

細部計畫：野生樟芝及人工栽培樟芝產品成分之比對

計畫編號：93 農科-5.1.3 糧-Z3

執行期限：93 年 9 月 1 日至 93 年 12 月 31 日

主持人：蘇慶華 臺北醫學大學生物醫學材料研究所

一、中文摘要

以甲醇對天然（野生）及兩種人工栽培樟芝進行萃取，進行薄層色層分析(TLC)、高效液相分析(HPLC)、及液相層析質譜(LC/MS)進行分析結果顯示。(1) 無論薄層色層分析(TLC)、高效液相分析(HPLC)、及液相層析質譜(LC/MS)均顯示 野生樟芝之成分種類最為豐富，而固態栽培樟芝在量及質略為減少，但仍與野生樟芝接近，但如以液態培養則最少。(2) 天然與固態栽培之樟芝均顯示已三萜類為其主要成分。(3) 提供栽培樟芝等同野生樟芝之證據，對自然保育將具有貢獻。

關鍵詞：樟芝、層色層分析、高效液相分析、及液相層析質譜

Abstract

The purpose of the project is aimed to compare the component of *Antrodia camphorata* originated from the specimens from wild fruiting body, solid stage cultivation and liquid culture. The specimens were extracted by methanol and following by the analysis of thin-layer chromatography, high performance liquid chromatography and liquid chromatography with mass spectrum. The analysis indicated that the specimen from the wild collection contained more variety of compounds than the cultivated ones, however the specimens from solid state culture containing similar pattern to the wild ones. It is suggested that the solid state cultivated *Antrodia* could be used to replace the natural fruiting body if physiological

functions tested in the other sub-project are comparable.

Keywords: *Antrodia camphorata*, TLC, HPLC, LC/MS

二、緣由與目的

1. 樟芝之生物學

樟芝 *Antrodia camphorata* (Chang & Chou) W& Ryvardeen⁽¹⁾ 為台灣特有之藥用真菌，寄生於牛樟樹 (*Cinnamomum kanehirai*) 之心材內壁，或倒伏無樹皮之近土表的木材表面，牛樟芝樹目前已被列為一級木之保育樹種⁽²⁾ 於 1990 年初被鑑定為 *Ganoderma camphoratum* Zhan & Su⁽³⁾，與靈芝同種乃起因於受到靈芝孢子污染而判斷錯誤，後 1995 年張東柱等人重新定名為 *Antrodia cinnamomea*⁽⁴⁾，1997 年才由吳聲華依據國際命名法命名為 *Antrodia camphorata*⁽¹⁾，屬於擔子菌亞門 (Basidiomycotina) 同為擔子菌綱 (Homobasidiomycetes)，無褶菌目 (Aphyllphorales)，多孔菌科 (Polyporaceae)，薄孔菌屬 (*Antrodia*)。

2. 市場分析

野生樟芝目前台灣市場上最昂貴的菇菌，在新台幣 3~30 萬/600g，而固態以栽培方式所製成之膠囊亦在每顆 (500mg) 新台幣 30-50 元，而以液態培養之菌絲體售價在 15-30 元，目前以人工生產之健康保健食品之市場的每年 2-3 億元，相對整體約 300 億之國內市場，尚不及 10%，但如能在多方面之研究證實張之所具有之功能，樟芝在市場佔有率將有極大的改進空

間，尚可進入達 150 億美金之國際市場。但由於野生樟芝逐漸枯竭，栽培之樟芝能否取代野生樟芝仍不清楚。

3. 栽培技術層面之分析

樟芝在國內之研究近十年來，已有多項計劃投入此真菌之研究，包括食品工業研究所，黃仁彰博士，靈芝和樟芝菌種發酵培養之量產開發（88 科技 3.5-糧-0.1）及王伯微博士，食用菇菌發酵量產計劃（90 農科-3.1.3-糧-22）均以液態，發酵為培養之主軸，並無以固態栽培為主題主研究。近年來有產業人士嘗試以人工固體栽培開發所謂「太空包」方式在三個月生長期內培養出成熟之鮮橘紅色之薄孔菌層技術，可大量生產。此項未完全公開其酒精可萃取物亦可達 15~20%，HPLC 圖譜與野生樟芝近似，而以液態培養之產品則無類似代謝物⁽²⁾。初步證據顯示不同栽培方法導致成品成分相異。

4. 有關野生樟之成分的研究

有關樟芝之成分及活性之研究，最早由野生樟之中揚書威（1991）分離 9 個成分，分別命名為 ZK-1~ZK-4，CI-1~CI-5，均屬三萜類；其中 CI-5，ZK-3 發現具有抗膽鹼及抗腦激胺活性^(5,6)。高曉薇（1992）由野生樟之中分得三個三萜類具有降低四氯化碳，誘發之急性肝臟 GPT 值⁽⁷⁾。程一華（1994）亦於野生樟之中分得 10 個三萜類，一個聯苯化合物，三個苯環化合物⁽⁸⁾。吳得鵬（1995）則在極性較小部份得到一個一倍半萜化合物，三個類三萜化合物^(9,10)。黃惟敏（2000）由野生樟芝分離十四個成分，其中兩種為新型之三萜類⁽¹¹⁾。

由以上之成分研究之結果顯示，野生樟之餘中極性部份以三萜類為期主要成員，並具有 24(28)-cn 之雙鍵為其特徵，而在低極性部分則以 phenyl 為其主要成

員，而由各研究者分析過程中野生樟芝之酒精或甲醇可萃取物均在 40-45 % 左右，顯示樟芝在三萜類及含苯化合物具有非常豐富之含量及種類為值得深入開發之題材。

5. 本研究之目的

- (1) 本研究將利用 A. 野生樟芝、B. 固態栽培樟芝、C. 液態培養樟芝，以其酒精萃取物比較成分含量及成組成之差異性。
- (2) 有系統建立 A. 野生樟芝、B. 固態栽培樟芝、C. 液態培養樟芝之 TLC、HPLC、LC/MS、LC/MS/MS 圖譜。
- (3) 評估樟芝在心血管疾病預防及治療之可行性。

如固態栽培或液態培養產品在成分及功效上具有取代野生樟芝之性質，則可減少採集野生樟芝之壓力，對自然保育具有正面之意義。

三、結果與討論

- (1) 初步分析人工固態栽培之樟芝之 phenyl 成分，與野生樟芝中已發現是一樣的化學構造，顯示固態栽培之樟芝與野生樟芝至少在成分類同上已有初步之證明。
- (2) 固態栽培樟芝與野生樟芝成分上之差異性除以 TLC, HPLC 圖譜(圖 1,2) 比較，顯示不同栽培方法成分上之基本差異。

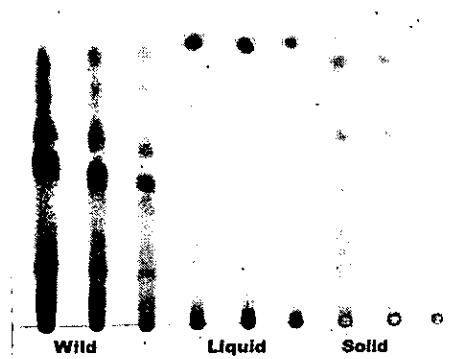


圖 1 三種標本之 TLC 圖譜

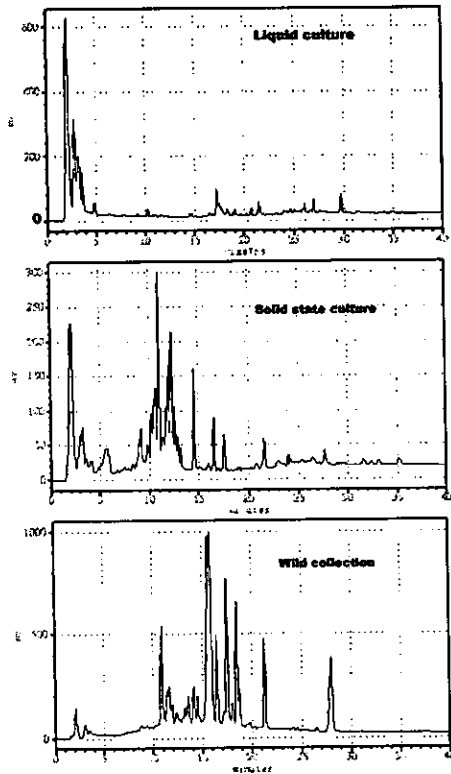


圖 2、液態培養樟芝(上)人工固體栽培樟芝(中)及天然樟芝(下)HPLC 圖譜之比較。

(3) 本研究室亦以甲醇萃取物 LC/MS 之 m/z 圖譜比較顯示其間金有微小之差異性,且其大部分分子量之分布範圍落在 391-663 之間相當符合三萜類及其衍生物之性質(圖 3)。

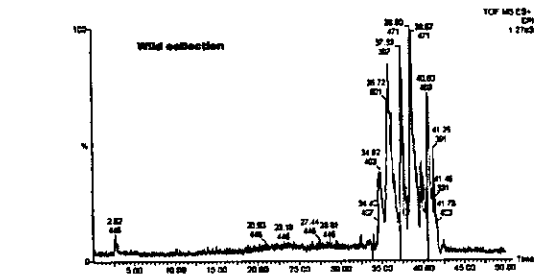
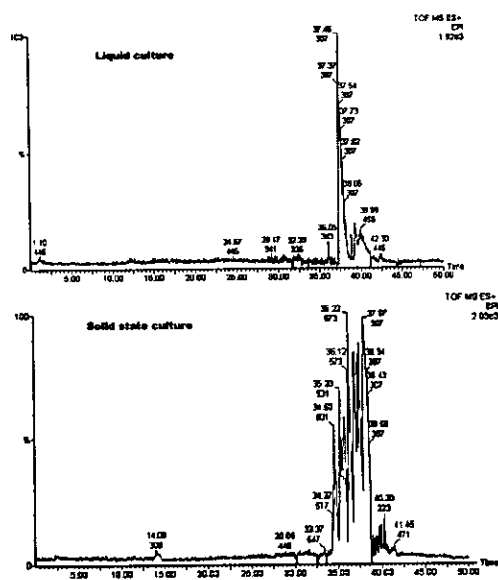


圖 3 液態培養樟芝(上)人工固體栽培樟芝(中)及野生樟芝(下) LC/MS 圖譜之比較。

四. 文獻參考

1. Wu, S. H., L. Ryvardeen, and T. T. Chang. 1997. *Antrodia camphorata* ("neu-chang-chih"), new combination of a medicinal fungus in Taiwan. Bot. Bull. Acad. Sin. 38:273-275.
2. 陳啟楨、蘇慶華、藍明煌。2001。樟芝固態栽培及其生物活性之研究。Fung.Sci.16 (1,2) : 65-72。
3. 戚穆、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。
4. Chang, T. T. and W. N. Chou. 1995. *Antrodia cinnemomea* sp.nov.on *Cinnamomum kanehirai* in Taiwan. Mycol. Research 99:756-758.
5. 楊書威。1991。中華樟菇活性成分之研究。國立台灣大學藥學研究所碩士論文。Yang S. W. Shen Y.S.Chen C. H. 1996 Steroids and triterpenoids of *Antrodia camphorata* fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum*. Phytochemistry .41:1389-1392.
6. 高曉薇。1992。台灣靈芝屬新種樟芝之三萜類成分研究。台北醫學院天然物醫學研究所碩士論文。
7. 程一華。1994。樟芝之成分研究。國立師範大學化學研究所碩士論文。
8. Chiang H.C., Wu. D.P.,Cherng I.W, Ueng

- C. H. 1995A sesquiterpene lactone, phenyl and biphenyl from *Antrodia camphorata*. *Phytochemistry* 39:613-616.
9. 吳德鵬。1995。樟芝微量成分的研究。國立台灣師範大學化學研究所碩士論文。
10. 黃惟敏。2000。樟芝微量成分的研究。靜宜大學應用化學研究所碩士論文。
11. Hsiao G., Shen M.Y., Lin K.H., Lan M.H., Wu L.Y., Chou D.S., Lin C. H., Su, C. H., Sheu, J.R. 2003. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Antrodia camphorata* extract. *J. Agric. Food Chem.* 21;51:3302-3308
12. Hong C.L., Wei C.Y., Hsienh Y.L. Su C.H. Antimutagenic activity of the methanol extract from the fruiting body of *Antrodia camphorata* solid culture by free radical scavenging effect (Submitting)