulation. J. Indust. Microbiol. 6 : 129-134.
17. Eyal, J., Baker, C. P., Reeder, J. D., Devane, W. E., Lumsden, R. D. 1997. Large-scale production of chlamyospores of Gliocladium virens strain GL-21 in submerged culture. J. Indust Microbiol. 19 : 163 -168.
18. Fravel, D. R., Connick, W. J. J.,

Lewis, J. A. 1998. Formulation of microorganisms to control plant diseases in H. D. Burges edit Formulation of Microbial Biopesticides : 187-202.

19. Gary, E. H. 1991. Seed treatment for biological control of plant disease. *Crop Prot.* 1: 166-171.

20. Huang, R. Z., and Hsieh, S. P. Y. 2000. Biocontrol of rice sheath blight and vegetable seedling damping off caused by *Rhizoctonia solani* by chlamyospore formulation of *Gliocladium viride* isolate G-8. Third International Symposium of *Rhizoctonia*. National Chung Hsing Univ. Taiwan. 21.

Latorre, B. A., Agosin, E., Martin, G. S., Vasquez, R. S. 1997. Effectiveness of conidia of *Trichoderma harzianum* produced by liquid fermentation against *Botrytis* bunch rot of table grape in Chile. *Crop Prot.* 16 : 209-214.

22. Lejeune, R., Nielsen, J., Baron, G. V. 1995. Influence of pH on the morphology of *Trichoderma reesei* QM 9414 in submerged culture. *Biotechnol. Lett.* 17: 341-344.

23. Lejeune, R., Baron, G. V. 1995. Effect of agitation on growth and production of *Trichoderma reesei* in batch fermentation. *Appl. Microbiol.* 43 : 249-258.

24. Lo, C. T. 1997. Biological Control of Turf Diseases Using *Trichoderma harzianum*. *Plant Protection Bulletin* 39 : 207-225.

25. Marcel, G-C, Leticia, P., Patricia, M., Robert, P. T. 1999. Mixed culture solid substrate fermentation of *Trichoderma reesei* with *Aspergillus niger* on sugar cane bagasse. *Tetrahedron Lett.* 41: 61-64.

26. Oh, S-U, Lee, S-J, Kim, J-H, Yoo, L-D. 2000. Structural elucidation of new antibiotic peptides, atroviridins A, B and C from *Trichoderma atroviride*. *Tetrahedron Lett.*, 41: 61-64.

27. Sachindra, N. M., Koji, K., Mitsuro, H. 1996. Chlamyospore formulation in *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* in root extracts of crop plants and their virulence to kidney beans. *Soil Biol. Biochem.* 28:539-543.

28. Stack, J. P., Kenerley, C. M., Pettit, R. E. 1987. Influence of carbon and nitrogen sources, relative carbon, and nitrogen concentrations and soil moisture on the growth in nonsterile soil of soil-borne fungal antagonists. *Can. J. Microbiol.* 33 : 626-631.

29. Sun, L., Li, L. 1999. Effects of air pressure amplitude on cellulase productivity by *Trichoderma viride* SL-1 in periodic pressure solid state fermenter. *Process Bioch.* 34 : 25-29.

30. Zuoxing, Z., Kalidas, S. 1999. Effect of apple pomace-based *Trichoderma* inoculants on seedling vigour in pea germinated in potting. *Process Biochemistry*. 34 : 731-735.