

Studies on Bioactive Ingredient Contents of Cordyceps militaris Liqueur Made from Culture Body of Solid-State Fermentation

謝明、陳鴻章

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

ABSTRACT

Cordyceps militaris, which is also known as ' bei dong chong xia cao ', is mainly composed of cordycepin, adenosine, and polysaccharide. In addition, it was found to be similar to the *Cordyceps sinensis* in terms of its medical compositions and medical effects. This study used rice, which was mixed with nutrient solution, to cultivate *Cordyceps militaris* to the young mycelium stage in a way of solid-state fermentation. The whole culture body was administered in the study to obtain two types of *Cordyceps militaris* liqueur. The former one was to extract 50g, 100g, and 200g of homogenized *Cordyceps militaris* culture body separately and then submerged them with 20% and 60% of alcohol for seven to twenty-one days to obtain extracted *Cordyceps militaris* liqueur (ECML). The latter one was to use *Cordyceps militaris* culture body of 100g to obtain fermented *Cordyceps militaris* liqueur (FCML) of lower alcohol concentration by adding rice-koji. Two kinds of liqueur were then analyzed in terms of their contents of cordycepin, adenosine, and polysaccharide in addition to sensory evaluation. The results showed that the highest degree of cordycepin (4.74mg/mL) and adenosine (6.97mg/mL) were found in the extracted *Cordyceps militaris* liqueur (ECML) came from 200g of *Cordyceps militaris* culture body submerged with 20% of alcohol for seven days. This finding showed that the proportion of *Cordyceps militaris* culture body and the alcohol concentration were the key factors influencing the content of the active components of *Cordyceps militaris* in the liqueur. The highest content of polysaccharide (102.73mg/mL) was found in fermented *Cordyceps militaris* liqueur (FCML). This might be due to the rice, sugar, yeast and other nutrient solutions in the culture body which promoted the production of polysaccharide. Based on the sensory scores of color, aroma, taste and overall performance, the ECML from 7 days of submergence with 20% of alcohol was best appreciated by the evaluators. This might be due to that the aroma of *Cordyceps militaris* at the beginning period of submergence was not destroyed and the low concentrations of alcohol was more appreciated by the evaluators. Overall, the ECML from 7 days of submergence with 20% of alcohol was found to be the best with the highest occurrence of active ingredients.

Keywords : *Cordyceps militaris* liqueur, cordycepin, adenosine, *Cordyceps militaris* polysaccharide

Table of Contents

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? 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? 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? 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? 吡喃式 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? 吡喃-層析圖 34	圖3-4 蟲草素與腺? 吡喃-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? 吡喃量之影響 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? 吡喃量之影響 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? @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? @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? @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? P多醣之含 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? P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

REFERENCES

- 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. 周良楣、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?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.