

# 固態發酵蛹蟲草藥酒之活性成份研究

謝明、陳鴻章

E-mail: 9511125@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

蛹蟲草 *Cordyceps militaris* 又稱為北冬蟲夏草，含有主要成份蟲草素、腺 $\beta$ -D-葡萄糖、蛹蟲草多醣等，其化學成份與醫療保健機能的種類與冬蟲夏草 *Cordyceps sinensis* 相似；本研究用在來米混入營養液以固態方式培養出蛹蟲草原基階段之幼子實體，均質後分別秤取 50 g、100 g、200 g 之蛹蟲草固態培養體，再使用 20%、60% 等不同濃度酒精以傳統浸泡方式浸泡 7-21 天後，過濾製成蛹蟲草浸泡式藥酒，以及利用 100 g 之蛹蟲草固態培養體加入酒麴發酵釀製成較低酒精濃度之蛹蟲草發酵式藥酒，並分析其蟲草素與腺 $\beta$ -D-葡萄糖及蟲草多醣之含量及進行喜好順位官能性評估。結果發現其中以 200 g / 20% 酒精濃度浸泡 14 天之傳統浸泡式蛹蟲草藥酒所萃取的活性機能成分蟲草素 4.74 mg / mL 為最高含量；而所含有的腺 $\beta$ -D-葡萄糖 6.97 mg / mL 亦是最佳，顯示出在培養體添加量的多寡與酒精濃度的高低是影響蛹蟲草藥酒活性成分萃取的關鍵；多醣則是以發酵式蛹蟲草藥酒所測得的 102.73 mg / mL 含量最高，可能是因在釀製酒醪配方中所添加的固態培養體中之米飯、砂糖、酵母、其他成份之營養液等，有利於多醣生成所致之結果。另外在喜好順位官能性評估方面以色澤、香氣、嚐味、整體感等品評，以 20% 酒精濃度浸泡 7 天之傳統浸泡式蛹蟲草藥酒最受品評員喜愛，此與新鮮蛹蟲草的特殊香氣在浸泡初期未被破壞及低濃度酒精較普遍讓品評員接受的因素有關；整體而言固態發酵蛹蟲草培養體中之活性成分以 20% 酒精製成傳統浸泡式蛹蟲草藥酒為最適之萃取條件。

關鍵詞：蛹蟲草藥酒、蟲草素、腺 $\beta$ -D-葡萄糖

## 目錄

授權書	iii
中文摘要	iv
英文摘要	vi
誌謝	viii
目錄	ix
圖目錄	xiii
表目錄	xv
第一章 緒言	1
第二章 文獻回顧	3
2.1 蛹蟲草之特徵與介紹	3
2.2 蛹蟲草之成分	4
2.2.1 蟲草素	5
2.2.2 腺 $\beta$ -D-葡萄糖	6
2.2.3 蛹蟲草多醣	9
2.2.4 甘露糖醇	10
2.2.5 超氧化物歧化酶	10
2.2.6 甾醇類	11
2.3 藥理作用	11
2.3.1 延緩機能衰老	11
2.3.2 對內分泌的影響	12
2.3.3 對心血管系統的影響	13
2.3.4 降低三酸甘油酯作用	14
2.3.5 降血糖作用	14
2.3.6 保肝作用	14
2.3.7 固腎作用	15
2.4 蛹蟲草的人工培養研究	15
2.4.1 蛹蟲草子實體的固態培養	16
2.4.2 蛹蟲草的液態培養	17
2.5 蛹蟲草食用之安全性與毒性	17
2.6 蛹蟲草製劑之穩定性	18
2.7 藥酒	19
2.7.1 藥酒之簡介	19
2.7.2 藥酒之材料與溶劑	20
2.7.3 藥酒之應用	21
第三章 材料與方法	24
3.1 試驗菌株	24
3.2 培養基	24
3.2.1 菌種培養基	24
3.2.2 固體培養基	24
3.3 實驗試藥	25
3.4 實驗儀器	25
3.5 實驗方法	26
3.5.1 菌種培養	26
3.5.2 固態培養基的製作及接種	27
3.5.3 固態培養之流程	28
3.5.4 蛹蟲草藥酒之製作	28
3.6 分析項目	32
3.6.1 蟲草素及腺 $\beta$ -D-葡萄糖量之 HPLC 測定	32
3.6.2 多醣濃度測定	35
3.7 喜好官能性評估	35
第四章 結果與討論	37
4.1 蛹蟲草浸泡藥酒之製備與活性成分分析	37
4.1.1 蛹蟲草培養體添加量對浸泡式酒中活性成分含量之影響	38
(1) 以 20% 酒精濃度浸泡不同重量之蛹蟲草培養體	38
(2) 以 60% 酒精濃度浸泡不同重量之蛹蟲草培養體	43
4.1.2 酒精濃度對浸泡酒中蛹蟲草培養體活性成分含量之影響	48
(1) 以 50 g 蛹蟲草培養體浸泡不同濃度之酒精	48
(2) 以 100 g 蛹蟲草培養體浸泡不同濃度之酒精	52
(3) 以 200 g 蛹蟲草培養體浸泡不同濃度之酒精	56
4.2 蛹蟲草發酵式藥酒之製備及其活性成分之比較	57
4.3 各種蛹蟲草浸泡式藥酒之品評	64
第五章 結論	67
參考文獻	69
圖目錄 頁次	
圖 2-1 蟲草素結構式	8
圖 2-2 腺 $\beta$ -D-葡萄糖式	8
圖 2-3 天然野生蛹蟲草	22
圖 2-4 人工培養蛹蟲草子實體	22
圖 2-5 市售冬蟲夏草(一)	23
圖 2-6 市售冬蟲夏草(二)	23
圖 3-1 傳統浸泡式蛹蟲草藥酒釀製流程(ECML)量之影響	30
圖 3-2 傳統發酵式蛹蟲草藥酒釀製流程(FCML)	31
圖 3-3 蟲草素與腺 $\beta$ -D-葡萄糖層析圖	34
圖 3-4 蟲草素與腺 $\beta$ -D-葡萄糖層析圖	34
圖 4-1 蛹蟲草培養體添加量對 20% 酒精濃度浸泡酒之蟲草素含量之影響	40
圖 4-2 蛹蟲草培養體添加量對 20% 酒精濃度浸泡酒之腺 $\beta$ -D-葡萄糖量之影響	41
圖 4-3 蛹蟲草培養體添加量對 20% 酒精濃度浸泡酒之多醣含量之影響	42
圖 4-4 蛹蟲草培養體添加量對 60% 酒精濃度浸泡酒之蟲草素含量之影響	45
圖 4-5 蛹蟲草培養體添加量對 60% 酒精濃度浸泡酒之腺 $\beta$ -D-葡萄糖量之影響	46
圖 4-6 蛹蟲草培養體添加量對 60% 酒精濃度浸泡酒之多醣含量之影響	47
圖 4-7 以 50 g 蛹蟲草培養體在不同酒精濃度浸泡時之蟲草素濃度變化	49
圖 4-8 以 50 g 蛹蟲草培養體在不同濃度酒精浸泡時之腺 $\beta$ -D-葡萄糖濃度變化	50
圖 4-9 以 50 g 蛹蟲草培養體在不同濃度酒精浸泡時之多醣濃度變化	51
圖 4-10 以 100 g 蛹蟲草培養體在不同酒精濃度浸泡時之蟲草素濃度變化	53
圖 4-11 以 100 g 蛹蟲草培養體在不同酒精濃度浸泡時之腺 $\beta$ -D-葡萄糖濃度變化	54
圖 4-12 以 100 g 蛹蟲草培養體在不同濃度酒精浸泡時之多醣濃度變化	55
圖 4-13 以 200 g 蛹蟲草培養體在不同酒精濃度浸泡時之蟲草素濃度變化	59
圖 4-14 以 200 g 蛹蟲草培養體在不同酒精濃度浸泡時之腺 $\beta$ -D-葡萄糖濃度變化	60
圖 4-15 以 200 g 蛹蟲草培養體在不同濃度酒精浸泡時之多醣濃度變化	61
表目錄 頁次	
表 4-1 以 100 g 蛹蟲草培養體釀製之蛹蟲草藥酒其蟲草素、腺 $\beta$ -D-葡萄糖、多醣之含量	62
表 4-2 以 100 g 蛹蟲草培養體製備傳統浸泡式蛹蟲草藥酒其蟲草素、腺 $\beta$ -D-葡萄糖、多醣之含量	63
表 4-3 不同浸泡時間之 20% 蛹蟲草藥酒( ECML-20 ) 與 60% 蛹蟲草藥酒( ECML-60 ) 之品評結果	65
表 4-4 傳統浸泡式 20% 蛹蟲草藥酒( ECML-20 ) 與傳統發酵式蛹蟲草藥酒( FCML ) 之品評結果	66

## 參考文獻

- 中文部份 1. 王琦、韓曉龍。2002。蛹蟲草對老年大鼠自由基代謝影響的研究。遼寧師專學報第4卷第4期:104-106。 2. 朱宏圖。1987。人工培養蛹蟲草的研究。中藥通報12(12):21。 3. 林石源。2005。蛹蟲草子實體培養條件與活性成分組成之研究。大葉生物產業科技學系碩士論文。彰化。 4. 林胤谷, 陳俊良, 吳宜鴻, 林口長庚紀念醫院中醫內科。陳以平, 上海中醫藥大學。楊賢鴻, 長庚大學中醫系。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。 5. 李珮玲。1994。機能性食品冬蟲夏草之型態發生、發酵培養與分析檢定。大葉工學院食品工程研究所碩士論文。彰化。 6. 李紹平、季暉、李萍、董婷霞、詹華強、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。 7. 李鋒、劉利。2002。冬蟲夏草心血管藥理作用研究概況。中國醫藥研究18(2):55-56。 8. 呂鵬、孫迎節、張長鎧。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。 9. 車振明。2003。人工培育的蛹蟲草純子實體食用安全性研究。食用菌(3):45-46。 10. 周良楸、楊倚竹、續月名、朱慶義、馬紫亮、朱延瑞、葛孝炎。1990。冬蟲夏草菌絲體治療慢性乙型病毒肝炎的近期療效觀察。中國中藥雜誌15(1):53-55。 11. 吳洪臻、江傳、馬德恩。2000。蟲草素對小鼠S180瘤抑制作用研究。時珍國醫國藥11(10):873-874。 12. 貢成良、吳衛東、徐成智、楊昆、陳國剛。2001。家蠶蛹蟲草的化學成分分析。蠶業科學28(2):168-172。 13. 徐文豪、薛智、馬建民。1988。冬蟲夏草的水溶性成分-核糖類化合物的研究。中藥通報。13(4):34-36。 14. 徐廷芳、王麗波、段文健、楊彤。2002。人工蛹蟲草胞外多糖對受益製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。 15. 徐維蓉、王奕、葉其明、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。 16. 柴建萍、白榮興、謝道燕。2003。蛹蟲草主要有效成分及其藥理功效。雲南農業科技(4):22-23。 17. 馬洁、易永祥。2002。丹蔘與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。 18. 馬饒馳, 黃健, 劉丹, 吳立軍。2003。蛹蟲草培養液成份研究( )。瀋陽藥科大學學報20(4):255。 19. 莊筱禎。2004。藥酒製備及其抗氧化特性與儲存安定性之探討。嘉義大學食品科學研究所碩士論文。 20. 莊曉莉、李祥麟、黃檀溪。2003。蠶蛹草具有顯著之抗氧化性與自由基清除能力。師大學報:數理與科技類48(1,2):13-24。 21. 郭亭芳、郭亭艷。2000。冬蟲夏草的藥理作用研究及臨床應用。晉東南師範專科學校學報第三期70-73。 22. 都興范、李應杰、王林華、石理鑫、徐宏、張俊濤、王曉燕、王鶴。2003。北冬蟲夏草的研究發展現狀。遼寧農業科學4:26-28。 23. 張照輝。1989。藥酒簡介。製酒科技專論彙編, 11:69-80。 24. 賈景明、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 2003 No.2:6-8。 25. 趙祥軍, 邱瑞桂, 袁海龍, 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。 26. 楊世海、張紅兵、趙英。1994。冬蟲夏草研究的新發展。中草藥雜誌25(9):488-492。 27. 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成中生質、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。 28. 賈文、宋麗艷、于榮敏、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。 29. 蔡仲軍、尹定華、黃天福、陳仕江、李泉生。2003。不同產地冬蟲夏草甘露醇含量比較。中國藥房14(8):505-506。 30. 蔡昆霖。2005。不同培養方式對蛹蟲草菌絲體生長及其生物活性成份之研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。 31. 劉訕坤。1991。冬蟲夏草及菌絲體藥理研究近況。山東中醫雜誌10(5):42-44。 32. 簡雅玲。2004。補血發酵藥酒之開發與功能評估。大葉大學食品工程學系碩士論文。彰化。 33. 蘇慶華。1994。冬蟲夏草及蟲草。農藥世界 136:32-36。 英文部份 1. Choi, S.B., Park, C.H., Choi, M.K., Jun, D.W and Park, S. 2004. Improvement of insulin resistance and insulin secretion by water extracts of *Cordyceps militaris*, *phellinus linteus*, and *paecilomyces tenuipes* in 90% pancreatectomized rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68(11):2257-2264. 2. Koh, J.H., Kim, J.M., Chang, U.J and Suh, H. J. 2003. Hypocholesterolemic Effect of Hot-Water Extract from Mycelia of *Cordyceps sinensis*. *Biol. pharm. Bull.* 26(1): 84-87. 3. Lallas, G.C., Courtis, N. and Havredaki, M. 2004. K562 cell sensitization to 5-fluorouracil- or interferon-alpha-induced apoptosis via cordycepin(3'-deoxyadenosine): fine control of cell apoptosis via poly(A) polymerase upregulation. *Int. J. Biol. Markers.* 19(1): 58-66. 4. Liu, J.M., Zhong, Y.R., Yang, Z., Cui, S.L. and Wang, F.H. 1989. Studies on the chemical constituents of *Cordyceps militaris* (L) Link. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih* 14(10): 608-609. 5. Nakamura, K., Konoha, K., Yoshikawa, N., Yamaguchi, Y., Kagota, S., Shinozuka, K. and Kunitomo, M. 2005. Effect of cordycepin (3'-deoxyadenosine) on hematogenic lung model mice. *In Vivo.* 19(1): 137-141. 6. 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. 7. Wang, Y.H., Ye, J., Li, C.L., Cai, S.Q., Ishizaki, M and Katada, M. 2004. An experimental study on anti-aging action of *Cordyceps* extract. *Zhong guo Zhong Yao Za Zhi.* 29(8): 773-6. 8. Wang Z., He Z., Li S. and Yuan, Q. 2005. Purification and partial characterization of Cu, Zn containing superoxide dismutase from entomogenous fungal species *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology.* 5: 1-8. 9. Yamaguchi, Y., Kagota, S., Nakamura, K., Shinozuka, K and Kunitomo, M. 2000. Antioxidant activity of the extracts from fruiting bodies of cultured *Cordyceps sinensis*. *Phytotherapy Research.* 14: 647-649. 10. Zhu, J.S., Halpern, G.M and Jones, K. 1998. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: *Cordyceps sinensis*: part . *J Altern Complement Med.* 4: 289-303.