



財團法人
食品工業發展研究所
Food Industry Research and Development Institute

生物資源保存及研究簡訊

中華民國 111 年 12 月發行

補助單位：經濟部技術處 / 執行單位：財團法人食品工業發展研究所

本期內容

- ◎ 具優勢保健活性菇菌種原之探勘
- ◎ Monacolin K 高產量紅麴菌株及運用在藥用植物的發酵
- ◎ 天然物篩選分離與分析應用服務平台
- ◎ 室內黴菌孢子經空調系統之傳播與分佈
- ◎ 透過電操控微粒分佈於水凝膠以優化細胞培養

具優勢保健活性菇菌種原之探勘

生物資源保存及研究中心 / 研究員
劉大維

微生物在食品產業、農業、及生物科技業的應用非常廣泛，源自微生物產品的各種保健功效與產品市場，也愈來愈受到產業重視。舉凡益生菌的保健功能、發酵產品在創造風味外的營養成分，與菇草類的豐富的多醣體與二次代謝物，皆成為了目前保健產品的熱門開發標的。針對特定微生物的種源，生資中心常擁有多個品系的菌株，個別品系株菌在培育特性及功效表現往往具有相當差異，因此業界在開發的過程中常面臨菌株該如何選擇的困擾，常需投入相當多的資源與研發時間測試多個品系的菌株。為協助減輕業者在產品的開發過程中所面臨的菌株挑選問題，生資中心透過多個生理功效分析平台，由同種菌株中探勘保健功效優良的品系，提供開發業者更多的評估資訊，以降低廠商在選擇菌株及測試的投入與時間，以提高附加價值並加速後端應用產品的開發時程，目前在多個活性領域已有多個品系顯示具優勢的功效表現。

具有優勢活性之菇菌種原

自 107 年生資中心起開始對菇菌種源進行免疫調節活性分析，以小鼠巨噬細胞株及脾臟免疫細胞評估種原庫菌株之抗發炎功效；隨後亦開始評估菇菌種源之自然殺手細胞調節活性，逐步的對菇菌種原庫及進行代謝物活性分析，目前已進行約 50 個菇菌株之活性分析，包含舞菇、繡球菇、桑黃、巴西蘑菇、羊肚菌、香菇及洋菇等菌群，並獲得多株活性較佳之功效優勢菌種，其中如香菇及巴西蘑菇等屬一般整體皆具抗發炎之活性，透過功效篩選可更突出功效優勢菌種（表一），這些菌株與資訊可提供產業界運用，縮短產品開發菌種測試之投入與時間，以獲得各種性狀俱優之菌種。

活性功效分析平台

了持續探勘具潛力的微生物種源品系，生資中心逐年建立多項生物活性分析方法，對微生物發酵產物進行功效評估，探索有功效的菌株。分析的方法主要

以分析細胞株之反應變化作為評估指標，以達到快速分析保存庫中樣本的篩選需求，目前已建立免疫調節活性與荷爾蒙調節活性兩大類快速分析平台（圖一）。免疫調節相關的功效篩選項目主要為自然殺手細胞活性調節、抗發炎活性篩選，及腸道分泌型抗體調節分析，其中自然殺手細胞 (natural killer cells) 活性分析為生資中心近年以細胞阻抗分析技術 (ECIS) 所新建的篩選系統，自然殺手細胞有攻擊腫瘤細胞的能力，促進自然殺手細胞的功能亦為目前國內保健食品開發的重要標的。荷爾蒙調節功效評估項目主要針對人體中固醇類荷爾蒙受

體之活性調節。此外另有如抗感染、抗癌活性等之活性功效分析系統。生資中心建立之所有分析平台皆可接受各界之樣本送樣委

託，萃取物或純化物皆可進行分析，期以快速的活性篩選協助產業探索新穎的活性物質或菌株樣本。

表一、優良活性之菇菌種原

類 別	菌 種	篩選株數	抗發炎	NK 活化
舞 菇	<i>Grifola frondosa</i>	7	-	3
繡球菇	<i>Sparassis crispa</i>	4	1	1
巴西蘑菇	<i>Agaricus blazei</i>	2	1	-
桑 黃	<i>Sanghuangporus sanghuang</i>	7	-	3
羊肚菌	<i>Morchella sp.</i>	12	2	4
香菇	<i>Lentinula edodes</i>	9	4	3
洋菇	<i>Agaricus bisporus</i>	11	2	1



免疫調節功效評估 (Immune Modulation)

- 自然殺手細胞活性調節 (Natural-Killer Cell Activity Assay)
- 抗發炎活性篩選 (Anti-Inflammatory Assays)
- 人類發炎介質活性分析 (Inflammatory Cytokines)
- 腸道分泌型抗體調節分析 (IgA Modulation Assay)
- 人類糞便發炎蛋白含量分析 (Fecal Calprotectin Assay)



荷爾蒙調節功效評估 (Nuclear Hormone Modulation)

- 雄性荷爾蒙受體活性調節篩選 (Androgen Receptor)
- 雌激素受體活性調節篩選 (Estrogen Receptor)
- 黃體素受體活性調節篩選 (Progesterone Receptor)
- 選擇性雌激素受體 (ER α & ER β) 活性調節分析



其他生理調節活性評估 (Other Bioassays)

- 抗感染功效分析 (Antimicrobial Assays)
- 癌細胞生長抑制活性分析 (Anticancer Activities)
- 血糖調節功效分析 (Anti-diabetic Activities)

圖一、生資中心微生物代謝物生理活性分析

Monacolin K 高產量紅麴菌株及運用在藥用植物的發酵

廈門醫學院公共衛生與醫學技術系 / 副教授

陳煜沛

生物資源保存及研究中心基因庫單元 / 研究員

郭楊正

摘要

藥用植物對人類健康具有多種益處，而經過微生物發酵進行生物轉化可以提高功效、降低毒性並產生新的化學成分。在本研究中，針對 18 株紅麴菌分析其 Monacolin K 的生產能力，再以高產量潛力菌株與各種藥用植物進一步發酵，並分析發酵產物中的抗氧化、抗發炎活性、紅色素、Monacolin K 含量、總酚含量和代謝物。

研究結果共篩選出 6 株 monacolin K 產量較高的紅麴菌株，包含 1 株 *Monascus pilosus* (BCRC 38072) 及 5 株 *Monascus ruber* (BCRC 31533、31523、31534、31535 及 33323)。將 *M. pilosus* BCRC 38072 進一步與不同藥用植物進行發酵 60 天後，發酵產物的抗氧化能力與總酚含量呈正相關，但發酵 120 天後均呈下降趨勢。紅色素和 monacolin K 在發酵過程中會隨著時間而積累，且在甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*) 發酵產物中觀察到最高的 monacolin K 含量。此外，以紅麴菌發酵的藥用植物 (芍藥、南薑、甘草和稻米) 產物，均無細胞毒性。以紅麴菌發酵甘草的產物對於脂多醣誘導的 Raw264.7 細胞具有抗發炎能力。

以 LC/MS 分析紅麴發酵和未發酵 (60 天) 的甘草，推測 2,3-二羥基苯甲酸 (2,3-Dihydroxybenzoic acid)、3,4-二羥基苯基乙二醇 (3,4-dihydroxyphenylglycol) 及 3-氨基-4-羥基苯甲酸酯 (3-amino-4-hydroxybenzoate) 可以增強抗氧化及抗發炎能力。

前言

紅麴在亞洲國家是常見的傳統發酵食品，主要利用是紅麴菌 (*Monascus*) 發酵米或穀物製成。紅麴菌可產生紅色色素，因此常用來作為食用色素。部分紅麴菌可生產具有膽固醇合成抑制作用的 Monacolin K，因此紅麴菌及 Monacolin K 被認為具有健康價值。除了降低血脂潛力，許多研究顯示 Monacolin K 還可以預防許多疾病。利用紅麴發酵各種原料的研究也持續增加，目的在提升各種有益產物或健康功效。藥用植物對人類健康具有多種益處，將藥用植物透過發酵進行生物轉化可以提高藥效、減少毒性和生產新的化學成分。傳統上常以自然發酵進行，但通常效果較不穩定，因此透過額外添加微生物方式進行發酵，可以相對穩定製成。本研究針對 18 株紅麴菌，分析其 Monacolin K 的生產能力，再以高產量潛力菌株與各種藥用

植物進一步發酵，並分析發酵產物中的抗氧化、抗發炎活性、紅色素、Monacolin K 含量、總酚含量和代謝物。

結果

1. 分析紅麴菌的 Monacolin K 合成基因

紅麴菌中負責 Monacolin K 合成的基因為 *mokA* 及 *mokE*，利用 PCR 分析 18 株紅麴菌的 *mokA* 及 *mokE* 基因，共有 9 株紅麴菌可偵測到預期的片段 (表一)，分別為 *M. pilosus* (BCRC 31502 及 38072)、*M. ruber* (BCRC 31533、31523、31534、31535、33314 及 33323)，及 *M. barkeri* (BCRC 33309)。

將紅麴菌及土麴黴 (*A. terreus* BCRC 32670) 培養 14 天後測定其 Monacolin K 的含量 (表一)，*M. pilosus* (BCRC 38072)、*M. ruber* (BCRC 31533、31523、31534、31535 及 33323) 以及 *A. terreus* BCRC 32670 皆可生產 Monacolin K，其結果與 PCR 分析吻合，其中 *M. ruber* BCRC 31535 的產量最高，因此選擇此菌株進行不同的藥用植物發酵實驗。

2. 發酵產物抗氧化分析

本研究利用當歸 (*Angelica pubescens*)、廣藿香 (*Pogostemon cablin*)、芍藥 (*Paeonia lactiflora*)、南薑 (*Alpinia oxyphylla*)、白千層 (*Melaleuca leucadendron*)、薰衣草 (*Lavandula angustifolia*)、桂花 (*Osmanthus fragrans*)、甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*) 及川黃檗 (*Phellodendron chinense*) 等 9 種藥用植物及白米進行實驗，除白米之外，9 種藥用植物未經紅麴菌發酵的萃取物即表現出抗氧化能力，

表一、本研究使用的菌株及其 monacolin K 表現情形

Strain	Species ^a	Polyketide synthase (<i>mokA</i>) ^b	Dehydrogenase (<i>mokE</i>)	Monacolin K production (mg/g mycelia)
1. BCRC 31502 (ATCC 16363)	<i>Monascus pilosus</i> , Type	+	+	—
2. BCRC 38072	<i>Monascus pilosus</i>	+	+	0.151 ± 0.111
3. BCRC 31533 (ATCC 16246)	<i>Monascus ruber</i> , Type	+	+	0.156 ± 0.031
4. BCRC 31523 (ATCC 16378)	<i>Monascus ruber</i>	+	+	0.019 ± 0.032
5. BCRC 31534 (ATCC 16366)	<i>Monascus ruber</i>	+	+	0.180 ± 0.137
6. BCRC 31535 (ATCC 18199)	<i>Monascus ruber</i>	+	+	0.924 ± 0.262
7. BCRC 33314 (ATCC 16371)	<i>Monascus ruber</i>	+	+	—
8. BCRC 33323 (ATCC 18199)	<i>Monascus ruber</i>	+	+	0.282 ± 0.068
9. BCRC 31542 (ATCC 16365)	<i>Monascus purpureus</i> , Type	—	—	—
10. BCRC 31541 (ATCC 16379)	<i>Monascus purpureus</i>	—	—	—
11. BCRC 33325 (IFO 30873)	<i>Monascus purpureus</i>	—	—	—
12. BCRC 31615 (DSM 1379)	<i>Monascus purpureus</i>	—	—	—
13. BCRC 31506 (CBS 302.78)	<i>Monascus kaoliang</i> , Type	—	—	—
14. BCRC 33446(ATCC200613)	<i>Monascus sanguineus</i> , Type	—	—	—
15. BCRC 33309 (ATCC 16966)	<i>Monascus barkeri</i>	+	+	—
16. BCRC 33310 (IMI 282587)	<i>Monascus floridanus</i> , Type	—	—	—
17. BCRC 33640 (ATCC 204397)	<i>Monascus lunisporas</i> , Type	—	—	—
18. BCRC 33641 (ATCC 200612)	<i>Monascus pallens</i> , Type	—	—	—
19. BCRC 32670 (ATCC 20542)	<i>Aspergillus terreus</i>	+	+	0.228 ± 0.199

a “Type” indicates type strain

b +, positive; —, negative

尤其是在薰衣草和桂花中，其濃度在 0.5 mg/mL 時清除了超過 50% 的 DPPH 自由基。這些萃取物的濃度在 0.5 mg/mL 時，對 ABTS 自由基清除率都在 90% 以上。

以 *M. ruber* BCRC 31535 發酵 60 天後之萃取物，除了白千層和薰衣草外，其清除 DPPH 的能力皆提高；然而發酵 120 天後，對於 ABTS 和 DPPH 的清除能力卻明顯下降。

3. 發酵產物抗發炎能力分析

以細胞存活率分析 (MTT assay) 檢測各種萃取物對於細胞的傷害性，結果顯示除川黃檗之外，多數未經發酵的藥用植物萃取物對 Raw264.7 細胞無害；然而，經由 *M. ruber* BCRC 31535 發酵後的藥用植物萃取物皆造成

細胞活性降低，其中芍藥、南薑、甘草及白米等實驗組的細胞存活率成大於 90%，因此選擇這些原料進行抗發炎能力分析。未經發酵的南薑萃取物擁有最佳的抗發炎能力；而甘草經由 *M. ruber* BCRC 31535 發酵 60 天之後的萃取物，則大幅提升其抗發炎能力。此外，發酵 120 天後，除白米之外，其他藥用植物的抗發炎能力反而下降，此趨勢與抗氧化能力結果相似。

4. 紅色素及 Monacolin K 產量分析

利用 *M. ruber* BCRC 31535 發酵各種藥用植物及白米，分析其紅色素及 Monacolin K 的產量。除當歸之外，各組的紅色素隨著發酵時間的增加而增加。米 120 天發酵產物的紅色素是 60 天發酵

產物的 8.9 倍。除南薑、薰衣草及桂花實驗組之外，皆可分析出 Monacolin K；除川黃檗實驗組之外，Monacolin K 的含量皆隨時間而增加，其中以甘草實驗組的含量最高。

5. 發酵產物總酚含量和代謝物分析

進一步分析各實驗組的總酚含量，除廣藿香及白千層之外，其餘原料經由 *M. ruber* BCRC 31535 發酵後皆增加了總酚含量，其中以白米增加量最多，其次為甘草，此結果與 DPPH 清除能力結果相符。

本研究測試的藥用植物中，以甘草的效果最佳，因此後續將其 60 天的發酵產物以 LC/MS 進行代謝物分析，結果顯示有 5 種

化合物的產量大幅提升 (表二)。

其中已有文獻報導 2,3-dihydroxybenzoic acid 具有抗氧化及抗發炎能力 (Adjimani and Asare 2015; Alvarez Cilleros *et al.* 2020)。

6. 潛力化合物的抗氧化及抗發炎能力分析

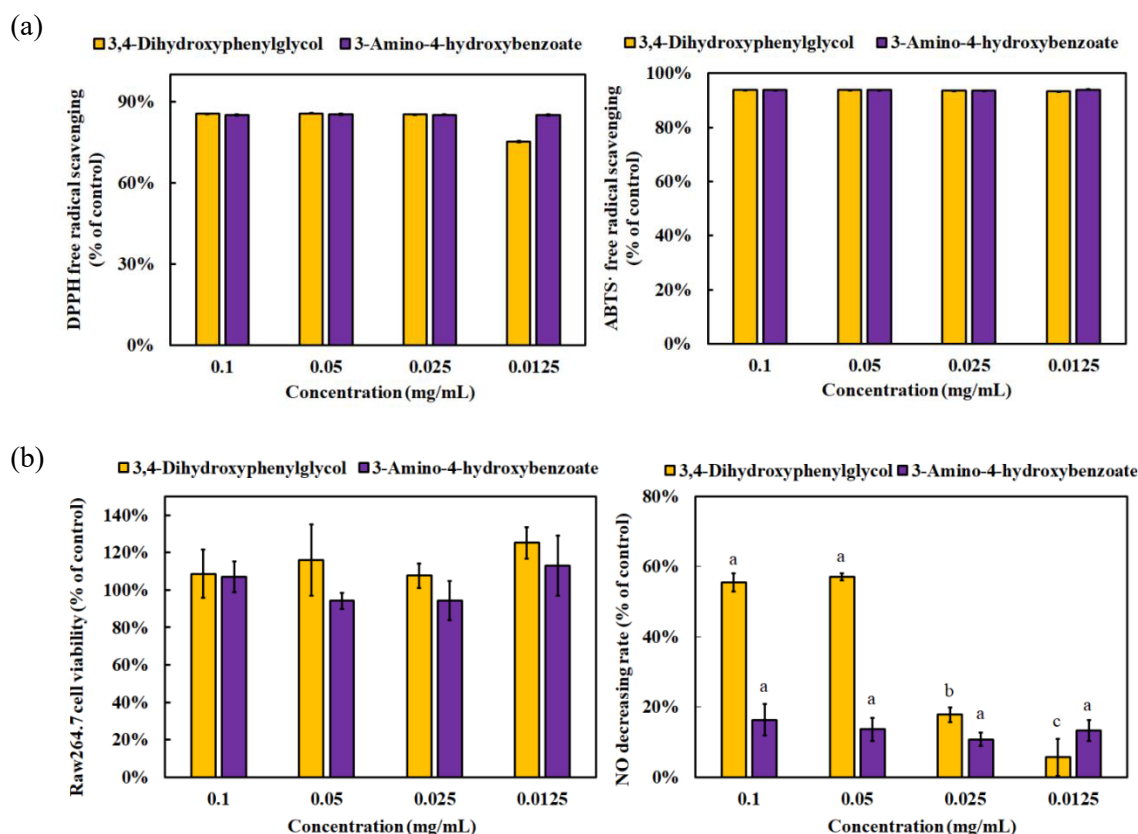
以 DPPH 及 ABTS 清除法來分析 3,4-dihydroxyphenylglyco 及 3-amino-4-hydroxybenzoate 的抗氧化及抗發炎能力 (圖一)。結果顯示兩種化合物在濃度 0.0125 mg/mL 時，對於 DPPH 清除能力皆超過 75%，又以 3-amino-4-hydroxybenzoate 效果較佳；在濃

度 0.0125 mg/mL 時，對於 ABTS 自由基的清除率皆超過 90%。

以低於 0.1 mg/mL 的 3,4-dihydroxyphenylglycol 和 3-amino-4-hydroxybenzoate 處理 Raw264.7 細胞，未觀察到細胞毒性，存活率皆在 90% 以上。進一步測量了這兩種化合物的抗發炎能力，

表二、以 LC/MS 分析 *M. ruber* BCRC 31535 發酵甘草的代謝產物

Compounds	60-day fermentation (Relative intensity)	<i>G. uralensis</i> (Relative intensity)	Fold change
11beta-Hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione	1.7995 ± 0.1111	0.0023 ± 0.0006	771.82
3,4-Dihydroxyphenylglycol	13.5409 ± 0.9084	0.046 ± 0.02575	291.41
Leucine	30.0989 ± 1.8297	0.1727 ± 0.0992	174.3
2,3-Dihydroxybenzoic acid	55.0904 ± 4.9859	0.3828 ± 0.2036	143.88
3-Amino-4-hydroxybenzoate	14.7540 ± 0.8378	0.0199 ± 0.0197	89.138
Scopoletin	4.3951 ± 0.2914	0.1874 ± 0.0148	23.448
<i>N</i> -Butyryl-L-homoserine lactone	5.2381 ± 1.1549	0.2710 ± 0.0255	19.326
Allantoic acid	2.9601 ± 0.1018	0.1624 ± 0.1627	18.229
16-Hydroxy hexadecanoic acid	3.5948 ± 0.4486	0.2038 ± 0.0670	17.641
Histamine	1.4013 ± 0.1212	0.0799 ± 0.0045	17.542



圖一、潛力化合物的抗氧化能力 (a) 及抗發炎能力 (b) 分析。

3,4-dihydroxyphenylglyco 的抗發炎能力與劑量呈現正相關；但 3-amino-4-hydroxybenzoate 的抗發炎能力與劑量關聯性不顯著。

結論

紅麴菌被認為對於人體健康有益，但 Monacolin K 及 Citrinin 基因具有高度同源性，而 Citrinin 可能產生肝腎毒素 (de Oliveira Filho *et al.* 2017)，因此需多研究專注於發酵、基因及分析方法的建立，分析 Monacolin K 高產量但不會產生 Citrinin 的菌株。本研究透過基因及 HPLC 分析 Monacolin K 高產量的菌株，並以 *M. ruber* BCRC 31535 菌株發酵多種藥用植物，發現甘草的發酵產物具有多種生物活性，

而且發酵時間與抗氧化活性相關。在代謝產物分析上，本研究發現了 2,3-dihydroxybenzoic acid、3,4-dihydroxyphenylglycol 以及 3-amino-4-hydroxybenzoate 產量的增加，其中 3-amino-4-hydroxybenzoate 為首次報導可清除 DPPH 及 ATBS 自由基，達到抗氧化的效果。

參考文獻

1. Adjimani JP, Asare P. 2015. Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. *Toxicol Rep.* 2: 721–728.
2. Alvarez Cilleros D, Lopez-Oliva ME, Martin MA, Ramos S. 2020. (-)-Epicatechin and the colonic metabolite 2,3-dihydroxybenzoic

acid protect against high glucose and lipopolysaccharide-induced inflammation in renal proximal tubular cells through NOX-4/p38 signalling. *Food Funct.* 11: 8811–8824.

3. de Oliveira Filho JWG, Islam MT, Ali ES, Uddin SJ, Santos JVO, de Alencar M, Junior ALG, Paz M, de Brito M, JMC ES, Shaw S, de Medeiros M, Dantas S, Rolim HML, Ferreira PMP, Kamal MA, Pieczynska MD, Das N, Gupta VK, Mocan A, Dos Santos Andrade TJA, Singh BN, Mishra SK, Atanasov AG, Melo-Cavalcante AAC. 2017. A comprehensive review on biological properties of citrinin. *Food Chem Toxicol.* 110: 130–141.

真菌、放線菌、菇菌，亦針對內生真菌產生的具有生物活性的化合物從來源、活性化合物結構及功能等方面進行了深入研究。

2. 核心技術

積極探索本土特殊環境與傳統發酵用微生物之生物資源，拓展所收藏新興資源的多樣性與數量，探索其應用策略，並將這些新興微生物建立成發酵庫，運用生物科技、細胞科學與基因體訊息，建置創新之加值體系篩選平台，以進行功能驗證篩選，使提升生物資源的價值，創造生物資源價值鏈。每年篩選純化鑑定出數個值得探勘之標的，提供具有特色、有區隔性的開發標的，提昇業界的競爭力，以因應激烈的國際競爭，創造具有特色的保健食品及生技產業。

3. 成果

過去本團隊期刊發表分述如

天然物篩選分離與分析應用服務平台

生物資源保存及研究中心 / 研究員
吳明德

1. 前言

生物為了維持生存和繁衍後代，體內會進行諸多化學反應並產生各種代謝產物。這些代謝產物可以進一步分為初級代謝物 (primary metabolite) 和次級代謝物 (secondary metabolite)。前者指的是直接參與生物的生長繁殖等至關重要步驟的分子，好比攜帶遺傳訊息的核酸、催化細胞中各種化學反應的酵素（以蛋白質為主）、構成細胞膜的脂質等。而次級代謝物一也就是天然物，雖然沒有直接參與生長等過程，對於生命的貢獻卻不亞於初級代謝物。

天然物源於大自然中的各

個角落，植物的根、莖、葉和土壤中的微生物是天然物的兩大來源。長期以來，從植物中尋找天然藥物一直是研究熱點，但植物培養條件複雜，生長周期長，產量低下，這給天然藥物的大量生產帶來很大的困難。所以尋找更為高效的生物活性代謝物和更廣闊的來源迫在眉睫。在所有已知小分子次級代謝產物生產者中，微生物可以說是一個豐富並具有巨大潛力的生物活性代謝物的來源。由於微生物新陳代謝通路的特異性和多樣性，使得微生物成具有獨特化學結構天然產物的未開發資源。過去本團隊除了對

下(近三年具代表的)：

- 2020 年，自 BCRC 38072 的 95% 乙醇提取物中的 EtOAc 可溶部分離出三種新的帶紅色的氮雜芬酮衍生物，分別命名 monapilonitrile, monapilosine 與 N-ethanolic monapilosine，以及七個已知化合物。此外，我們提供了 monapilosine 的完整數據，並進行了仔細說明，以將 rubropunctamine 的結構修改為 2'，該結構從毛曲霉分離並僅通過 UV，IR 和 1D NMR 光譜進行了說明。評估了分離物對脂多醣激活的 RAW 264.7 鼠巨噬細胞中 NO 抑制和產生的影響。
- 2021~2022 年從台灣本土 6 株新種放線菌 (*Saccharomonospora piscinae*、

Isoptericola chiayiensis 與 *Amycolatopsis taiwanensis*, *Actinomadura miaoliensis*, *Herbidospira yilanensis*, *Herbidospira daliensis*) 分析其天然產物在巨噬細胞抗發炎之研究。截至目前已經研究三株放線菌：口湖鄉的放線菌 *Saccharomonospora piscinae* 中共分離出 3 種新化合物及 3 種新天然產物，嘉義紅樹林溼地土壤分離到之放線菌 *Isoptericola chiayiensis* 中共分離出 8 種新化合物及 4 種新天然產物，以及在宜蘭採集到的放線菌 *Amycolatopsis taiwanensis* 中分離出 9 種新化合物及 1 種新天然產物。並發現多種化合物具有對抗脂多醣 (liposaccharide, LPS) 所誘導之

一氧化氮 (nitric oxide, NO) 有抑制力。

- 2022 年從紅麴菌 *Monascus* sp. BCRC-PINK24 發酵米之 95% 乙醇萃取物的乙酸乙酯層中分離出一種新的 furan-2-one (命名為 monafuranone)。Monafuranone 的結構，並通過光譜技術闡明。
- 2022 年從真菌菌株 *Xylaria* sp. 中分離出一種新的 cyclohexan-1-one，命名為 xylariaone。其結構是通過光譜分析以及高分辨率快速原子轟擊 (HR-FAB-MS) 質譜法闡明其結構。

近期專利取得

- β -Carboline Alkaloid 化合物於抑制黃嘌呤氧化酶之用途 (中

本中心天然物團隊所發表之相關專利整理如下：

類別	專利名稱	國別	專利號碼	專利權人	專利核准日期
(A)發明專利	大豆間座殼菌 (<i>Diaporthe caulivora</i>) 萃取物用於抗紫外線傷害及減少色素沉澱的用途	台灣	109141056	高雄醫學大學 食品工業發展研究所	2021/12
(A)發明專利	<i>Sanghuangporus sanghuang</i> strains and their products, extracts and applications	韓國	10-2020-0054843	食品工業發展研究所	2021/04/02~2039/03/27
(A)發明專利	桑黃屬桑黃株及其產物、萃取物及應用	台灣	I714918	食品工業發展研究所	2021/01/01~2038/11/28
(A)發明專利	桑黃屬桑黃株及其產物、萃取物及應用	大陸	ZL201910580957.0	食品工業發展研究所	2021/12/31~2039/6/27
(A)發明專利	SANGHUANGPORUS SANGHUANG STRAINS AND THEIR PRODUCTS, EXTRACTS AND APPLICATIONS	日本	6696675	食品工業發展研究所	2020/04/27~2038/12/12
(A)發明專利	β -吡啶生物碱在抑制黃嘌呤氧化酶活性中的用途	大陸	ZL201611114970.X	食品工業發展研究所	2019/07/26~2036/12/06
(A)發明專利	USE OF BETA-CARBOLINE ALKALOID IN INHIBITING XANTHINE OXIDASE ACTIVITY	韓國	10-1846096	食品工業發展研究所	2018/3/30~2036/12/06
(A)發明專利	USE OF BETA-CARBOLINE ALKALOID IN INHIBITING XANTHINE OXIDASE ACTIVITY	日本	6472428	食品工業發展研究所	2019/02/01~2036/12/01
(A)發明專利	β -吡啶生物碱在抑制黃嘌呤氧化酶活性中的用途	中華民國	I627955	食品工業發展研究所	2018/07/01~2036/12/08

中華民國專利 I627955)

以開發能抑制尿酸生成相關酵素活性的微生物代謝物，及可幫助尿酸分解的微生物為目標。已初步建立抑制嘌呤核苷磷酸化酶及黃嘌呤氧化酶體外活性評估平台、建立降尿酸活性動物實驗評估技術。並已篩選獲得數株具抑制嘌呤核苷磷酸化酶或黃嘌呤氧化酶活性潛力菌株，及建立潛力菌株之發酵培養基及發酵條件。未來將應用上述研發成果進行降尿酸保健產品之開發，以開創國內降尿酸保健產業。

● 桑黃屬桑黃株及其產物、萃取物及應用 (中華民國專利 107142648，日本專利 6696675)

本發明系關於桑黃屬桑黃株及其產物、萃取物及應用。本發

明系關於桑黃屬的液體發酵物或桑黃屬的萃取物的製備、從該液體發酵物或該萃取物鑒定的化合物及其具 ER 新穎活性之桑黃化合物。

● 大豆間座殼菌 (*Diaporthe caulivora*) 萃取物用於抗紫外線傷害及減少色素沉澱的用途 (中華民國專利 109141056)

發明係開發樟科植物大武新木薑子 (*Neolitsea daibuensis*) 的葉子中所分離出之內生菌一大豆間座殼菌 (*Diaporthe caulivora*) 於粧品、生技醫藥之應用價值。過去並未有相關文獻探討該内生菌於皮膚細胞之保護作用，本案所發現之內生菌，之二次代謝產物該内生菌及其新穎二次代謝產物具抗紫外線傷害及減少色素沉澱之作用，

可減少皮膚因紫外線過度曝露所造成之色素沈澱、皮膚乾燥、發炎、或光老化等不適之狀況。

4. 展望

天然物千變萬化的結構和性質，不論是在基礎研究或藥物開發，都讓生物學家有研究不完的新課題和新工具，也讓化學家有許多的全合成的挑戰目標。BCRC 除了提供從微生物中分離出的新化合物和產生的菌株外，亦開展了許多與微生物次生代謝物開發相關的研究建立的天然產物技術，也可以協助國內外學術界和業者、工業界進行研究和開發天然產物的成分鑑定和判別的研究。

室內黴菌孢子經空調系統之傳播與分佈

生物資源保存及研究中心 / 研究員
林宛柔

現代人每天近九成的時間處於室內，環境的品質關乎我們的健康。近年醫學研究指出，過敏性疾病的流行有增加的趨勢，可能與室內空氣品質不佳有關。空氣中的微生物，包括真菌、細菌、病毒、內毒素、阿米巴變形蟲、藻類、微小的蟲子和花粉等可被氣流傳送的生物微粒，稱為「生物氣膠」。人們長期暴露在這些生物氣膠的環境，可能引發過敏、氣喘與病態建築症候群等疾病，造成頭暈、鼻塞、咳嗽或是眼睛刺激等非專一性症狀，對於傳染性疾病、中毒、過敏及癌症這類廣泛的公共衛生疾病有顯著負面影響。

真菌廣泛存在於自然界中，它們在任何有機質上都可以生長，是室內中生物氣膠污染物的主要來源。室內的真菌可以生長於中央空調系統、壁紙、牆壁、混凝土磚、天花板、木製家具、紙張、地毯與衣物。由於台灣是氣候濕熱的國家，室內發霉的問題嚴重，真菌生長產生孢子，將孢子釋放於空氣，造成空品質下降，危害人類健康。建築物中真菌孢子的釋放和擴散由氣流和重力驅動。此外，室內環境的溫度、相對濕度和風速亦會影響微生物在環境的分佈。

現代大樓的室內普遍設有中央空調調節系統 (Heating,

Ventilation and Air Conditioning systems, HVAC) 調節室溫及濕度。HVAC 系統可能導致真菌孢子和碎片的被動釋放和擴散。許多報告表明，HVAC 系統為微生物生長提供了有利條件 (Sibanda *et al.*, 2021)。舉例來說，濕度是讓真菌生長的重要因子，冷空氣由 HVAC 系統的出風口進入室內，使建材周圍空氣達到露點，空間中氣態水凝結成水滴，造成建材及天花板含水量增加，喜愛高濕度環境生長的真菌在板材上生長形成霉斑並產孢。一些報告側重於描述孢子散佈的數學模型 (Gopalakrishnan *et al.*, 2019)，或是側重室內或室外真菌菌群的空間分佈狀況。關於真菌孢子在建築物中通過 HVAC 系統的時空分佈和被動擴散的報導較少。

大部分的 *Aspergillus* (麴菌屬) 孢子是藉空氣傳播，為室內空氣中的主要致敏真菌，是 HVAC 系統內常見的可培養

真菌 (Liu *et al.*, 2019)。麴菌屬中的 *A. flavus*、*A. fumigatus*、*A. sydowii* 和 *A. niger* 為室內環境常見真菌菌種 (Lin *et al.*, 2016)。這些真菌孢子透過氣流與擴散至室內，生長形成霉斑，除了影響建物板材外觀，散播孢子也成為室內空氣的汙染源。吸入這類真菌的孢子或菌絲碎片，可能導致嚴重的哮喘、過敏性疾病或麴霉病等。通過 HVAC 系統傳播麴菌屬 (*Aspergillus* spp.) 氣膠可能引起了公眾健康問題。

因此，麴菌屬 (*Aspergillus* spp.) 的生長和存在以及隨後排放到環境空氣中對於公共衛生問題至關重要。然而，大多數研究都集中在 HVAC 系統中的真菌多樣性上，很少有報告提到它的擴散過程，亦缺少短時間內孢子的流佈動態研究。Lin *et al.* (2022) 以帶有 HVAC 的一個 50 平方米的密閉空間作為實驗樣地 (圖一)，解釋了真菌孢子是如何透過 HVAC 系統傳播，以及傳播過程中的這些真菌的時間分布與空間分布。研究者首先調查研究地點的背景真菌菌群，共記錄了 52 種真菌，包括 *Penicillium*、*Aspergillus* 和 *Cladosporium*，亦

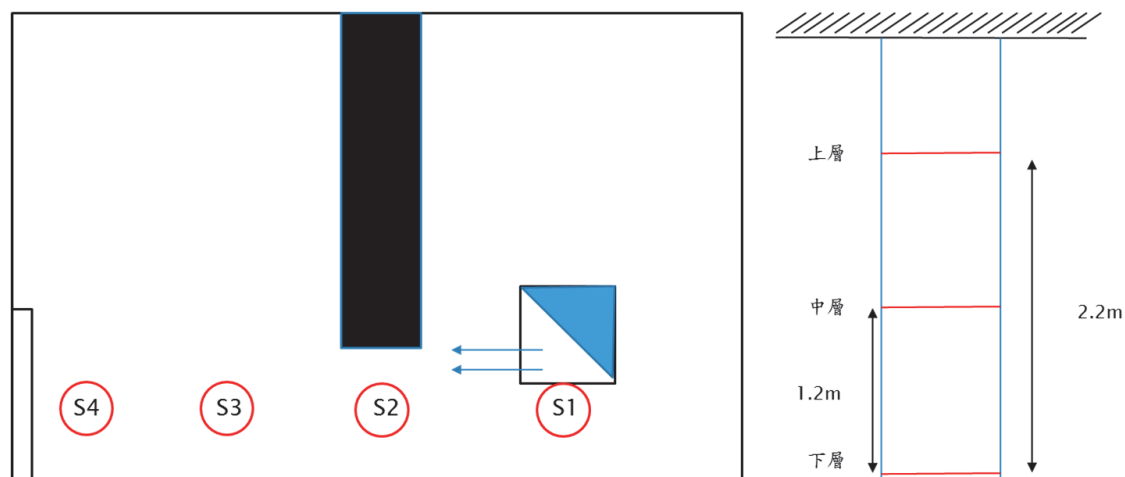
包含了 *Aspergillus flavus*。之後，他們使用具有 HEPA 過濾裝置的空氣清淨機處理 30 分鐘後，再次調查環境真菌菌相，結果顯示，平均真菌濃度從 138 CFU/plate/30 min 降至 4.83 CFU/plate/30 min，*Penicillium* 和 *Cladosporium* 的菌量下降，未檢測到 *Aspergillus flavus*，顯示 HEPA 過濾裝置能有效降低真菌菌量與移除部分真菌。

第二步實驗是保留單一空調出風口，在出風口邊緣倒置一個已培養 7 日的 *Aspergillus flavus* 之培養皿 10 分鐘，模擬出風口天花板的菌落釋出孢子。同時，在傳播的空間內，3.6 公尺的直線距離內設 4 個採樣點，分別在 3 個高度，每 2 分鐘收集落菌，至 10 分鐘後，調查頻度改為每小時收集 1 次，共 3 次。培養計數不同調查時間點下的 *A. flavus* 的菌量。

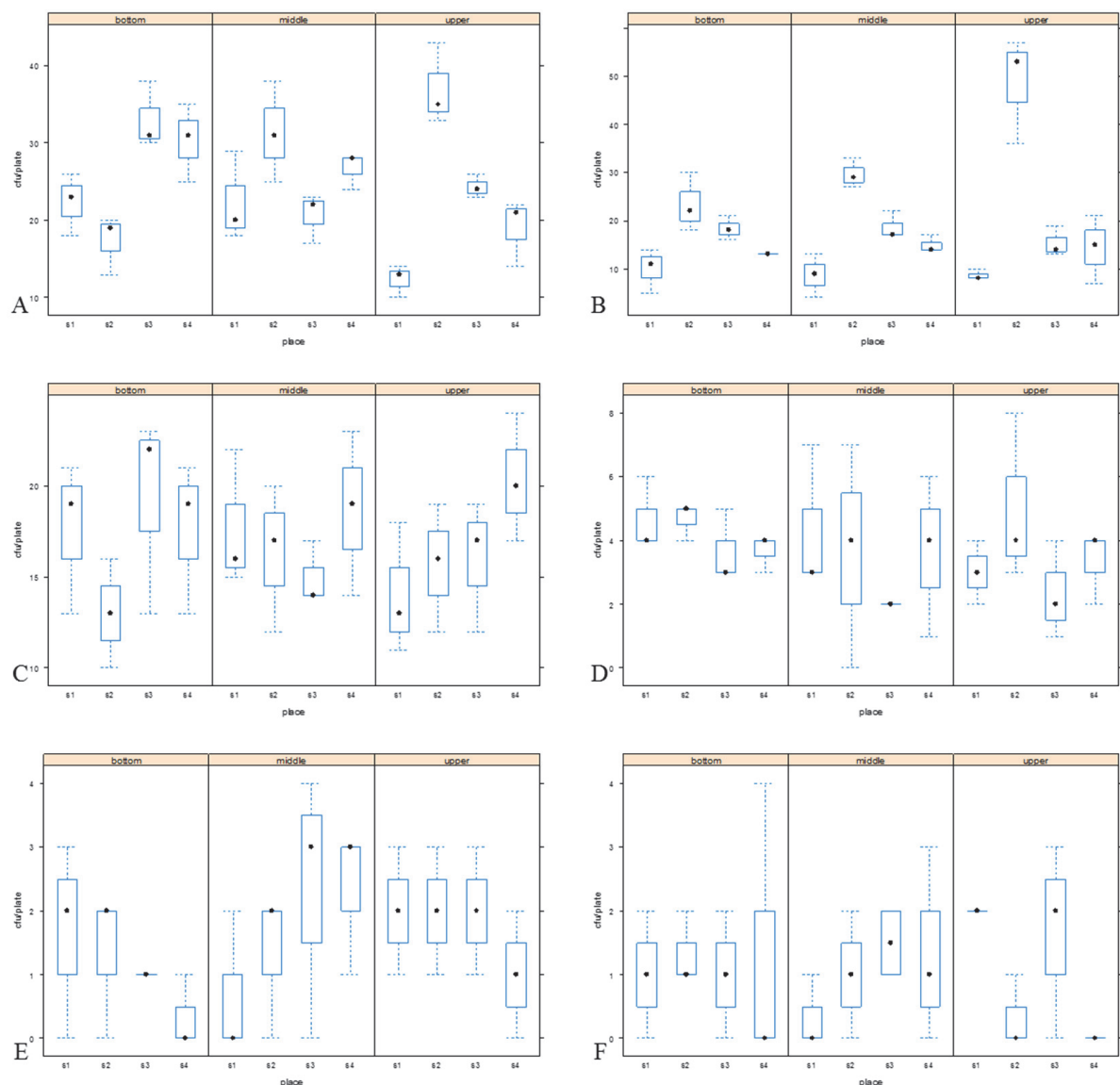
比較 4 個樣點的 *A. flavus* 菌落數，在起始的 2 分鐘內，出風口正下方 S1 到遠處 S4 的菌量分別為 10-29、13-43、17-38 和 14-35 CFU/plate (圖二 a)。顯示 *A. flavus* 孢子在釋出後 2 分鐘便傳播至 3.6 公尺外的樣點。懸掛培養皿 3、5 分鐘時，S1 到 S4 的菌量則分別為 4-14、18-57、13-22

和 7-21 CFU/plate，菌量最高點出現在 S2 的最上層 (圖二 b)。6-8 分鐘時，S1 到 S4 的菌量則分別為 11-22、10-20、12-23 和 13-24 CFU/plate，樣點間之差異已不明顯 (圖二 c)，顯示孢子已均勻分布於試驗空間。60 分鐘後，各樣點孢子總數顯著下降 (圖二 d、e、f)。

結果顯示，*A. flavus* 孢子在釋出後 2 分鐘便傳播至 3.6 公尺外的樣點；6-8 分鐘其孢子在室內分布均勻；60 分鐘後孢子濃度從 48 CFU/plate 降至 3-6 CFU/plate，族群量降至 1-2%；120 分鐘低於 1%。研究結果表明，空氣中的真菌孢子可以通過 HVAC 系統有效地分散和去除。在沒有外部和內部污染來源的情況下，HVAC 系統可以在一小時內將室內空氣中的真菌數量大大降低到背景水平。送風與抽風的循環設計能有效形成氣流，影響孢子傳播流佈。孢子在室內空氣中懸浮滯留時間有限，主要是因為抽風排除和孢子受重力影響沉降。未來在建築物的設計上，應考量通風系統的強化，提升空氣品質，降低生物氣膠引起的健康風險與危害。



圖一、實驗空間俯視圖 (左) 與採樣分層 (右)。



圖二、不同時間點，四個樣點孢子總量變化圖。A、2分鐘；B、5分鐘；C、8分鐘；D、60分鐘；E、120分鐘；F、180分鐘。

參考文獻

- Lin, W. R., Chen, Y. H., Lee, M. F., Hsu, L. Y., Tien, C. J., Shih, F. M., Hsiao, S. C., & Wang, P. H. (2016). Does spore count matter in fungal allergy? The role of allergenic fungal species. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 8, 404–411.
- Sibanda, T., Selvarajan, R., Ogola, H. J., Obieze, C. C., & Tekere, M. (2021). Distribution and comparison of bacterial communities in HVAC systems of two university buildings: Implications for indoor air quality and public health. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193, 1–15.
- Gopalakrishnan, S., Arigela, R., Gupta, S. K., & Raghunathan, R. (2019). Dynamic response of passive release of fungal spores from exposure to air. *Journal of Aerosol Science*, 133, 37–48.
- Liu, Z., Yin, H., Ma, S., Wei, B., Jensen, B., & Cao, G. (2019). Effect of environmental parameters on culturability and viability of dust accumulated fungi in different HVAC segments. *Sustainable Cities and Society*, 48, 101538.
- Lin, W. R., Ho, Y. H., Lee, W. K., Cheng, H. M., & Wang, P. H. (2022). Spatiotemporal distribution and the passive dispersal of fungal spores through HVAC systems. *Aerobiologia*, 38, 13–21.

透過電操控微粒分佈於水凝膠以優化細胞培養

生物資源保存及研究中心 / 副研究員
蘇敏汶

改進生物醫用材料於近年引起廣泛討論，儘管傳統的仿生支架已常見用於組織工程與再生醫學，但在軟組織的微環境中仍須透過各種的生物分子分佈才可利於控制其動態結構。天然軟組織有著不同方向性的高度特性，以適用複雜的細胞外基質排列之環境。設計具有仿生的三維異質結構，須提供生物活性相關因子，並精確的空間分布與調節時間才較能誘導細胞行為。為了模擬複雜的組織微環境，所以選擇具有高含水量、高生物相容性、高生物降解性與高可塑性的水凝膠（甲基丙烯酸明膠）作為基材，然而大多數的水凝膠為同質，較缺乏可操控的結構來模擬微環境。

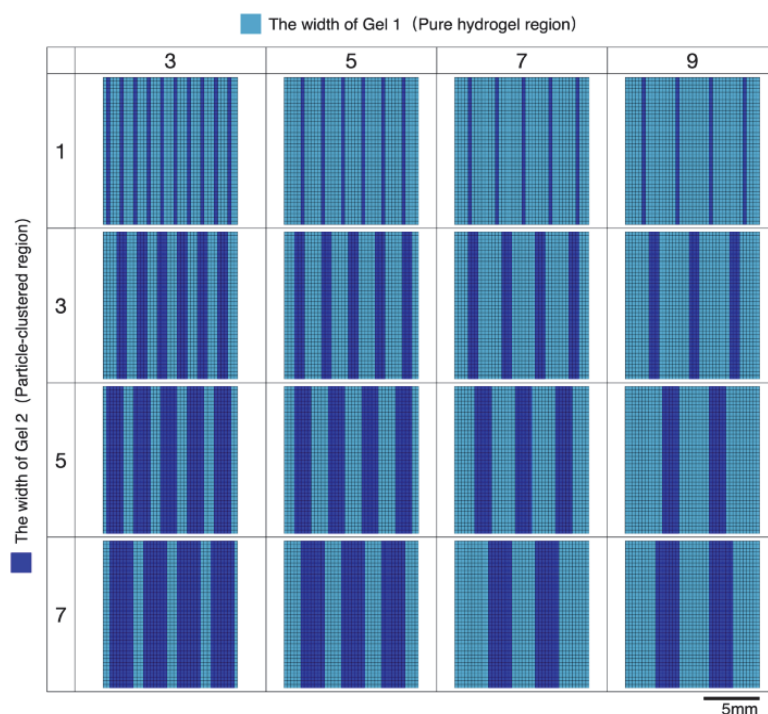
在此研究中，開發了一種透過施加電場來排列微粒並置於水凝膠薄膜的系統，微粒的排列可用於改變水凝膠基材的曲率。其可透過不同的變形曲率而提供機械刺激於附著在系統上的細胞。為了揭示微粒排列與產生的曲率之間的關係，開發了商業有限元軟件包 ABAQUS 中的用戶定義元素子程序，用於預測機械行為，主要是針對水凝膠基板的曲率。模擬不同的微粒圖案，並將水凝膠基板的預測曲率與實驗中測量的曲率進行了比較，觀察是否具有良好的一致性。

根據圖一顯示水凝膠薄膜的十六種設計，其中純水凝膠區域 (Gel 1) 以淺藍色著色，而微粒聚

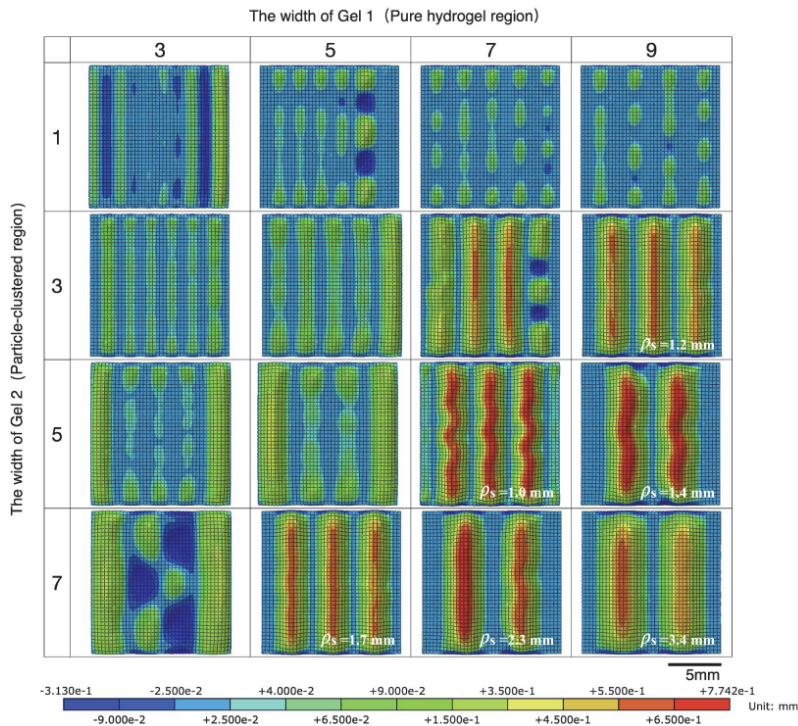
集區域 (Gel 2) 以深藍色著色。圖二則顯示所有十六種設計在 Z 方向上的膨脹變形。可以觀察到變形在 -0.31 與 +0.77 mm 之間的範圍內。值得注意的是隨著 Gel 2 寬度的增加，變形圖案變得更加規則，而隨著 Gel 1 寬度的增加，變形幅度也增加。接下來觀察帶有皺紋的圖案，第一行的狀況顯示不規則的變形模式，波的高度相對其他的水凝膠薄膜是較低的。其隨著 Gel 2 寬度的增加，變形圖案變得更加規則，而隨著 Gel 1 寬度的增加，變形幅度也增加。在 Gel 2:Gel 1 比例為 3:9、5:7、5:9、7:5、7:7 和 7:9 的情況下，皺紋的平均曲率半徑 (ρ_s) 計

算如圖二的右下角所示。由於此研究的主要目的是控制變形和操縱細胞在水凝膠薄膜上的分化，因此選擇兩個標準來當最佳設計。首先是皺紋的圖案應該是規則的和最波浪狀的，即最小的平均曲率半徑。其次則是變形的幅度要足夠大。因此，根據圖二中的結果顯示 5:7 的情況下產生的波紋最多，平均曲率半徑僅為 1.0 mm，變形幅度大於 +0.65 mm。該條件被認為是操縱幹細胞分化的最佳設計。

為了驗證具有優化設計的水凝膠薄膜，此研究先製備可透過電壓控制的微粒，攪拌 PLGA、2% PVA 與 4% PEI 使其混合均勻，最後微粒的表面被還原氧化石墨烯和帶有聚賴氨酸的絲蛋白逐層覆蓋。最後將微粒混合入水凝膠薄膜中並施加電壓，由於還原氧化石墨烯的電學特性，微粒傾向於聚集在沒有電極的區域周圍。微粒對齊後，將帶有微粒的水凝膠薄膜暴露在紫外光下進行固化



圖一、Gel 1 和 Gel 2 的分佈

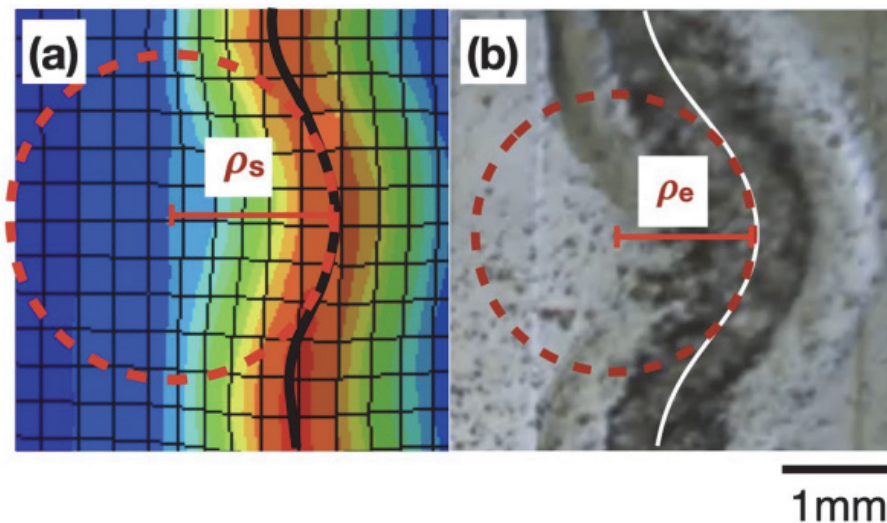


圖二、水凝膠的膨脹變形

並室溫乾燥。乾燥後復水獲得在頂面上可清楚觀察到蛇狀皺紋之水凝膠薄膜，且使用水凝膠薄膜表面的曲率可用來驗證數值模型。如圖三就是一個測量曲率半徑的範例，其模擬(ρ_s)和實驗(ρ_e)的平均曲率半徑分別為 1.0 mm 和 1.3 mm，標準偏差分別為 0.089 mm 和 0.680 mm。模擬預測的曲率誤差為 27%。同時模擬和實驗的 Z 方向平均波高，即波峰到波谷的距離分別為 0.92 mm 和 0.90 mm，標準偏差分別為 0.031 mm 和 0.059 mm。模擬預測的波高誤差為 14%。這表明當前的數值可以對水凝膠薄膜的膨脹變形進行預測，故此水凝膠的優化結果也可以作為體外細胞分化底物設計的參考模型。

參考文獻

1. Ma TH, Wang WC, Sue MW, Huang CW, Tsou NT. 2020. Manipulating the Deformation of Swelling Hydrogel Models by Microparticles. *Multiscale Science and Engineering*. 2: 107–113.
2. Chiang MY, et al. 2021. 4D spatiotemporal modulation of biomolecules distribution in anisotropic corrugated microwrinkles via electrically manipulated microcapsules within hierarchical hydrogel for spinal cord regeneration. *Biomaterials*. 271: 120762.

圖三、曲率半徑示意圖，模擬(ρ_s)和實驗(ρ_e)的平均曲率半徑

生物資源保存及研究簡訊 第132期

發行者：財團法人 食品工業發展研究所
發行人：廖啓成所長
主編：陳倩琪
編輯：王俐婷、許璦文、黃學聰、梁克明

本著作權依補助契約歸屬財團法人 食品工業發展研究所

地址：新竹市食品路 331 號
電話：(03)5223191-6
傳真：(03)5224171-2
承印：國大打字行
電話：(03)5264220
ISSN：1021-7932
GPN：2009001214
中華郵政新竹誌字第0030號
交寄登記證登記為雜誌交寄

