

Comparison of Techniques for the Extraction of Active Components from Timber Cultivated or Media Cultivated *Antrodia ca*

、楊博文；何偉真

E-mail: 9708309@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

The goals of this research is to analyze and extract active components of polysaccharides, adenosine and triterpenoids from timber cultivated *Antrodia camphorata* as well as to compare the amount of polysaccharides, adenosine and triterpenoids in various mycelia derived from solid culture media. The results indicated that mycelia grown on different media, showed different levels of active components. The mycelia from medium 6 have the highest amount of polysaccharides(25.93 g/kg) and adenosine (745.15 mg/kg) ; The mycelia from medium 3 have the highest amount of triterpenoids. In comparison of different extraction techniques by using 20% ethanol as the solvent, the yield of polysaccharides using microwave-assisted extraction (MAE) for 9 minutes were equivalent to the 82% yield using heating reflux extraction (HRE) for 3 hours. As 20% ethanol was used for the solvent, the yield of adenosine using microwave-assisted extraction (MAE) for 7 minutes were superior to those using ultrasonic-assisted extraction (UAE) for 40 minutes and heating reflux extraction (HRE) for 3 hours. When 70% ethanol was used as the solvent, the yield of triterpenoids using microwave-assisted extraction (MAE) for 9 minutes were equivalent to the 91% yield for that of ultrasonic-assisted extraction (UAE) for 20 minutes. It was obvious that MAE took up half time, and would provide higher efficiency for extraction.

Keywords : *Antrodia camphorata* ; polysaccharides ; adenosine ; triterpenoids ; Microwave-assisted extraction ; Ultrasonic-assisted extraction

Table of Contents

封面內頁	簽名頁	授權書	iii	中文摘要	iv	英文摘要	v	誌謝	vi	目錄	vii	圖目錄	xi	表目錄	xiv	1.前言	1	2.文獻回顧	3	2.1樟芝之介紹	3	2.1.1樟芝分類	3	2.1.2樟芝型態與特徵	4	2.2 樟芝之有效成分	5	2.2.1 多醣體	5	2.2.2 多醣的生理活性	6	2.2.3 樟芝多醣	7	2.2.4 三?	7	2.2.5 三?類的分類	8	2.2.6 三?的生理活性	9	2.2.7 樟芝之三?類	10	2.2.8 腺?	17	2.3 樟芝功效及藥理作用	18	2.4 不同萃取方法介紹	20	2.4.1 熱迴流萃取	20	2.4.2 超音波輔助萃取	21	2.4.3 微波輔助萃取	22	3. 材料與方法	25	3.1 材料	25	3.1.1 植物來源	25	3.1.2 藥品清單	26	3.1.3 儀器清單	26	3.2 實驗方法	26	3.2.1 樣品前處理	26	3.2.2 樟芝之萃取方法	27	3.2.3 不同萃取方式之條件探討	29	3.2.3.1 熱迴流萃取法	29	3.2.3.2 超音波輔助萃取	30	3.2.3.3 微波輔助萃取	31	3.2.4 成分分析	31	3.2.4.1 多醣分析	31	3.2.4.2 多醣標準品製備	32	3.2.4.3 粗三?分析	32	3.2.4.4 腺?分析	32	3.2.4.5 腺?標準品製備	33	3.2.5 統計分析	33	4. 結果與討論	34	4.1 不同醱酵條件樟芝樣品之多醣、腺?及粗三?分析	34	4.1.1 比較分析多醣、腺?及粗三?	34	4.2 不同萃取段木樟芝方法其多醣、腺?及粗三?之分析比較	37	4.3 不同萃取方法比較分析多醣、腺?及粗三?-微波輔助萃取	41	4.3.1 微波輔助萃取	41	4.3.2 微波輔助萃取段木樟芝粉末，不同濃度乙醇對多醣、腺?、粗三?萃取產量之影響	41	4.3.3 微波輔助萃取段木樟芝粉末，溫度對多醣、腺?、粗三?萃取產量之影響	43	4.3.4 微波輔助萃取段木樟芝粉末，時間對多醣、腺?、粗三?萃取產量之影響	46	4.3.5 微波輔助萃取段木樟芝粉末，固液比對多醣、腺?、粗三?萃取產量之影響	48	4.3.6 微波輔助萃取-田口氏直交試驗結果討論	50	4.4 段木樟芝粉末以不同萃取方法比較分析多醣、腺?及粗三?-超音波輔助萃取	55	4.4.1 超音波輔助萃取段木樟芝粉末，不同濃度乙醇對多醣、腺?、粗三?萃取產量之影響	55	4.4.2 超音波輔助萃取段木樟芝粉末，溫度對多醣、腺?、粗三?萃取產量之影響	57	4.4.3 超音波輔助萃取段木樟芝粉末，時間對多醣、腺?、粗三?萃取產量之影響	59	4.4.4 超音波輔助萃取段木樟芝粉末，固液比對多醣、腺?、粗三?萃取產量之影響	61	4.4.5 超音波輔助萃取-田口氏直交試驗結果討論	63	4.5 微波、超音波、熱迴流在不同萃取時間上之多醣、腺?、粗三?產量差異性比較	68	5. 結論	72	參考文獻	74	附錄	80
------	-----	-----	-----	------	----	------	---	----	----	----	-----	-----	----	-----	-----	------	---	--------	---	----------	---	-----------	---	--------------	---	-------------	---	-----------	---	---------------	---	------------	---	----------	---	--------------	---	---------------	---	--------------	----	----------	----	---------------	----	--------------	----	-------------	----	---------------	----	--------------	----	----------	----	--------	----	------------	----	------------	----	------------	----	----------	----	-------------	----	---------------	----	-------------------	----	----------------	----	-----------------	----	----------------	----	------------	----	--------------	----	-----------------	----	---------------	----	--------------	----	-----------------	----	------------	----	----------	----	----------------------------	----	---------------------	----	-------------------------------	----	--------------------------------	----	--------------	----	--	----	--	----	--	----	---	----	--------------------------	----	--	----	---	----	---	----	---	----	--	----	---------------------------	----	---	----	-------	----	------	----	----	----

REFERENCES

- 1.于宏。2006。樟芝化學成分與生物活性研究進展。國外醫藥 植藥分冊21(5):199-202。
- 2.王心怡。2004。樟芝深層醱酵液之成分分析。實踐大學食品營養研究所碩士學位論文。
- 3.王澤彥。2005。樟芝酒製備及功能性評估。南台科技大學生物科技研究所碩士學位論文。
- 4.王家強，萬近富。1993。微波用於重樓皂?的提取。中國中藥雜誌18(4):233-235。
- 5.水野卓，川合正允原著，賴慶亮譯。1997。菇類的化學生化學。國立編譯館。
- 6.尹然，王凱，陳曉輝，畢開順。2006。RP-HPLC法測定苦碟子中腺?。中草藥37(4):609-610。
- 7.付眾，郭毅，張摘群，楊雙革，徐力昆，吳一兵。2006。歐亞旋覆花中多醣的苯酚-硫酸法?定。中草藥37(4):544-546。
- 8.朱國輝，邱泰球和黃卓烈。2001。超音波在萃取中的應用。聲學技術20(4):188-190。
- 9.李宛蓁。2003。樟芝菌絲體培養與生理活性成分生成之研究。私立東海大學化學工程研究所碩士論文。
- 10.李名訓。2006。樟芝栽培之研究。國立嘉義大學農學院林業暨自然資源研究所碩士論文。
- 11.肖崇厚

, 陳蘊如。1989。中藥化學。第323-360頁。科學技術出版社。上海。12.吳德鵬。1995。樟芝微量成份的研究。國立臺灣師範大學化學研究所碩士論文。13.宋祖瑩。2003。樟芝深層培養液抗氧化及抗腫瘤特性之研究。國立中興大學食品科學研究所博士論。14.呂鋒洲。2002。牛樟芝各抗腫瘤有效成份的分離、純化，誘發腫瘤凋亡及其作用機轉的研究。行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告。15.胡鷗，連張飛，張君逸，盧喜。2006。樟芝的藥用保健價值及開發應用。亞熱帶植物科學35(4):75-78。16.紀宏、高春、高恒瑩。2004。HPLC法測定人胎盤片原料中腺?含量。中國藥標標準05(5):49-51。17.郭悅雄。2004。樟芝深層醱酵液之成分分析。實踐大學食品營養研究所碩士學位論文。18.高曉薇。1991。台灣靈芝屬新種樟芝之三帖類成分研究。台灣醫學院天然物醫學研究所碩士論文。19.郭淑卿。2002。樟芝醱酵液對大鼠肝臟纖維化及胃腸功能之改善作用。中國醫藥學院中國藥學研究所藥學碩士論文。20.郭振庫，金欽漢，范國強。2001。黃芬中黃琴貳微波提取的實驗研究。中草藥32(11):985-987。21.陳勁初、呂鋒洲。2001。靈芝之王:台灣樟芝。元氣齋出版社。台灣，台北。22.陳柏欣。2002。牛樟芝醱酵過濾液對大白鼠肝臟生理機能之影響。中國醫藥學院營養研究所碩士論文。23.張自萍。2006。微波輔助提取技術在多醣研究中的應用。中草藥(37)4:630-632。24.張忠豪。2007。含抗癌藥喜樹鹼及10-羥基喜樹鹼之不同植物源的萃取分析研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。25.黃惠琴。2001。樟芝菌絲體深層培養之研究。東海大學化工研究所碩士論文。26.黃鈴娟。2000。樟芝與姬松茸之抗氧化性質及其多醣組成分析。國立中興大學食品科學系碩士論文。27.彭維榮。2006。樟芝保護肺細胞及預防動脈硬化機制探討。朝陽科技大學應用化學系碩士論文。28.程一華。1994。樟芝之成份研究。國立臺灣師範大學化學學系碩士論文。29.單文軍、郭芳齡、王科軍、徐建平。2006。微波技術在天然產物生物活性成分提取中的應用研究。江西化工4:46-49。30.華良武、趙振東、Vinatoru Mircea、陳元平、李冬梅、古研、王婧。2007。超音波技術在生物質資源加工領域的應用研究進展。林業化學和工業27:138-142。31.楊書威。1991。中藥樟芝活性成分之研究。台灣大學藥學研究所碩士論文。32.楊筱冬、呂淑芳、陳孟堂、傅偉光。2006。利用HPLC分析食藥用菇類中腺?之方法研究。台灣農業化學與食品科學44(5):339-344。33.葉怡真。2002。樟芝對血管內皮細胞之影響及保心血管疾病之機制探討。中國醫藥學院營養研究所碩士論文。34.臧穆、蘇慶華。1990。我國台灣產靈芝屬新種-樟芝。雲南植物研究12:395-396。35.潘若芝。2004。不同培養方式對樟芝多醣及乙醇抽出物生產之研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。36.劉英俊、江金追。1990。微生物應用工業。中央圖書出版，台北市。37.劉翠玲。2002。樟芝對倉鼠體內脂質代謝與抗氧化狀態之影響。輔仁大學食品營養學研究所碩士論文。38.劉峙嶸，俞自由，方裕勳。2005。微波萃取銀杏葉黃酮類化合物。東華理工學院學報28(2):151-154。39.蕭久富。2007。不同萃取方法對台灣筋骨草及匍匐筋骨草活性成分之分析比較研究。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。40.簡秋源、姜宏哲、陳淑貞。1997。牛樟菇培養性狀及其三帖類成分分析之研究。牛樟生物學及育林技術研討會論文集。林業叢刊第72號:133-137。41.嚴貴榮。2002。樟芝對STZ誘發高血糖鼠血清糖調節與抗氧化之影響。輔仁大學食品營養學系碩士論文。42.嚴偉、李淑芬和田松江。2002。超音波協助萃取技術。化工進展21(9):649-651。43.Cherng, I. H. and Chiang, H. C. 1995. Three new triterpenoid from *Antrodia cinnamomea*. *Journal of Natural Products* 58(3):365-371. 44.Cherng, I. H., Wu, D. P. and Chiang, H.C. 1996. Triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*. *Phytochemistry* 41(1):263-267. 45.Chang, T. T. and Chou, W. N. 1995. *Antrodia cinnamomea* sp. nov. on *Cinnamomum kanehirai* in Taiwan. *Mycol. Res.* 99:756-758. 46.Garrone, R., Lethias, C. and Le, G. 1998. Distribution of minor collagens during skin development. *Microsc. Res. Tech.* 38:407-412. 47.Hseu, Y. C., Chang, W. C., Hseu, Y. T., Lee, C. Y., Yech, Y. J., Chen, P. C., Chen, J. Y. and Yang, H. L. 2002. Protection of oxidative damage by aqueous extract from *Antrodia camphorata* mycelia in normal human erythrocytes. *Life Sci.* 71(4):469. 48.Huang, L. C., Huang, S. J., Chen, C.C. and Mau, J. L. 1999. Antioxidant properties of *Antrodia camphorata*. *Proceedings of 3rd International Conference on Mushroom. Biology & Mushroom Products* P275-283. 49.Mau, J. L., Huang, P. N., Huang, S. J. and Chen, C. C. 2004. Antioxidant properties of methanolic extracts from two kinds of *Antrodia camphorata* mycelia. *Food Chemistry* 86:25-31. 50.Nie, J. Y., Wu, C. Y. and Wu, S. R. 2004. Microwave-assistant extraction of water-soluble paahyman from *Poriacocos*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 35(12):1346-1348. 51.Nakamura, N., Hirakawa, A., Gao, J. J., Kakuda, H., Shiro, M., Komatsu, Y., Sheu, C. C. and Hattori, M. 2004. Five new maleic and succinic acid derivatives from the mycelium of *Antrodia camphorata* and their cytotoxic effects on LLC tumor cell line. *Journal of Natural Products* 67:46-48. 52.Shen, C. C., Kuo, Y. C., Huang, R. L., Lin, M. J., Chang, T. T. and Chou, C. J. 2003. New ergostane and lanostane from *Antrodia camphorata*. *J. Chin. Med.* 14:247-258. 53.Shen, Y. C., Wang, Y. H., Chou, Y. C., Chen, C. F., Lin, L. C., Chang, T. T., Tien, J. H. and Chou, C. J. 2004. Evaluation of the anti-inflammatory activity of zhankuic acids isolated from the fruiting bodies of *Antrodia camphorata*. *Planta Medica* 70:310-314. 54.Song, T. Y. and Yen, G. C. 2003. Protective effects of fermented filtrate from *Antrodia camphorata* in submerged culture against CCl4-induced hepatic toxicity in rats. *J. Agric. Food Chem.* 51:1571-1577. 55.Turner, W. B. and Aldridge, D. C. 1983. *Fungal Metabolites II*. p.304-365. Academic Press, New York, USA. 56.Wu, S. H., Ryvardeen, L. and Chang, T. T. 1997. *Antrodia camphorata* ("niu-chang-chih"), new combination of a medicinal fungus in Taiwan. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 38:273-275. 57.Wang, L., Lu, J. J., Gu, C. Z. and Chen, Y. H. 2001. Microwave technique extraction and content determinations of polysaccharide of snakegourd mot. *J. Pharm. Practice* 19 (3):168-169. 58.Yang, S. W., Shen, Y. C. and Chen, C. H. 1996. Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea* - A fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum*. *Phytochemistry* 41(5):1389-1392. 59.Zang, M., Kusalus, L. L., Fisher, S. J. and Grahl, K. 1990. *Ganoderma camphoratum* a new taxon in genus *Ganoderma* from Taiwan. *China Acta Bot. Yunnanica* 12:395-396.