

# 蛹蟲草子實體培養條件與活性成分組成之研究

林石源、陳明造

E-mail: 9417959@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

由於冬蟲夏草 *Cordyceps sinensis* 對寄主具有專一性，對於環境的要求也很特殊，所以產量很少，進而導致供需失衡，價格更是越來越高；由於蛹蟲草 *Cordyceps militaris* 的主要成分與藥理特性與野生冬蟲夏草相近，對於寄主的專一性又不高，因此，開發蛹蟲草之繁殖技術並導入自動化生產應是較為可行的方向。本研究發現菌絲培養的溫度以 22 及 25 最為適宜，而子實體誘導期之照光時間拉長比較能得到完整的棒狀子實體；蛹蟲草於不同培養條件下之子實體腺苷含量並無顯著差異，且本研究之子實體腺苷含量比天然蟲草高；另外，生產高產量蟲草素的最適條件為 22 配合 14 小時照光刺激或 25 配合 8 小時照光刺激；蟲草素及腺苷絕大多數是存在於子實體中，不過從採收完畢之殘餘培養基中仍發現大量的蟲草素，值得再利用，多醣於培養基的部分可能比較多。再者，蛹蟲草的色素在不同溫度及酸鹼環境下相當穩定，但未被鑑定；整體而言，以 22 養菌之後再以 14 小時照光刺激能夠獲得較多蟲草素、腺苷及多醣的子實體。

關鍵詞：蛹蟲草、子實體、蟲草素、腺苷、多醣

## 目錄

封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 iii 英文摘要 iv 誌謝 vi 目錄 vii 圖目錄 x 表目錄 xi 第一章 序言 1 第二章 文獻回顧 2 2.1 蛹蟲草之介紹 2 2.2 蛹蟲草之成分 3 2.2.1 蟲草素 (cordycepin) 4 2.2.2 腺苷 4 2.2.3 甘露醇 5 2.2.4 多醣類 6 2.2.5 SOD (超氧化物歧化?) 7 2.2.6 麥角甾醇 8 2.3 蛹蟲草綜合之生物活性與機能性 8 2.4 蛹蟲草與冬蟲夏草之成分與藥理特性比較 10 2.5 蛹蟲草人工培養方法 13 2.5.1 蛹蟲草子實體之固態培養 13 2.5.2 蛹蟲草之液態培養 14 2.6 野生蛹蟲草與人工培養蛹蟲草之比較 14 2.7 人工培養蛹蟲草子實體之毒性研究與食用安全性 15 2.8 蛹蟲草製劑之穩定性 16 2.9 蛹蟲草人栽培在中國大陸與台灣的比較 17 第三章 材料與方法 18 3.1 菌株 18 3.2 培養基 18 3.2.1 菌種培養基 18 3.2.2 固體代料培養基 18 3.3 實驗器材 19 3.4 實驗方法 20 3.4.1 種菌培養 20 3.4.2 固態培養基之製作及接種 20 3.4.3 固態培養之流程 20 3.4.3.1 溫度對蛹蟲草菌絲生長的影響 21 3.4.3.2 溫度與光照時間對蛹蟲草品質的影響 21 3.5 分析項目 21 3.5.1 水分 21 3.5.2 蟲草素及腺苷含量 22 3.5.3 多醣 22 3.5.4 採收後殘餘培養基與子實體的生物活性成分比較 23 3.5.5 色素穩定性 23 第四章 結果與討論 25 4.1 溫度對蛹蟲草菌絲生長的影響 25 4.2 水分 26 4.2.1 蛹蟲草培養基水分含量 26 4.2.2 蛹蟲草子實體水分含量 27 4.3 蛹蟲草生理活性物質 28 4.3.1 腺苷 28 4.3.2 蟲草素 36 4.3.3 多醣 40 4.4 子實體及其採收後殘餘培養基之生物活性成分與野生冬蟲夏草及家蠶蛹蟲草之比較 42 4.5 色素穩定性測試 43 第五章 結論 45 引用文獻 46 圖目錄 圖一 18 菌絲培養及 8hrs 照光 30 圖二 18 菌絲培養及 10hrs 照光 30 圖三 18 菌絲培養及 12hrs 照光 31 圖四 18 菌絲培養及 14hrs 照光 31 圖五 22 菌絲培養及 8hrs 照光 32 圖六 22 菌絲培養及 10hrs 照光 32 圖七 22 菌絲培養及 12hrs 照光 33 圖八 22 菌絲培養及 14hrs 照光 33 圖九 25 菌絲培養及 8hrs 照光 34 圖十 25 菌絲培養及 10hrs 照光 34 圖十一 25 菌絲培養及 12hrs 照光 35 圖十二 25 菌絲培養及 14hrs 照光 35 圖十三 以 HPLC 分析培養基中蟲草素及腺苷之檢測曲線 37 圖十四 以 HPLC 分析子實體中蟲草素及腺苷之檢測曲線 38 圖十五 以分光光度計掃描蛹蟲草色素曲線 44 表目錄 表一 溫度對蛹蟲草菌絲長滿固體培養基所需之時間的影響 26 表二 養菌溫度對培養基水分含量之影響 27 表三 養菌溫度對子實體水分含量之影響 28 表四 養菌溫度與光照時間對子實體腺苷含量之影響 29 表五 養菌溫度與光照時間對子實體蟲草素含量之影響 39 表六 養菌溫度與光照時間對子實體多醣含量之影響 41

## 參考文獻

1. 王琪。2002。野生蛹蟲草與培植蛹蟲草清除 OH 自由基作用的對比研究。遼寧師專學報 4 (3) :43-45
2. 王寶貴、張桂英、趙林伊及閻琪。2002。柞蠶蛹蟲草對黑腹果蠅壽命的影響。中國老年學雜誌 22 (2) :148-150。
3. 王蕾于, 于榮敏, 張輝, 賈文, 汪宇, 李春燕及吳海燕。2003。人工培養蛹蟲草多醣的分離純化及其結構的初步研究。中國生化藥物雜誌 24 (1) :23-25。
4. 冉翠香、王莉及許智宏。2001。人工培植蛹蟲草子實體原基的誘發形成。食用菌 4:9-10。
5. 白云娥, 王毅, 劉許媛及漆小梅。2001。冬蟲夏草亞香棒蟲草中多醣的含量測定。中國醫院藥學雜誌 21 (1) :19-20。
6. 朱宏圖。1987。人工培養蛹蟲草的研究。中藥通報 12 (12) :21。
7. 江曉路、葛蓓蕾及胡曉珂。2002。蛹蟲草對藥物引起免疫抑制的拮抗作用。青島海洋大學學報 32 (1) :46-50。
8. 李用芳。2000。影響蟲草子實體生長因素探討。微生物雜誌。20 (4) :51-53。
9. 李昱、吳百昌及李春羊。2003。蟲草人工栽培與深度開發。科學技術文獻出版社。北京。
10. 李紹平、季暉、李萍、董婷霞、詹華強及李文琪。2001。冬蟲夏草抗腫瘤作用研究進展。中草藥雜誌 32 (4) :373-375。
11. 車振明。2003。人工培育的蛹蟲草子實體食用安全性研究。食用菌 (3) :45-46。
12. 阮桂平及彭拓華。2001。冬蟲夏草及其類似品中甘露醇的含量研究概況。江西中醫學院學報 13 (2) :96-97。
13. 李峰及劉利。2002。冬蟲夏草心血管藥理作用研究概況。中醫藥研究 18 (2) :55-56。
14. 呂

鵬、孫迎節及張長鎰。2002。提取方法對蛹蟲草提取液質量的影響。山東中醫雜誌21(8):493。15.林胤谷、陳俊良、吳宜鴻、陳以平及楊賢鴻。2003。冬蟲夏草對人類嗜中性白血球活化影響研究。上海中醫藥雜誌37(3):49-51。16.周廣麒。2000。蛹蟲草的液體培養(發酵)技術。中國食物與營養(2):26-27。17.段毅。2004。蛹蟲草高效栽培技術。河南科學技術出版社。鄭州。18.徐廷方、王麗波、段文健及楊彤。2002。人工蛹蟲草胞外多糖對受抑制的免疫功能的影響及抗疲勞作用。中藥藥理與臨床18(6):17-18。19.徐維蓉、王奕、葉其明及徐偉珍。2001。北冬蟲夏草子實體對大鼠睪丸功能的影響。上海中醫藥大學學報15(4):50-54。20.貢成良、徐承智、楊昆、陳國剛、潘中華及吳衛東。2003。家蠶蛹蟲草的毒性研究。中國食用菌22(6):54-56。21.高懷安、陳世中、王麗?、張林節及李建?。1987。秦巴蛹蟲草與冬蟲夏草某些化學成分的對比研究。中藥通報12(2):44-45。22.徐文豪、薛智及馬建民。1988。冬蟲夏草的水溶性成分-核?類化合物的研究。中藥通報13(4):34-36。23.陳克敏及許金宏。2000。中藥北冬蟲夏草製劑穩定性測試。時珍國醫國藥11(1):23-24。24.郭瑞新、蔡承妹、曾慶元、王惠芳、雍麗、庄劍青及費兆馥。2002。冬蟲夏草提高“腎陽虛”小鼠生殖功能的實驗研究。基層中藥雜誌16(2):3-5。25.彭國平、李紅陽及袁永泰。1996。冬蟲夏草與人工蛹蟲草的成分比較。南京中醫藥大學學報12(5):26-27。26.李水清及楊艷芳。2001。冬蟲夏草菌發酵液提取工藝的研究。中醫藥學刊19:406。27.周碧溫。2003。以饋料批次發酵對舞菇多醣生產之探討。大葉大學食品工程學系碩士論文。彰化。28.貢成良、吳衛東、徐成智、楊昆及陳國剛。2001家蠶蛹蟲草的化學成分分析。蠶業科學28(2):168-172。29.夏文娟、曾曉英、袁海龍、尹定華、楊大堅、秦松云及肖小河。2001。不同產地冬蟲夏草腺?含量的測定。中國醫藥雜誌26(8):540-541。30.徐文豪、薛智及馬建民。1988。冬蟲夏草的水溶性成分-核?類化合物的研究。中藥通報13(4):34-36。31.姜泓、劉珂、孟舒及初正云。2000。人工蛹蟲草子實體化學成分。藥學學報35(9):663-668。32.孫悅迎及張旭東。2002。冬蟲夏草與蛹蟲草特性分析。中醫藥學報30(2):43-44。33.孫悅迎、張旭東及雷萍。2003。冬蟲夏草菌絲多醣分離提取特性研究。陝西省微生物研究所31(5):36-37。34.孫艷、官杰及王琪。2002。人工蛹蟲草子實體對荷肝癌小鼠的抑瘤作用及NK, IL-2提高活性的實驗研究。中國藥師雜誌11(7):39-40。35.馬潔及易永祥。2002。丹蔘和冬蟲夏草防治肝臟纖維化的臨床觀察。南京軍醫學院學報24:38-39。36.梁宗琦。2001。蛹蟲草無性型-蛹草擬青霉的確証。食用菌學報8(4):28-32。37.張桂英、王寶貴、趙林伊、梅樹江、高虹及王馳。2001。柞蠶蛹蟲草對老齡大鼠LOP含量和SOD、GSH-Px活性的影響。中國老年學雜誌21(2):137-138。38.陳千良、甘志杰及孫文基。2003。HPLC法測定人工蛹蟲草子實體中蟲草素。西北大學學報33(5):569-571。39.陳克敏及許金宏。2000。中藥北冬蟲夏草製劑穩定性測試。時珍國醫國藥。11(1):23-24。40.張仲儀、姜枋進。2000。冬蟲夏草治療肺間質病20例臨床分析。臨床薈萃雜誌15(11):518。41.賈景明及吳春福。2003。北冬蟲夏草發酵液對運動員身體機能影響的研究。瀋陽體育學院學報(2):6-10。42.鄒奎昌。2003。人工栽培北冬蟲夏草對大鼠腦垂體促性腺激素細胞影響的超微結構研究。上海中醫藥雜誌37(7):41-45。43.楊世海、張紅兵及趙英。1994。冬蟲夏草研究的新進展。中藥雜誌25(9):488-492。44.葉淑幸。2003。培養基中碳氮源與培養方式對蛹蟲草菌絲發酵產程中生質、菌絲球及生物活性成分之影響。大葉大學食品工程學系碩士論文。彰化。45.趙祥軍、邱瑞桂、袁海龍及肖小河。2003。冬蟲夏草道地藥材與人工蟲草菌絲體的分析比較。中藥材26(6):408-409。46.賈文、于榮敏及白秀峰。2000。人工培養蛹蟲草多醣的研究。瀋陽藥科大學學報17(5):361-364。47.賈文、宋麗艷、于榮敏及李博。2003。人工培養蛹蟲草多醣的抗炎及免疫作用研究。時珍國醫國藥14(1):1-2。48.鄭晴霞、彭菲及王夙翱。1995。蛹蟲草的人工培育及組織學的研究。湖南農業大學學報21(6):581-583。49.鍾裕容、崔淑蓮、楊智、劉岱、楊立新及劉靜明。1990。蛹蟲草菌絲與冬蟲夏草錘氨酸、甘露醇的含量。中國中藥雜誌15(4):39。50.Andre Rosowsky, Herbert Lazarus, and Ayako Yamashita. 1976. Nucleosides. 1. 9-(3'-Alkyl-3'-deoxy- -D-ribofuranosyl) adenines as Lipophilic Analogues of Cordycepin. Synthesis and Preliminary Biological Studies. Journal of Medicinal Chemistry. 19(10):1265-1271。51.ALAN M. SUGAR and RONALD P. McCAFFREY. 1998. Antifungal Activity of 3'-Deoxyadenosine (Cordycepin). ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. 42(6):1424-1427。52.Chassy, B. M. and Suhadolink, R. J. 1969. Nucleoside antibiotics IV. Metabolic fate of adenosine and cordycepin by Cordyceps militaris during cordycepin biosynthesis. Biochim.Biophys. Acta.182:307-315。53.Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Reber, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28(3):350-365。54.JIAN-YA LING, YING-JIE SUN, HUA ZHANG, PENG LV, AND CHANG-KAI ZHANG. 2002. Measurement of Cordycepin and Adenosine in Stroma of Cordyceps sp. by Capillary Zone Electrophoresis (CZE). JOURNAL OF BIOSCIENCE AND BIOENGINEERING. 94(4):371-374。55.Park Jong Pil, Kim Young Mi, Kim Sang Woo, Hwang Hye Jin, Cho Youn Jeung, Lee Yong Se, Song Chi Hyun and Yun Jong Won. 2002. Effect of aeration rate on the mycelial morphology and exo-biopolymer production in Cordyceps militaris. Process Biochemistry. 37:1257-1262。