

東海大學食品科學系碩士班

Master of Food Science

Tunghai University

食品科技組

Food Technology Section

菌種品系及咖啡基質對北蟲草固態發酵機能性成分之影響
**Effects of *Cordyceps militaris* strains and coffee substrates on
the functional components of *Cordyceps militaris* using
solid-state fermentation**

陳懋碩

Mao-Shuo Chen

指導教授：梁志弘 博士

Advisor : Chih-Hung Liang, Ph.D.

中華民國一百零八年一月

January, 2019

碩士論文指導教授推薦書

食品科學系碩士班食品科技組 陳懋碩 君所提之論文

菌種品系及咖啡基質對北蟲草固態發酵機能性成分之影響

Effects of *Cordyceps militaris* strains and coffee
substrates on the functional components of *Cordyceps*
militaris using solid-state fermentation

係由本人只到撰述，同意提付審查

此致

食品科學系系主任

符詠雲

指導教授

梁志弘

中華民國一零八年一月十一日

碩士論文考試委員審定書

食品科學系碩士班食品科技組 陳懋碩 君所提之論文

菌種品系及咖啡基質對北蟲草固態發酵機能性成分之影響

Effects of *Cordyceps militaris* strains and coffee
substrates on the functional components of *Cordyceps*
militaris using solid-state fermentation

經本委員會審定通過，特此證明。

論文口試委員會

委員：

梁志欣 大葉大學生物資源系教授

蔣嘔思 國立中興大學食品暨生物應用科技學系助理教授

王如邦 東海大學食品科學系助理教授

梁志弘 東海大學食品科學系副教授

指導教授：梁志弘

中華民國一零八年一月十一日

東海大學食品科學系碩士班

Master of Food Science

Tunghai University

食品科技組

Food Technology Section

菌種品系及咖啡基質對北蟲草固態發酵機能性成分之影響

Effects of *Cordyceps militaris* strains and coffee substrates

on the functional components of *Cordyceps militaris* using

solid-state fermentation

陳懋碩

Mao-Shuo Chen

指導教授：梁志弘 博士

Advisor : Chih-Hung Liang, Ph.D.

中華民國一百零八年一月

January, 2019

摘要

北蟲草 (*Cordyceps militaris*) 又名北冬蟲夏草，為蟲草屬真菌，是著名的藥用菇，研究指出北蟲草具有多種藥理作用，包括抗發炎、抗疲勞及抗氧化等生理活性，而這些活性主要來自其機能性成分，如：蟲草素、腺苷及蟲草酸等。咖啡豆 (coffee) 屬咖啡屬的植物果實，常見之咖啡豆為阿拉比卡豆 (*Coffea Arabica*) 跟羅布斯塔豆 (*Coffea Robusta*) 兩種，咖啡為世界上普及的飲料，具有提高專注力的效果及抗氧化能力，而這些作用來自於綠原酸和咖啡因等成分。本研究利用固態培養探討不同品系之北蟲草菌種品系 (漳州、昆明、江蘇及煙台)，將其接到四種不同咖啡豆基質：阿拉比卡豆、羅布斯塔豆、阿拉比卡豆混米 (1:1) 及羅布斯塔豆混米 (1:1) 上進行培養，每週取樣觀察並培養七週，經過萃取後再利用高效液相層析儀檢測樣品含有之蟲草素、腺苷、咖啡因、綠原酸成分含量。

研究結果顯示，在蟲草素及腺苷方面可發現，咖啡豆混米作為固態基質的蟲草素及腺苷遠比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之蟲草素及腺苷的生成，蟲草素以昆明阿拉比卡咖啡豆混米基質 (9.88 mg/g) 含量最多，腺苷以漳州阿拉比卡咖啡豆混米基質 (2.75 mg/g) 含量最多；在咖啡因方面可發現，因為白米不含咖啡因，故咖啡因含量會較單一咖啡豆基質來的少，在第七週時，單一咖啡豆基質剩餘的咖啡因含量較咖啡豆混米作為固態基質的來得多並以漳州阿拉比卡咖啡豆基質 (7.78 mg/g) 含量最多；在綠原酸方面，因為白米不含綠原酸，故綠原酸含量會較單一咖啡豆基質來的少，在第七週時，單一咖啡豆基質剩餘的綠原酸含量較咖啡豆混米作為固態基質的來得少並以昆明阿拉比卡咖啡豆混米基質 (4.56 mg/g) 含量最多。

綜上所述，可得最多蟲草素含量為昆明品系接種在阿拉比卡咖啡豆混米基質 (9.8 mg/g)；另漳州品系接種在阿拉比卡咖啡豆混米基質可得最高腺苷含量 (2.75 mg/g)；此外，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡豆裡的咖啡因與綠原酸會隨之消

耗；咖啡因以江蘇品系接種在羅布斯塔豆混米基質剩餘的量最少(0.32 mg/g)；綠原酸以江蘇品系接種在阿拉比卡豆混米基質剩餘的量最多(3.62 mg/g)。故要開發富含蟲草素之北蟲草咖啡相關產品，可選擇昆明品系接種在阿拉比卡咖啡混米基質；富含腺苷相關產品，則可選擇漳州品系接種在阿拉比卡咖啡豆混米基質；若要咖啡因量少之產品，則可選擇江蘇品系接種在羅布斯塔豆混米基質；另除含有蟲草素和腺苷外，綠原酸殘留量亦較多，則可選擇江蘇品系接種在阿拉比卡豆混米基質。

北蟲草咖啡豆既能夠含有蟲草素及腺苷機能性成分，亦能降低咖啡豆之咖啡因，有些北蟲草品系可保留較多之綠原酸含量；藉由上述之結果，可開發更多元化之保健產品。

關鍵字：北蟲草、咖啡、固態發酵、蟲草素、腺苷、咖啡因、綠原酸



Abstract

Cordyceps militaris, is a fungus of the genus *Cordyceps*. It is a famous medicinal mushroom. It has been pointed out that *Cordyceps militaris* has a variety of pharmacological effects, including anti-inflammatory, anti-fatigue and anti-oxidation activities, and these activities mainly come from its functional ingredients, such as: cordycepin, adenosine and cordycepic acid. Coffee beans are the fruit of the genus of coffee. The common coffee beans are *Coffea arabica* and *Coffea robusta*. Coffee is a popular drink in the world. It has the effect of improving concentration and antioxidant capacity. These effects come from chlorogenic acid and caffeine and other ingredients. This study used solid-state fermentation to explore different strains of *Cordyceps sinensis* (Chang Chou, Kun Ming, Chiang Su and Yen Tai) and inoculated them to four different coffee bean substrates; including Arabica bean, Robusta bean, Arabica bean with rice (1:1) and Robusta bean with rice (1:1). During 7 weeks of incubation, the content of cordycepin, adenosine, caffeine, and chlorogenic acid in the samples were analyzed by HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

The results showed that the content of cordycepin and adenosine were much higher in the mushroom raised in substrates containing coffee beans combined with rice than substrates of coffee-only. This indicates the rice is more suitable for the growth of *Cordyceps militaris* than coffee bean. The production of cordycepin and adenosine was the highest in the Kun Ming *Cordyceps militaris* with Arabica coffee bean and rice were used as substrates (9.88 mg/g). Additionally the adenosine was most abundant in the Chang Chou *Cordyceps militaris* strain with Arabica coffee bean and rice were used as substrates (2.75 mg/g). For the content of caffeine, For the content of caffeine, it was found that due to the low caffeine content in the rice substrate. *Cordyceps* cultivated in rice-only substrate also had low caffeine content.

Infact, the caffeine content remained in the *Cordyceps* after seven weeks of cultivation were strongly associated with the substrates used. Coffee containing substrate would lead to the higher caffeine content in the *Cordyceps*. Therefore concentration of caffeine was the highest in the Chang Chou *Cordyceps militaris* strain cultivation in

Arabica coffee bean (7.78 mg/g); in terms of chlorogenic acid, since the white rice do not contain chlorogenic acid, the chlorogenic acid content was less than that of the single coffee bean matrix. At the seventh week, the remaining chlorogenic acid content of the single coffee bean substrates was less than that of the coffee bean with rice as the solid substrates and the *Cordyceps militaris* (Kun Ming) Arabica coffee bean with rice substrate (4.56 mg/g) was the most abundant.

After sorting, the result of obtaining the highest amount of cordycepin was that the (Kun Ming)-fermented Arabica coffee bean with rice substrates: cordycepin (9.8 mg/g); in terms of adenosine content, (Chang Chou)-fermented Arabica coffee bean with rice substrates: adenosine (2.75 mg/g); the caffeine and chlorogenic acid in coffee beans were consumed by the growth of *Cordyceps militaris*. The amount of caffeine in (Chiang Su)-fermented Robusta coffee bean with rice substrates was the least (0.32 mg/ g); chlorogenic acid was (Chiang Su)-fermented Arabica coffee bean with rice substrates with the most amount (3.62 mg / g). Therefore, for the most content of cordycepin this research suggest using (Kun Ming)-fermented Arabica coffee bean with rice substrates, for adenosine this research suggest using (Chang Chou)-fermented Arabica coffee bean with rice substrates, for the least caffeine this research suggest using (Chiang Su)-fermented Robusta coffee bean with rice substrates, for the most content of chlorogenic acid this research suggest using (Chiang Su)-fermented Arabica coffee bean with rice substrates.

Cordyceps militaris fermented coffee beans can ferment the main functional components of *Cordyceps militaris*: cordycepin and adenosine, reduce the caffeine of coffee beans. Some *Cordyceps militaris* strains can retain more chlorogenic acid content. Thereby developing foods with more potential for health care.

Keywords : *Cordyceps militaris*, coffee, solid state fermentation, cordycepin, adenosine, caffeine, chlorogenic acid

目錄

摘要	I
目錄	V
表次	VII
圖次	IX
第一章 前言	1
第二章 文獻回顧	3
一、北蟲草	3
(一) 北蟲草之介紹	3
(二) 北蟲草之自然分布	3
(三) 北蟲草之機能性成分	3
(四) 北蟲草之生理活性	7
二、固態發酵之介紹	13
(一) 固態發酵定義	13
(二) 固態發酵之特點	13
(三) 固態發酵生物量之測量方法	17
三、咖啡豆	20
(一) 咖啡豆之介紹	20
(二) 咖啡豆之自然分布	20
(三) 咖啡豆之機能性成分	22
(四) 咖啡豆之生理活性	24
第三章 材料與方法	29
一、實驗儀器及藥品	29
(一) 實驗儀器	29
(二) 實驗材料	29
(三) 實驗藥品	29
二、實驗方法	30
(一) 菌株培養及液態菌種製備	30
(二) 固態發酵	30
(三) 北蟲草咖啡粉末製備	31
三、北蟲草咖啡之機能性成分分析	31
(一) 蟲草素 (刘俊飞 <i>et al.</i> , 2015)	31
(二) 腺苷	32
(三) 咖啡因的測定	32

(四) 綠原酸的測定	33
四、統計分析	33
第四章 結果與討論	34
一、漳州品系之北蟲草	34
二、昆明品系之北蟲草	48
三、江蘇品系之北蟲草	64
四、煙台品系之北蟲草	76
第五章 結論	96
第六章 文獻回顧	97



表次

附表一、北蟲草主要之機能性成分與其生理活性	4
附表二、北蟲草之生理活性	8
附表三、蟲草素對腫瘤生長的抑制作用	9
附表四、蟲草素對腫瘤遷移和轉移的抑制作用	10
附表五、固態發酵與液態發酵之比較	16
附表六、不同咖啡豆及加工前後的化學成分差異	25
表一、漳州北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆: 米=1:1)之蟲草素含量	37
表二、漳州北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆: 米=1:1)之腺苷含量	41
表三、漳州北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡 豆:米=1:1)之咖啡因含量	45
表四、漳州北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡 豆:米=1:1)之綠原酸含量	49
表五、昆明北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆: 米=1:1)之蟲草素含量	52
表六、昆明北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡 豆:米=1:1)之腺苷含量	56
表七、昆明北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡 豆:米=1:1)之咖啡因含量	60
表八、昆明北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡 豆:米=1:1)之綠原酸含量	63
表九、江蘇北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆: 米=1:1)之蟲草素含量	67
表十、江蘇北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡 豆:米=1:1)之腺苷含量	71
表十一、江蘇北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖 啡豆:米=1:1)之咖啡因含量	75
表十二、江蘇北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖 啡豆:米=1:1)之綠原酸含量	79
表十三、煙台北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡 豆:米=1:1)之蟲草素含量	83
表十四、煙台北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡 豆:米=1:1)之腺苷含量	87
表十五、煙台北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖	

啡豆:米=1:1)之咖啡因含量	90
表 十六、煙台北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖 啡豆:米=1:1)之綠原酸含量	94



圖次

附圖一、北蟲草主要機能性成分之結構.....	6
附圖二、固態發酵系統之示意圖.....	14
附圖三、咖啡豆構造.....	21
附圖四、咖啡豆主要機能性成分之結構.....	23
圖一、漳州北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之蟲草素含量.....	35
圖二、漳州北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之蟲草素含量.....	36
圖三、漳州北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之腺苷含量).....	39
圖四、漳州北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之腺苷含量.....	40
圖五、漳州北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之咖啡因含量.....	43
圖六、漳州北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之咖啡因含量.....	44
圖七、漳州北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之綠原酸含量.....	46
圖八、漳州北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之綠原酸含量.....	47
圖九、昆明北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之蟲草素含量.....	50
圖十、昆明北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之蟲草素含量.....	51
圖十一、昆明北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之腺苷含量.....	54
圖十二、昆明北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之腺苷含量.....	55
圖十三、昆明北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之咖啡因含量.....	58
圖十四、昆明北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之咖啡因含量.....	59
圖十五、昆明北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之綠原酸含量.....	61
圖十六、昆明北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:	

米=1:1)之綠原酸含量	62
圖十七、江蘇北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡: 卡:=1:1)之蟲草素含量	65
圖十八、江蘇北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔: 米=1:1)之蟲草素含量	66
圖十九、江蘇北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡: 米=1:1)之腺苷含量	69
圖二十、江蘇北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔: 米=1:1)之腺苷含量	70
圖二十一、江蘇北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡: 米=1:1)之咖啡因含量	73
圖二十二、江蘇北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔: 米=1:1)之咖啡因含量	74
圖二十三、江蘇北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡: 米=1:1)之綠原酸含量	77
圖二十四、江蘇北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔: 米=1:1)之綠原酸含量	78
圖二十五、煙台北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡: 米=1:1)之蟲草素含量	81
圖二十六、煙台北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔: 米=1:1)之蟲草素含量	82
圖二十七、煙台北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡: 米=1:1)之腺苷含量	84
圖二十八、煙台北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔: 米=1:1)之腺苷含量	85
圖二十九、煙台北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡: 米=1:1)之咖啡因含量	88
圖三十、煙台北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔: 米=1:1)之咖啡因含量	89
圖三十一、煙台北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡: 米=1:1)之綠原酸含量	92
圖三十二、煙台北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔: 米=1:1)之綠原酸含量	93

第一章 前言

北蟲草是一種寄生於昆蟲的真菌，目前已可人工栽培且廣泛被使用作為保健食品，亦可用於預防和治療各種疾病(Das *et al.*, 2010)。北蟲草包含多種機能性成分，如蟲草素 (cordycepin)和腺苷 (adenosine)，具有多種生理活性。蟲草素具抗疲勞(Zhong *et al.*, 2017)、抗發炎(Yoon *et al.*, 2015)、抗氧化(Chen *et al.*, 2013)、調節免疫作用(Wang *et al.*, 2013)等生理活性；另腺苷具有抗發炎(Caiazza *et al.*, 2016)、抗癌(Tsuchiya *et al.*, 2014)等生理活性。

北蟲草的機能性成分及保健功效與冬蟲夏草極為相似，且可進行人工大量栽培；人工栽培之北蟲草，不僅可解決冬蟲夏草資源日益缺乏的窘境，且其價格遠低於冬蟲夏草；故目前漸漸以人工栽培北蟲草取代冬蟲夏草。此外，北蟲草相關產品的開發應用，亦具有極大的潛力。

固態發酵 (Solid-state fermentation; SSF)意指微生物於沒有流動液體的固體基質，加入適當的水分或營養源進行培養，發酵生產各種有用物質或發酵品的過程 (Mitchell *et al.*, 2011)。固態發酵具有開發生物二次代謝產物之潛力，故許多生物技術產業，包括飼料、燃料、食品、工業化學品及醫藥產品等，皆將其做為液態深層發酵之替代方法(Pandey, 2003)。以固態發酵製備的北蟲草紫米，具有不易形成體脂肪的特性(陳容蓉, 2015)；以固態發酵製備的北蟲草綠豆，可以提升綠豆的總酚含量與抗氧化力，進而促進DNA修復(Xiao *et al.*, 2015)；以猴頭菇發酵之糙米可增加呈味特性及抗氧化能力(涂庭璋, 2016)；利用農業廢棄物進行發酵生產廉價的蛋白酶(Novelli *et al.*, 2016)，利用少孢根黴來發酵咖啡豆並增加其風味物質(Lee *et al.*, 2016)。

咖啡是世界三大飲料作物之一，目前作為商業咖啡品種主要有阿拉比卡 (*Coffea arabica*)和羅布斯塔 (*Coffea robusta*)(Garrett *et al.*, 2016)。研究指出適量攝取咖啡對身體是有益處，包括抗發炎(Shushtari *et al.*, 2016)、抗憂鬱(Szopa *et al.*, 2016)、增強骨骼肌力和強化運動表現(Tallis *et al.*, 2015)、對神經、肌肉和心血管系統產生興奮作用(Cláudio *et al.*, 2013)等。

近年來國民保健觀念提升，加上高齡人口比例逐年攀升，台灣保健食品已由早期具有經濟能力者購買的奢侈品，轉變為一般大眾生活的必需品，且有逐年增加的趨勢。有鑒於咖啡的消費量逐年增加，若能利用咖啡作為培養基賦予北蟲草機能性元素，即是以咖啡取代部分米做為培養基質，進行北蟲草固態發酵培養，所得之北蟲草咖啡將同時具有咖啡與北蟲草的機能性成分(蟲草素和腺苷)。因此，本研究擬將不同品系之北蟲草菌株接種入咖啡豆與米的培養基，進行固態發酵培養，探討不同培養期間咖啡因、綠原酸和機能性成分(蟲草素和腺苷)含量之變化。期盼能找出最佳之菌種品系和固態基質組合，培養具有養生功能的北蟲草咖啡產品。

本論文探討重點如下：

1. 將不同品系之北蟲草菌株接種入咖啡豆與米的培養基，進行固態發酵培養。
2. 探討不同培養期間咖啡因、綠原酸、蟲草素和腺苷含量之變化。



第二章 文獻回顧

一、北蟲草

(一) 北蟲草之介紹

北蟲草 (*Cordyceps militaris*)又名北冬蟲夏草、北冬蟲草或蛹蟲草，其分類屬真菌界 (Fungi)、子囊菌門 (Ascomycota)、子囊菌亞門 (Ascomycotina)、核菌綱 (Ascomycotina)、肉座菌目 (Pyrenomycetes)、蟲草科 (Clavicipitaceae)、蟲草屬 (*Cordyceps*)之真菌(Das *et al.*,2010)。

北蟲草為著名之食用藥用真菌，為昆蟲之病原性真菌，通常寄生於鱗翅目昆蟲的蛹或幼蟲(Cui, 2015)。北蟲草的生長週期主要包括兩個階段，一為不需要光之菌絲生長階段，另一為需要光之子實體發育階段(Yi *et al.*, 2014)。光是影響北蟲草子實體生長之最重要環境因素(Sato & Shimazu, 2002)，在光線照射下，北蟲草菌絲的顏色會由白色轉變為黃或橘黃色，原基亦會開始形成(Yang & Dong, 2014)。北蟲草包含多種機能性成分，如蟲草素、麥角固醇、蟲草酸和多醣等(Das *et al.*, 2010; Gu *et al.*, 2007; Reis *et al.*, 2013)；研究發現北蟲草子實體相較於冬蟲夏草，在蟲草多醣、總胺基酸、腺苷、蟲草素、蟲草酸、鋅和鐵皆有較高的含量 (Dong *et al.*, 2012)。目前因野生冬蟲夏草資源有限，故越來越多研究者使用北蟲草子實體作為冬蟲夏草之替代品(Dong *et al.*, 2013)。

(二) 北蟲草之自然分布

北蟲草分布於寒、溫、熱及亞熱帶地區(曾等人，2011)，主要分布於在東亞國家如中國、日本及韓國；中國主要分布於高海拔的西藏、新疆、四川及東北地區(Cui, 2015)。

(三) 北蟲草之機能性成分

北蟲草主要機能性成分包括腺苷(Huang *et al.*, 2004)、蟲草素(Ni *et al.*, 2009)、多醣(Lee *et al.*, 2009)、蟲草酸(Bereczki *et al.*, 2007)、類胡蘿蔔素(Dong *et al.*, 2013)等，其各別機能性成分所具之生理活性，整理如附表一並分述如下：

附表一、北蟲草主要之機能性成分與其生理活性

Referred table 1. Bioactive components of *C. militaris* and their physiological activity

機能性成分	生理活性	參考文獻
腺苷	抗發炎 抗癌 調節腦部缺血之損傷 抗血管生成 抗憂鬱 調整睡眠 預防癲癇發作 調控血管擴張與刺激末梢神經	Caiazza <i>et al.</i> , (2016) Tsuchiya & Nishizaki, (2014) Gomes <i>et al.</i> (2011) Yoo <i>et al.</i> , (2004) Carlezon <i>et al.</i> (2005) Basheer <i>et al.</i> (2004) Vinade <i>et al.</i> (2003) Tabrizchi and Bedi. (2001)
蟲草素	抗腫瘤 抗疲勞 抑制急性肺損傷 抗血栓作用 抗發炎 抑制血小板凝集 改善酒精性肝毒 降血脂 抗菌 殺蟲	Tian <i>et al.</i> (2015) Zhong <i>et al.</i> (2017) Lei <i>et al.</i> (2017) Kwon <i>et al.</i> (2016) Yoon <i>et al.</i> (2015) Tuli <i>et al.</i> (2013) Cha <i>et al.</i> (2013) Guo <i>et al.</i> (2010) Ahn <i>et al.</i> (2000) Kim <i>et al.</i> (2002)
蟲草酸	治療急性中風 利尿、止咳及清除自由基 抗顱內壓上升及預防腎臟衰竭	Berezki <i>et al.</i> (2007) Li <i>et al.</i> (2006) Shawkat <i>et al.</i> (2012)
多醣	免疫調節與抗氧化能力 調節免疫作用 抗腫瘤 降血脂和保肝作用 抗老化	Liu <i>et al.</i> (2016) Wang <i>et al.</i> (2013) Liu <i>et al.</i> (2017) Wang <i>et al.</i> (2015) Li <i>et al.</i> (2010)
類胡蘿蔔素	抗癌 抗氧化 提升視力	Sharoni <i>et al.</i> (2012) Raga <i>et al.</i> (2010) Ma and Lin. (2010) Feldman <i>et al.</i> (2010)

1. 腺苷 (Adenosine)

腺苷結構主要是由核糖及部分腺苷嘌呤經 β -N₉-糖苷鍵鍵結而成(附圖一(1))，其為穩定中樞神經系統及體內平衡之重要調節劑。腺苷具有多種生理活性，如抗發炎(Caiazzo *et al.*, 2016)、抗癌(Tsuchiya *et al.*, 2014)、抑制 HIV-1 病毒(Jiang *et al.*, 2011)、穩定中樞神經(Gomes *et al.*, 2011)、調節腦部缺血之損傷(Gomes *et al.*, 2011)、抗新血管生成(Yoo *et al.*, 2004)、抗憂鬱(Carlezon *et al.*, 2005)、調整睡眠(Basheer *et al.*, 2004)、治療慢性心臟衰竭(Kitakaze & Hori, 2000)、預防癲癇發作(Vinade *et al.*, 2003)及調控血管擴張與刺激末梢神經(Tabrizchi & Bedi, 2001)等功效。

2. 蟲草素 (Cordycepin)

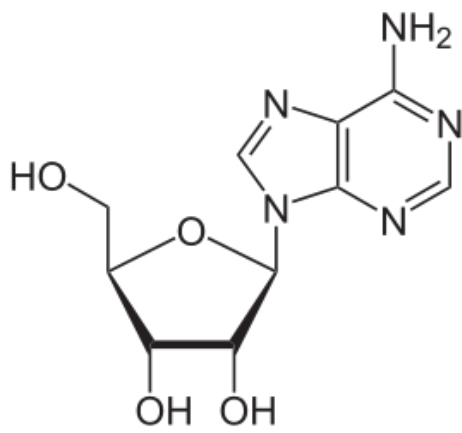
蟲草素之結構為去 3'-去氧腺苷(3'-deoxyadenosine) (附圖一(2))，結構與腺苷相似，為核苷之類似物(Ling *et al.*, 2009)。蟲草素具抗腫瘤(Tian *et al.*, 2015)、抗疲勞(Zhong *et al.*, 2017)、抑制急性肺損傷(Lei *et al.*, 2018)、抗血栓作用(Kwon *et al.*, 2016)、抗發炎(Yoon *et al.*, 2015)、抑制血小板凝集(Cho *et al.*, 2007)、改善酒精性肝毒(Cha *et al.*, 2013)、降血脂(Guo *et al.*, 2010)、殺蟲(Kim *et al.*, 2006)及抗菌(Ahn *et al.*, 2000)等生理活性。

3. 蟲草酸 (Cordycepic acid)

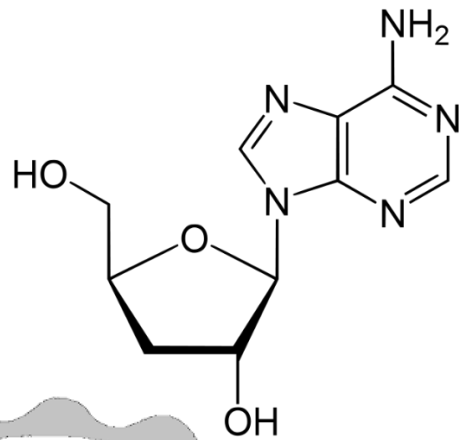
蟲草酸又名甘露糖醇(Mannitol)，為一種多元醇(附圖一(3))，研究指出其具有治療急性中風(Bereczki *et al.*, 2007)、利尿、止咳及清除自由基之活性(Yang & Tsim, 2006)及防止腎臟衰竭(Shawkat *et al.*, 2012)等生理活性。

4. 多醣 (Polysaccharide)

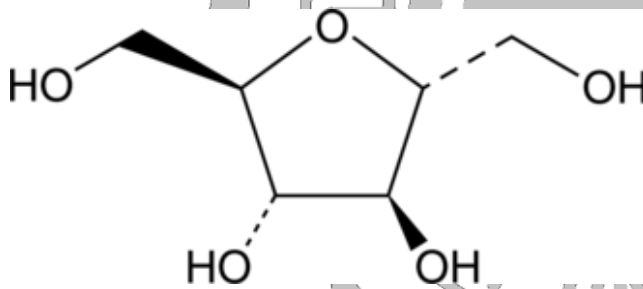
北蟲草多醣之結構為 β -1,4-支鏈- β -1,6-葡萄糖半乳糖甘露聚糖(β -1,4-branched- β -1,6-galactoglucomannan) (Lee *et al.*, 2009)，具有免疫調節與抗氧化能力(Liu *et al.*, 2016)、抗氧化(Chen *et al.*, 2013)、調節免疫作用(Wang *et al.*, 2013)、抗腫瘤(Liu *et al.*, 2017)、降血脂和保肝作用(Wang *et al.*, 2015)及抗老化(Li *et al.*, 2010)、等生理活性。



(1) Adenosine



(2) Cordycepin



(3) Cordycepic acid

(Ling *et al.*, 2009)

附圖一、北蟲草主要機能性成分之結構

Referred figure 1. Chemical structures of bioactive constituents in *C. militaris*

5. 類胡蘿蔔素 (Carotenoid)

類胡蘿蔔素是北蟲草子實體之重要活性成分，具有抗癌(Sharoni *et al.*, 2012)、抗氧化(Ranga Rao *et al.*, 2010)及提升視力(Ma & Lin, 2010) (Feldmann *et al.*, 2010)等生理活性。

(四) 北蟲草之生理活性

北蟲草具有多種生理活性，將其整理如附表二，另擇取部分重要之生理活性分述如下：

1. 抗發炎

研究指出北蟲草接種在發芽大豆上，其熱水萃取物在葡萄聚糖硫酸銨 (dextran sodium sulfate, DSS) 誘發急性結腸炎之實驗中，發現可藉由調控下游基因 iNOS 及 TNF- α mRNA 表現量而達到抗發炎效果(Han *et al.*, 2011)。另有研究發現從北蟲草之固態培養物萃取出十種純化合物，可抑制人類結腸癌細胞 Colo205、前列腺癌細胞 PC-3 及肝癌細胞 Hep G2 之發炎因子，顯示北蟲草具有抗發炎活性(Rao *et al.*, 2010)。

2. 抗氧化

研究顯示北蟲草之菌絲體 SU5-08 胞外多糖具抗氧化活性，可增強適應性免疫反應(Lin *et al.*, 2012)；另北蟲草子實體之甲醇萃取物具有抑制脂質過氧化、增進還原能力及清除自由基之效果(Reis *et al.*, 2013)。

3. 抗腫瘤

文獻指出將北蟲草接種於發芽大豆上，其丁醇萃取物對結腸癌細胞具有抗增生作用(Mollah *et al.*, 2012)；另有研究顯示北蟲草之多醣可抑制 Hela 子宮頸癌細胞與 Hep G2 人類肝癌細胞生長(Yang *et al.*, 2014)；此外，北蟲草之多醣萃取物可抑制人類肝癌細胞(SMMC-7721)、胃癌細胞(BGC-823)和乳癌細胞(MCF-7)生長，達到阻止癌細胞增值並誘導細胞凋亡(Chen *et al.*, 2015)。此外，Jin 等人(2018) 將蟲草素針對各種腫瘤細胞生長之抑制作用及其機制整理於附表三，另亦針對蟲草素對腫瘤細胞遷移和轉移之抑制作用及其機制整理於附表四。

附表二、北蟲草之生理活性

Referred table 2. Biological activities of *C. militaris*.

生理活性	參考文獻	生理活性	參考文獻
治療不孕	Yu <i>et al.</i> (2007) Lin <i>et al.</i> (2007)	殺蟲	Mao & Zhong (2006) Kim <i>et al.</i> (2002)
抗發炎	Han <i>et al.</i> (2011) Rao <i>et al.</i> (2010)	抗纖維化 合成類固醇	Nan <i>et al.</i> (2001) Shih <i>et al.</i> (2007)
抗氧化	Lin <i>et al.</i> (2012)		Yu <i>et al.</i> (2007)
抗腫瘤/抗癌	Chen <i>et al.</i> (2015) Yang <i>et al.</i> (2014) Mollah <i>et al.</i> (2012)	降血脂 抗血管增生	Wang <i>et al.</i> (2015) Gao <i>et al.</i> (2011) Yoo <i>et al.</i> (2004)
抗白血病	John & Aamson (1976) Muller <i>et al.</i> (1997) Kodam <i>et al.</i> (2000) Penman <i>et al.</i> (1970)	抗糖尿病 抗愛滋病 抗瘧疾 抗疲勞	Choi <i>et al.</i> (2004) Mueller <i>et al.</i> (2004) Sugar & McCaffey (1998) Jung <i>et al.</i> (2004)
抗增生	Liu <i>et al.</i> (1997)		Mizuno (1999)
抗腫瘤轉移	Liu <i>et al.</i> (1997) Shih <i>et al.</i> (2007)	保護神經 保肝	Rieizo (1995) Lej <i>et al.</i> (2018)
調節免疫	Liu <i>et al.</i> (2016) Xiong <i>et al.</i> (2013) Shin <i>et al.</i> (2010)	益腎	Dong <i>et al.</i> (2014) Yu <i>et al.</i> (2007) Wu <i>et al.</i> (2000)
抑菌	Wang <i>et al.</i> (2016) 秦等人 (2008)	潤肺 抗過敏性皮膚炎	Yu <i>et al.</i> (2007) Park, (2015)
抗黴菌	Mao & Zhong (2006)	治療阿茲海默	Tsai <i>et al.</i> (2015)
抗病毒	Lin & Chiang (2008) Ortiz <i>et al.</i> (1999) Mueller <i>et al.</i> (1991) Mao & Zhong (2006)	抗血栓 延長壽命	Liu <i>et al.</i> (2017) Takakura <i>et al.</i> (2017)

附表三、蟲草素對腫瘤生長的抑制作用

Referred Table 3. Inhibition roles of Cordycepin on tumor growth

腫瘤類型(細胞系)	抗腫瘤機制	參考資料
人類胃癌 (SGC-7901)	誘導癌細胞凋亡	Nasser <i>et al.</i> (2017)
人類非小細胞肺癌	誘導細胞凋亡/自噬作用	Yu <i>et al.</i> (2017)
人類肝癌 (HepG2)	誘導癌細胞凋亡	Shao <i>et al.</i> (2016)
人腎癌細胞 (TK-10)	誘導癌細胞凋亡	Hwang <i>et al.</i> (2017)
人類子宮頸癌細胞 (ME180 和 HeLa 細胞)	誘導 G2 / M 阻滯	Seong <i>et al.</i> (2016)
人類白血病細胞 (NB-4 和 U937 細胞)	誘導癌細胞凋亡週期性停滯	Liao <i>et al.</i> (2015)
人膀胱癌 (T-24)	誘導癌細胞凋亡	Cao <i>et al.</i> (2017)
人膀胱癌細胞 (5637 和 T-24 細胞)	G2 / M 細胞週期停滯	Lee <i>et al.</i> (2009)
人乳腺癌細胞 (MCF-7 和 MDA-MB-231)	誘導癌細胞凋亡	Wang <i>et al.</i> (2016)
鼠口腔癌細胞 (4NAOC-1)	誘導細胞凋亡 減少細胞有絲分裂	Hsu <i>et al.</i> (2017)
鼠睪丸間質腫瘤細胞 (MA-10)	誘導癌細胞凋亡	Hsu <i>et al.</i> (2017)
(Jin <i>et al.</i> , 2018)		

附表四、蟲草素對腫瘤遷移和轉移的抑制作用

Referred table 4. Inhibition roles of Cordycepin on tumor migration and metastasis

腫瘤類型(細胞系)	抗腫瘤機制	參考資料
人類口腔鱗狀細胞	細胞抑制上皮-間質轉化	Su <i>et al.</i> (2017)
人類肝癌細胞 (HepG2)	抗轉移和抗血管生成	Lu <i>et al.</i> (2014)
人膠質母細胞瘤細胞 (U87MG 和 LN229)	抑制腫瘤細胞運動	Hueng <i>et al.</i> (2017)
人類前列腺癌 (LNCaP)	抑制腫瘤的遷移和侵襲	Jeong <i>et al.</i> (2012)
人類黑色素瘤 (Jin <i>et al.</i> , 2018)	抑制侵襲和轉移	Zhang <i>et al.</i> (2015)



4. 降血脂

研究指出誘導高血脂症之倉鼠及大鼠，以蟲草素 12.5、25 及 50 mg/kg BW 劑量餵食後，可降低總膽固醇(TC)、三酸甘油脂(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)與極低密度脂蛋白(VLDL-C)之含量，顯示蟲草素具降血脂作用(Gao *et al.*, 2011)。另研究發現北蟲草(SU-12)的多醣，可降低小鼠血液和肝臟的脂質含量，減輕肝損傷並改善丙胺酸轉氨酶 (Alanine transaminase,ALT)含量，顯示北蟲草多醣可作為抗高血脂症和保肝產品(Wang *et al.*, 2015)。

5. 保護腎損傷

研究發現北蟲草菌絲體乙醇萃取物(EECM)可降低藉由氫化皮質醇誘導腎損傷之高齡小鼠腎臟之血尿素氮(BUN)和血清肌酸酐(SCr)含量；另可提高血清促腎上腺皮質激素(ACTH)和皮質醇(Cor)含量；減輕氫化皮質醇引起的腎臟組織病理傷害，顯示其對小鼠腎損傷具有保護作用(施等人，2009)。另有研究發現以鏈脲佐菌素誘導 II 型糖尿病大鼠，當餵食北蟲草水萃取物和酒精萃取物後，血糖含量會下降，另血清中之總膽固醇和三酸甘油脂含量也會降低；北蟲草萃取物可降低血尿素氮、肌酸酐、尿酸和蛋白質，以保護腎損傷(Dong *et al.*, 2014)。

6. 調節免疫功能

研究指出在樹突細胞中加入北蟲草子實體之水萃物，可增加 I、II 類主要組織相容性複合體(major histocompatibility complex, MHC)之表現量，但並不會影響外源性白蛋白(Ovalbumin)的吞噬活性(Shin *et al.*, 2010)。另有研究發現北蟲草之蟲草素，可抑制刀豆蛋白(Concanavalin A, ConA)誘發脾細胞增殖及 TH1、TH2 路徑細胞激素之產生，推測蟲草素具有調控免疫系統之作用(Xiong *et al.*, 2013)。此外，研究發現小鼠餵食北蟲草多醣後，可提高小鼠血清中脾臟和胸腺指數、脾淋巴細胞活性、白細胞總量和 IgG 功能(Liu *et al.*, 2016)。

7. 保肝作用

研究指出北蟲草液態培養之胞外聚合物，對於肝纖維化大鼠具有抗肝纖維化作用(Nan *et al.*, 2001)。另研究指出當蟲草素或干擾素 α (interferon- α)與瑞比達(ribavirin)藥物合併使用，可抑制 C 型肝炎病毒(hepatitis C virus)，進而預防肝

硬化及肝癌之發生率(Ueda *et al.*, 2014)。此外，研究發現以雷公藤內酯誘導大鼠急性肝損傷，當餵食富含硒的北蟲草後，可抑制這些病理損傷(Wang *et al.*, 2018)。

8. 降血糖

研究指出以 STZ 誘發大鼠產生糖尿病，餵食北蟲草米後，可降低大鼠之血糖、膽固醇及增加抗氧化之活性(Park *et al.*, 2011)。另有研究指出北蟲草菌絲體之乙純萃取物，可增加葡萄糖代謝與而達到降血糖之作用(Dong *et al.*, 2014)。

9. 抑菌作用

研究發現北蟲草萃取物對金黄色葡萄球菌、鏈球菌、單胞桿菌具有抗菌活性，且與其濃度呈線性關係，這可能與萃取液的蟲草素有關(李等人，2008)。另研究指出北蟲草乙酸乙酯和正丁醇萃取物，對金黄色葡萄球菌、芽孢桿菌及黃麴菌有抑菌效果，其效果會隨萃取物濃度增大而增強(秦等人，2008)。此外，利用北蟲草菌絲培養液來合成銀奈米顆粒(AgNPs)，發現其對水生動物和臨床致病菌，具有優異的抗菌活性(Wang *et al.*, 2016)。

10. 抗血栓

研究發現北蟲草液態培養液經分離純化後，可得到一種新型纖維蛋白分解酶，不僅可作為類纖維溶酶蛋白(plasmin-like protein)，亦可作為纖維蛋白溶酶原激活劑(plasminogen activator)，可有效地水解三種纖維蛋白原鏈(α 、 β 和 γ)，防止血管內血栓形成(Liu *et al.*, 2017)。

11. 防止急性肺損傷

研究發現利用脂多醣體(LPS)誘導小鼠急性肺損傷(ALI)，會增加小鼠肺之濕/乾(W/D)比率、髓過氧化物酶(Myeloperoxidase)活性、丙二醛(Malondialdehyde)含量和發炎因子TNF- α 與IL-1 β 含量；經蟲草素餵食後，可改善這些現象，顯示蟲草素可抑制發炎反應和氧化壓力，有效地減輕LPS誘導小鼠急性肺損傷(Lei *et al.*, 2018)。

12. 延長壽命

研究指出達爾鹽敏感性(Dahl salt-sensitive)大鼠餵食北蟲草後，利用顯微鏡觀

察其中樞神經元、心肌細胞、腎小球細胞、腎小管上皮細胞和肝細胞，發現壽命剩三個月的大鼠，情況獲得改善且可延長其壽命(Takakura *et al.*, 2017)。

13. 增強學習能力

抑制乙醯膽鹼酯酶(AChE)可增強學習和認知能力，從北蟲草可分離多醣-肽複合物(CPSP-f1、CPSP-f2、CPSP-f3)，其中 CPSP-f1、CPSP-f2 對乙醯膽鹼酯酶的 50%抑制濃度(IC₅₀)分別為 32.2 ± 0.2 和 5.3 ± 0.0 mg/mL，顯示北蟲草分離出來的多醣-肽複合物，具有抑制乙醯膽鹼酯酶潛力(Tsai *et al.*, 2015)。

14. 抗過敏性接觸性皮膚炎

培養在發芽大豆上的北蟲草，其萃取物具有緩解過敏性接觸性皮膚炎的效果；以 2,4-二硝基苯基氟苯誘導 C57BL/6 小鼠過敏性接觸性皮膚炎，口服北蟲草萃取物後，可減少 CD4⁺和 CD8⁺ T 細胞及肥大細胞進入受損皮膚內，顯示北蟲具有治療過敏性接觸性皮膚炎的潛力(Park, 2015)。

二、固態發酵之介紹

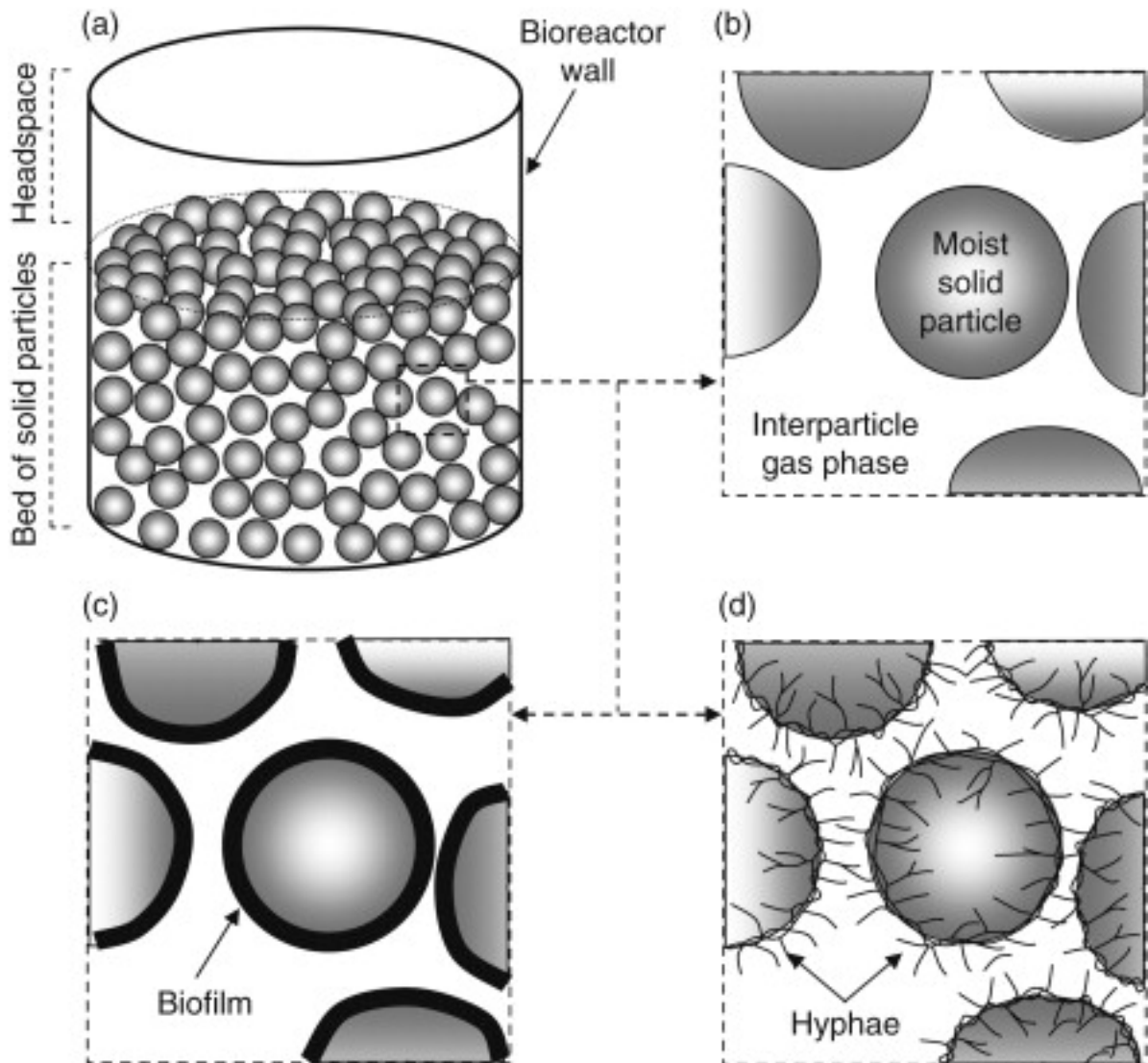
(一) 固態發酵定義

固態發酵係指微生物生長於無流動液體之固態基質，加入足夠之水分或營養源，利用微生物進行發酵各種有用物質或發酵品之過程。此外，固態基質可提供微生物生長所需的碳源及做為微生物附著支撐之物質。固態發酵系統之示意圖如附圖二 (Mitchell *et al.*, 2011)，固態基質可使其不斷生長的微生物附著之，而固態顆粒間之空隙利於空氣進入有利於菌絲生長。

(二) 固態發酵之特點

可在低水活性下進行培養為固態發酵最大之特點，綜合多位學者觀點將固態發酵優點整理如下(Durand, 2003; Nigam & Pandey, 2009; Pandey, 2003; Sato & Sudo, 1999)：

1. 不易受汙染：因固態培養水分含量低，故微生物會因低水活性而不易生長，進而降低汙染。



附圖二、固態發酵系統之示意圖

Referred figure 2. The phase within a solid-state fermentation system.

2. 發酵槽及設備緊密度高：由於固態發酵水分含量較液態發酵少，故固態發酵之充填量會比液態發酵來的多。
3. 成本低：只需少量溶劑即可萃取固態發酵中所需之產物，因此可以減少成本花費。
4. 空氣傳遞良好：因固態基質表面積較大，故可增加通氣，有助於微生物之利用並可促進熱源、氧氣及二氧化碳的交互作用。
5. 廢棄物處理簡單：利用農業廢棄物作為原料，可提高這些廢棄物之經濟價值，解決農業廢棄物的處理問題，進而降低環境污染。
6. 培養基取得便利：固態發酵所選用的培養基多為便宜的天然基質或是工業生產後的廢棄物或副產物。

固態發酵雖具有多項優點，但仍有多位學者指出尚有些缺點待克服，分述如下(Pandey, 2003 ; Sato and Sudo, 1999 ; 廖，2002)：

1. 固態基質攪拌不均勻：使得基質內微生物、養分、溫度及水含量分布不均，導致基質床生理、物理、化學環境之異質性，不易控制其生長。
2. 控溫困難：因固態基質之熱傳導性較差，另微生物呼吸或代謝所產生的熱，造成溫度控制不易，而強制通氣是控制培養溫度之唯一方法
3. 生物質含量不易測量：由於基質與菌絲不易分離，目前尚無方便之感測器可供研究者直接測量菌體含量。
4. 培養菌種受限：因基質水含量較少，所以微生物之生長會受限制；目前以黴菌或真菌菌絲最為適合，細菌則不適合生長。
5. 不易自動化：一般在固態發酵中微生物生長與產物生成之控制，溫度是唯一控制因子，缺乏較彈性方法作為微生物發酵好壞之判斷，造成在執行連續操作與自動化上有困難。
6. 影響變數大：由於影響固態發酵高產率之因子仍是未知數，所以其培養策略完全是仰仗過往經驗。

固態發酵與液態發酵各有優缺點，其詳細比較如附表五(Chen, 2013)；固態

附表五、固態發酵與液態發酵之比較

Referred table 5. Detailed comparison of solid-state fermentation with liquid fermentation

固態發酵	液態發酵
不含自由水，基質含水量低。	水是基質主要成分。
微生物從濕的固態基質中攝取養分。	微生物從液態基質中攝取養分。
發酵系統含有三相(固相、液相、氣相)，其中氣相為連續相。	發酵系統為液相，以液相為連續相。
接種量大，超過 10%。	接種量小，低於 10%。
所需要的氧氣來自氣相。	所需要的氧氣來自水相。
微生物吸收或滲透到固體基質中。	微生物均勻地分佈在液態基質中。
發酵結束時培養基是濕的固態，產物濃度高。	發酵結束時培養基是液體，產物濃度低。
生產率高，產品產量高。	生產率低，產品產量低。
混合困難且營養物擴散受到限制。	混合容易，營養物擴散沒限制。
去除代謝熱較困難。	溫度控制較容易。
發酵的過程無法監控與控制。	發酵的過程可以監控與控制。
萃取過程簡單，可控制少量有機廢水。	萃取過程複雜也有大量廢水。
產生少量有機廢水。	產生大量有機廢水。
低水活性。	高水活性。
能源消耗和設備投資較高。	能源消耗和設備投資較低。

(Chen, 2013)

發酵優於液態發酵之處，主要包括供氧量較充足、較低的有機廢水產生、附加價值較高及產率較高。

(三) 固態發酵生物量之測量方法

生物量(Biomass)係指微生物之生長狀況，固態發酵之最終產物可分為生物量及代謝產物兩類，而生物量之測量為判別微生物生長狀況最直接的方式，而代謝產物之產量與生物量通常有著特定比例之關係。然而，在固態發酵中微生物與基質經常不易分離，特別是有些微生物之菌絲會生長在固態基質表面甚至穿透到基質內部，故很難直接測定其生物量。因此，路和趙(2000)將固態發酵中生物量之測定方法分為三類，分述如下：

1. 將菌體與固態基質直接分離

(1) 去除基質法

利用模擬固態發酵之模式，將酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 培養至半固態培養基(semisolid media)中，將其加熱至培養基溶化後，利用離心將基質分離並獲得酵母菌；再將其製成菌體懸浮液，利用分光光度計測量吸光值，推算出細胞濃度，便可得知菌體含量(Wei *et al.*, 1981)。

(2) 直接記數法

將培養完後之酵母菌菌絲與固態基質分離後，利用血球板記數器或平板記數法推算其菌絲數目，再經由菌絲之直徑與密度去推算其菌絲量。不過，因真菌會在固態基質表面形成密集之菌絲體甚至會滲入到基質內部生長，故造成菌絲與基質難以分離；另此方法需進行大量實驗，才可得到較準確之數據，故測量困難(Matcham *et al.*, 1984)。

2. 藉由檢測真菌代謝量推算其生物量

(1) 氧氣和二氧化碳的代謝

因微生物生長時會進行呼吸作用，消耗氧氣並釋放二氧化碳來產生能量，所以可利用氧氣消耗量及二氧化碳排放量，來推算出微生物之生長狀況。另微生物會將基質之碳水化合物，代謝轉為菌絲體及二氧化碳，在生長過程中因釋

放出二氧化碳，會造成基質重量減少，這也可作為推算菌絲體生長之另一種方法；然必須確定減少的重量是二氧化碳而不是水，如此才能準確推算出結果 (Okazaki *et al.*, 1980)。

(2)胞外酶的產生

胞外酶的產生是另一種與微生物生長相關之代謝活動，研究顯示洋菇 (*Agaricus bisporus*) 經固態發酵培養後 70 天內，所產生之胞外漆酶(laccase)活性會與菌絲體產量呈正比，且不會受到培養溫度及培養基之不同而影響，故可作為推算菌絲體之方法(Wood, 1979)。

(3)其他與代謝活動相關的產物

Matcham 等人(1984)研究發現可利用 ATP (Adenosine triphosphate) 含量，來推算微生物在固態發酵之生長情形，然僅可作為粗略估計菌體量；主要是因菌體生長並不一致，有些在對數生長期，而有些可能已經進入穩定期，所以不易測量。另一種間接檢測代謝活性之方法為利用螢光素醋酸鹽染色，此種特殊螢光物質只有在被酶分解才會發光，由此可鑑別出代謝活躍區。

3. 利用生物體中之特殊物質含量推算其生物量

固態發酵過程中，若特定成分含量會產生變化或已知其在各生長期間之變化，且測量時不受基質之干擾，便可利用該成分與生物量之線性關係，推算出生物量。

(1) 蛋白質與氮

蛋白質是生物體組成中最容易測得成份之一，研究顯示微生物中之蛋白質含量與其生長有一定之關係，因此，可藉由蛋白質含量推算出微生物之生長狀況(Carrizalez *et al.*, 1981)。不過，若基質本身含有大量蛋白質，微生物生長後產生之酵素，會將固態基質中的蛋白質水解，而水解出之蛋白質會影響菌體中蛋白質含量測定，因此，此方法適合用於蛋白質含量低之固態基質之測定。

(2) 核酸

可利用 DNA 與 RNA 之檢測來測得菌體含量，但此方法只適用於基質中之核苷酸含量低且無化學物質干擾，如白米培養基，因米麴不會產生胞外核糖核酸酶 (DNase) 而造成干擾 (Matcham *et al.*, 1984)。

(3) 葡萄糖胺

葡萄糖胺分析是近年來固態發酵生物量最常用之測定方法 (Niola *et al.*, 1993)，其原理主要是檢測真菌細胞壁中之葡萄糖胺，因在綠色植物或其他微生物中並無此成分，因此，特別適用於真菌菌體量之檢測。

(4) 麥角固醇

麥角固醇為真菌中主要的固醇類物質，研究顯示利用麥角固醇對比洋菇 (*A.bisporus*) 的生長情況，可得固態發酵中麥角固醇含量與菌體間之線性關係 (Matcham *et al.*, 1985)。此法測定是利用高效能液相層析 (HPLC) 配合 UV 偵測器，可提高靈敏度，為低菌體含量提供一個更靈敏之方法 (Ooijkaas *et al.*, 1998)。

(四) 固態發酵應用在菇類培養之現況

研究指出以蔓越莓果渣為基質，利用香菇菌絲體進行固態發酵，發現所產生的 β -glucosidase 可水解果渣產生酚苷 (phenolic glycosides) (Zheng & Shetty, 2000)。另 Karp 等人 (2012) 曾利用甘蔗渣為基質，以鮑魚菇菌種進行固態發酵培養，生產異構漆酶。此外，有研究將木蹄層孔菌 (*Fomes fomentarius*) 培養於橄欖濾渣，藉以生成木質纖維素酶，作為反芻動物之飼料，以增加其粗蛋白含量及消化性 (Neifar *et al.*, 2013)。

韓 (1998) 曾利用羊肚菌來降解澱粉；廖 (2002) 利用液態及固態發酵探討生產靈芝 (*Ganoderma lucidum*) 菌絲體之差異，結果發現固態發酵菌絲體脂多醣分子量，另抗氧化力較液態發酵菌絲體高。研究發現將靈芝接種至玉米粉，經固態發酵培養，可降解澱粉及增加活性物質，以提高其營養價值 (Han *et al.*, 2005)。另葉 (2009) 將白樺茸接種至胚芽米，經固態發酵後，可增加其營養、生理活性物質和呈味特性。此外，研究指出將北蟲草接種至燕麥、綠豆和鷹嘴豆等固態基質進行

固態發酵培養，多酚化合物及類黃酮含量會顯著提升，具有抗氧化能力及保護 DNA 不受損傷(Xiao *et al.*, 2015)。

三、 咖啡豆

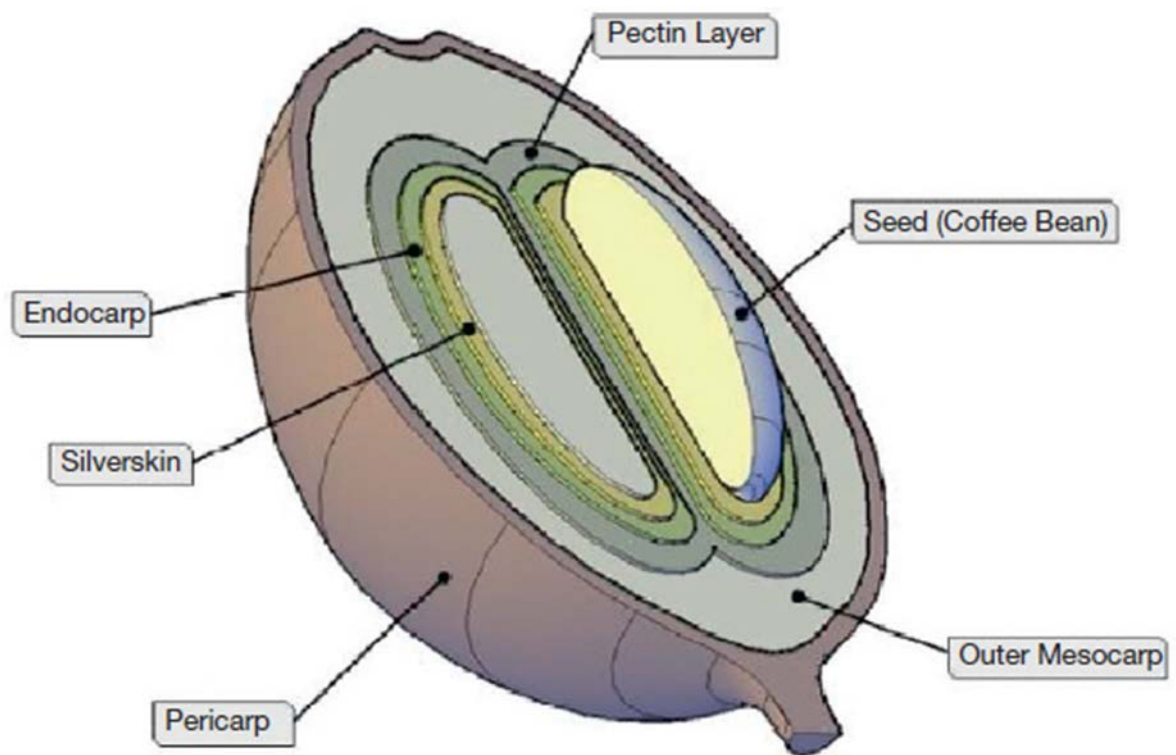
(一) 咖啡豆之介紹

咖啡(coffee)是屬於植物界(Plantae)、被子植物門(Magnoliophyta)、木蘭綱(Magnoliopsida)、龍膽目(Gentianales)、茜草科(Rubiaceae)、咖啡屬(*Coffea*)。常見之咖啡品種有阿拉比卡(*Arabica*)及羅布斯塔(*Robusta*)；阿拉比卡咖啡又名小果咖啡，羅布斯塔咖啡又名中果咖啡或卡尼佛拉咖啡(*Canephora*) (Davis *et al.*, 2006)。

咖啡的果實外型上是一個橢圓形的核果，大小約 10 毫米，如附圖三所示；咖啡豆的外表皮稱為果皮，未成熟時呈綠色，成熟後會從黃或橙色轉為紅紫或深紅色；果皮覆蓋果膠和果肉，其次是內果皮，最後是銀皮，銀皮裡覆著咖啡豆，每個果實內含有兩顆咖啡豆。咖啡是全球最受歡迎的飲料之一，其商業價值與其品質有關，影響咖啡質量的因素很多，包括與咖啡豆生化成分和品質特性有關之遺傳因子 (Dessalegn *et al.*, 2007; Leroy *et al.*, 2006)，土壤和氣候條件 (Bertrand *et al.*, 2012)，農業工法 (Vaast *et al.*, 2006) 和採後處理技術 (Duarte *et al.*, 2010; Taveira, 2014) 等。此外，種植咖啡的海拔高度對咖啡豆生化組成具有影響，研究指出高海拔對葫蘆巴鹼含量會有正面影響 (Sridevi and Giridhar, 2013)，綠原酸及脂肪 (Bertrand, 2006)，蔗糖 (Vaast *et al.*, 2004) 則有負面影響，但對咖啡因則沒有影響 (Avelino, 2007)。

(二) 咖啡豆之自然分布

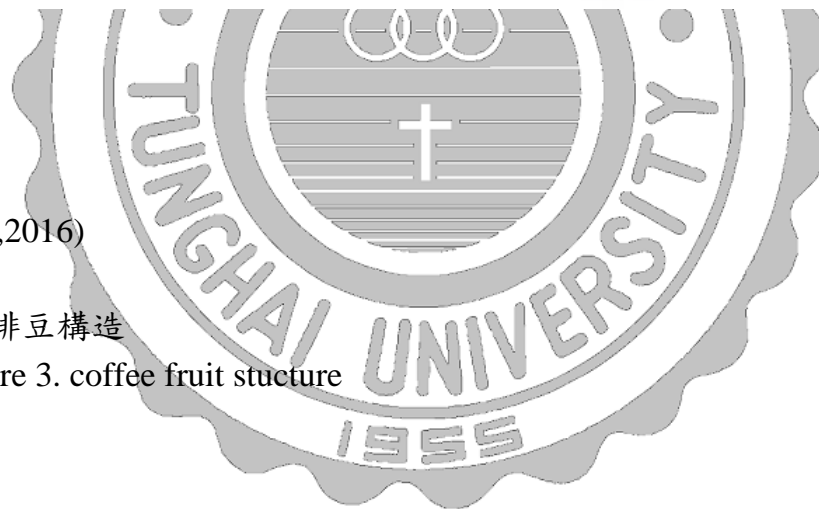
咖啡的發源地廣泛被認為是衣索比亞 (Amamo, 2014)，咖啡名字起源於該國西部的卡法省，據說是一位山羊牧民在公元六世紀發現了咖啡豆 (Gomez-Ruiz *et al.*, 2007; Amamo, 2014)。目前咖啡生長在四大洲約 80 個國、非洲和亞洲是咖啡的主要生產地區；另巴西的米納斯吉拉斯、聖埃斯皮里圖和聖保羅是全球主要的咖啡生產及出口地 (Restuccia *et al.*, 2015)。



(Tofalo *et al.*,2016)

附圖三、咖啡豆構造

Referred figure 3. coffee fruit structure



(三) 咖啡豆之機能性成分

咖啡豆主要成分包含咖啡因(caffeine)、葫蘆巴鹼(trigolline)和綠原酸(chlorogenic acid) (Tofalo *et al.*, 2016)。

1. 咖啡因(Caffeine)

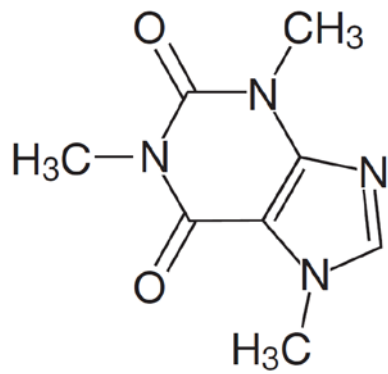
咖啡因是一種天然存在的生物鹼，為黃嘌呤類的衍生物，可在 60 多種植物的豆類、葉子和果實中發現，主要作為抗某些昆蟲的天然化合物 (Xia *et al.*, 2013)；咖啡因化學名為 1,3,7-三甲黃嘌呤 (1,3,7- trimethylxanthine)，其結構如附圖四-(1)所示。咖啡因主要的天然來源是咖啡豆和茶葉，另在可樂果(Cola acuminata)、可可豆(*Theobroma cacao*)、巴拉圭東青(*Ilex paraguariensis*)和瓜拿納(*Paullinia cupana*)中也有發現(Heckman *et al.*, 2010)。

咖啡因被人類肝臟代謝後，具有許多生理活性包括預防帕金森氏症 (Fujimaki *et al.*, 2018)、抗肝硬化 (Li *et al.*, 2017)、改善飲食性肥胖(Wu *et al.*, 2017)、抗發炎(Shushtari *et al.*, 2016)、誘導癌細胞凋亡(Liu *et al.*, 2016)、抗憂鬱(Szopa *et al.*, 2016)、增強骨骼肌力量並強化運動表現(Tallis *et al.*, 2015)、抗神經膠質瘤(Michaud *et al.*, 2010)、預防黑色素瘤與皮膚癌(Abel *et al.*, 2007)、降低第二型糖尿病的風險(Du *et al.*, 2007; Van Dam *et al.*, 2006)。

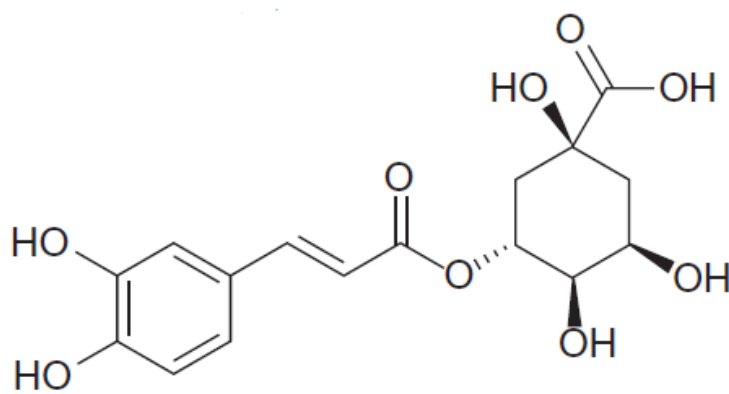
研究指出咖啡因有助於注意力集中，對情緒有安定作用(Dawkins *et al.*, 2011)；另可增強骨骼肌力量並強化運動表現(Tallis *et al.*, 2015)；另研究發現少量攝取咖啡因，可改善睡眠品質(Unno *et al.*, 2017)。此外，研究發現當咖啡因與止痛藥物乙醯胺酚(Acetaminophen, APAP)、阿斯匹靈(Aspirin, ASA)和異布洛芬(Ibuprofen, IBU)結合使用，可提高鎮痛藥之效果(Lipton *et al.*, 2017)。

2. 綠原酸(Chlorogenic acid, 5-O-caffeoylquinic acid , 5CQA)

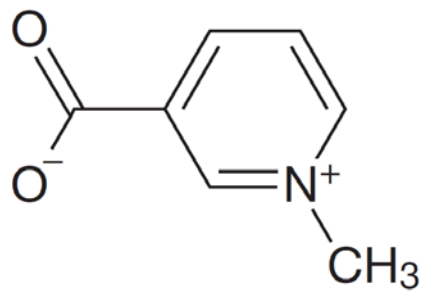
綠原酸是植物中重要的次級代謝產物，其結構如附圖四-(2)所示；此化合物是一種抗氧化劑(Xi *et al.*, 2017)，另具有抗癌(Ekbatan *et al.*, 2018)、保肝(Kim *et al.*, 2018)、抗發炎(Zhang *et al.*, 2017)、抗動脈粥狀硬化(Jung *et al.*,



(1) caffeine



(2) chlorogenic acid



(3) trigonelline

(Tofalo *et al.*,2016)

附圖四、咖啡豆主要機能性成分之結構

Referred figure 4. Chemical structures of bioactive constituents in coffea bean.

2017)、修復神經損傷(Zikang Guo and Jiang Li, 2017)、改善血管功能(Mills *et al.*, 2017)、提升皮膚傷口癒合速度(Affonso *et al.*, 2016)和減少內臟脂肪和體重等功效(Igho *et al.*, 2011; Shimoda *et al.*, 2006)。

3. 葫蘆巴鹼 (Trigonelline)

葫蘆巴鹼是一種生物鹼，是藉由菸鹼酸經甲基化形成的，其結構式如附圖四-(3)所示，常見於咖啡豆和葫蘆巴種子(Sung *et al.*, 2012)。葫蘆巴鹼在咖啡中之重要特性為在烘焙過程中會被降解，產生多種揮發性化合物，賦予咖啡香氣，香氣主要成分是吡咯和吡啶(Caporaso *et al.*, 2017)。此外，葫蘆巴鹼具有改善心血管疾病(Li *et al.*, 2018)、保肝(Shokouh *et al.*, 2017)、抗氧化劑、抑制 α -葡萄糖苷酶和抗菌(Bhattacharjee and Datta, 2015; Bhattacharjee *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2012)及抗癌(Hirakawa *et al.*, 2005)等生物活性。

此外，阿拉比卡和羅布斯塔咖啡豆及其經加工後化學成分之差異如附表六所示，由表可知經過加工後的咖啡豆，咖啡因含量變化不大，但綠原酸含量則明顯降低，顯示咖啡因較不易受烘焙溫度破壞，而綠原酸則易受烘焙溫度破壞。

(四) 咖啡豆之生理活性

研究指出咖啡具有多種生理活性，可降低2型糖尿病風險(Ding *et al.*, 2014)、抗直腸癌(Li *et al.*, 2013)、預防心血管疾病(Yang *et al.*, 2016)、提高警惕性(Anderson *et al.*, 2018)、調節免疫功能(Ferreire *et al.*, 2018)、刺激胃腸運動(Rabiepoor *et al.*, 2018)、抗氧化(Liu *et al.*, 2016)、抗冠狀動脈疾病(Grioni *et al.*, 2015)。其他生理活性如下：

1. 降低2型糖尿病的風險

最近的研究表明長期飲用含咖啡可降低第二型糖尿病的風險(Martinez *et al.*, 2017; Dong *et al.*, 2017)。咖啡成分如綠原酸及其衍生物可以調節血糖，提高腸道對葡萄糖的吸收改善肝臟輸出葡萄糖幫助肝臟抵抗氧化壓力(Resis *et al.*, 2018)。綠原酸對急性胰島素的分泌有益(Mellbye *et al.*, 2015)。

附表六、不同咖啡豆及加工前後的化學成分差異

Referred table 3. Chemical composition of coffee, mass percent in dry matter, different sources.

	Arabica green ^a	Robusta green ^a	Arabica roasted ^b	Robusta roasted ^b	Arabica instant ^a	Robusta instant ^a
Constituent	%DW	%DW	%DW	%DW	%DW	%DW
Caffeine	1.3	2.3	1.2	2.4	2.5	3.8
Trigonelline	0.8	0.7	0.3 ^c	0.3 ^c	0.7	0.4
Carbohydrate	53.7	50.7	38.0	42.0	46.6	44.7
Chlorogenic acids	8.1	9.9	2.5	3.8	2.6	1.6
Lipids	15.2	9.4	17.0	11.0	0.11	0.26
Amino acids	11.1	11.8	7.5	7.5	6.2	6.0
Organic acids	2.3	1.7	2.4	2.6	8.1	7.9
Melanoidins	-	-	25.4	25.9	25.1	28.6
Ash (minerals)	3.9	4.4	4.5	4.7	8.0	7.4

Leloup, 2006^a

Illy and Viani, 1995^b

Macrae, 1985^c

2. 提升骨骼肌力量

目前的文獻表明咖啡對骨骼肌有益。咖啡已被證明可誘導細胞自噬，改善胰島素敏感性，刺激葡萄糖攝取，減緩肌肉減少症的發生，並促進受傷肌肉的再生(Tesselaar *et al.*, 2017)。

3. 改善憂鬱症

對一般人來說，咖啡和咖啡因的消費對憂鬱情緒或抑鬱症狀有保護作用(Reis *et al.*, 2018)。咖啡或咖啡因與抑鬱症之間的關聯機制尚未完全確定。可能的生物學解釋之一是，咖啡因作為非特異性腺苷 A1 / A2A 受體拮抗劑，通過調節多巴胺能傳遞產生精神興奮劑效應。此外，咖啡因的主要代謝物也作用於腦中的腺苷受體，這可能有助於降低咖啡飲用者中的抑郁風險(Morelli *et al.*, 2010)。

4. 預防帕金森氏症

研究指出咖啡對帕金森氏症患者抑鬱情緒的影響可能是由多巴胺能信號的調節引起的。咖啡因通過減弱黑質紋狀體和中腦邊緣多巴胺能神經元的變性，可以作為抗帕金森氏症抑制的神經保護劑(Prediger, 2010)。

5. 抑制血小板聚集作用

血小板聚集和內皮細胞受損是血栓形成的重要因素，研究發現咖啡中的綠原酸明顯抑制 ADP 誘導的血小板聚集，並對鈣離子載體 A23187 觸發的血栓素合成有抑製作用，能直接抑制花生四烯酸轉化成血栓素，但對血小板微粒體內的血栓素的合成沒有影響。同時甲基化的綠原酸還對內皮細胞有保護作用，能夠明顯抑製過氧化氫誘導的內皮細胞損傷(Chang *et al.*, 1992)。

6. 抗氧化

綠原酸成分對多種途徑引起的氧化過程有抑制作用。從牛蒡(*Arctium lappa*)中分離的綠原酸進行抗氧化活性研究，測試結果綠原酸對自由基鏈式反應引起亞油酸甲酯(methyl linoleate)過氧化具有抑制作用(Maruta *et al.*, 1995)。

7. 改善痙攣

從長春藤 (*Hedera helix*) 中分離得到的多種酚類和皂苷類化合物，發現綠原酸對電刺激和乙醯膽鹼刺激的豚鼠迴腸收縮均有抑制作用，判定綠原酸具有解除平滑肌肉痙攣的 (Trute *et al.*, 1997)。

8. 護肝作用

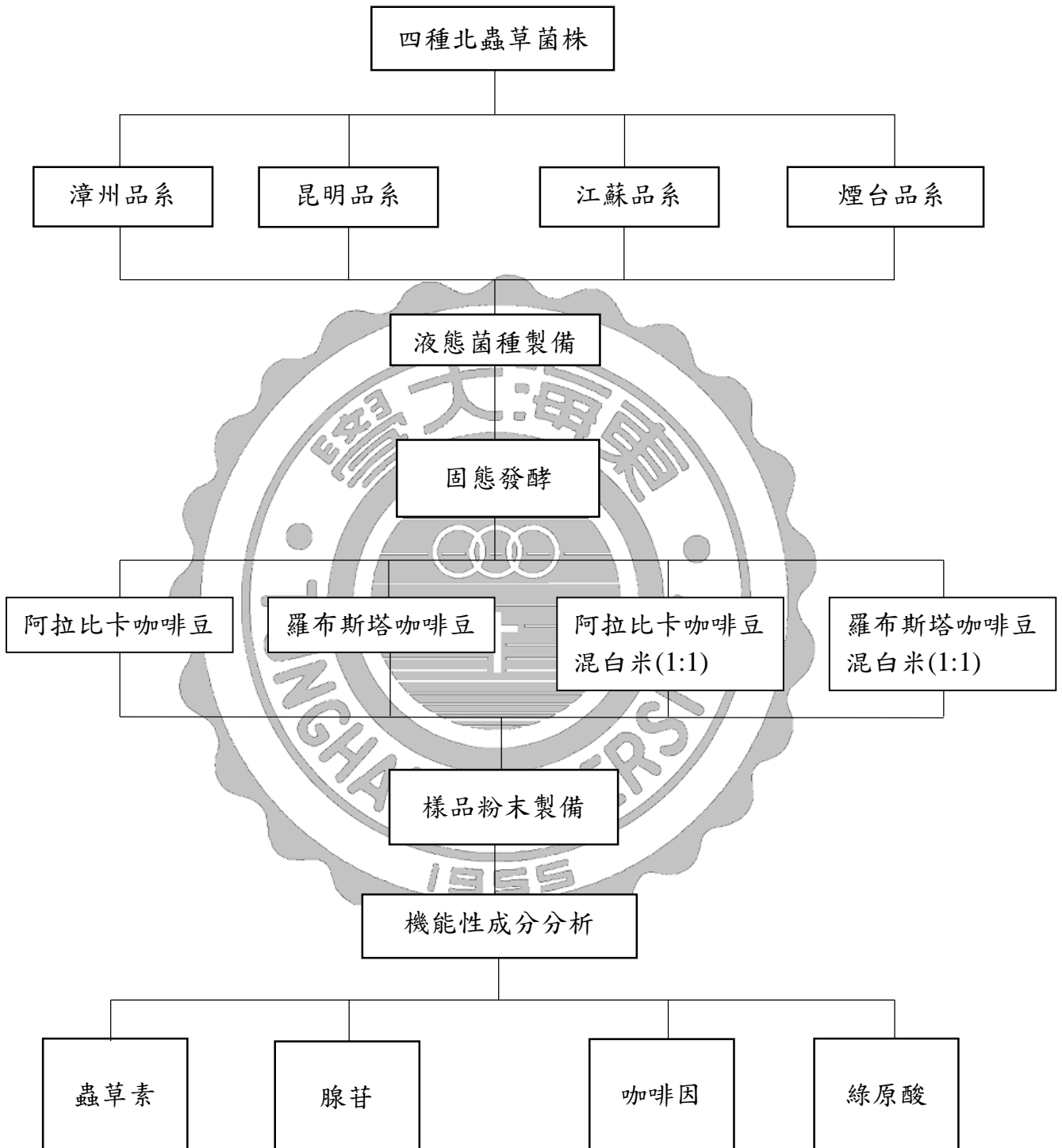
由 BDL 誘導慢性肝損傷的大鼠可能因為細胞膜損傷以及氧化壓力相關的生化反應和分子異常導致肝臟纖維化。透過攝取咖啡保護細胞受氧化損傷以及阻斷纖維化細胞因子 TGF- β 和 CTGF 的升高，從而對膽汁淤積誘導的肝纖維化產生預防作用 (Arauz *et al.*, 2017)。

9. 抗肥胖

研究指出咖啡萃取物抑制分化誘導劑 (MDI) 誘導在 3T3-L1 前脂肪細胞的脂肪形成。IRS1 是通過蛋白酶體途徑的胰島素信號傳導中的銜接分子，咖啡萃取物誘導 IRS1 的降解而抑制脂肪生成 (Maki *et al.*, 2017)。



實驗架構



第三章 材料與方法

一、實驗儀器及藥品

(一) 實驗儀器

1. 純水製造機
2. 恆溫水浴槽
3. 高效率液相層析儀
4. 滅菌釜
5. 烘箱
6. 超音波震盪器
7. 電子天平
8. 減壓濃縮機
9. 高速粉碎機

(二) 實驗材料

1. 本研究試驗菌種為北蟲草菌株(*Cordyceps militaris*)，依據來源不同分為：漳州、昆明、江蘇、煙台等四個菌株；由大葉大學生物資源系梁志欽教授提供。
2. 咖啡豆，依據品種分為阿拉比卡種(*Arabica*)及羅布斯塔種(*Robusta*)。
3. 白米
4. 北蟲草固態發酵咖啡產物

(三) 實驗藥品

1. 馬鈴薯葡萄糖瓊脂(Potato dextrose agar ; PDA)、酵母萃取物(Yeast extract powder)購自印度 HIMEDIA 公司。
2. 葡萄糖(Glucose)、蔗糖(Sucrose)、乳糖(Lactose)、果糖(Fructose)、麥芽糖(Maltose)、麥角固醇(Ergosterol)購自美國 Sigma 公司。
3. 正己烷(n-Hexane)、甲醇(Methanol)購自西班牙 Panreac 公司。
4. 七水硫酸鎂(Magnesium sulfate 7-hydrate)購自西班牙 Panreac 公司。
5. 磷酸氫二鉀(Potassium phosphate dibasic)購自日本昭和化學株式會社

6.磷酸二氫鉀(Potassium phosphate monobasic)購自美國 J.T.Baker 公司。

7.乙醇(Ethanol)購自台灣恩加有限公司。

二、實驗方法

(一) 菌株培養及液態菌種製備

1. 菌種活化

接種北蟲草菌種於 PDA 培養基中培養，約兩週後存放於 4°C 冰箱中。活化時，取培養完成之培養皿，已滅菌後之解剖刀切取外圍菌絲作為菌種(大小約 5mm *5mm)，接種於新 PDA 培養基並於 25°C 下培養。

2. 液態菌種培養

於無菌操作台中，將保存於 PDA 之菌種以滅菌解剖刀切取 5 塊約 5 mm *5 mm 大小之菌絲塊，將其接種於含 100mL 液態培養基之 250 mL 三角瓶，於 100 rpm，25°C 下進行振盪培養三天。再將已活化之液態菌種 3 mL 液態培養基之 250 mL 三角瓶，在 100 rpm，25°C 下進行振盪培養。

液態培養基成分如下：

三角瓶液態培養基成分(每升):	
葡萄糖	20 g
酵母萃取物	5 g
七水硫酸鎂(MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0.5 g
磷酸氫二鉀(K ₂ HPO ₄)	0.5 g
磷酸二氫鉀(KH ₂ PO ₄)	0.5 g

(二) 固態發酵

1. 咖啡豆固態發酵

取固態基質咖啡豆 15 g 於廣口瓶中，加入 RO 水 15 mL(水分添加量：50%)，於滅菌釜中進行 121°C，15 分鐘滅菌。冷卻後，加入 3 mL 液態菌種均質液於已滅菌之固態培養基中，均勻攪拌後倒入平板培養皿中進行培養，培養天數 0~49 天，並分析其機能性成分含量，找出最佳天數。

2. 咖啡豆混米固態發酵

取固態基質咖啡豆 7 g 與白米 7 g (比例 1:1) 於廣口瓶中均勻攪拌，加入 RO 水 15 mL (水分添加量：50%)，於滅菌釜中進行 121°C，15 分鐘滅菌。冷卻後，加入 3 mL 液態菌種均質液於已滅菌之固態培養基中，均勻攪拌後倒入平板培養皿中進行培養，培養天數 0~49 天，並分析其機能性成分含量，找出最佳天數。

(三) 北蟲草咖啡粉末製備

發酵完成之北蟲草咖啡於 100°C 烘箱烘乾至恆重，以磨粉機粉碎後過篩(60 mesh)，即得北蟲草咖啡粉末。

三、北蟲草咖啡之機能性成分分析

(一). 蟲草素 (劉等, 2015)

精秤北蟲草咖啡樣品粉末 5 g 放入 250 mL 三角瓶，加入 100 mL RO 水，並以超音波振盪萃取 60 min，再於 15000 rpm 轉速下離心 10 min。所得上清液於 50°C 下經減壓縮至一定量後以去離子水定量至 5 mL，再經 0.22 μm 之濾膜過濾，最後以 HPLC 進行分析。另外，以不同濃度的標準品注入 HPLC 中，由所得面積繪出檢量線，藉以計算樣品中蟲草素之含量。高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括 Agilent 1100 Series G1310A 泵浦，檢測器為 UV-VIS S-3702 可見光/紫外光。

高效能液相層析條件如下：

(1) 分離管柱：LiChrospher 100 RP C18 (250 × 4.5 mm, 5 μm, Merck)。

(2) 注射量：20 μL。

(3) 移動相：A：去離子水，B：甲醇(100%)。

0-5 (min) (A : B = 95:5) → 15 (min) (A : B = 85 : 15) → 20 (min) (A:B = 85 : 25) → 25 (min) (A : B = 75 : 25) → 30 (min) (A:B = 95:5)

(4) 檢測波長：260 nm。

(5) 流速：1 mL/min。

(二).腺苷

精秤北蟲草咖啡樣品粉末5 g精秤入250 mL三角瓶，加入100 mL RO水，並以超音波振盪萃取60 min，再於15000 rpm轉速下離心10 min。所得上清液於50°C下減壓縮至一定量後以去離子水定量至5 mL，再經0.22 μm之濾膜過濾，最後以HPLC進行分析。另外，以不同濃度的標準品注入HPLC中，由所得面積繪出檢量線，藉以計算樣品中腺苷之含量。高效液相層析儀分析方法：高效液相層析儀包括Agilment 1100 Series G1310A泵浦，檢測器為UV-VIS S-3702可見光/紫外光。

高效液相層析條件如下：

- (1) 分離管柱：LiChrospher100 RP-C18 (250 × 4.5 mm, 5 μm, Merck)。
- (2) 注射量：20 μL。
- (3) 移動相：A：去離子水，B：甲醇(100%)。
0-5 (min)(A : B = 95:5)→15 (min) (A : B = 85 : 15)→20 (min) (A:B = 85 : 25)→25 (min) (A : B = 75 : 25)→30 (min) (A:B = 95:5)
- (4) 檢測波長：260 nm。
- (5) 流速：1 μL/min。

(三) 咖啡因的測定

精秤樣品粉末 5 g精秤入250 mL三角瓶，加入100 mL RO水，並以經85°C熱水萃取30分鐘後，再於15000 rpm轉速下離心10 min。所得上清液於50°C下減壓縮至一定量後以去離子水定量至5 mL，再經0.22 μm之濾膜過濾，最後以HPLC進行分析。另外，以不同濃度的標準品注入HPLC中，由所得面積繪出檢量線，藉以計算樣品中咖啡因之含量。高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括Agilment 1100 Series G1310A 泵浦，檢測器為UV-VIS S-3702可見光/紫外光。

高效能液相層析條件如下：

- (1) 分離管柱：LiChrospher100 RP-C18 (250 × 4.5 mm, 5 μm, Merck)。
- (2) 注射量：20 μL。
- (3) 移動相：A:0.1%甲酸溶於去離子水，B:0.1%甲酸溶於乙腈(100%)。

0 (min) (A : B = 98:2)→30 (min) (A : B = 70 : 30)→35 (min) (A : B = 98 : 2)

(4) 檢測波長：270 nm。

(5) 流速：1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

(四) 綠原酸的測定

精秤樣品粉末5 g精秤入250 mL三角瓶，加入100 mL RO水，並以超音波振盪萃取30 min，再於15000 rpm轉速下離心10 min。所得上清液於50°C下減壓縮至一定量後以去離子水定量至5 mL，再經0.22 μm 之濾膜過濾，最後以HPLC進行分析。另外，以不同濃度的標準品注入HPLC中，由所得面積繪出檢量線，藉以計算樣品中綠原酸之含量。高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括Agilent 1100 Series G1310A 泵浦，檢測器為UV-VIS S-3702可見光/紫外光。

(1) 分離管柱：LiChrospher100 RP-C18 (250 \times 4.5 mm, 5 μm , Merck)。

(2) 注射量：20 μL 。

(3) 移動相：A：磷酸(10%) B：乙腈(100%)。

0 (min) (A : B = 95 : 5)→20 (min) (A : B = 85 : 15)→25 (min) (A : B = 95 : 5)

(4) 檢測波長：327 nm。

(5) 流速：1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

四、統計分析

本研究之分析項目接進行三重複之測定實驗數據皆以 mean \pm standard deviation (SD)表示，所得之數據使用 Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., 2000)軟體進行統計分析，以 ANOVA 程序做變異分析，並以登肯氏多變域試驗法 $p < 0.05$ 下比較平均值之顯著性差異。

第四章 結果與討論

本研究主要探討不同品系之北蟲草菌種接種在不同咖啡豆基質，篩選出菌絲體之生長情形較佳及機能性成分較多之菌種及基質。固態基質包括阿拉比卡豆、阿拉比卡豆混米、羅布斯塔豆及羅布斯塔豆混米等四種；使用的北蟲草品系有漳州、昆明、江蘇及煙台四種，經七週之培養，分析其蟲草素、腺苷、咖啡因及綠原酸之機能性成分含量，篩選出較佳之菌種及咖啡基質。

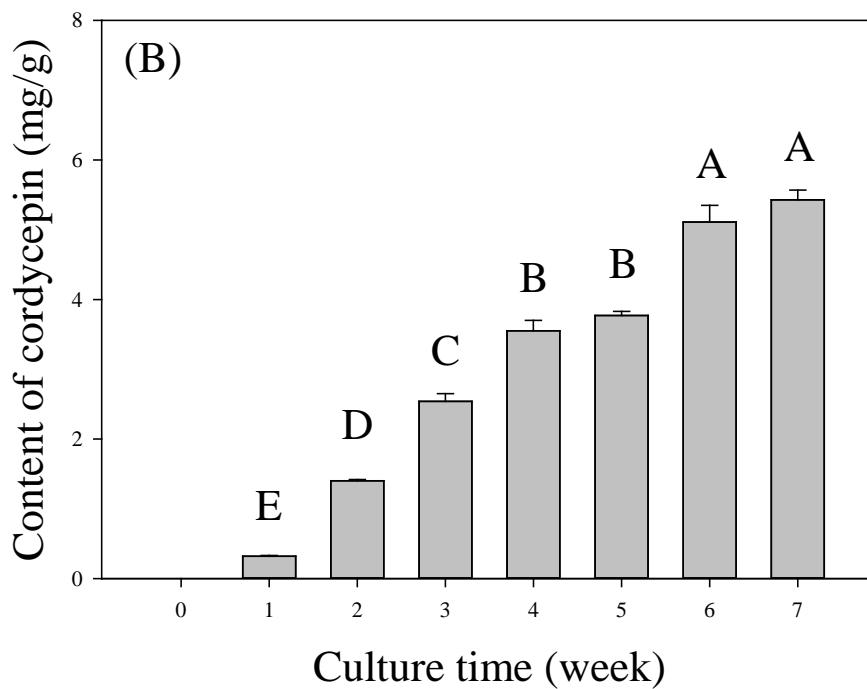
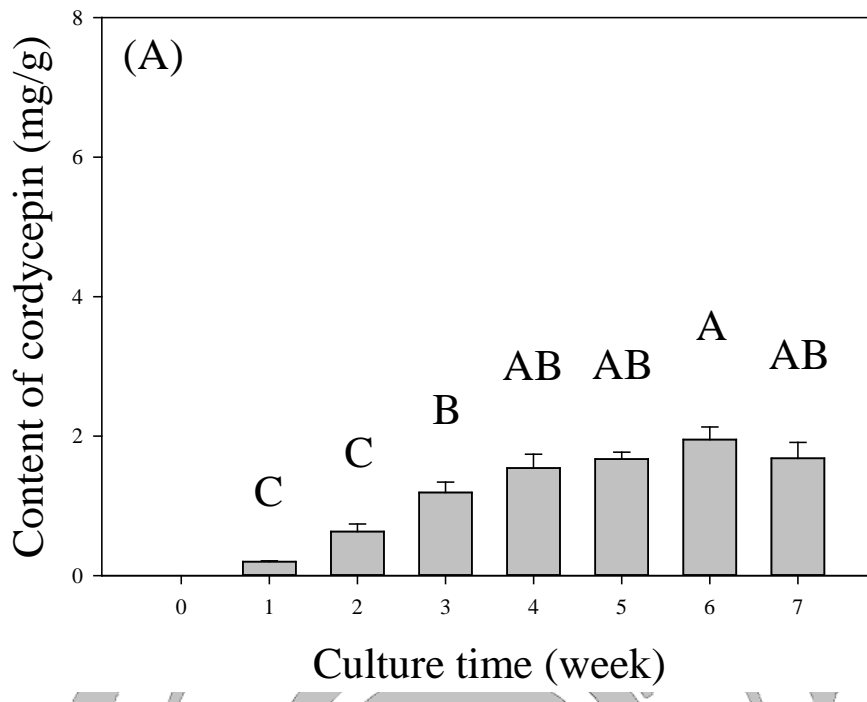
一、漳州品系之北蟲草

將漳州北蟲草品系菌絲分別接種於阿拉比卡豆、阿拉比卡豆混米(1:1)、羅布斯塔豆及羅布斯塔豆混米(1:1)固態基質中發酵。每隔1週取樣，分析蟲草素、腺苷、咖啡因及綠原酸含量並觀察變化。

1. 蟲草素含量探討

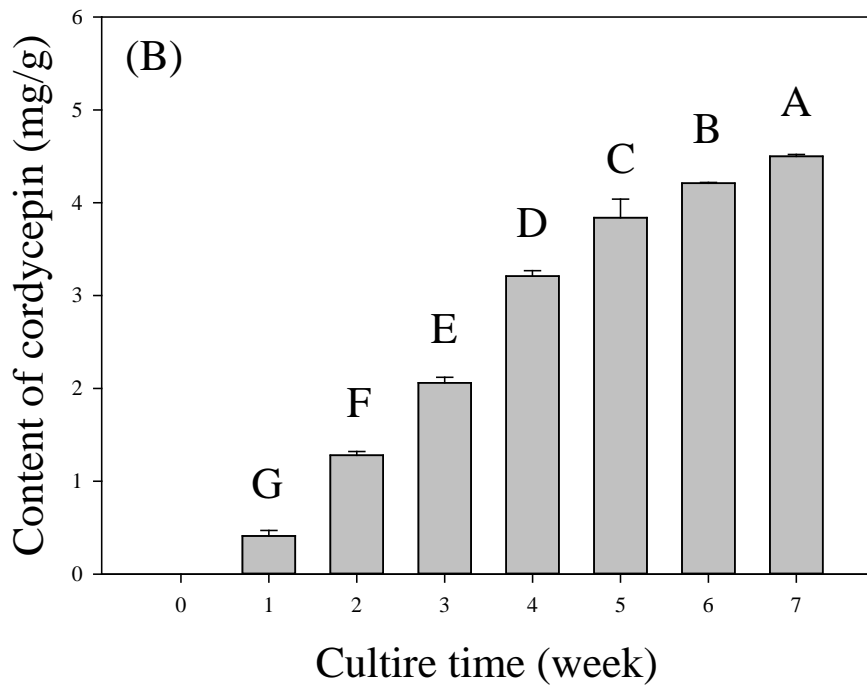
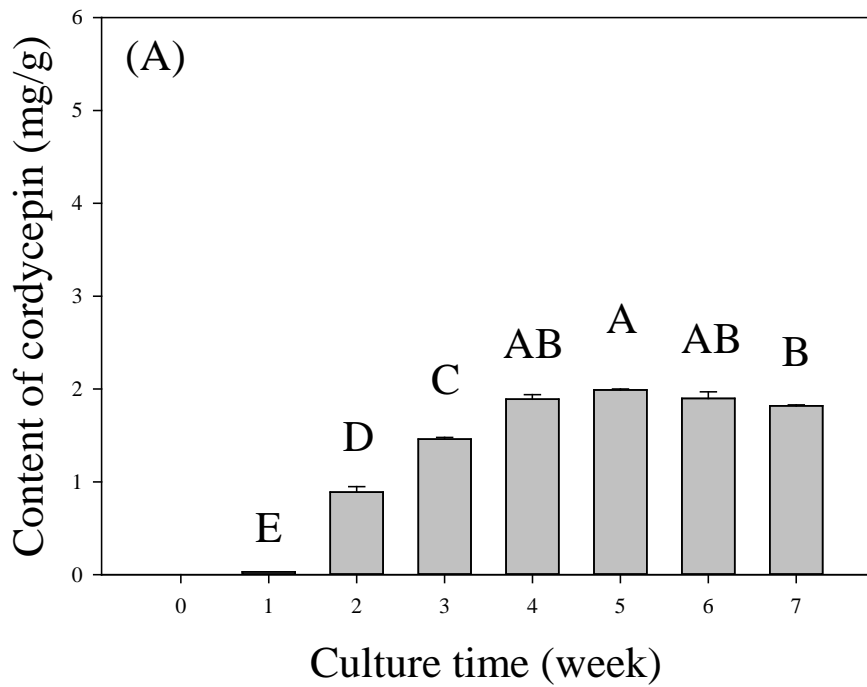
由圖一及圖二可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中不含蟲草素，但隨著固態發酵培養時間之增加，其蟲草素含量會逐漸增加。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖一(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第6週會有最高量，為1.95 mg/g(表一)，之後會緩慢減少，在第7週蟲草素含量降為1.68 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，由圖二(A)可知，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第5週會有最高量，為1.99 mg/g，之後亦會緩慢減少，在第7週蟲草素含量為1.82 mg/g。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖一(B)及圖二(B)可發現，蟲草素含量遠比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之生長，有利蟲草素的生成。由圖一(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為5.43 mg/g(表一)，但與第6週蟲草素含量(5.11 mg/g)並無統計差異。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混



圖一、漳州北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之蟲草素含量

Figure 1. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabic coffee bean : Rice =1:1)



圖二、漳州北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之蟲草素含量

Figure 2. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表一、漳州北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之蟲草素含量

Table 1. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Cordycepin Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1	C*0.20 ± 0.01b#	E0.03 ± 0.00c	E0.32 ± 0.01ab	G0.41 ± 0.06a
2	C0.63 ± 0.11b	D0.89 ± 0.06b	D1.40 ± 0.02a	F1.28 ± 0.04a
3	B1.19 ± 0.15c	C1.46 ± 0.02c	C2.54 ± 0.11b	E2.06 ± 0.06a
4	AB1.54 ± 0.20b	AB1.89 ± 0.05b	B3.55 ± 0.15a	D3.21 ± 0.06a
5	AB1.67 ± 0.10b	A1.99 ± 0.01b	B3.77 ± 0.06a	C3.84 ± 0.20a
6	A1.95 ± 0.18b	AB1.90 ± 0.07b	A5.11 ± 0.24a	B4.21 ± 0.01a
7	AB1.68 ± 0.23c	B1.82 ± 0.01c	A5.43 ± 0.14a	A4.50 ± 0.02b

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

米基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量亦會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 4.50 mg/g (表一)。

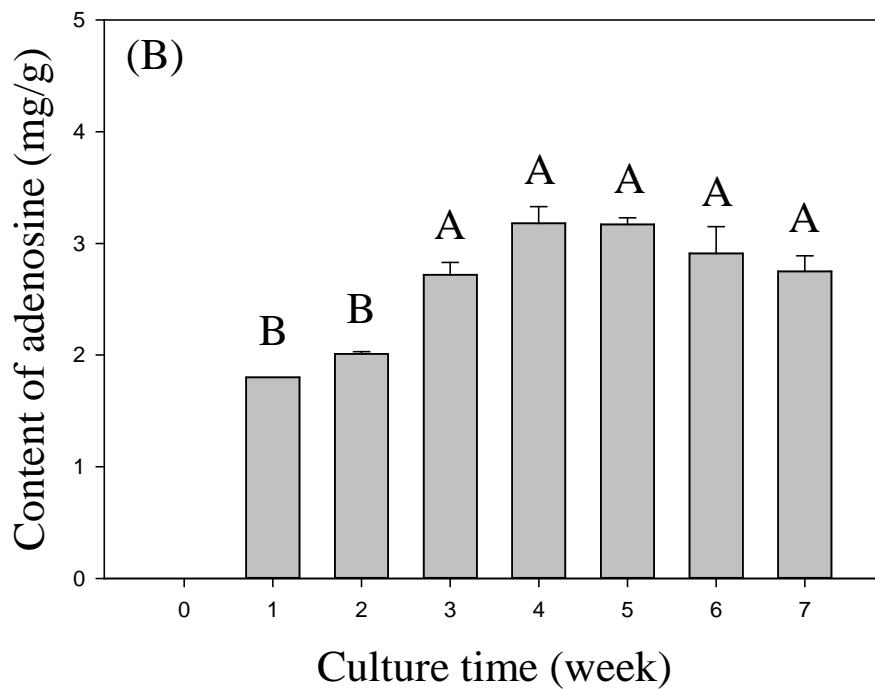
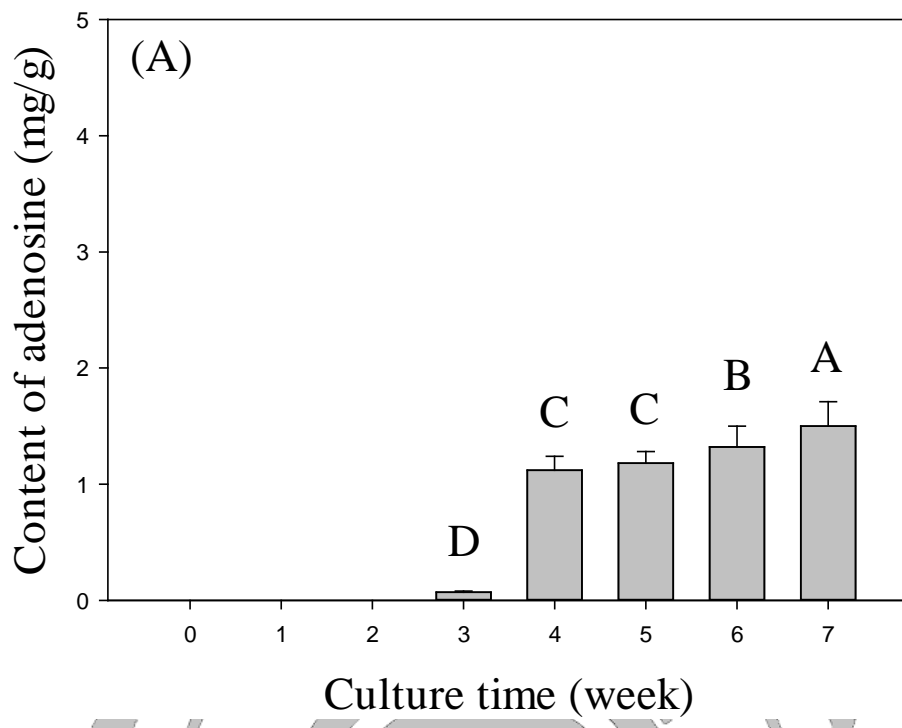
由上述結果可知，固態基質米比咖啡豆更適合蟲草素之生成，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(5.43 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(4.50 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(1.82 mg/g) \cong 阿拉比卡咖啡豆基質(1.68 mg/g)。

2. 腺苷含量探討

由圖三及圖四可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中不含腺苷，但隨著固態發酵培養時間之增加，其腺苷含量會逐漸增加。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖三(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 1.50 mg/g (表二)。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖四(A)可知，腺苷量會隨培養週數增加而增加，在第6週會有最高量，為 0.38 mg/g，之後亦會緩慢減少，在第7週腺苷含量為 0.36 mg/g，但與第6週腺苷含量並無統計差異。

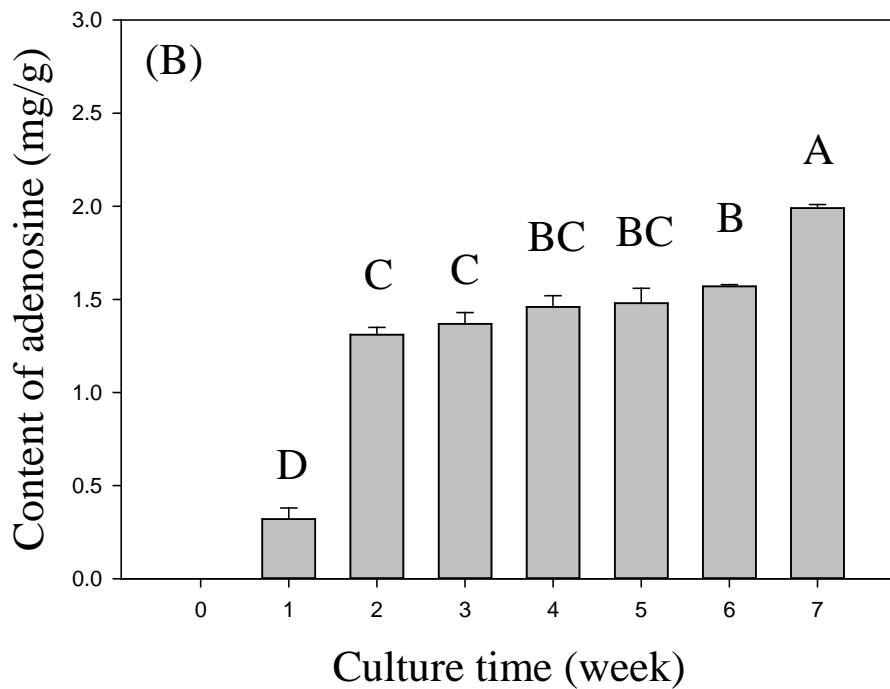
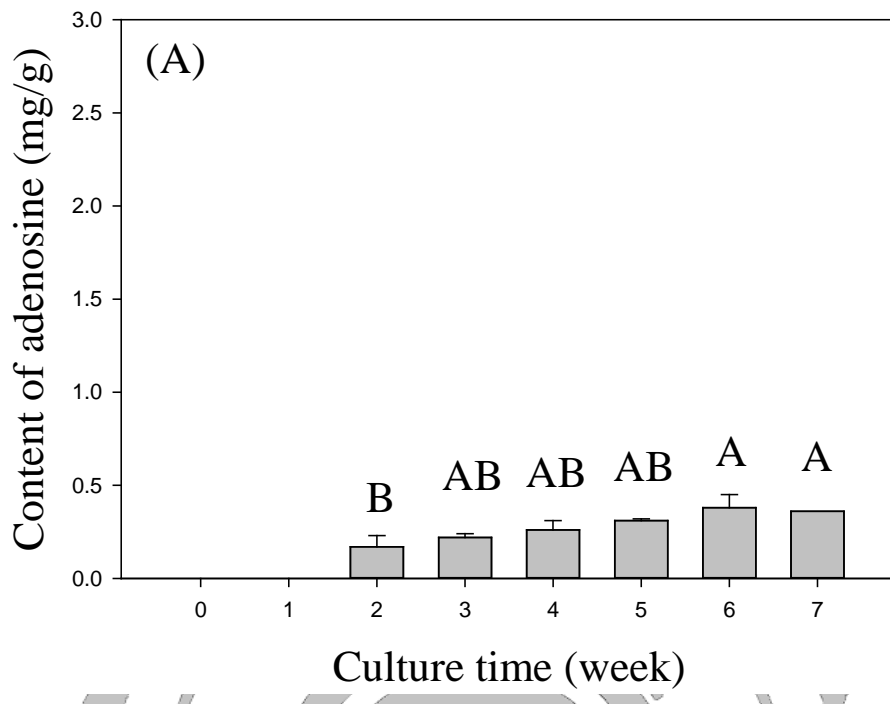
在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖三(B)及圖四(B)可發現，腺苷含量比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之生長，有利腺苷的生成。由圖三(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量會隨培養週數增加而增加，在第4週會有最高量，為 3.18 mg/g (表二)，之後會緩慢減少，在第七週腺苷含量為 2.75 mg/g (表二)。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量亦會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 1.99 mg/g (表二)。

由上述結果可知，固態基質米比咖啡豆更適合腺苷之生成，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(2.75 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(1.99 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(1.50 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(0.36 mg/g)。



圖三、漳州北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1 之腺苷含量)

Figure 3. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabic coffee bean : Rice =1:1)



圖四、漳州北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之腺苷含量

Figure 4. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表二、漳州北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之腺苷含量

Table 2. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Adenosine Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1	N.D.	N.D.	B1.80 ± 0.00	D0.32 ± 0.06
2	N.D.	B0.17 ± 0.06	B2.01 ± 0.02	C1.31 ± 0.04
3	D*0.07 ± 0.01d#	AB0.22 ± 0.02c	A2.72 ± 0.11a	C1.37 ± 0.06b
4	C1.12 ± 0.12c	AB0.26 ± 0.05d	A3.18 ± 0.15a	BC1.46 ± 0.06b
5	C1.18 ± 0.10c	AB0.31 ± 0.01d	A3.17 ± 0.06a	BC1.48 ± 0.08b
6	B1.32 ± 0.18c	A0.38 ± 0.07d	A2.91 ± 0.24a	B1.57 ± 0.01b
7	A1.50 ± 0.21c	A0.36 ± 0.00d	A2.75 ± 0.14a	A1.99 ± 0.02b

*: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

#: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

3. 咖啡因含量探討

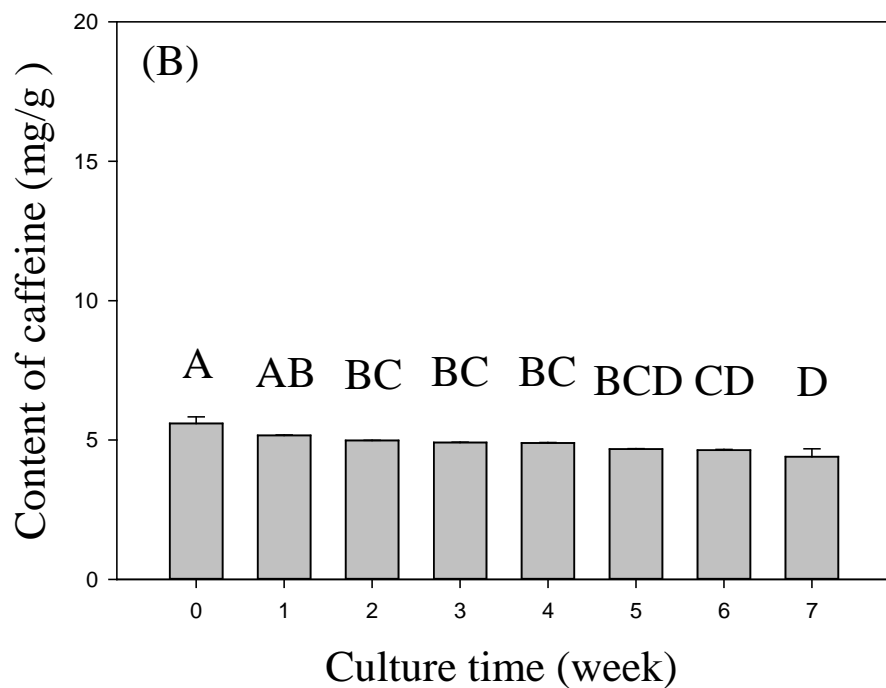
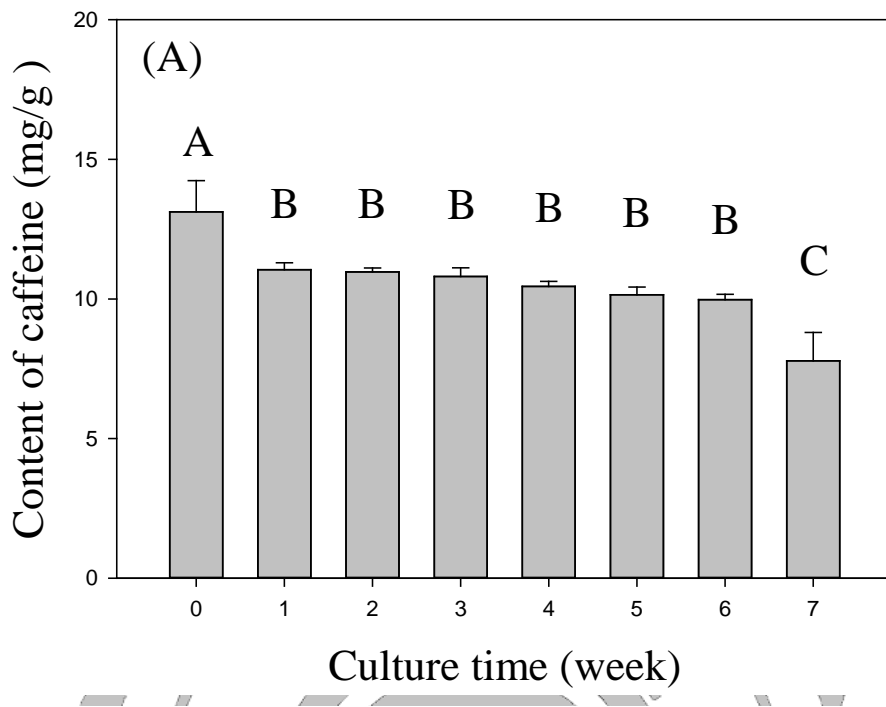
由圖五及圖六可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中富含咖啡因，但隨著固態發酵培養時間之增加，其咖啡因含量會逐漸減少。在咖啡豆作為固態基質方面，經北蟲草固態發酵培養後，由圖五(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 13.14 mg/g (表三)，之後會緩慢減少，在第7週咖啡因含量降為 7.78 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖六(A)可知，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 9.79 mg/g，之後亦會緩慢減少，在第7週咖啡因含量為 5.60 mg/g。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖五(B)及圖六(B)可發現，因為白米不含咖啡因，故咖啡因含量會較單一咖啡豆基質來的少。由圖五(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 5.59 mg/g (表三)，之後會緩慢減少，在第7週咖啡因含量降為 4.40 mg/g。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量亦會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 4.96 mg/g (表三)，之後亦會緩慢減少，在第7週咖啡因含量降為 4.29 mg/g。

由上述結果可知，單一咖啡豆基質會留下較多的咖啡因含量，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆基質(7.78 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(5.60 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆混米基質(4.40 mg/g) \approx 羅布斯塔咖啡豆混米基質(4.29 mg/g)。

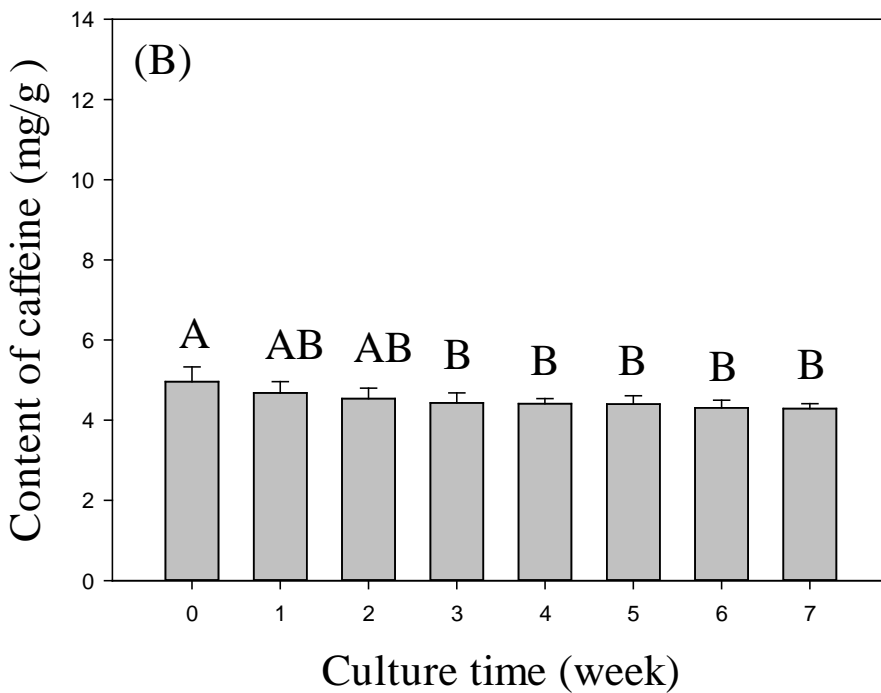
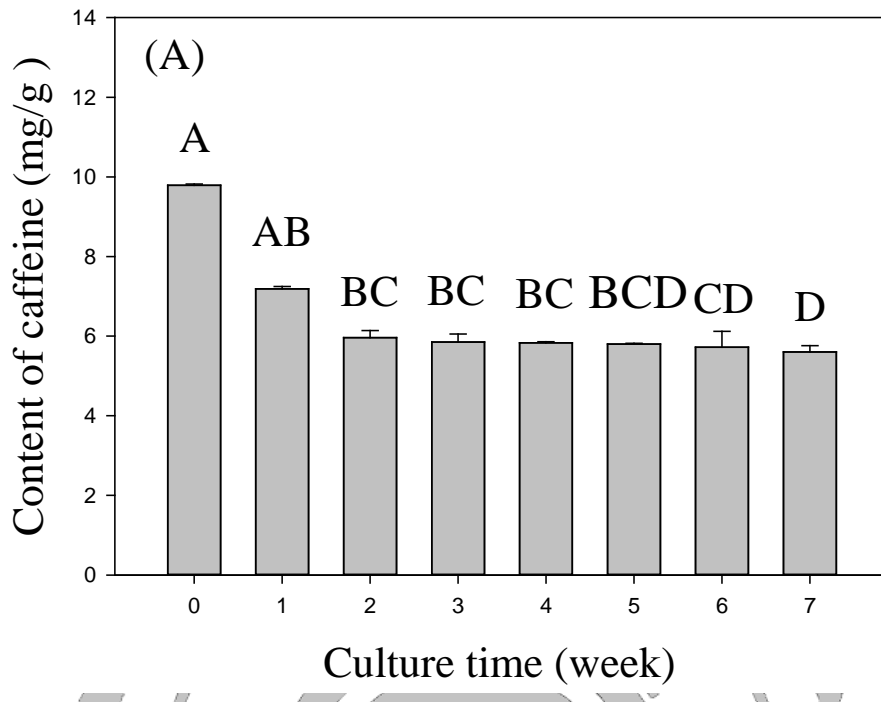
4. 綠原酸含量探討

由圖七及圖八可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中富含綠原酸，但隨著固態發酵培養時間之增加，其綠原酸含量會逐漸減少。在咖啡豆作為固態基質方面，經北蟲草固態發酵培養後，由圖七(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，綠原酸含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 24.72 mg/g (表四)，之後會逐步減少，在第7週綠原酸含量降到僅為 1.21 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基



圖五、漳州北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之咖啡因含量

Figure 5. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖六、漳州北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之咖啡因含量

Figure 6. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表三、漳州北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之咖啡因含量

Table 3. Content of coffeine from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

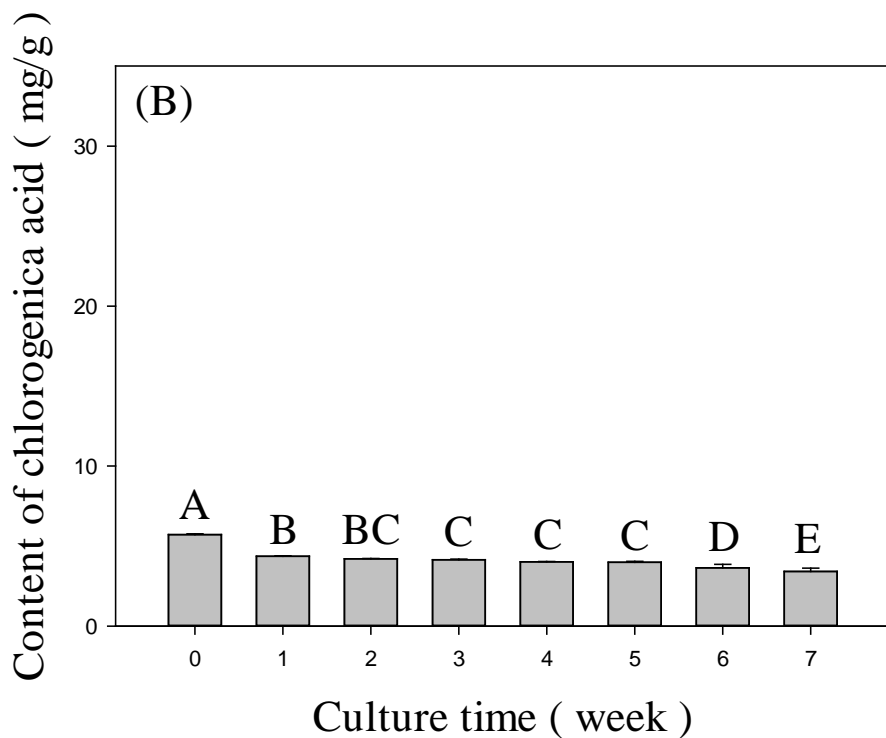
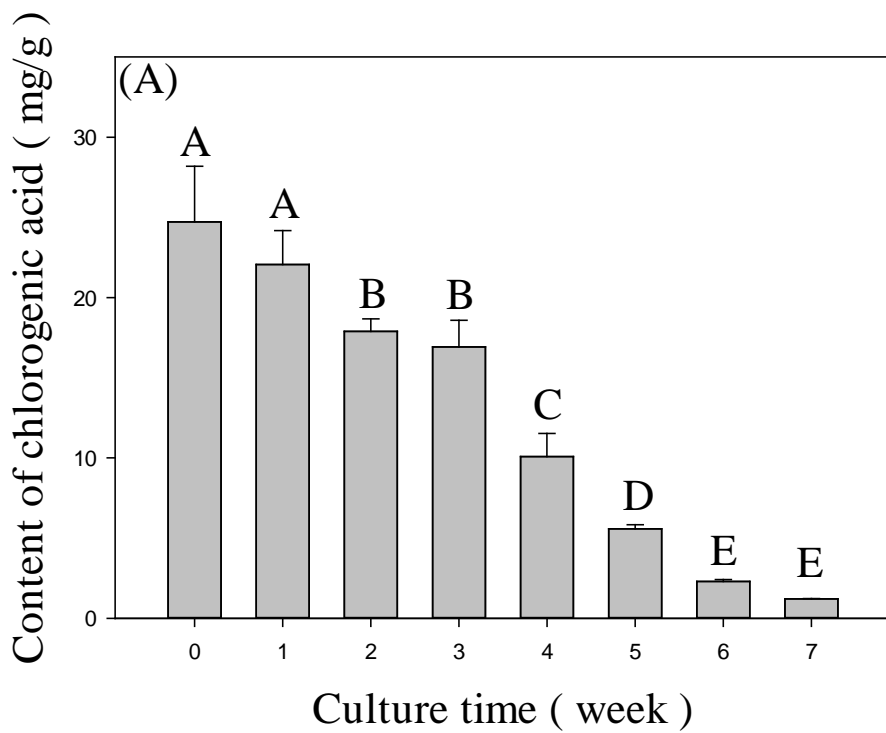
Caffeine Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	*A13.14 ± 1.12a#	A9.79 ± 0.23b	A5.59 ± 0.24c	A4.96 ± 0.37d
1	B11.05 ± 0.25a	B7.19 ± 0.06b	AB5.16 ± 0.02c	AB4.68 ± 0.28d
2	B10.97 ± 0.14a	C5.96 ± 0.18b	BC4.98 ± 0.01c	AB4.54 ± 0.26d
3	B10.81 ± 0.31a	C5.85 ± 0.20b	BC4.91 ± 0.01c	B4.41 ± 0.25d
4	B10.45 ± 0.18a	C5.83 ± 0.03b	BC4.89 ± 0.02c	B4.41 ± 0.13d
5	B10.15 ± 0.28a	C5.80 ± 0.02b	BCD4.67 ± 0.02c	B4.40 ± 0.21d
6	B9.98 ± 0.19a	C5.72 ± 0.40b	CD4.63 ± 0.04c	B4.31 ± 0.19d
7	C7.78 ± 1.02a	C5.60 ± 0.16b	D4.40 ± 0.28c	B4.29 ± 0.12c

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

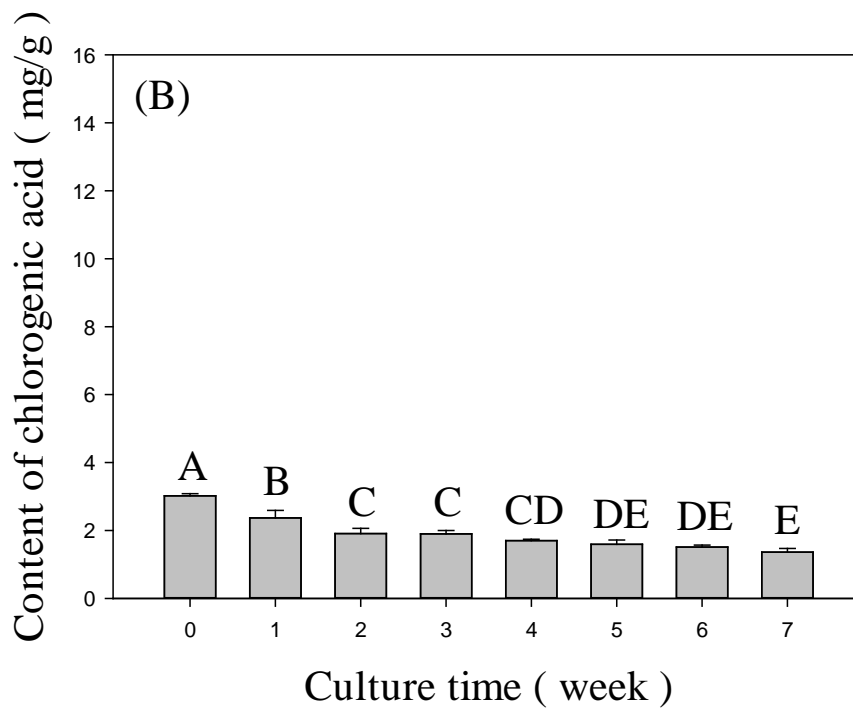
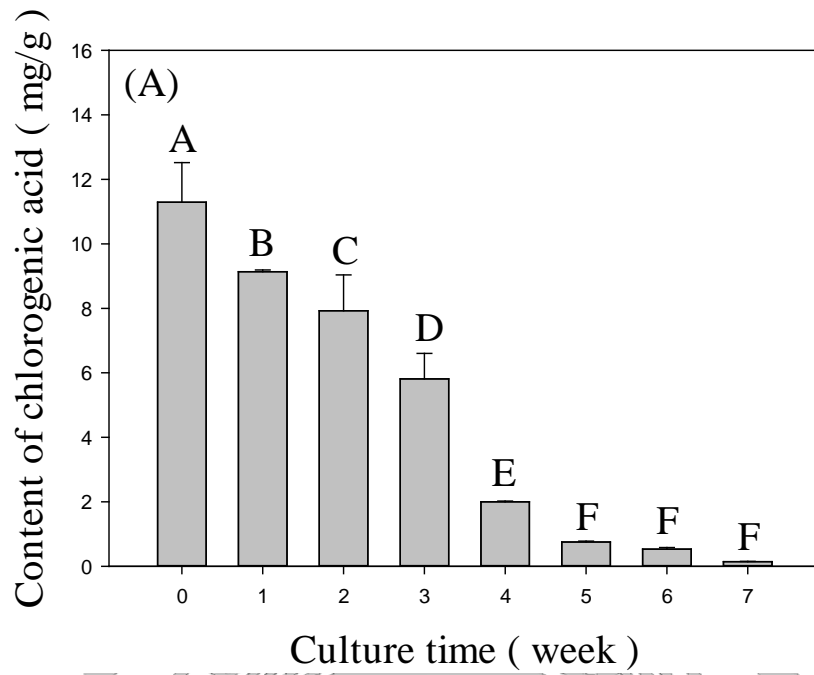
: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)



圖七、漳州北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之綠原酸含量

Figure 7. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented (A) arabica coffee bean and (B) coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖八、漳州北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之綠原酸含量

Figure 8. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖八(A)可知，綠原酸含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 11.29 mg/g，之後亦會逐步減少，在第7週綠原酸含量僅為 0.14 mg/g。由上述之結果可知，北蟲草進行咖啡豆固態發酵培養，綠原酸會被代謝利用轉換為其他物質，至於轉換為何物，則需日後進一步探討。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖七(B)及圖八(B)可發現，因為白米不含綠原酸，故綠原酸含量較單一咖啡豆基質來的少。由圖七(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，綠原酸含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 5.71mg/g(表四)，之後會緩慢減少，在第7週綠原酸含量降為 3.41 mg/g。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，綠原酸含量亦會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 3.02 mg/g(表四)，之後會緩慢減少，在第7週綠原酸含量會降為 1.36 mg/g。

綜上結果，咖啡豆及咖啡豆混米經北蟲草固態發酵培養後，在第7週綠原酸含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(3.41 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(1.36 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(1.21 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(0.14 mg/g)。

二、昆明品系之北蟲草

將昆明北蟲草品系菌絲分別接種於阿拉比卡豆、阿拉比卡豆混米(1:1)、羅布斯塔豆及羅布斯塔豆混米(1:1)固態基質中。每隔1週取樣，分析蟲草素、腺苷、咖啡因及綠原酸含量。

1. 蟲草素含量探討

由圖九及圖十可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中不含蟲草素，但隨著固態發酵培養時間之增加，其蟲草素含量會逐漸增加。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖九(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而微幅增加，在第7週會有最高量，為 0.26 mg/g(表五)。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖十(A)可知，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第七週會有最高量，為 2.65 mg/g。

表四、漳州北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之綠原酸含量

Table 4. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Chang Chou)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

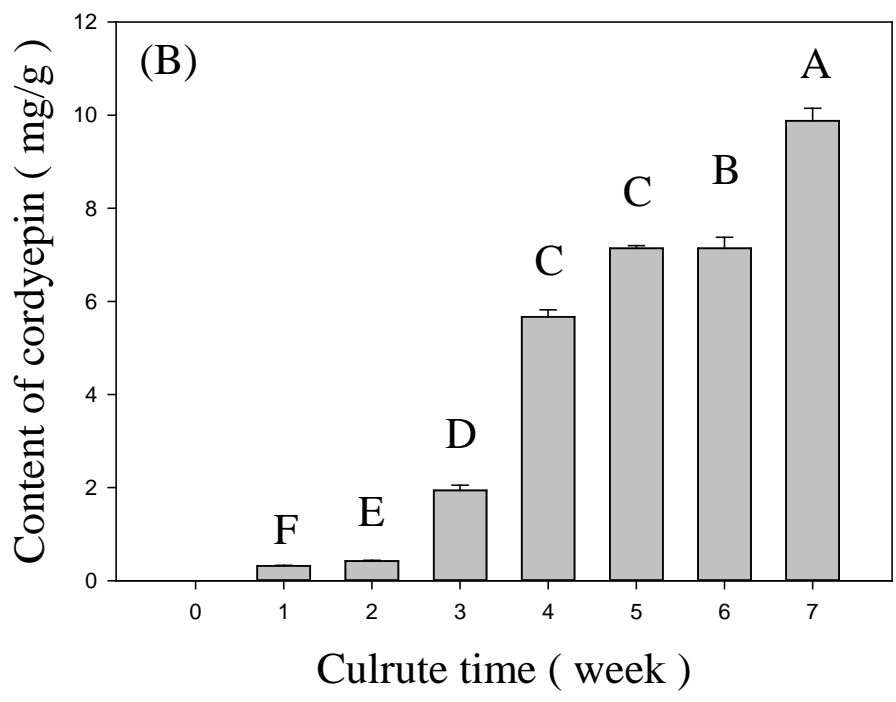
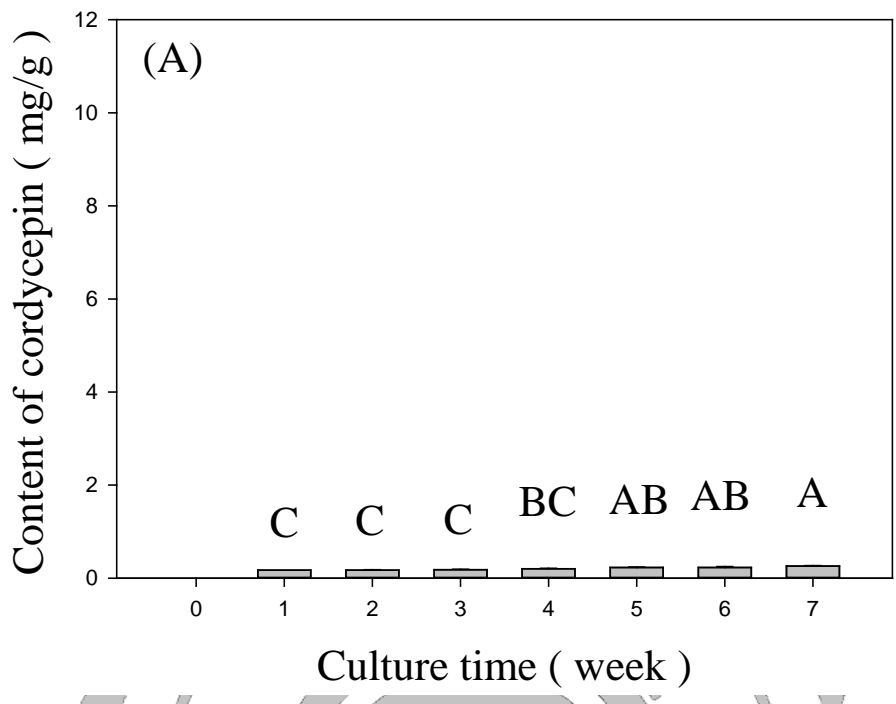
Chlorogenic acid Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	*A24.72 ± 3.47a#	A11.29 ± 1.23b	A5.71±0.05c	A3.02±0.06d
1	A22.06 ± 2.12a	B9.14 ± 0.05b	B4.36 ± 0.03c	B2.37 ± 0.22d
2	B17.90 ± 0.79a	C7.93 ± 1.11b	BC4.20 ± 0.02c	C1.91 ± 0.15d
3	B16.93 ± 1.66a	D5.81 ± 0.79b	C4.14 ± 0.04c	C1.90 ± 0.10d
4	C10.08 ± 1.44a	E2.00 ± 0.02c	C4.02 ± 0.02b	CD1.70 ± 0.04d
5	D5.58 ± 0.25a	F0.75 ± 0.03c	C3.99 ± 0.06b	DE1.59 ± 0.13d
6	E2.30 ± 0.12b	F0.53 ± 0.05d	D3.64 ± 0.22a	DE1.51 ± 0.06c
7	E1.21 ± 0.02b	F0.14±0.01c	E3.41 ± 0.21a	E1.36 ± 0.11b

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

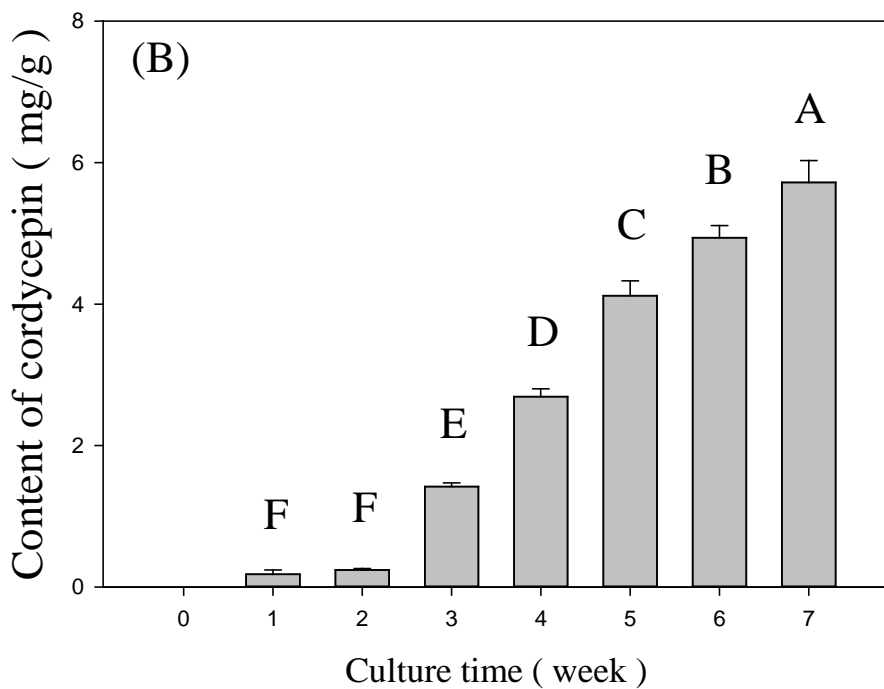
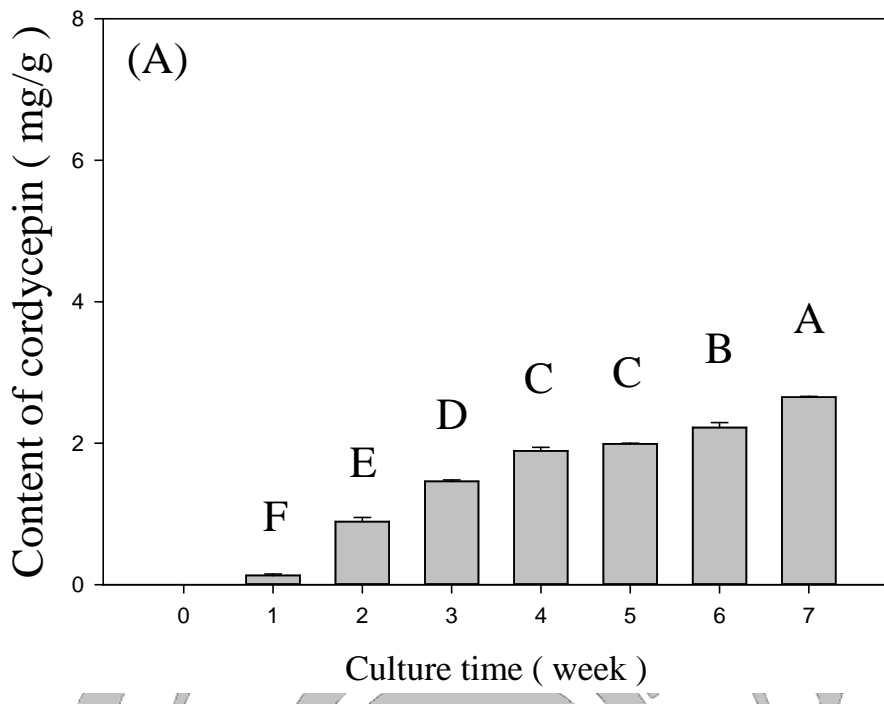
: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)



圖九、昆明北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之蟲草素含量

Figure 9. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖十、昆明北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之蟲草素含量

Figure 10. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表五、昆明北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之蟲草素含量

Table 5. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Cordycepin Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1	*C0.17 ± 0.00b#	F0.13 ± 0.02b	E0.32 ± 0.01a	F0.18 ± 0.06b
2	C0.17 ± 0.01c	E0.89 ± 0.06a	E0.42 ± 0.02b	F0.24 ± 0.02c
3	C0.18 ± 0.01c	D1.46 ± 0.02b	D1.94 ± 0.11a	E1.42 ± 0.05b
4	BC0.20 ± 0.01d	C1.89 ± 0.05c	C5.67 ± 0.15a	D2.69 ± 0.11b
5	AB0.23 ± 0.01d	C1.99 ± 0.01c	B7.14 ± 0.06a	C4.12 ± 0.21b
6	AB0.23 ± 0.02d	B2.22 ± 0.07c	B7.14 ± 0.24a	B4.94 ± 0.17b
7	A0.26 ± 0.01d	A2.65 ± 0.01c	A9.88 ± 0.27a	A5.72 ± 0.31b

*: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖九(B)及圖十(B)可發現，蟲草素含量遠比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之生長，有利蟲草素的生成。由圖九(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 9.88 mg/g (表五)。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量亦會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 5.72 mg/g (表五)。

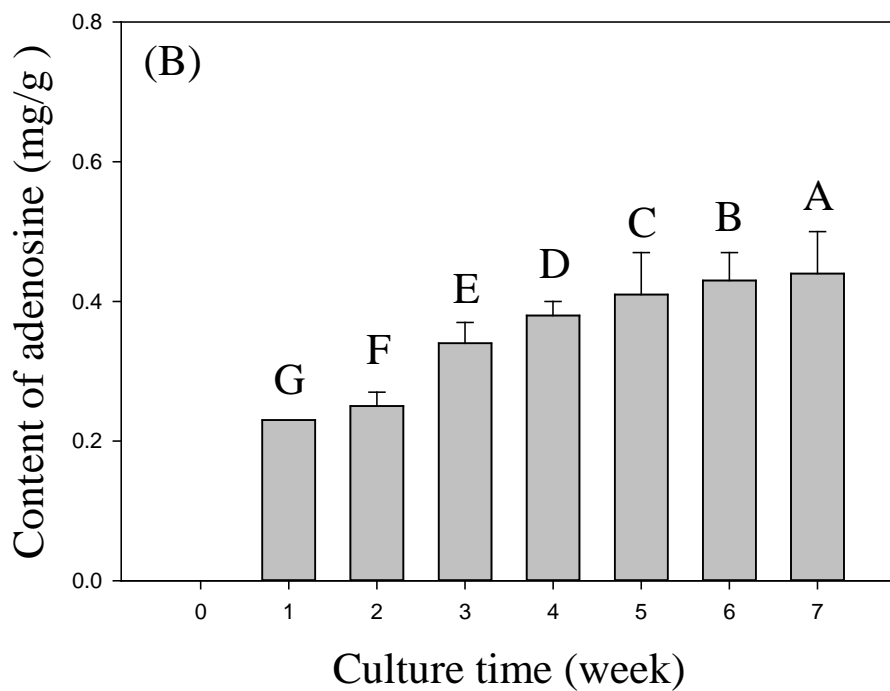
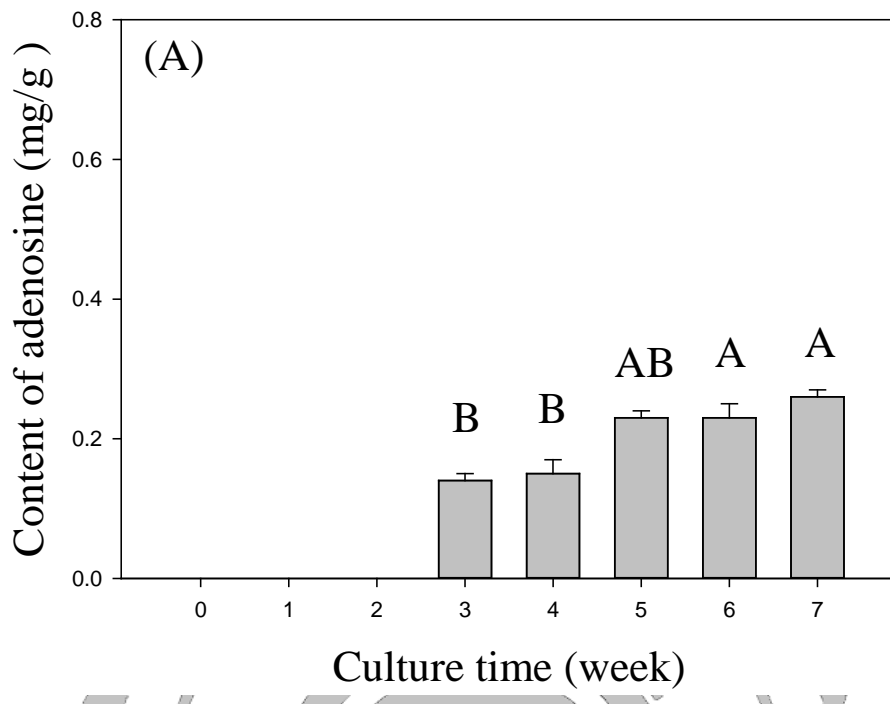
由上述結果可知，固態基質米比咖啡豆更適合蟲草素之生成，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(9.88 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(5.72 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(2.65 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(0.26 mg/g)。

2. 腺苷含量探討

由圖十一及圖十二可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中不含腺苷，但隨著固態發酵培養時間之增加，其腺苷含量會逐漸增加。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖十一(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 0.26 mg/g (表六)。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖十二(A)可知，腺苷量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 0.26 mg/g。

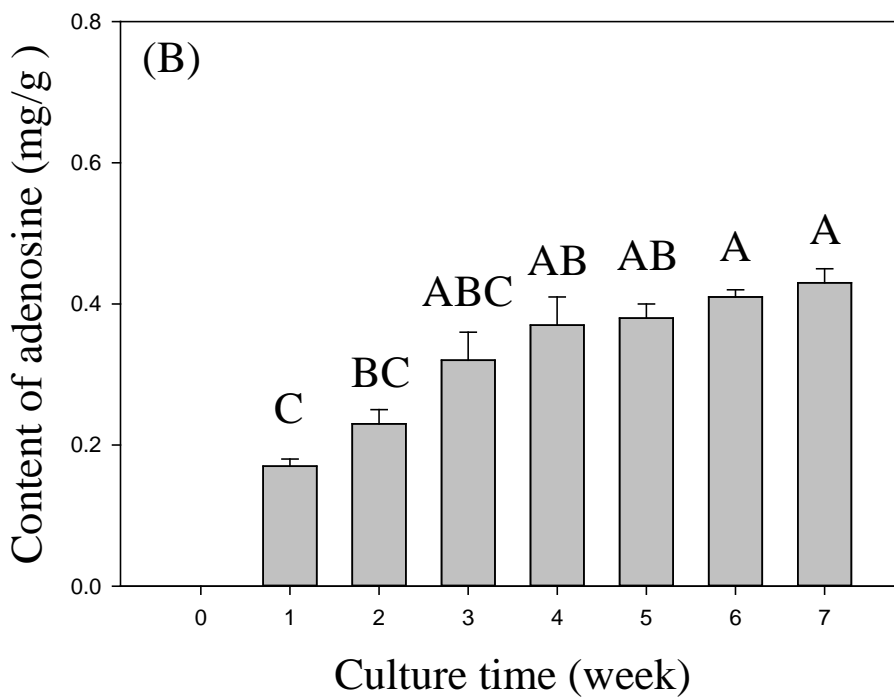
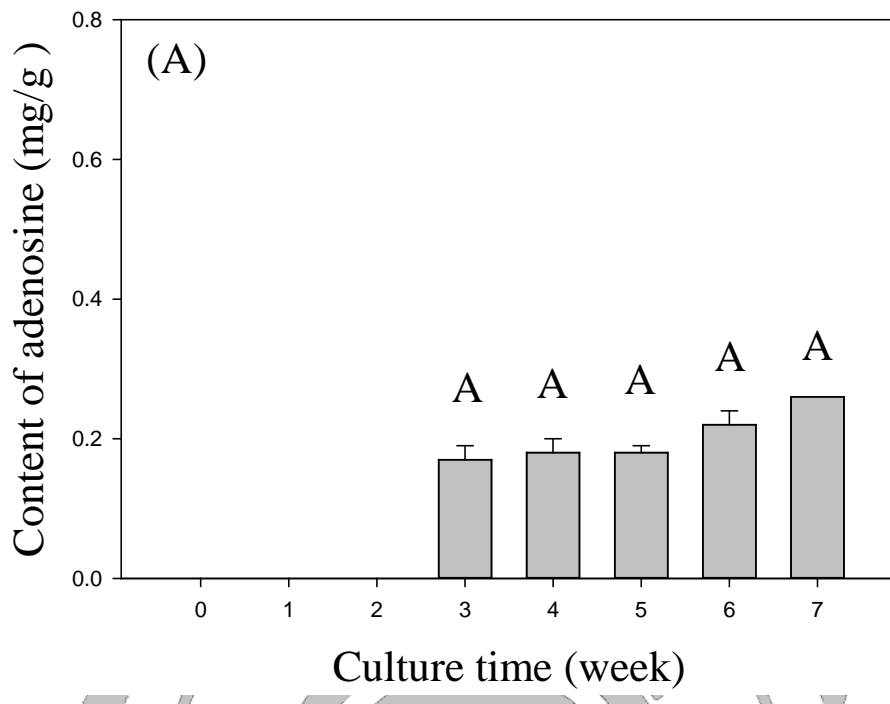
在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖十一(B)及圖十二(B)可發現，腺苷含量遠比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之生長，有利腺苷的生成。由圖十一(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 0.44 mg/g (表六)。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量亦會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 0.54 mg/g (表六)。

由上述結果可知，固態基質米比咖啡豆更適合腺苷之生成，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(0.54 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(0.44 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(0.26 mg/g) \cong 阿拉比卡咖啡豆基質(0.26 mg/g)。



圖十一、昆明北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之腺苷含量

Figure 11. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖十二、昆明北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之腺苷含量

Figure 12. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表六、昆明北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之腺苷含量

Table 6. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Adenosine Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1	N.D.	N.D.	G0.23 ± 0.00	C0.23 ± 0.02
2	N.D.	N.D.	F0.25 ± 0.02	BC0.25 ± 0.01
3	*B0.14 ± 0.01d#	A0.17 ± 0.02c	E0.34 ± 0.03a	BC0.26 ± 0.03b
4	B0.15 ± 0.02d	A0.18 ± 0.02c	D0.38 ± 0.02b	AB0.41 ± 0.03a
5	AB0.23 ± 0.01c	A0.18 ± 0.01d	C0.41 ± 0.06b	A0.46 ± 0.02a
6	A0.23 ± 0.02c	A0.22 ± 0.02c	B0.43 ± 0.04b	A0.47 ± 0.01a
7	A0.26 ± 0.01c	A0.26 ± 0.00c	A0.44 ± 0.06b	A0.54 ± 0.02a

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

3. 咖啡因含量探討

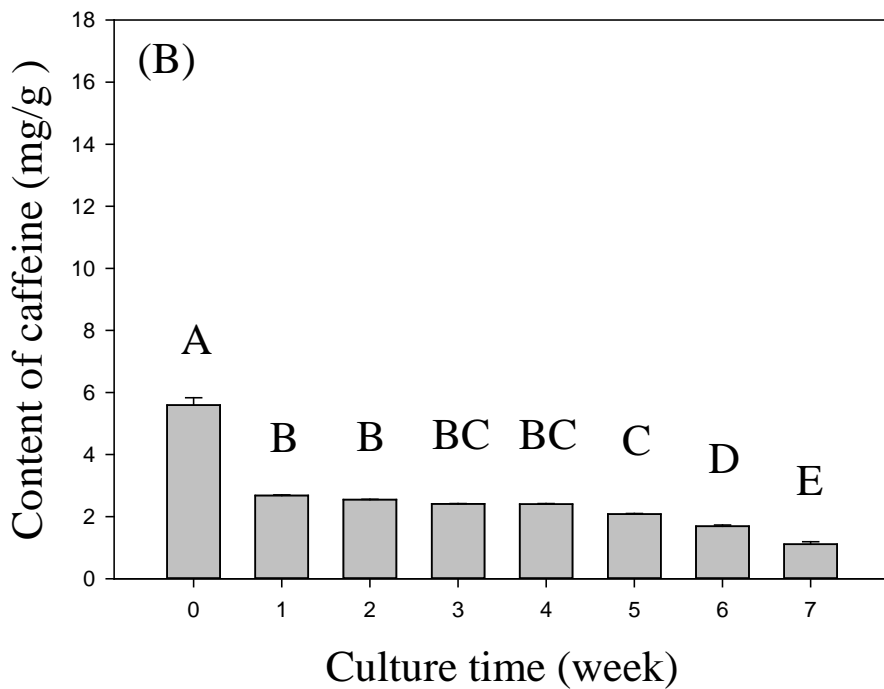
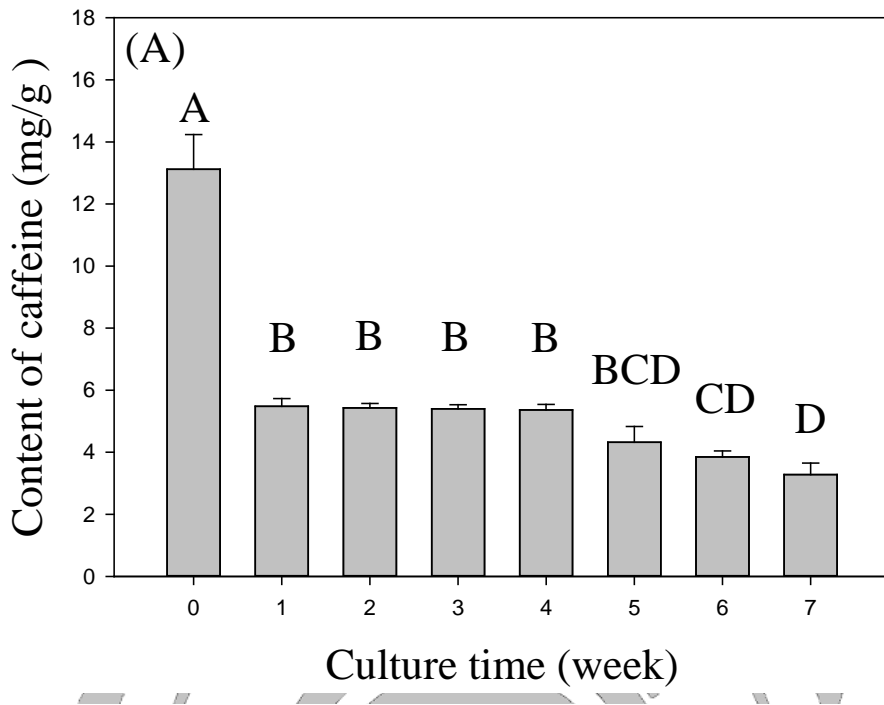
由圖十三及圖十四可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中富含咖啡因，但隨著固態發酵培養時間之增加，其咖啡因含量會逐漸減少。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖十三(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 13.14 mg/g (表七)，之後會逐步減少，在第7週咖啡因含量降為 3.28 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖十四(A)可知，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 9.79 mg/g，之後亦會逐步減少，在第7週咖啡因含量為 2.92 mg/g。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖十三(B)及圖十四(B)可發現，因為白米不含咖啡因，固咖啡因含量較單一咖啡豆基質來的少。由圖五(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 5.59 mg/g (表七)，之後會逐步減少，在第7週咖啡因含量降為 1.11 mg/g。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量亦會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 4.96 mg/g (表七)，之後會緩慢減少，在第7週咖啡因含量降為 1.22 mg/g。

由上述結果可知，單一咖啡豆基質會留下較多的咖啡因含量，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆基質(3.28 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(2.92 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(1.22 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆混米基質(1.11 mg/g)。

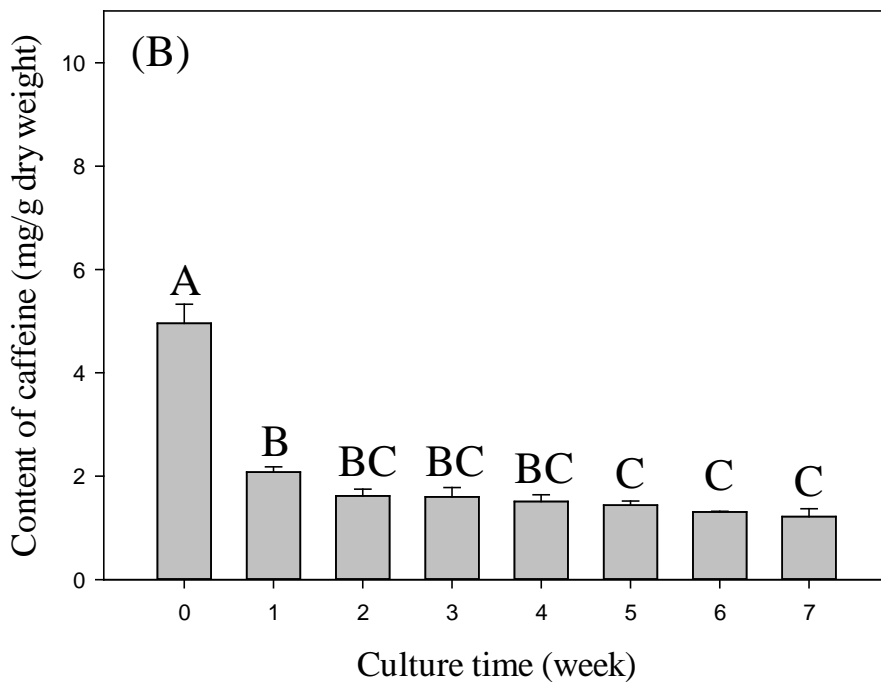
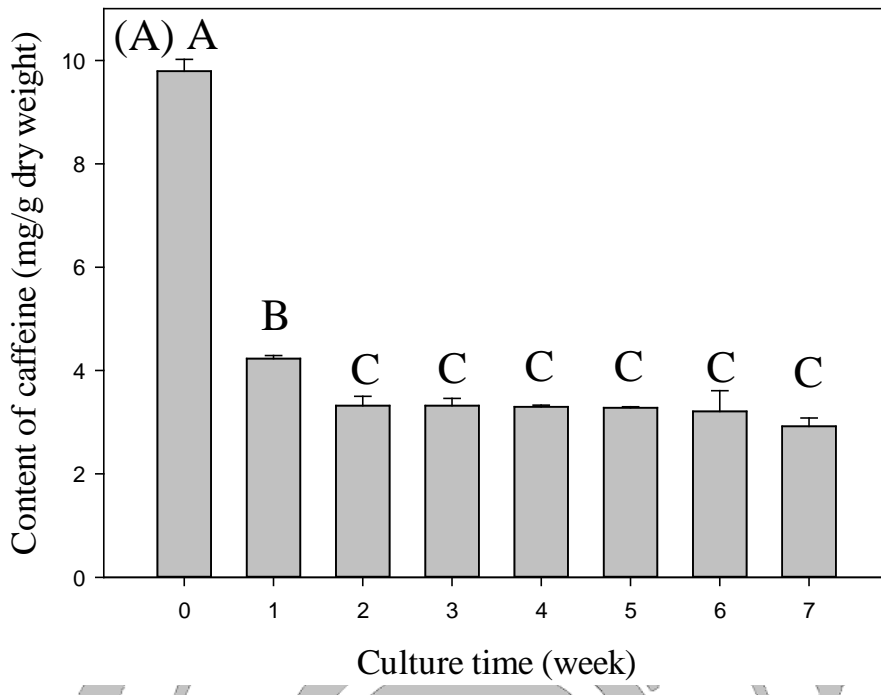
4. 綠原酸含量探討

由圖十五及圖十六可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中富含綠原酸，但隨著固態發酵培養時間之增加，其綠原酸含量會逐漸減少。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖十五(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 24.72 mg/g (表八)，之後會逐步減少，在第7週咖啡因含量降至僅為 0.23 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖(十六)可知，綠原酸含量會隨培養週



圖十三、昆明北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之咖啡因含量

Figure 13. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



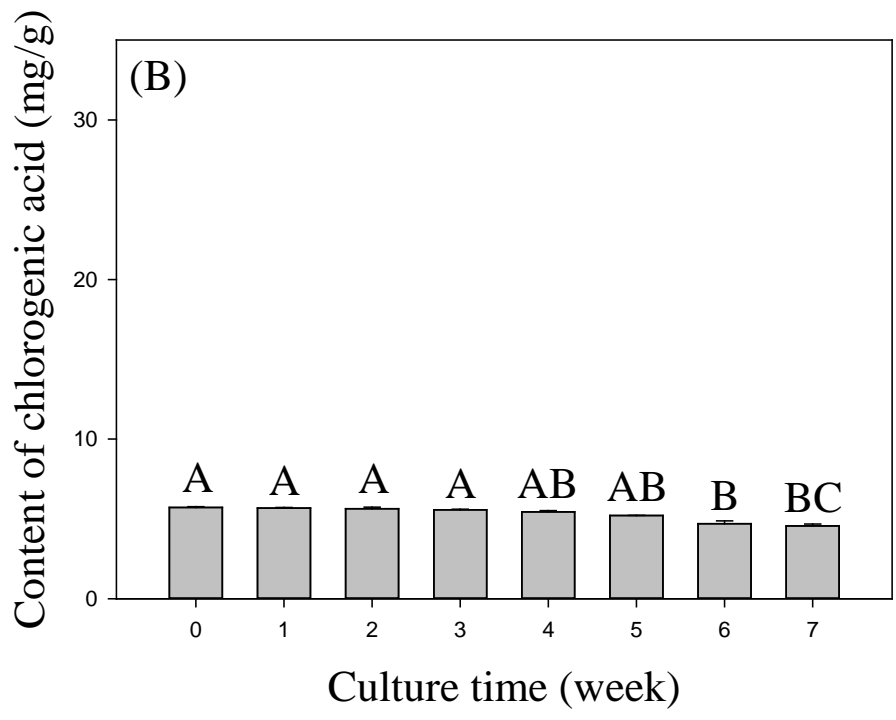
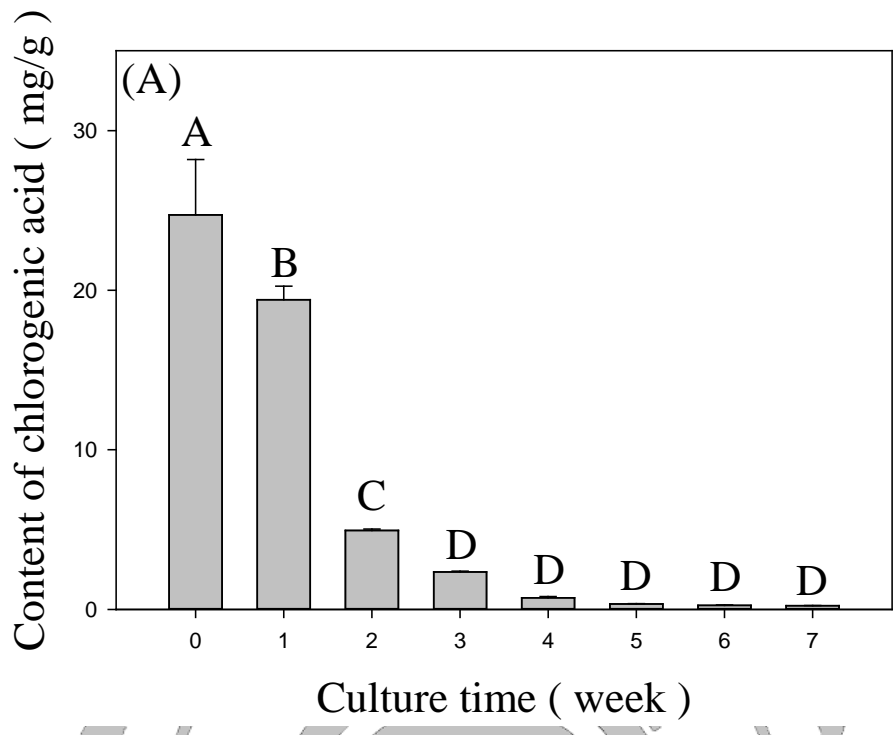
圖十四、昆明北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔：米=1:1)之咖啡因含量

Figure 14. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表七、昆明北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之咖啡因含量
 Table 7. Content caffeine from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

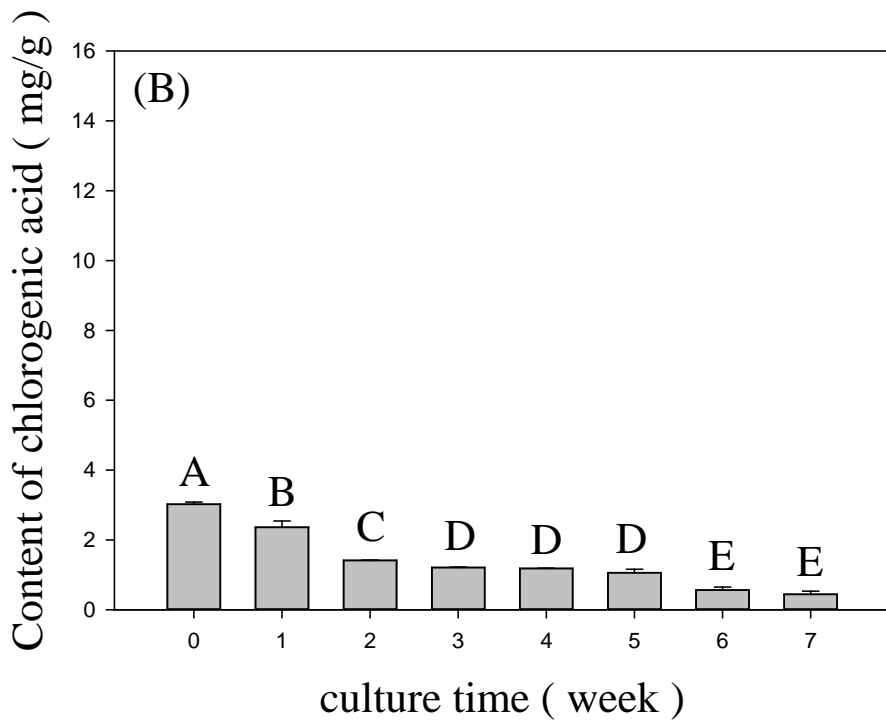
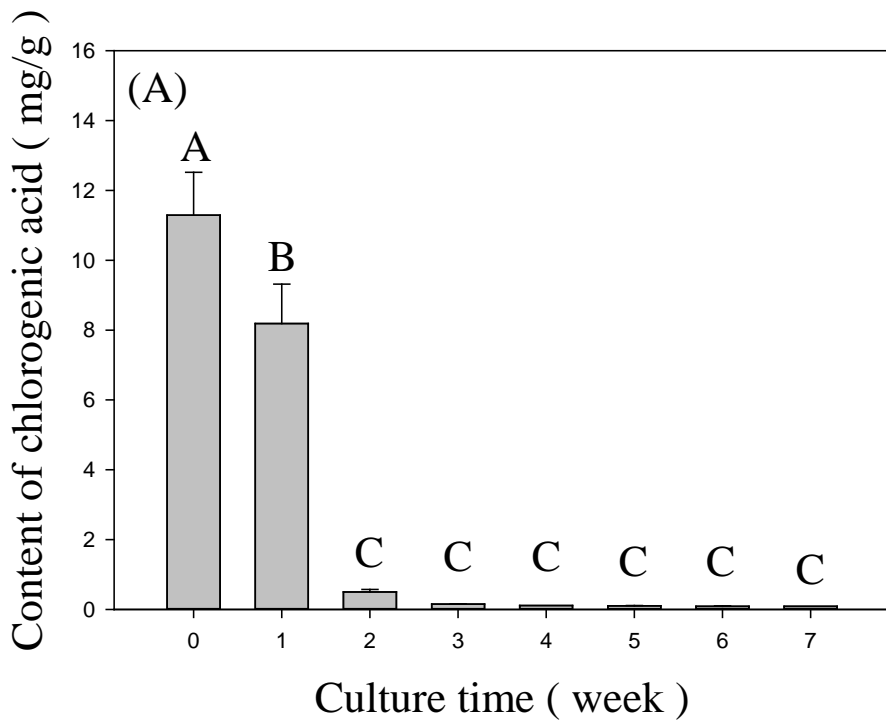
Caffeine Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	*A13.14 ± 1.12a#	A9.79 ± 0.23b	A5.59 ± 0.24c	A4.96 ± 0.37d
1	B5.48 ± 0.25a	B4.23 ± 0.06b	B2.68 ± 0.02c	B2.08 ± 0.10d
2	B5.43 ± 0.14a	C3.32 ± 0.18b	B2.55 ± 0.01c	C1.62 ± 0.13d
3	B5.40 ± 0.13a	C3.32 ± 0.14b	BC2.41 ± 0.01c	C1.60 ± 0.18d
4	B5.36 ± 0.18a	C3.30 ± 0.03b	BC2.40 ± 0.02c	C1.51 ± 0.13d
5	BCD4.32 ± 0.51a	C3.28 ± 0.02b	C2.08 ± 0.02c	C1.44 ± 0.08d
6	CD3.85 ± 0.19a	C3.21 ± 0.40b	D1.69 ± 0.04c	C1.31 ± 0.01d
7	D3.28 ± 0.37a	C2.92 ± 0.16b	E1.11 ± 0.08d	C1.22 ± 0.15c

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)
 Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)
 # : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)
 Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)



圖十五、昆明北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之綠原酸含量

Figure 15. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖十六、昆明北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之綠原酸含量

Figure 16. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表八、昆明北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之綠原酸含量

Table 8. Content chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Kun Ming)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Chlorogenic acid Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	*A24.72 ± 3.47a#	A11.29 ± 1.23b	A5.71 ± 0.05c	A3.02 ± 0.06d
1	B19.41 ± 0.85a	B8.19 ± 1.13b	A5.68 ± 0.03c	B2.36 ± 0.18d
2	C4.94 ± 0.09b	C0.50 ± 0.07d	A5.64 ± 0.09a	C1.41 ± 0.01c
3	D2.35 ± 0.05b	C0.15 ± 0.01d	A5.57 ± 0.04a	D1.21 ± 0.01c
4	D0.73 ± 0.08c	C0.11 ± 0.00d	AB5.44 ± 0.08a	D1.18 ± 0.10b
5	D0.34 ± 0.02c	C0.10 ± 0.01d	AB5.21 ± 0.01a	D1.06 ± 0.10b
6	D0.25 ± 0.03c	C0.09 ± 0.01d	B4.70 ± 0.18a	E0.56 ± 0.09b
7	D0.23 ± 0.01c	C0.09 ± 0.00d	C4.56 ± 0.12a	E0.44 ± 0.09b

*: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

#: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

數增加而減少，在第 0 週會有最高量，為 11.29 mg/g，之後亦會逐步減少，在第 7 週綠原酸含量僅剩 0.09 mg/g。在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖十五(B)及圖十六(B)可發現，因為白米不含綠原酸，故綠原酸含量較單一咖啡豆基質來的少。由圖十五(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，綠原酸含量會隨培養週數增加而減少，在第 0 週會有最高量，為 5.71mg/g(表八)，之後會緩慢減少，在第 7 週綠原酸含量降為 4.56 mg/g。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，綠原酸含量亦會隨培養週數增加而減少，在第 0 週會有最高量，為 3.02 mg/g(表八)，之後會逐步減少，在第 7 週咖啡因含量降至僅為 0.44 mg/g。

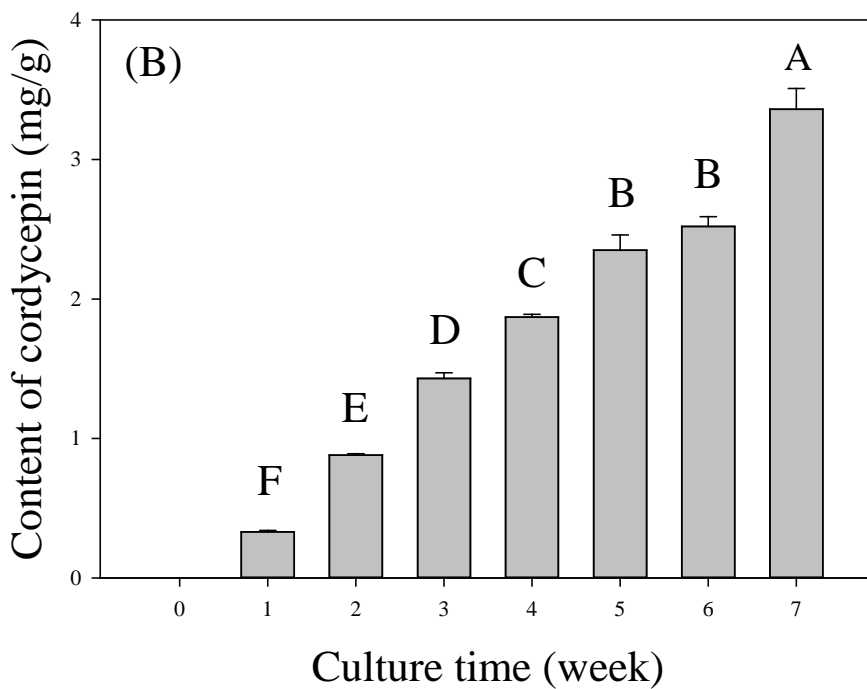
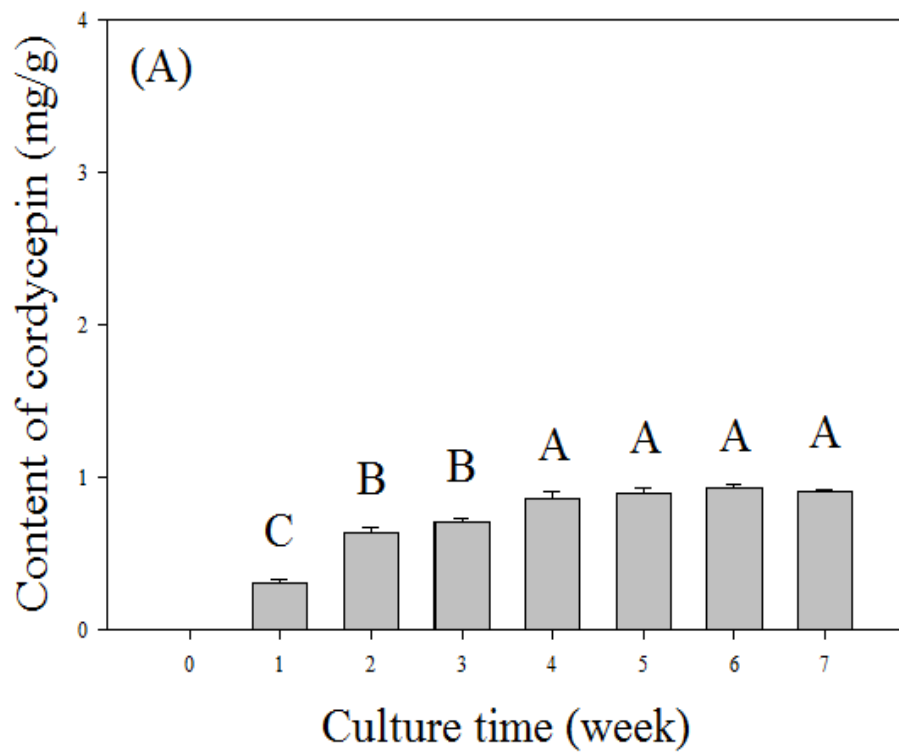
由上述結果可知，咖啡豆及咖啡豆混米固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，在第 7 週時綠原酸含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(4.56 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(0.44 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(0.23 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(0.09 mg/g)。

三、江蘇品系之北蟲草

將江蘇北蟲草品系菌絲分別接種於阿拉比卡豆、阿拉比卡豆混米(1:1)、羅布斯塔豆及羅布斯塔豆混米(1:1)固態基質中。每隔 1 週取樣，分析蟲草素、腺苷、咖啡因及綠原酸含量。

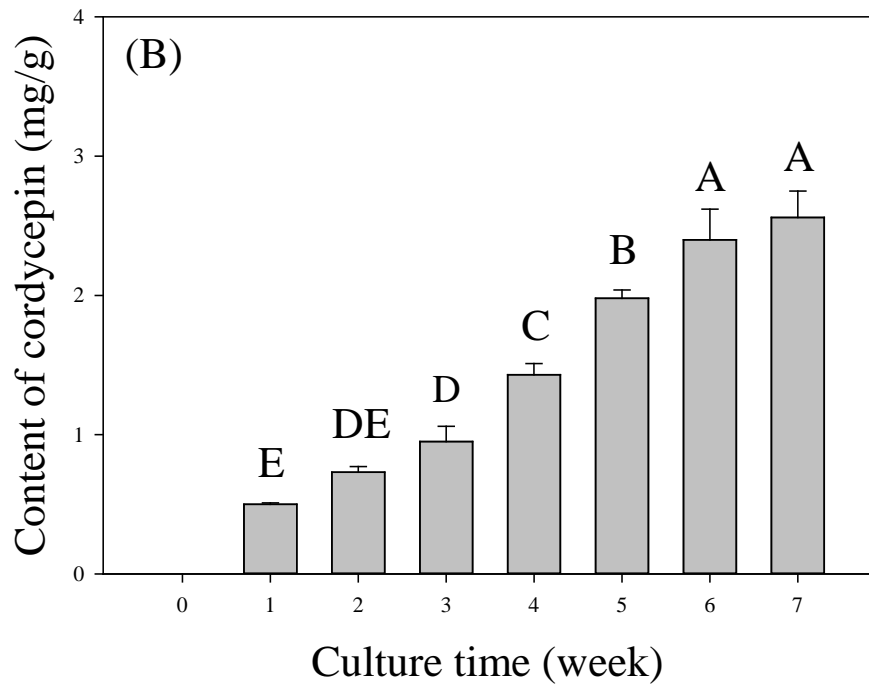
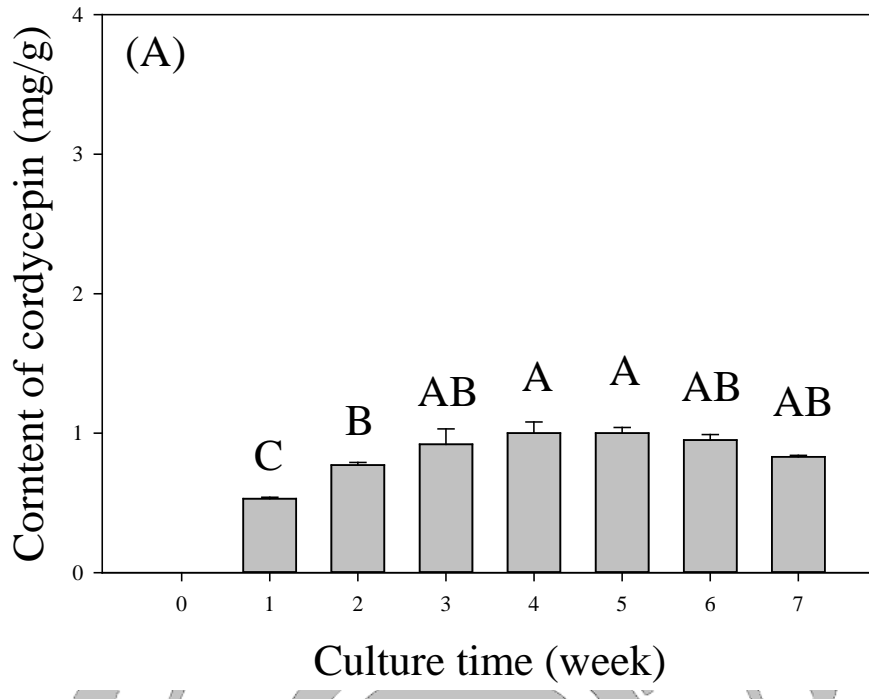
1. 蟲草素含量探討

由圖十七及圖十八可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中不含蟲草素，但隨著固態發酵培養時間之增加，其蟲草素含量會逐漸增加。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖十七(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第 6 週會有最高量，為 0.93 mg/g(表九)，之後會緩慢減少，在第 7 週蟲草素含量略降為 0.91 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖十八(A)可知，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第四週會有最高量，為 1.00 mg/g，之後會緩慢減少，在第 7 週蟲草素含量降為 0.83 mg/g。



圖十七、江蘇北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之蟲草素含量

Figure 17. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabic coffee bean : Rice =1:1)



圖十八、江蘇北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔：米=1:1)之蟲草素含量

Figure 18. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表九、江蘇北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之蟲草素含量

Table 9. Content cordycepin from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Cordycepin Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1	*C0.31 ± 0.02b#	C0.53 ± 0.01a	F0.33 ± 0.01b	E0.50 ± 0.01a
2	B0.64 ± 0.03c	B0.77 ± 0.02b	E0.88 ± 0.01a	DE0.73 ± 0.04bc
3	B0.71 ± 0.02b	AB0.92 ± 0.11b	D1.43 ± 0.04a	D0.95 ± 0.11b
4	A0.86 ± 0.05c	A1.00 ± 0.08c	C1.87 ± 0.02a	C1.43 ± 0.08b
5	A0.90 ± 0.03c	A1.00 ± 0.04c	B2.35 ± 0.11a	B1.98 ± 0.06b
6	A0.93 ± 0.02b	AB0.95 ± 0.04b	B2.52 ± 0.07a	A2.40 ± 0.22a
7	A0.91 ± 0.01c	AB0.83 ± 0.01c	A3.36 ± 0.15a	A2.56 ± 0.19b

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

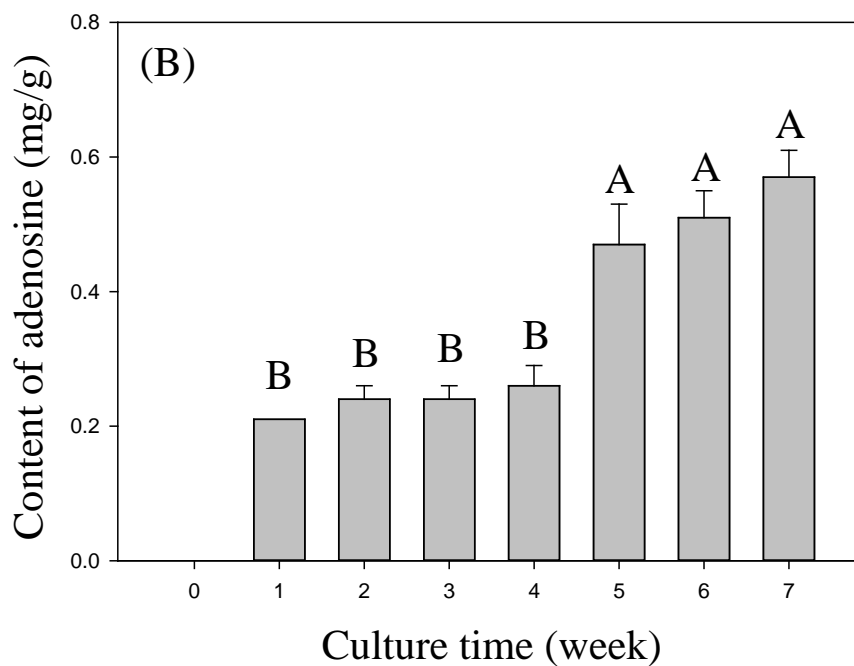
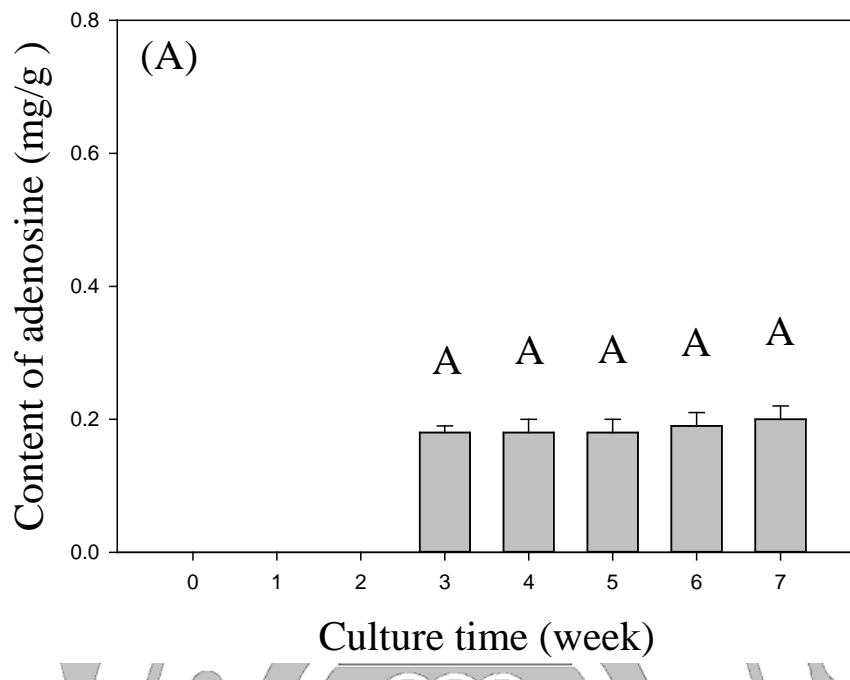
在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖十七(B)及圖十八(B)可發現，蟲草素含量遠比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之生長，有利蟲草素的生成。由圖十七(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 3.36 mg/g (表九)。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量亦會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 2.56 mg/g，但與第6週並無統計差異(2.40 mg/g) (表九)。

由上述結果可知，固態基質米比咖啡豆更適合蟲草素之生成，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(3.36 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(2.56 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(0.91 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(0.83 mg/g)。

2.腺苷含量探討

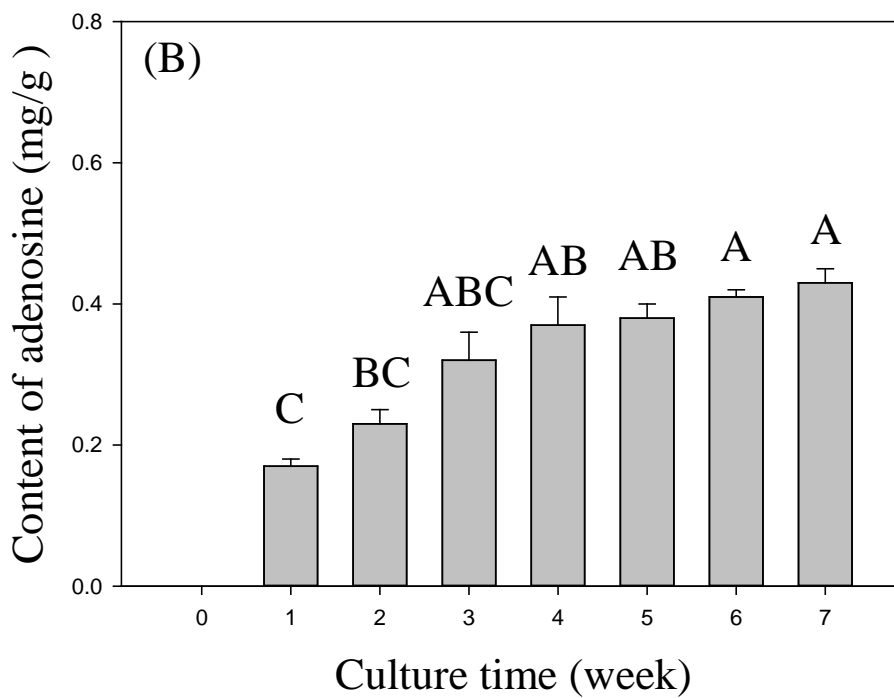
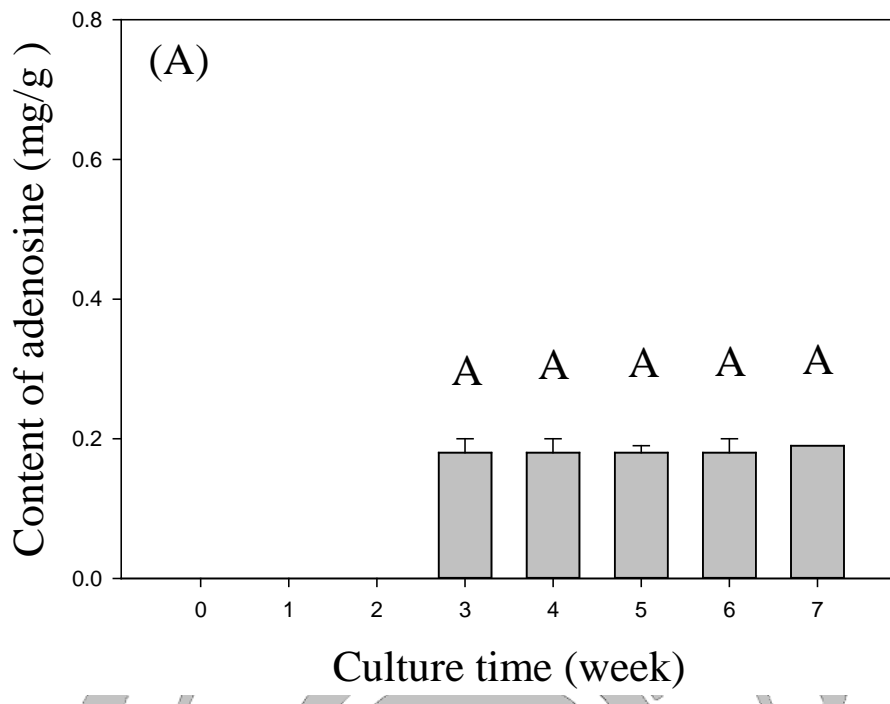
由圖十九及圖二十可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中不含腺苷，但隨著固態發酵培養時間之增加，其腺苷含量會逐漸增加。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖十九(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 0.20 mg/g (表十)，但與第3~6週腺苷含量(0.18-0.19 mg)並無統計差異。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖二十(A)可知，腺苷量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 0.19 mg/g，但與第3~6週腺苷含量(0.18 mg/g)並無統計差異。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖十九(B)及圖二十(B)可發現，腺苷含量遠比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之生長，有利腺苷的生成。由圖十九(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為 0.57 mg/g (表十)，但與第5-6週腺苷含量(0.47-0.51 mg/g)並無統計差異。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量亦會隨培養週數增加而增加，



圖十九、江蘇北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之腺苷含量

Figure 19. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabic coffee bean : Rice =1:1)



圖二十、江蘇北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之腺苷含量

Figure 19. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表 十、江蘇北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之腺苷含量

Table 10. Content adenosine from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Adenosine Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1	N.D.	N.D.	B0.21 ± 0.00	C0.17 ± 0.01
2	N.D.	N.D.	B0.24 ± 0.02	BC0.23 ± 0.02
3	*A0.18 ± 0.01b#	A0.18 ± 0.02b	B0.24 ± 0.02ab	ABC0.32 ± 0.04a
4	A0.18 ± 0.02b	A0.18 ± 0.02b	B0.26 ± 0.03ab	AB0.37 ± 0.04a
5	A0.18 ± 0.02b	A0.18 ± 0.01b	A0.47 ± 0.06a	AB0.38 ± 0.02a
6	A0.19 ± 0.02b	A0.18 ± 0.02b	A0.51 ± 0.04a	A0.41 ± 0.01a
7	A0.20 ± 0.02c	A0.19 ± 0.00c	A0.57 ± 0.04a	A0.43 ± 0.02b

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

在第7週會有最高量，為0.43 mg/g (表十)，但與第3-6週腺苷含量(0.32-0.41 mg/g)並無統計差異。

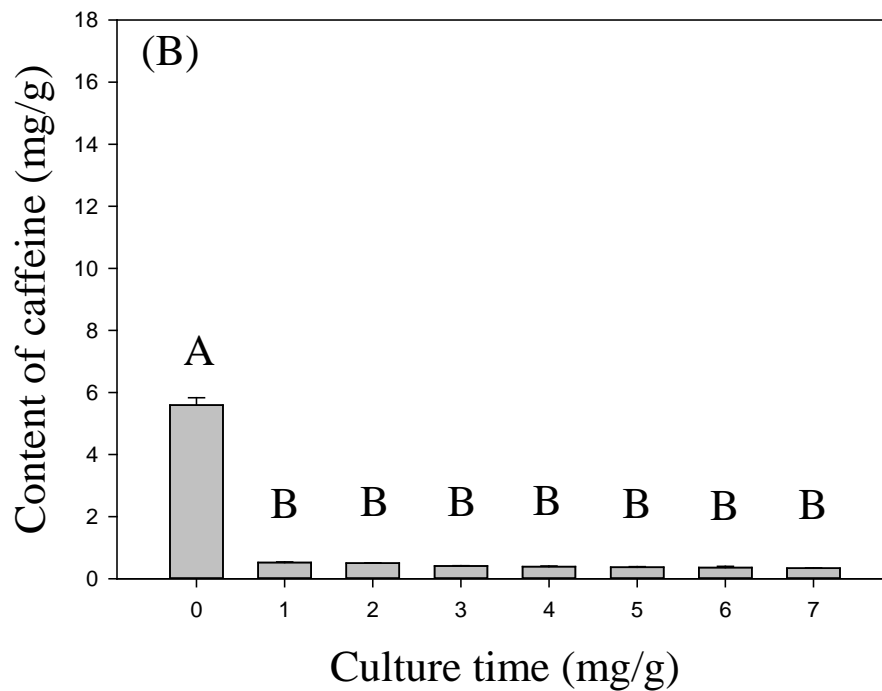
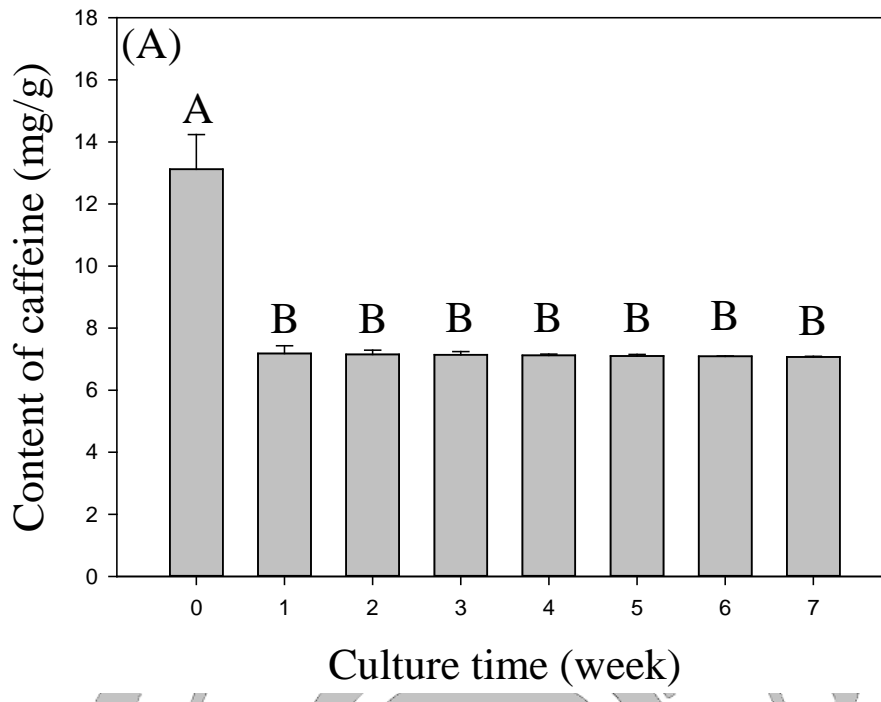
由上述結果可知，固態基質米比咖啡豆更適合腺苷之生成，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(0.57 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(0.43 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(0.20 mg/g) \cong 羅布斯塔咖啡豆基質(0.19 mg/g)。

3. 咖啡因含量探討

由圖二十一及圖二十二可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中富含咖啡因，但隨著固態發酵培養時間之增加，其咖啡因含量會逐漸減少。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖二十一(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為13.14 mg/g (表十一)，之後會逐步減少，在第7週咖啡因含量降為7.07 mg/g，但與第1-6週咖啡因含量(7.09-7.18 mg/g)並無顯著差異。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖二十二(A)可知，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為9.79 mg/g，之後亦會逐步減少，在第7週咖啡因含量為4.36 mg/g，但與第1-6週咖啡因含量(4.44-4.83 mg/g)並無顯著差異。

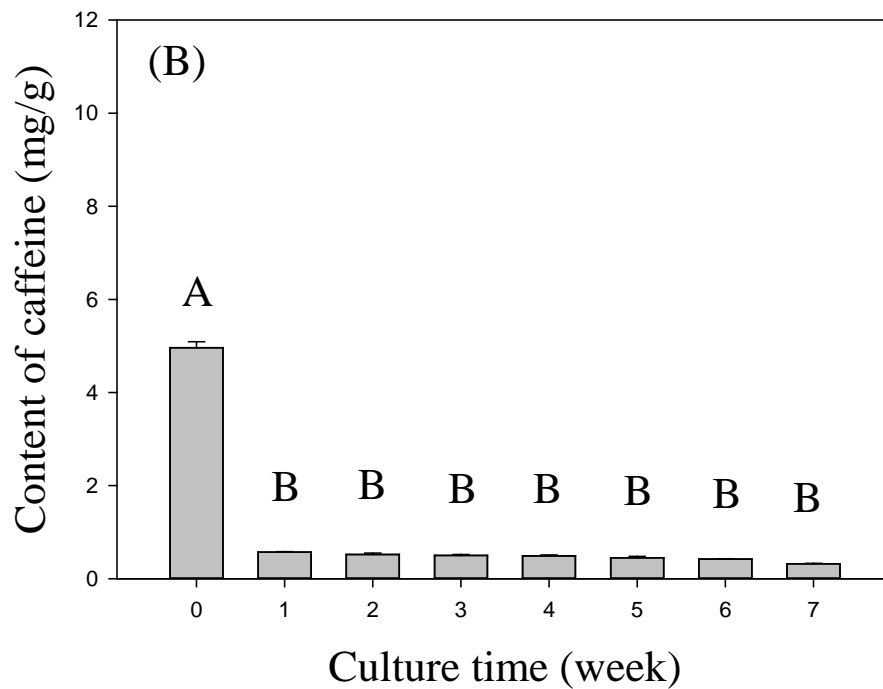
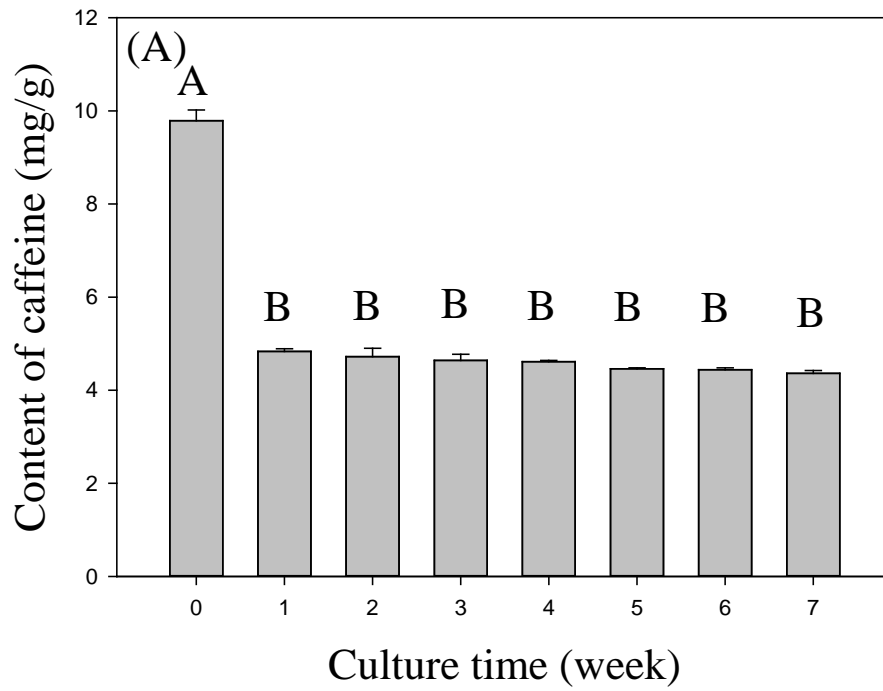
在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖二十一(B)及圖二十二(B)可發現，因為白米不含咖啡因，故咖啡因含量較單一咖啡豆基質來的少。由圖二十一(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為5.59 mg/g (表十一)，之後會緩慢減少，在第7週咖啡因含量降為0.34 mg/g，但與第1-6週咖啡因含量(0.36-0.52 mg/g)並無顯著差異。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量亦會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為4.96 mg/g (表十一)，之後會緩慢減少，在第7週咖啡因含量降為0.32 mg/g，但與第1-6週咖啡因含量(0.42-0.57 mg/g)並無顯著差異。

由上述結果可知，無論咖啡豆及咖啡豆混米固態基質，經江蘇品系之北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量在第一週會迅速減少，之後幾週則變化不大，此奇



圖二十一、江蘇北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之咖啡因含量

Figure 21. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖二十二、江蘇北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之咖啡因含量

Figure 22. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表 十一、江蘇北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之咖啡因含量

Table 11. Content of coffeine from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Caffeine Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	*A13.14 ± 1.12a#	A9.79 ± 0.23b	A5.59 ± 0.24c	A4.96 ± 0.13d
1	B7.18 ± 0.25a	B4.83 ± 0.06b	B0.52 ± 0.02c	B0.57 ± 0.10c
2	B7.15 ± 0.14a	B4.72 ± 0.18b	B0.50 ± 0.01c	B0.52 ± 0.53c
3	B7.14 ± 0.10a	B4.64 ± 0.13b	B0.41 ± 0.01c	B0.50 ± 0.18c
4	B7.12 ± 0.04a	B4.61 ± 0.03b	B0.39 ± 0.02c	B0.49 ± 0.13c
5	B7.10 ± 0.05a	B4.46 ± 0.02b	B0.37 ± 0.02c	B0.45 ± 0.50c
6	B7.09 ± 0.01a	B4.44 ± 0.04b	B0.36 ± 0.04c	B0.42 ± 0.01c
7	B7.07 ± 0.02a	B4.36 ± 0.06b	B0.34 ± 0.01c	B0.32 ± 0.15c

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

特現象值得日後進一步探討。

由上述結果可知，單一咖啡豆基質會留下較多的咖啡因含量，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆基質(7.07 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(4.36 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆混米基質(0.34 mg/g) \cong 羅布斯塔咖啡豆混米基質(0.32 mg/g)。

4. 綠原酸含量探討

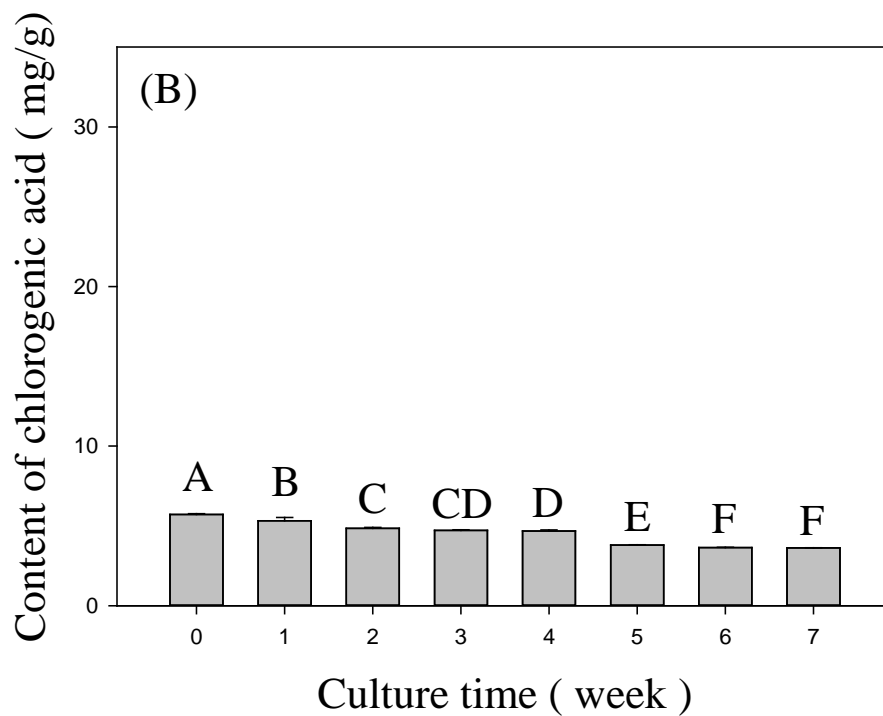
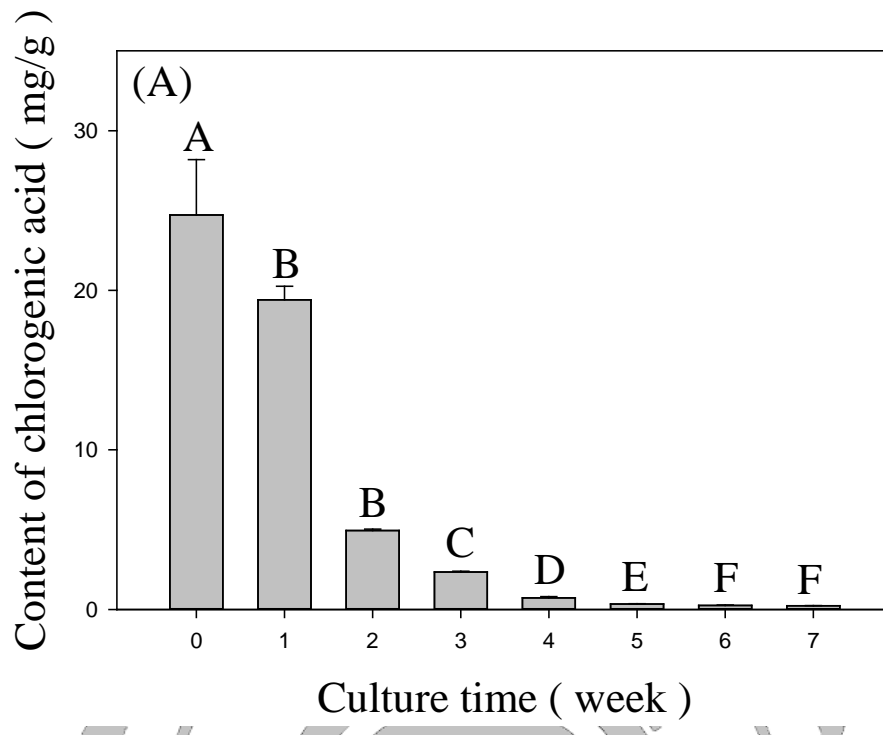
由圖二十三及圖二十四可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中富含綠原酸，但隨著固態發酵培養時間之增加，其綠原酸含量會逐漸減少。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖二十三(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 24.72 mg/g (表十二)，之後會緩慢減少，在第7週咖啡因含量降為 1.21 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖二十四(A)可知，綠原酸含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 11.29 mg/g，之後亦會緩慢減少，在第7週綠原酸含量為 0.09 mg/g。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖二十三(B)及圖二十四(B)可發現，因為白米不含綠原酸，固綠原酸含量較單一咖啡豆基質來的少。由圖二十三(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，綠原酸含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 5.71 mg/g (表十二)，之後會緩慢減少，在第7週綠原酸含量降為 3.62 mg/g，但與第6週綠原酸含量(3.64 mg/g)並無顯著差異。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，綠原酸含量亦會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 3.02 mg/g (表十二)，之後會緩慢減少，在第7週咖啡因含量降為 0.58 mg/g。

由上述結果可知，咖啡豆及咖啡豆混米固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，在第7週時綠原酸含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(3.62 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(0.58 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(1.21 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(0.09 mg/g)。

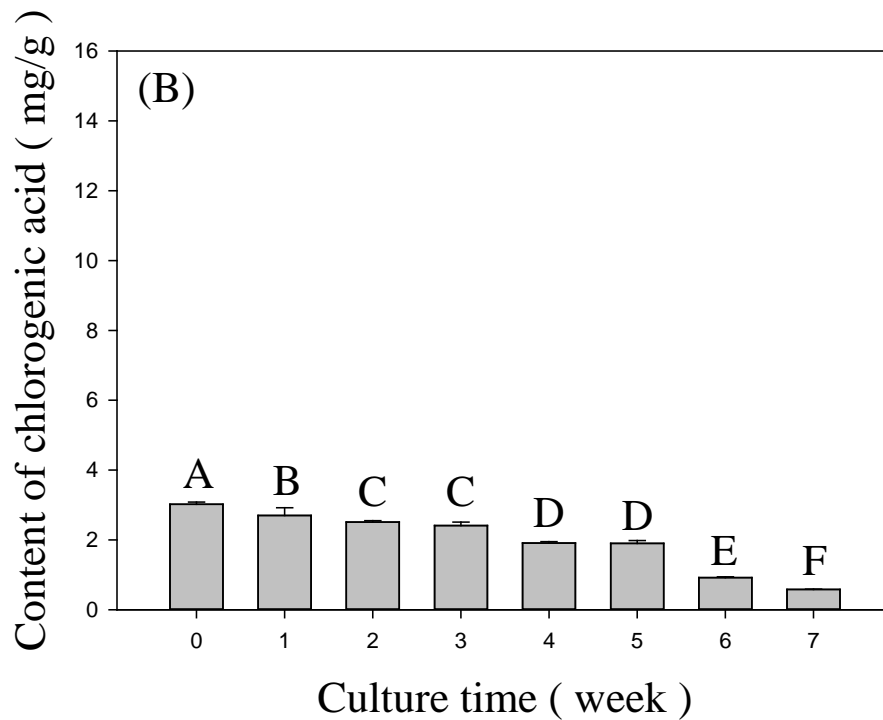
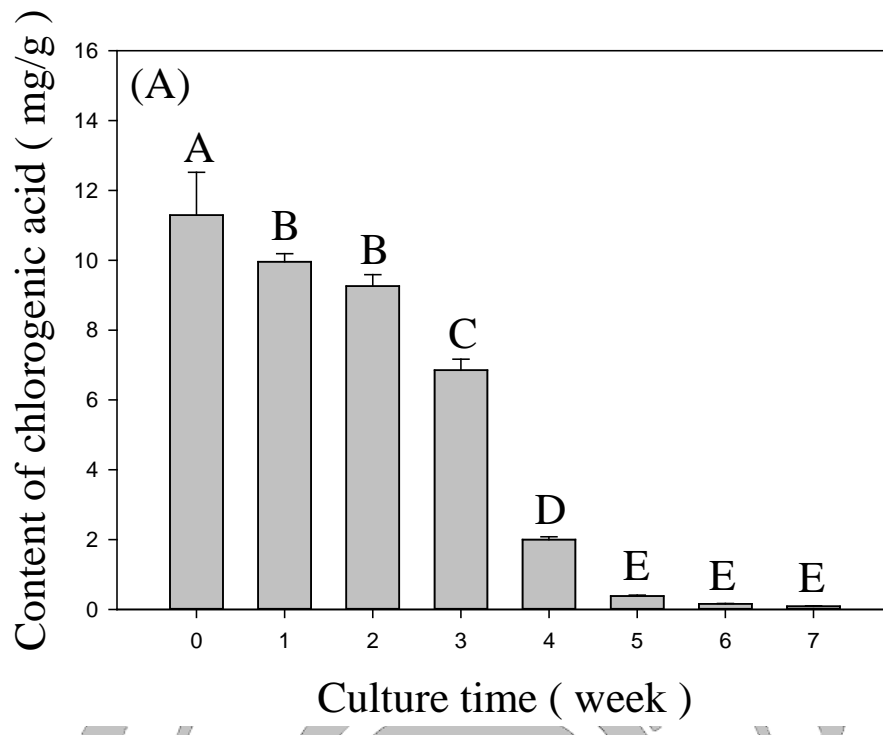
四、煙台品系之北蟲草

將煙台北蟲草品系菌絲分別接種於阿拉比卡豆、阿拉比卡豆混米(1:1)、羅



圖二十三、江蘇北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之綠原酸含量

Figure 23. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖二十四、江蘇北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之綠原酸含量

Figure 24. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表十二、江蘇北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之綠原酸含量

Table 12. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Chiang Su)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Chlorogenic acid Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	*A24.72 ± 3.47a#	A11.29 ± 1.23b	A5.71±0.05c	A3.02 ± 0.06d
1	B19.31 ± 1.12a	B9.96 ± 0.23b	B5.32 ± 0.21c	B2.70 ± 0.22d
2	B17.90 ± 0.79a	B9.26 ± 0.33b	C4.85 ± 0.05c	C2.51 ± 0.04d
3	C16.93 ± 0.09a	C6.85 ± 0.32b	CD4.72 ± 0.04c	C2.41 ± 0.10d
4	D10.08 ± 0.44a	D2.00 ± 0.08c	D4.68 ± 0.07c	D1.91 ± 0.04c
5	E5.58 ± 0.25a	E0.38 ± 0.03d	E3.80 ± 0.02b	D1.90 ± 0.08c
6	F2.30 ± 0.12b	E0.16 ± 0.01d	F3.64 ± 0.02a	E0.92 ± 0.02c
7	F1.21 ± 0.02b	E0.09 ± 0.01d	F3.62 ± 0.01a	F0.58 ± 0.01c

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

布斯塔豆及羅布斯塔豆混米(1:1)固態基質中。每隔1週取樣，分析蟲草素、腺苷、咖啡因及綠原酸含量。

1. 蟲草素含量探討

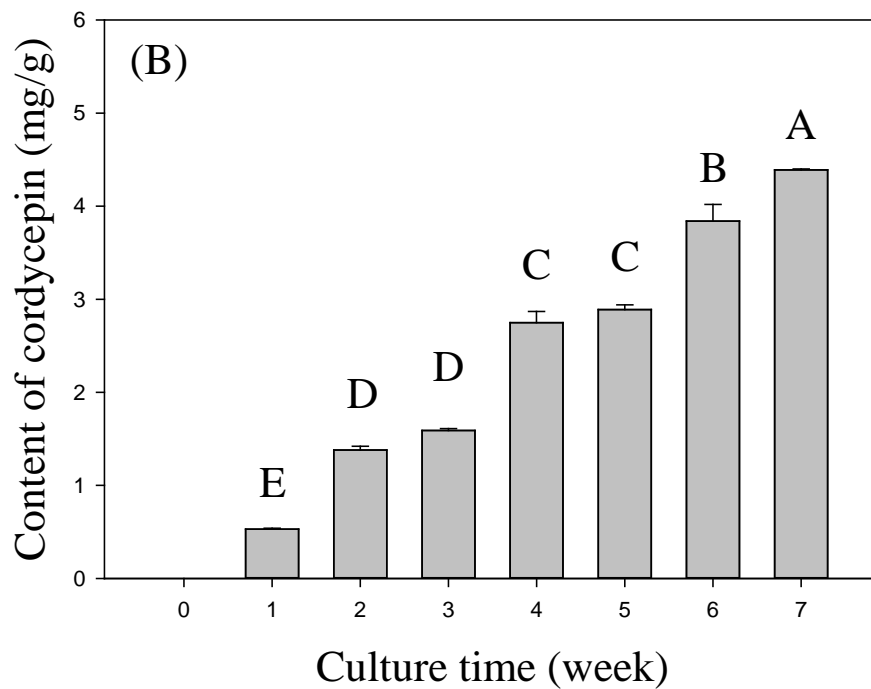
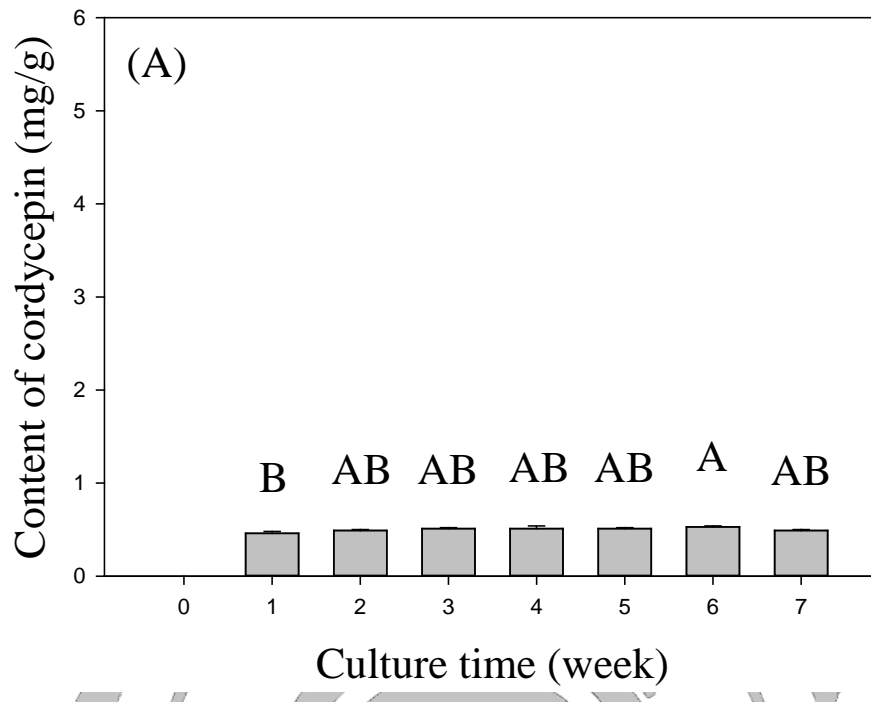
由圖二十五及圖二十六可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中不含蟲草素，但隨著固態發酵培養時間之增加，其蟲草素含量會逐漸增加。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖二十五(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第6週會有最高量，為0.53 mg/g(表十三)，之後會緩慢減少，在第7週蟲草素含量降為0.49 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖二十六(A)可知，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第4週會有最高量，為0.45 mg/g，之後亦會緩慢減少，在第7週蟲草素含量為0.41 mg/g。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖二十五(B)及圖二十六(B)可發現，蟲草素含量遠比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之生長，有利蟲草素的生成。由圖二十五(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為4.39 mg/g(表十三)。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，蟲草素含量亦會隨培養週數增加而增加，在第7週會有最高量，為3.59 mg/g(表十三)。

由上述結果可知，固態基質米比咖啡豆更適合蟲草素之生成，在第7週時其含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(4.39 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(3.59 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(0.49 mg/g) \cong 羅布斯塔咖啡豆基質(0.41 mg/g)。

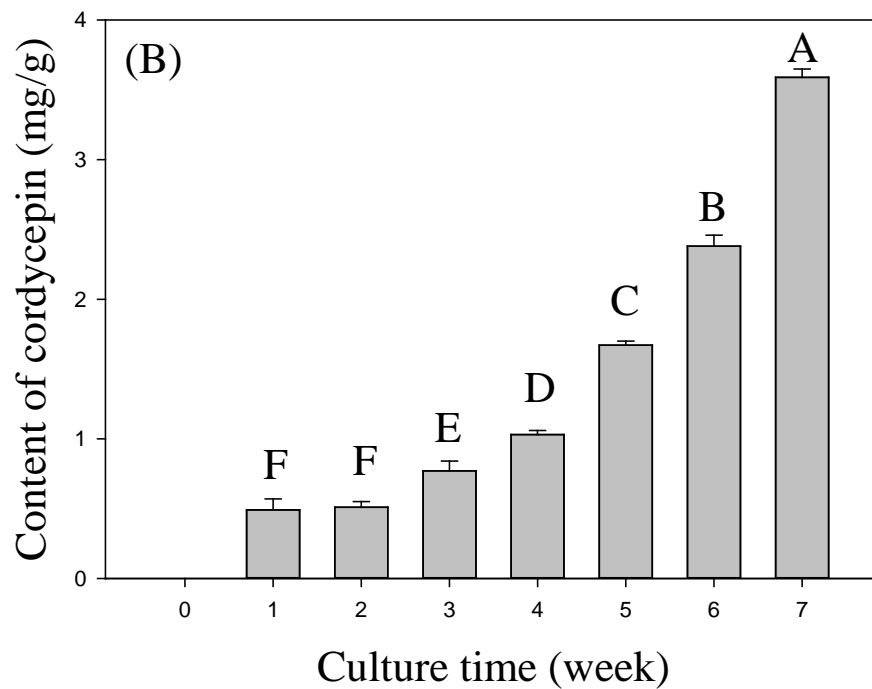
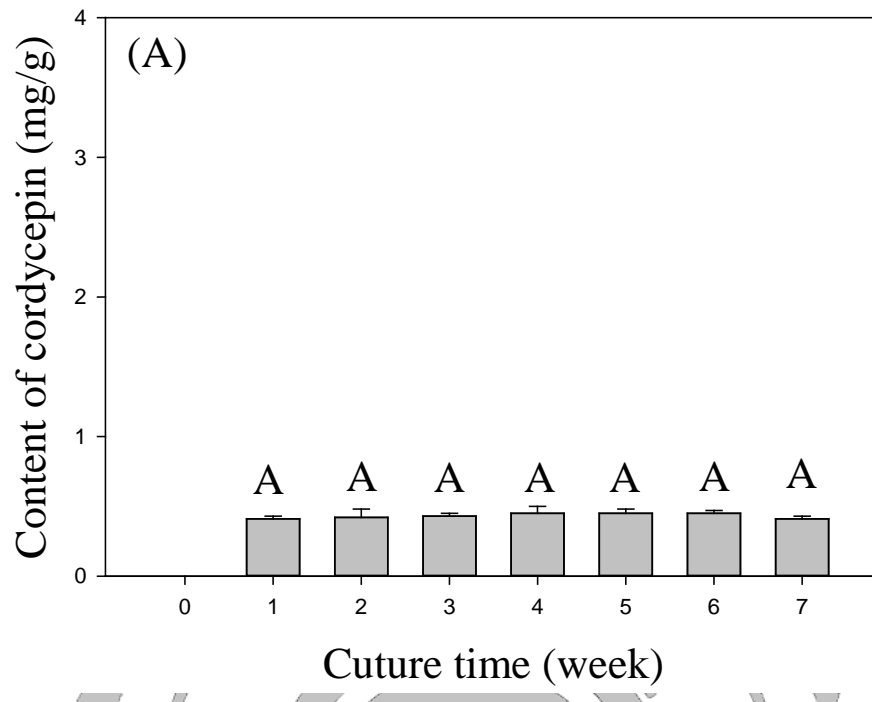
2. 腺苷含量探討

由圖二十七及圖二十八可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中不含腺苷，但隨著固態發酵培養時間之增加，其腺苷含量會逐漸增加。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖二十七(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺



圖二十五、煙台北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之蟲草素含量

Figure 25. Content of cordycepin acid from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖二十六、煙台北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之蟲草素含量

Figure 26. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表十三、煙台北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之蟲草素含量

Table 13. Content of cordycepin from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

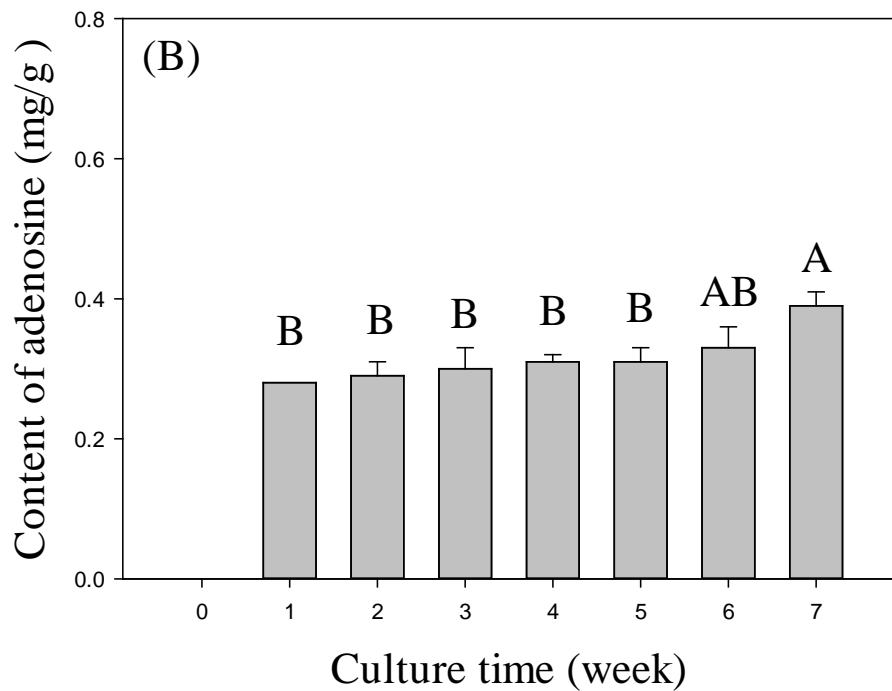
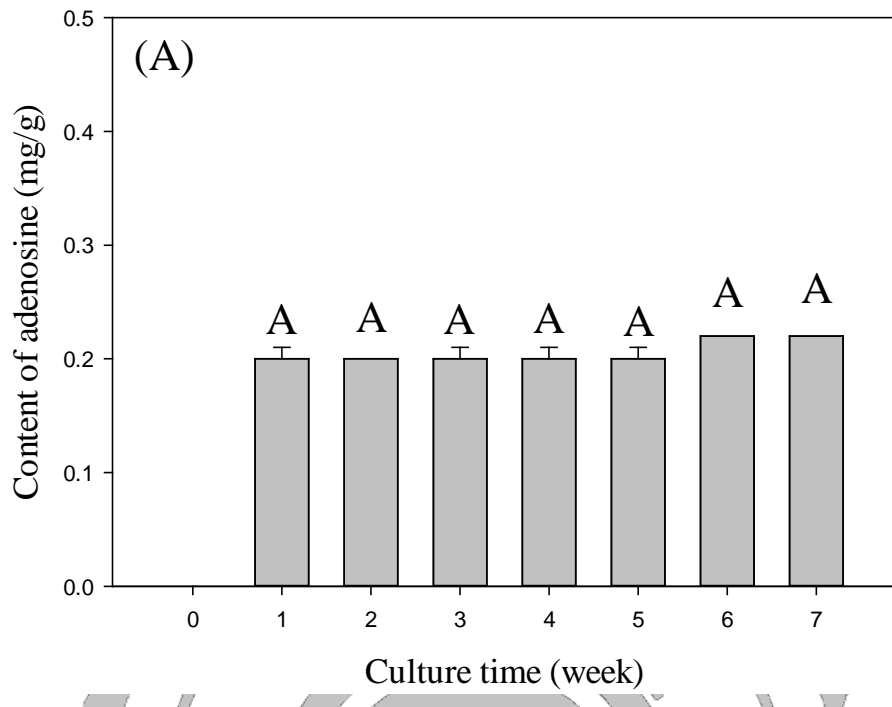
Cordycepin Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1	*B0.46 ± 0.02a#	A0.41 ± 0.02a	E0.53 ± 0.01a	F0.49 ± 0.08a
2	AB0.49 ± 0.01b	A0.42 ± 0.06b	D1.38 ± 0.04a	F0.51 ± 0.04b
3	AB0.51 ± 0.01c	A0.43 ± 0.02c	D1.59 ± 0.02a	E0.77 ± 0.07b
4	AB0.51 ± 0.03c	A0.45 ± 0.05c	C2.75 ± 0.12a	D1.03 ± 0.03b
5	AB0.51 ± 0.01c	A0.45 ± 0.03c	C2.89 ± 0.05a	C1.67 ± 0.03b
6	A0.53 ± 0.01c	A0.45 ± 0.02c	B3.84 ± 0.18a	B2.38 ± 0.08b
7	AB0.49 ± 0.01c	A0.41 ± 0.02c	A4.39 ± 0.01a	A3.59 ± 0.06b

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05) .

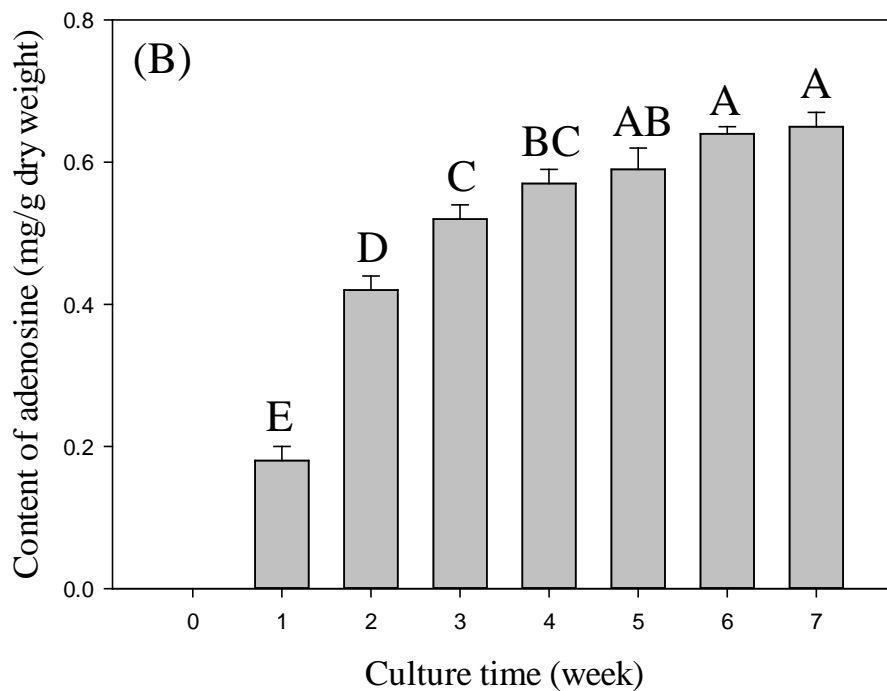
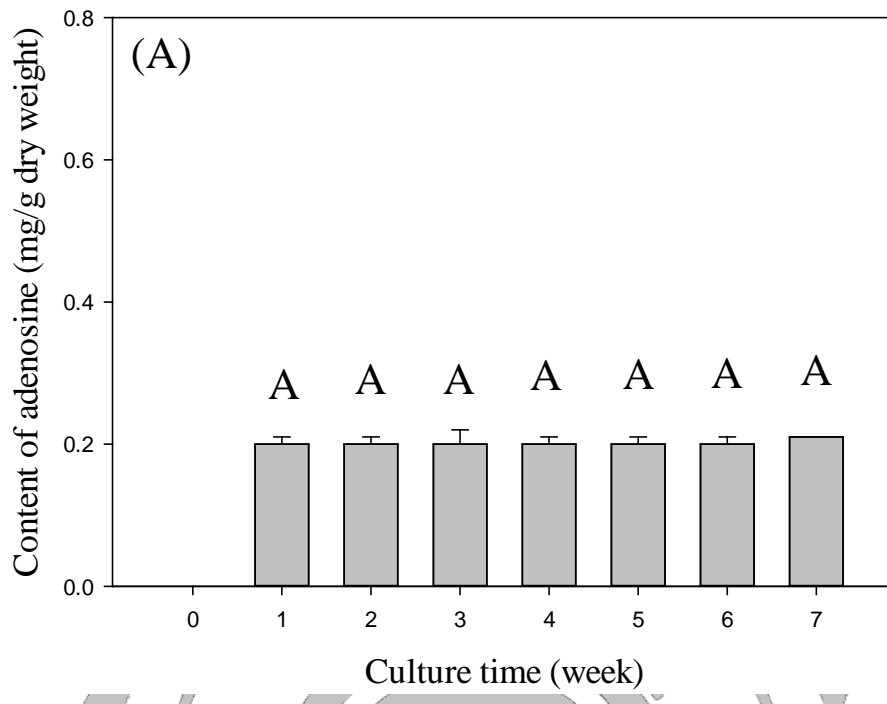
: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)



圖二十七、煙台北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之腺苷含量

Figure 27. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖二十八、煙台北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之腺苷含量

Figure 28. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

苷含量會隨培養週數增加而增加，在第 6 和 7 週會有最高量，為 0.22 mg/g (表十四)，但與第 1-5 週腺苷含量(0.20 mg/g)並無顯著差異。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖二十八(A)可知，腺苷量會隨培養週數增加而增加，在第 7 週會有最高量，為 0.21 mg/g，但與第 1-6 週腺苷含量(0.20 mg/g)並無統計差異。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖二十七(B)及圖二十八(B)可發現，腺苷含量遠比單一咖啡豆基質來的多，顯示米比咖啡豆更適合北蟲草之生長，有利腺苷的生成。由圖二十七(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量會隨培養週數增加而增加，在第 7 週會有最高量，為 0.39 mg/g (表十四)，但與第 6 週腺苷含量(0.33 mg/g)並無統計差異。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，腺苷含量亦會隨培養週數增加而增加，在第 7 週會有最高量，為 0.65 mg/g (表十四)，但與第 6 週腺苷含量(0.64 mg/g)並無統計差異。

由上述結果可知，固態基質米比咖啡豆更適合腺苷之生成，在第 7 週時其含量依序為羅布斯塔咖啡豆混米基質(0.65 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆混米基質(0.39 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(0.22 mg/g) \cong 羅布斯塔咖啡豆基質(0.21 mg/g)。

3. 咖啡因含量探討

由圖二十九及圖三十可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中富含咖啡因，但隨著固態發酵培養時間之增加，其咖啡因含量會逐漸減少。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖二十九(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第 0 週會有最高量，為 13.14 mg/g (表十五)，之後會逐步減少，在第 7 週咖啡因含量降為 3.50 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖二十二(A)可知，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第 0 週會有最高量，為 9.79 mg/g，之後亦會逐步減少，在第 7 週咖啡因含量為 4.25 mg/g。

表十四、煙台北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之腺苷含量

Table 14. Content of adenosine from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabica/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

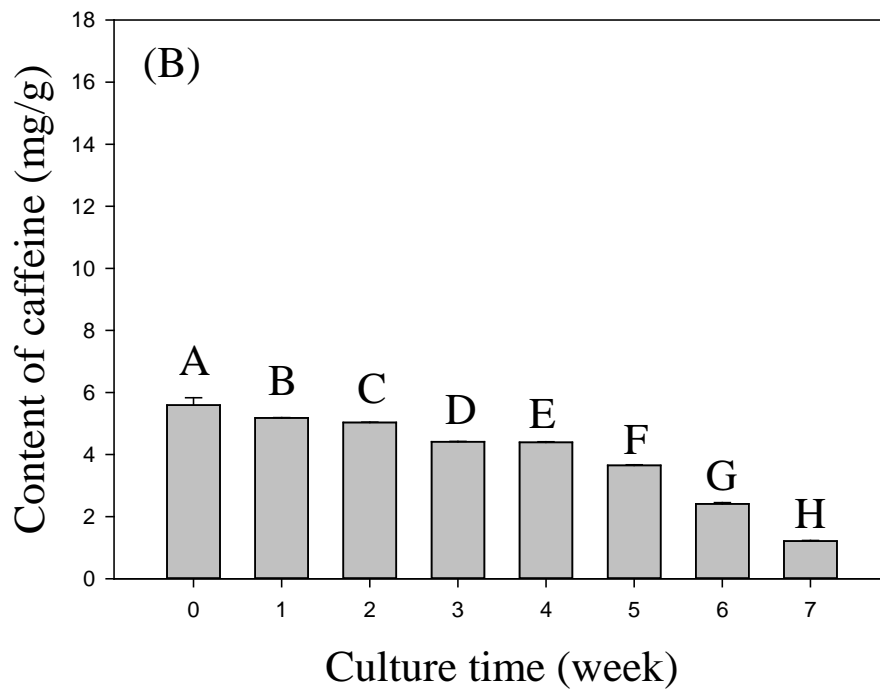
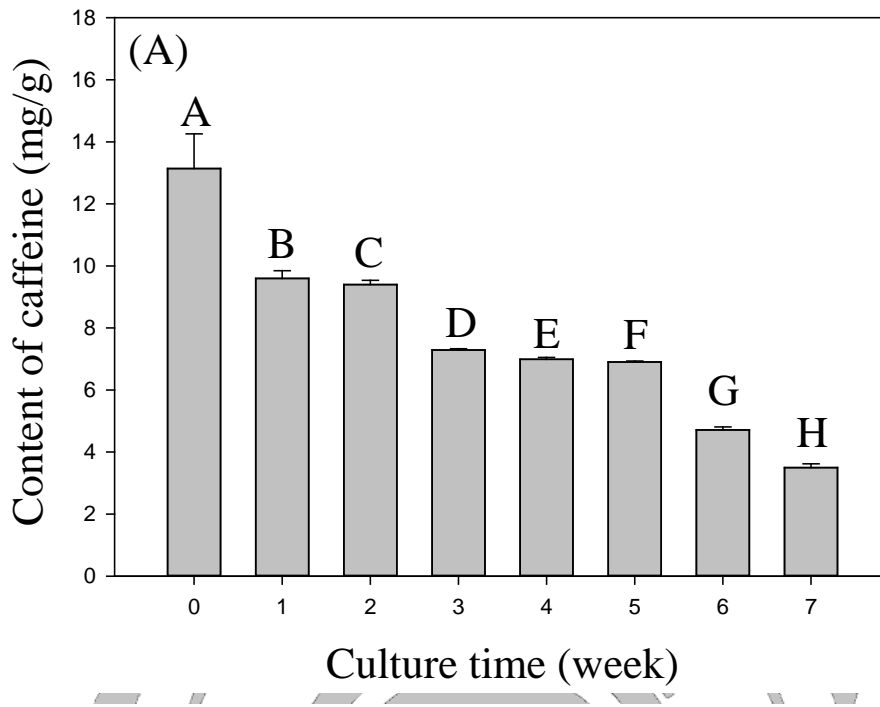
Adenosine Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1	*A0.20 ± 0.01b#	A0.20 ± 0.01b	B0.28 ± 0.00a	E0.18 ± 0.02b
2	A0.20 ± 0.00c	A0.20 ± 0.01c	B0.29 ± 0.02b	D0.42 ± 0.02a
3	A0.20 ± 0.01c	A0.20 ± 0.02c	B0.30 ± 0.03b	C0.52 ± 0.02a
4	A0.20 ± 0.01c	A0.20 ± 0.01c	B0.31 ± 0.01b	BC0.57 ± 0.02a
5	A0.20 ± 0.01c	A0.20 ± 0.01c	B0.31 ± 0.02ba	B0.59 ± 0.03a
6	A0.22 ± 0.00c	A0.20 ± 0.01c	AB0.33 ± 0.03b	A0.64 ± 0.01a
7	A0.22 ± 0.00c	A0.21 ± 0.00c	A0.39 ± 0.02b	A0.65 ± 0.02a

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

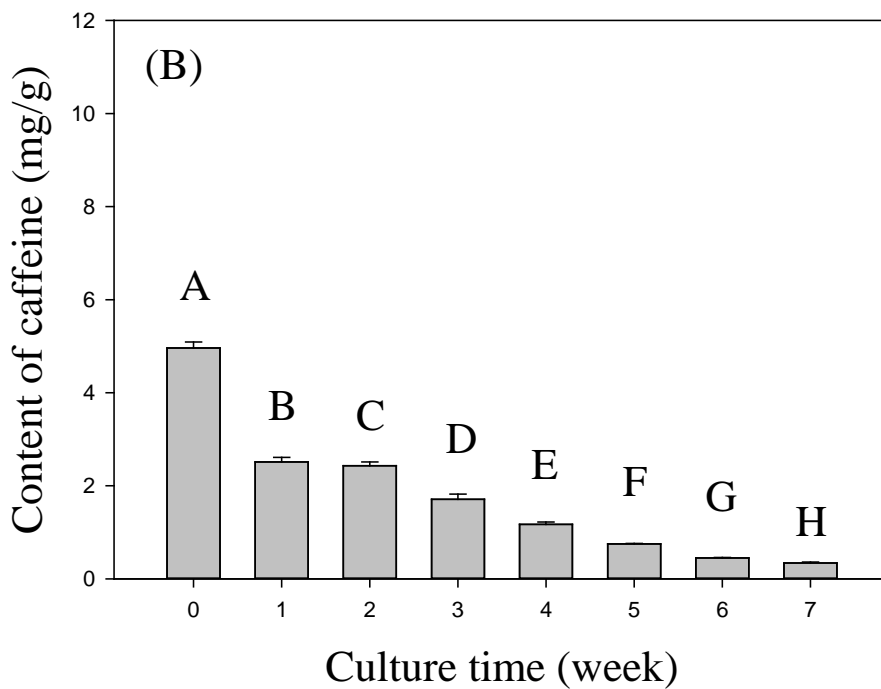
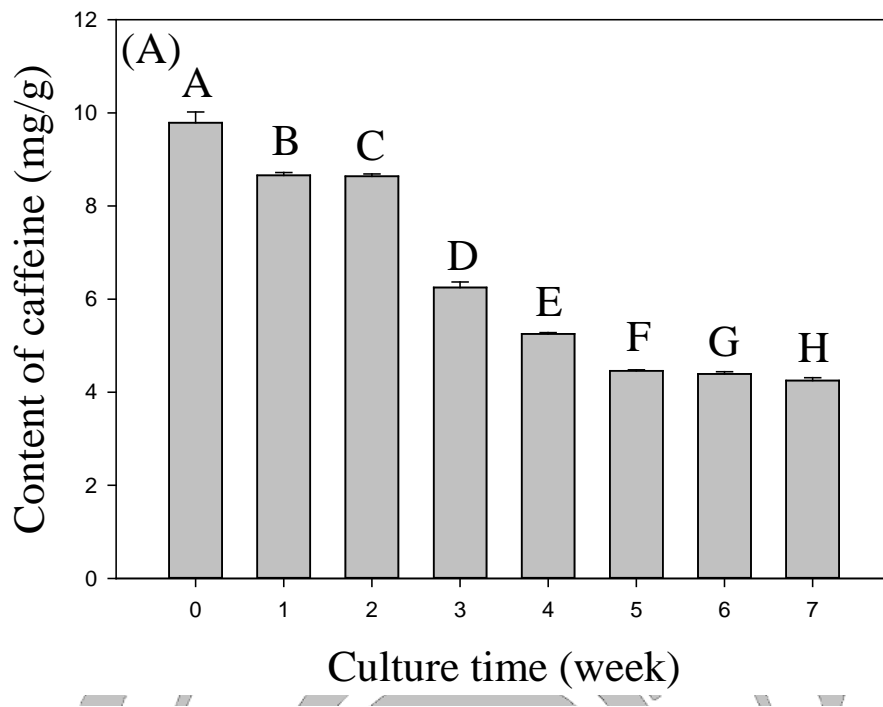
: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)



圖二十九、煙台北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之咖啡因含量

Figure 29. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖三十、煙台北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之咖啡因含量

Figure 30. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表十五、煙台北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之咖啡因含量

Table 15. Content of caffeine from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Caffeine Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	*A13.14 ± 1.12a#	A9.79 ± 0.23b	A5.59 ± 0.24c	A4.96 ± 0.13d
1	B9.60 ± 0.25a	B8.66 ± 0.06b	B5.18 ± 0.02c	B2.51 ± 0.10d
2	C9.40 ± 0.14a	C8.64 ± 0.05b	C5.03 ± 0.01c	C2.43 ± 0.53d
3	D7.29 ± 0.31a	D6.25 ± 0.20b	D4.41 ± 0.01c	D1.71 ± 0.18d
4	E6.99 ± 0.18a	E5.25 ± 0.03b	E4.39 ± 0.02c	E1.17 ± 0.13d
5	F6.90 ± 2.51a	F4.46 ± 0.02b	F3.65 ± 0.02c	F0.75 ± 0.50d
6	G4.71 ± 0.19a	G4.39 ± 0.11b	G2.41 ± 0.04c	G0.45 ± 0.01d
7	H3.50 ± 1.33b	H4.25 ± 0.16a	H1.21 ± 0.28c	H0.34 ± 0.15d

* : Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

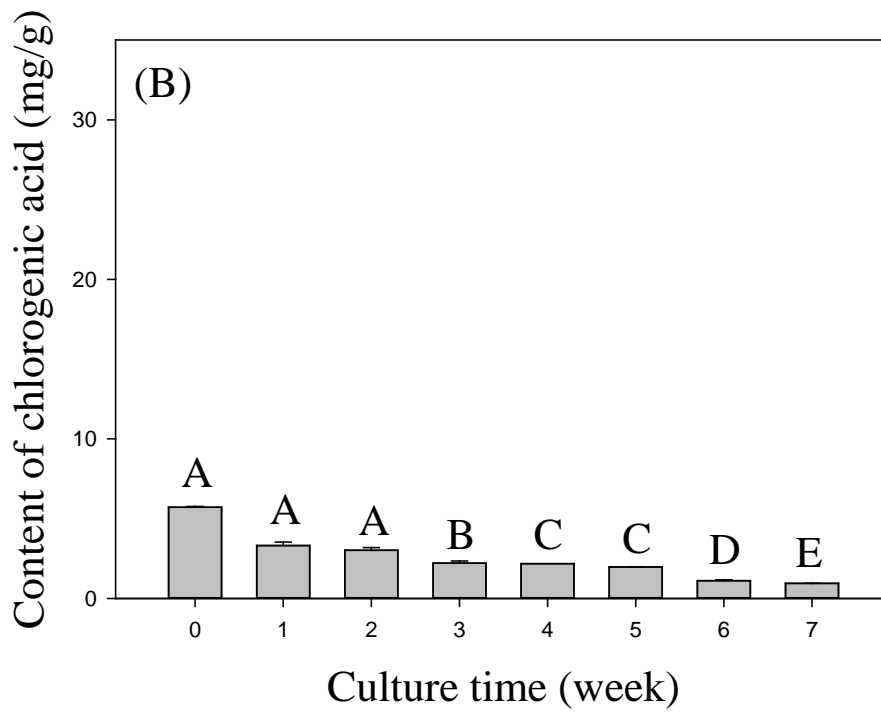
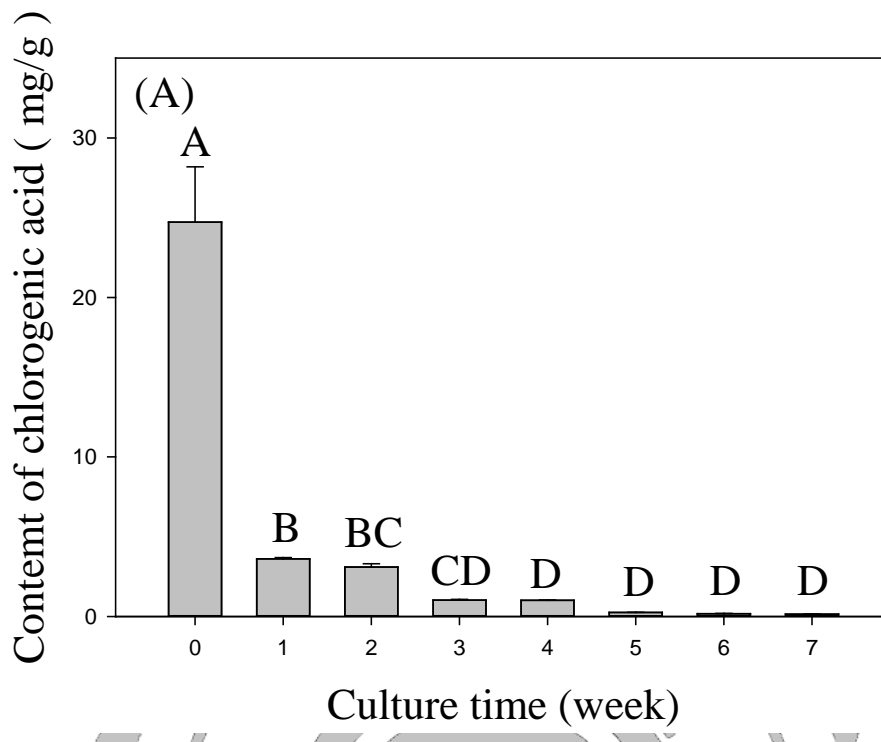
在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖二十九(B)及圖三十(B)可發現，因為白米不含咖啡因，固咖啡因含量較單一咖啡豆基質來的少。由圖二十九(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 5.59 mg/g (表十五)，之後會逐步減少，在第7週咖啡因含量降為 1.21 mg/g。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量亦會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 4.96 mg/g (表十五)，之後會逐步減少，在第7週蟲草素含量降為 0.34 mg/g。

由上述結果可知，單一咖啡豆基質會留下較多的咖啡因含量，在第7週時其含量依序為羅布斯塔咖啡豆基質(4.25 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(3.50 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆混米基質(1.21 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(0.34 mg/g)。

4.綠原酸含量探討

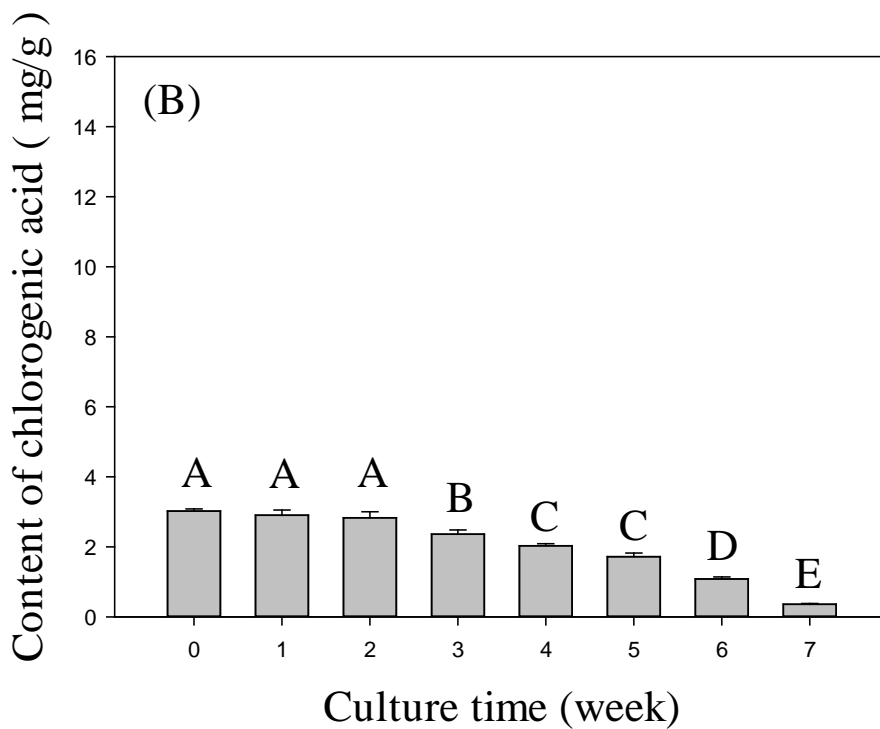
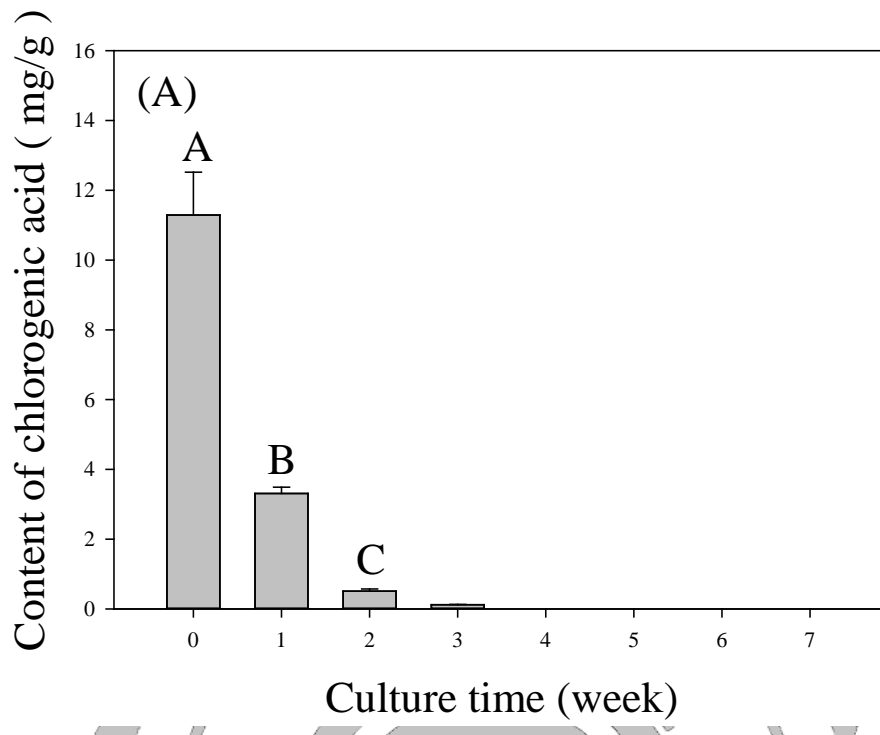
由圖三十一及圖三十二可發現，在阿拉比卡及羅布斯塔咖啡豆中富含綠原酸，但隨著固態發酵培養時間之增加，其綠原酸含量會逐漸減少。在咖啡豆作為固態基質方面，由圖三十一(A)可知阿拉比卡咖啡豆基質，經北蟲草固態發酵培養後，咖啡因含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 24.72 mg/g (表十六)，之後會逐步減少，在第7週咖啡因含量降為 0.14 mg/g。另羅布斯塔咖啡豆為固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，由圖三十二(A)可知，綠原酸含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 11.29 mg/g，之後亦會逐步減少，在第4週之後已測不出綠原酸含量。

在咖啡豆混米作為固態基質方面，由圖三十一(B)及圖三十二(B)可發現，因為白米不含綠原酸，故綠原酸含量較單一咖啡豆基質來的少。由圖三十一(B)可知阿拉比卡咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，綠原酸含量會隨培養週數增加而減少，在第0週會有最高量，為 5.71mg/g (表十六)，之後會逐步減少，在第7週綠原酸含量降為 0.94 mg/g，但與第6週綠原酸含量(1.11 mg/g)並無顯著差異。同樣地，在羅布斯塔咖啡豆混米基質，經北蟲草固態發酵培養後，綠原酸



圖三十一、煙台北蟲草品系接種在(A)阿拉比卡咖啡豆及(B)咖啡豆混米(阿拉比卡:米=1:1)之綠原酸含量

Figure 31. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented (A)arabica coffee bean and (B)coffee bean with rice (Arabica coffee bean : Rice =1:1)



圖三十二、煙台北蟲草品系接種在(A)羅布斯塔咖啡豆及(B)咖啡豆混米(羅布斯塔:米=1:1)之綠原酸含量

Figure 32. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Yen Tao)-fermented (A)robusta coffee bean and (B)coffee bean with rice (Robusta coffee bean : Rice =1:1)

表 十六、煙台北蟲草品系接種在咖啡豆(阿拉比卡和羅布斯塔)及咖啡豆混米(咖啡豆:米=1:1)之綠原酸含量

Table 16. Content of chlorogenic acid from *Cordyceps militaris* (Yen Tai)-fermented coffee bean (Arabica and Robusta) and coffee bean with rice (Arabic/Robusta coffee bean : Rice =1:1)

Chlorogenic acid Contents (mg/g dry weight)				
Week	Arabica	Robusta	Arabica + Rice (1:1)	Robusta + Rice (1:1)
0	*A24.72 ± 3.47a#	A11.29 ± 1.23b	A5.71 ± 0.05c	A3.02±0.06d
1	B3.61 ± 0.08a	B3.31 ± 0.18b	B3.31 ± 0.22b	A2.90 ± 0.15c
2	BC3.10 ± 0.20a	C0.51 ± 0.06c	C3.02 ± 0.17a	A2.83 ± 0.17b
3	CD1.02 ± 0.05b	C0.12 ± 0.01c	D2.21 ± 0.14a	B2.36 ± 0.12a
4	D1.01 ± 0.02b	N.D.	D2.18 ± 0.08a	C2.03 ± 0.06ab
5	D0.25 ± 0.01c	N.D.	E1.97 ± 0.01a	C1.72 ± 0.10b
6	D0.17 ± 0.02c	N.D.	F1.11 ± 0.06a	D1.08 ± 0.06b
7	D0.14 ± 0.01c	N.D.	F0.94 ± 0.01a	E0.36 ± 0.02b

*: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a column are significant different (p < 0.05)

: Each value is expressed as mean ± SD (n = 3)

Means with different letters within a row are significant different (p < 0.05)

含量亦會隨培養週數增加而減少，在第 0 週會有最高量，為 3.02 mg/g (表十六)，之後會緩慢減少，在第 7 週咖啡因含量降為 0.36 mg/g。

由上述結果可知，咖啡豆及咖啡豆混米固態基質，經北蟲草固態發酵培養後，在第 7 週時綠原酸含量依序為阿拉比卡咖啡豆混米基質(0.94 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆混米基質(0.36 mg/g) > 阿拉比卡咖啡豆基質(0.14 mg/g) > 羅布斯塔咖啡豆基質(N.D.)。



第五章 結論

本研究主要探討不同菌種品系及咖啡基質對北蟲草之機能性成分的影響，以阿拉比卡及羅布斯塔兩種咖啡豆及上述兩種咖啡豆個別混米，來做為固態發酵的基質。北蟲草菌種品系有漳州、昆明、江蘇及煙台等四種，經過發酵培養 7 週，得到最多蟲草素含量為昆明品系接種在阿拉比卡咖啡豆混米基質(9.8 mg/g)，其次為漳州品系接種在阿拉比卡豆混米基質(5.43 mg/g)。故若要得到富含蟲草素之北蟲草咖啡可以選擇上述兩種品系搭配阿拉比卡豆混米基質。

在腺苷含量方面，以漳州品系接種在阿拉比卡咖啡豆混米基質最多(2.75 mg/g)，其次為漳州品系接種在羅布斯塔豆混米基質(1.99 mg/g)；故若要得到富含腺苷之北蟲草咖啡可選擇漳州品系搭配阿拉比卡或羅布斯塔咖啡豆混米基質。在咖啡因含量方面，經由北蟲草的生長，咖啡豆裡的咖啡因會隨之消耗；以江蘇品系接種在羅布斯塔豆混米基質殘留量最少(0.32 mg/g)，其次為江蘇品系接種在阿拉比卡豆混米基質(0.34 mg/g)及煙台品系接種在羅布斯塔豆混米基質(0.34 mg/g)；故以上三種搭配能可得較少咖啡因之北蟲草咖啡。在綠原酸含量方面，經由北蟲草的生長，咖啡豆裡的綠原酸亦會隨之消耗，以江蘇品系接種在阿拉比卡豆混米基質殘留量最多(3.62 mg/g)，其次為漳州品系接種在阿拉比卡豆混米基質(3.41 mg/g)；故以上兩種品系搭配阿拉比卡豆混米基質，可得綠原酸殘留量較多之北蟲草咖啡。

本研究結果顯示，以昆明或漳州品系北蟲草接種在阿拉比卡豆混米，所得北蟲草咖啡具有較佳的機能性成分，將來在開發北蟲草咖啡相關產品時，可考慮這兩種品系；但因蟲草素為蟲草屬獨有之機能性成分，若單獨要開發蟲草素為主之產品，則推薦昆明品系接種在阿拉比卡豆混米之基質。此外，本研究發現北蟲草會利用咖啡因及綠原酸致其含量會降低，至於轉換為何物則需日後再進行探討。

第六章 文獻回顧

- 施明珠、李有貴、鐘石。(2009)。北冬蟲夏草對氫化可的松誘導的老齡小鼠腎損傷的保護作用。現代藥物與臨床, 24(3), 160-163。
- 涂庭瑋。(2016)。以固態發酵製備猴頭菇糙米及其抗氧化性質。東海大學食品科學系研究所碩士論文。台中, 台灣。
- 陳容蓉。(2015)。以固態發酵製備北蟲草紫米及其不易形成體脂肪之探討。東海大學食品科學系研究所碩士論文。台中, 台灣。
- 曾宏彬、宋斌、李泰輝。(2011)。蛹蟲草研究進展及其產業化前景。食用菌學報, 18(2), 70-74。
- 路秀玲、趙樹欣。(2000)。固態發酵中生物量的測定方法。天津輕工業學院學報(4), 57-62。
- 葉展均。(2009)。以固態發酵製備白樺茸胚芽米及其呈味性質與生理活性。中興大學食品暨應用生物科技學系所碩士論文。台中, 台灣。
- 廖仁宏。(2002)。固態培養生產靈芝菌絲體之研究。東海大學化學工程與材料工程研究所碩士論文。台中, 台灣。
- 劉俊飛、湯曉智、扈戰強。(2015)。超聲波輔助酶預處理隊糙米發芽及發芽糙米理化特性的影響。食品科學(4), 11-18。
- 韓建榮。(1998)。四種羊肚菌在固體發酵條件下的菌絲生物量和降解澱粉作用。菌物系統, 17(4), 312-317。
- Ahn, Y.-J., Park, S.-J., Lee, S.-G., et al. (2000). Cordycepin: Selective Growth Inhibitor Derived from Liquid Culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp. Journal of agricultural and food chemistry, 48(7), 2744-2748.
- Arauz, J., Zarco, N., Hernández-Aquino, E., et al. (2017). Coffee consumption prevents fibrosis in a rat model that mimics secondary biliary cirrhosis in humans. Nutrition Research, 40, 65-74.
- Basheer, R., Strecker, R. E., Thakkar, M. M., et al. (2004). Adenosine and sleep-wake regulation. Progress in neurobiology, 73(6), 379-396.
- Bereczki, D., Liu, M., do Prado, G. F., et al. (2007). Mannitol for acute stroke. Cochrane Database of Systematic Reviews(3), 1730-1735.
- Caiazza, E., Maione, F., Morello, S., et al. (2016). Adenosine signalling mediates the anti-inflammatory effects of the COX-2 inhibitor nimesulide. Biochemical pharmacology, 112, 72-81.
- Carlezon Jr, W. A., Mague, S. D., Parow, A. M., et al. (2005). Antidepressant-like effects of uridine and omega-3 fatty acids are potentiated by combined treatment in rats. Biological psychiatry, 57(4), 343-350.
- Carrizalez, V., Rodriguez, H., & Sardina, I. (1981). Determination of the specific

- growth of molds on semi-solid cultures. *Biotechnology and Bioengineering*, 23(2), 321-333.
- Cha, J.-Y., Ahn, H.-Y., Cho, Y.-S., et al. (2013). Protective effect of cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* on alcoholic hepatotoxicity in Sprague–Dawley rats. *Food and chemical toxicology*, 60, 52-57.
- Chen, C., Wang, M.-L., Jin, C., et al. (2015). *Cordyceps militaris* polysaccharide triggers apoptosis and G0/G1 cell arrest in cancer cells. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 18(3), 433-438.
- Chen, H. (2013). *Modern solid state fermentation*. Netherlands: Springer.
- Chen, X.-Y., Liang, Y.-R., Xu, F.-L., et al. (2013). Stereoselective synthesis of spiro [5.5] undecane derivatives via biocatalytic [5+ 1] double Michael additions. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 97, 18-22.
- Chen, X., Wu, G., & Huang, Z. (2013). Structural analysis and antioxidant activities of polysaccharides from cultured *Cordyceps militaris*. *International journal of biological macromolecules*, 58, 18-22.
- Cho, H.-J., Cho, J. Y., Rhee, M. H., et al. (2007). Cordycepin (3'-deoxyadenosine) inhibits human platelet aggregation in a cyclic AMP- and cyclic GMP-dependent manner. *European journal of pharmacology*, 558(1-3), 43-51.
- Cui, J. D. (2015). Biotechnological production and applications of *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine. *Critical reviews in biotechnology*, 35(4), 475-484.
- Das, S. K., Masuda, M., Sakurai, A., et al. (2010). Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. *Fitoterapia*, 81(8), 961-968.
- Dong, J., Liu, M., Lei, C., et al. (2012). Effects of selenium and light wavelengths on liquid culture of *Cordyceps militaris* Link. *Applied biochemistry and biotechnology*, 166(8), 2030-2036.
- Dong, J. Z., Lei, C., Zheng, X. J., et al. (2013). Light Wavelengths Regulate Growth and Active Components of *Cordyceps militaris* Fruit Bodies. *Journal of Food Biochemistry*, 37(5), 578-584.
- Dong, Y., Jing, T., Meng, Q., et al. (2014). Studies on the antidiabetic activities of *Cordyceps militaris* extract in diet-streptozotocin-induced diabetic Sprague-Dawley rats. *BioMed research international*, 1, e160980.
- Dong, W., Hu, R., Chu, Z., et al. (2017). Effect of different drying techniques on bioactive components, fatty acid composition, and volatile profile of robusta coffee beans. *Food chemistry*, 234, 121-130.
- Durand, A. (2003). Bioreactor designs for solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 113-125.

- Feldmann, T., Yakovleva, M., Lindström, M., et al. (2010). Eye adaptation to different light environments in two populations of *Mysis relicta*: a comparative study of carotenoids and retinoids. *Journal of Crustacean Biology*, 30(4), 636-642.
- Gao, J., Lian, Z., Zhu, P., et al. (2011). Lipid-lowering effect of cordycepin (3'-deoxyadenosine) from *Cordyceps militaris* on hyperlipidemic hamsters and rats. *Acta pharmaceutica Sinica*, 46(6), 669-676.
- Garrett, R., Rezende, C. M., & Ifa, D. R. (2016). Revealing the spatial distribution of chlorogenic acids and sucrose across coffee bean endosperm by desorption electrospray ionization-mass spectrometry imaging. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 711-717.
- Gomes, C. V., Kaster, M. P., Tomé, A. R., et al. (2011). Adenosine receptors and brain diseases: neuroprotection and neurodegeneration. *Biochimica Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1808(5), 1380-1399.
- Gu, Y.-X., Wang, Z.-S., Li, S.-X., et al. (2007). Effect of multiple factors on accumulation of nucleosides and bases in *Cordyceps militaris*. *Food chemistry*, 102(4), 1304-1309.
- Guo, P., Kai, Q., Gao, J., et al. (2010). Cordycepin prevents hyperlipidemia in hamsters fed a high-fat diet via activation of AMP-activated protein kinase. *Journal of pharmacological sciences*, 113(4), 395-403.
- Han, E. S., Oh, J. Y., & Park, H.-J. (2011). *Cordyceps militaris* extract suppresses dextran sodium sulfate-induced acute colitis in mice and production of inflammatory mediators from macrophages and mast cells. *Journal of ethnopharmacology*, 134(3), 703-710.
- Han, J., An, C., & Yuan, J. (2005). Solid-state fermentation of cornmeal with the basidiomycete *Ganoderma lucidum* for degrading starch and upgrading nutritional value. *Journal of applied microbiology*, 99(4), 910-915.
- Huang, L., Guo, F., Liang, Y., et al. (2004). Determination of adenosine and cordycepin in *Cordyceps sinensis* and *C. militaris* with HPLC-ESI-MS, 29(8),762-764.
- Jiang, Y., Wong, J., Fu, M., et al. (2011). Isolation of adenosine, iso-sinensetin and dimethylguanosine with antioxidant and HIV-1 protease inhibiting activities from fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. *Phytomedicine*, 18(2-3), 189-193.
- Jin, Y., Meng, X., Qiu, Z., et al. (2018). Anti-tumor and anti-metastatic roles of cordycepin, one bioactive compound of *Cordyceps militaris*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(5), 991-995.
- Karp, S. G., Faraco, V., Amore, A., et al. (2012). Characterization of laccase isoforms produced by *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation of sugarcane bagasse.

- Bioresource Technology, 114, 735-739.
- Kim, H. G., Shrestha, B., Lim, S. Y., et al. (2006). Cordycepin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation by the suppression of NF- κ B through Akt and p38 inhibition in RAW 264.7 macrophage cells. *European journal of pharmacology*, 545(2-3), 192-199.
- Kitakaze, M., & Hori, M. (2000). Adenosine therapy: a new approach to chronic heart failure. *Expert opinion on investigational drugs*, 9(11), 2519-2535.
- Kwon, H.-W., Shin, J.-H., Lim, D. H., et al. (2016). Antiplatelet and antithrombotic effects of cordycepin-enriched WIB-801CE from *Cordyceps militaris* ex vivo, in vivo, and in vitro. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(508), 1463-1468.
- Lee, J. S., Cho, J. Y., & Hong, E. K. (2009). Study on macrophage activation and structural characteristics of purified polysaccharides from the liquid culture broth of *Herichium erinaceus*. *Carbohydrate polymers*, 78(1), 162-168.
- Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., et al. (2016). Modulation of coffee aroma via the fermentation of green coffee beans with *Rhizopus oligosporus*: I. Green coffee. *Food chemistry*, 211, 916-924.
- Lei, J., Wei, Y., Song, P., et al. (2018). Cordycepin inhibits LPS-induced acute lung injury by inhibiting inflammation and oxidative stress. *European journal of pharmacology*, 818, 110-114.
- Li, S., Yang, F., & Tsim, K. W. (2006). Quality control of *Cordyceps sinensis*, a valued traditional Chinese medicine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1571-1584.
- Li, X.-T., Li, H.-C., Li, C.-B., et al. (2010). Protective effects on mitochondria and anti-aging activity of polysaccharides from cultivated fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. *The American journal of Chinese medicine*, 38(06), 1093-1106.
- Lin, R., Liu, H., Wu, S., et al. (2012). Production and in vitro antioxidant activity of exopolysaccharide by a mutant, *Cordyceps militaris* SU5-08. *International journal of biological macromolecules*, 51(1-2), 153-157.
- Ling, J. Y., Zhang, G. Y., Lin, J. Q., et al. (2009). Supercritical fluid extraction of cordycepin and adenosine from *Cordyceps kyushuensis* and purification by high-speed counter-current chromatography. *Separation and Purification Technology*, 66(3), 625-629.
- Liu, F., Zhu, Z.-Y., Sun, X., et al. (2017). The preparation of three selenium-containing *Cordyceps militaris* polysaccharides: Characterization and anti-tumor activities. *International journal of biological macromolecules*, 99, 196-204.

- Liu, J.-y., Feng, C.-p., Li, X., et al. (2016). Immunomodulatory and antioxidative activity of *Cordyceps militaris* polysaccharides in mice. *International journal of biological macromolecules*, 86, 594-598.
- Liu, X., Kopparapu, N.-k., Li, Y., et al. (2017). Biochemical characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Cordyceps militaris*. *International journal of biological macromolecules*, 94, 793-801.
- Ma, L., & Lin, X. M. (2010). Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eye health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1), 2-12.
- Maki, C., Funakoshi-Tago, M., Aoyagi, R., et al. (2017). Coffee extract inhibits adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes by interrupting insulin signaling through the downregulation of IRS1. *PLoS one*, 12(3), e0173264.
- Martinez, S. J., Bressani, A. P. P., Miguel, M. G. d. C. P., et al. (2017). Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. *Food research international*, 102, 333-340.
- Matcham, S., Jordan, B., & Wood, D. (1984). Methods for assessment of fungal growth on solid substrates. *Technical series-Society for Applied Bacteriology*.
- Matcham, S., Jordan, B., & Wood, D. (1985). Estimation of fungal biomass in a solid substrate by three independent methods. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 21(1-2), 108-112.
- Mitchell, D., de Lima Luz, L., Krieger, N. (2011). Bioreactors for solid-state fermentation. *Comprehensive Biotechnology*, 2, 347-360.
- Mollah, M. L., Park, D. K., & Park, H.-J. (2012). *Cordyceps militaris* grown on germinated soybean induces G2/M cell cycle arrest through downregulation of Cyclin B1 and Cdc25c in human colon cancer HT-29 cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, e249217.
- Nan, J.-X., Park, E.-J., Yang, B.-K., et al. (2001). Antifibrotic effect of extracellular biopolymer from submerged mycelial cultures of *Cordyceps militaris* on liver Fibrosis induced by Bile duct ligation and scission in rats. *Archives of pharmacal research*, 24(4), 327.
- Neifar, M., Jaouani, A., Ayari, A., et al. (2013). Improving the nutritive value of olive cake by solid state cultivation of the medicinal mushroom *Fomes fomentarius*. *Chemosphere*, 91(1), 110-114.
- Ni, H., Zhou, X.-H., Li, H.-H., et al. (2009). Column chromatographic extraction and preparation of cordycepin from *Cordyceps militaris* waste medium. *Journal of Chromatography B*, 877(22), 2135-2141.
- Nigam, P. S.-N., & Pandey, A. (2009). *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation of agro-residues*: Springer Science & Business Media. New Delhi,

India.

- Niola, F., Basora, N., Chornet, E., et al. (1993). A rapid method for the determination of the degree of N-acetylation of chitin-chitosan samples by acid hydrolysis and HPLC. *Carbohydrate Research*, 238, 1-9.
- Novelli, P. K., Barros, M. M., & Fleuri, L. F. (2016). Novel inexpensive fungi proteases: Production by solid state fermentation and characterization. *Food chemistry*, 198, 119-124.
- Okazaki, N., Sugama, S., & TANAKA, T. (1980). Mathematical Model for Surface Culture of Koji Mold: Growth of Koji Mold on the Surface of Steamed Rice Grains (IX). *Journal of fermentation technology*, 58(5), 471-476.
- Ooijkaas, L., Tramper, J., & Buitelaar, R. (1998). Biomass estimation of *Coniothyrium minitans* in solid-state fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 22(6), 480-486.
- Pandey, A. (2003). Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 81-84.
- Park, H.-J. (2015). Ethanol extract of *Cordyceps militaris* grown on germinated soybeans inhibits 2, 4-dinitrophenol/fluorobenzene-induced allergic contact dermatitis. *Journal of Functional Foods*, 17, 938-947.
- Park, J.-H., Park, N. S., Lee, S. M., et al. (2011). Effect of Dongchunghacho rice on blood glucose level, lipid profile, and antioxidant metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Science and Biotechnology*, 20(4), 933-940.
- Ranga Rao, A., Raghunath Reddy, R., Baskaran, V., et al. (2010). Characterization of microalgal carotenoids by mass spectrometry and their bioavailability and antioxidant properties elucidated in rat model. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(15), 8553-8559.
- Rao, Y. K., Fang, S.-H., Wu, W.-S., et al. (2010). Constituents isolated from *Cordyceps militaris* suppress enhanced inflammatory mediator's production and human cancer cell proliferation. *Journal of ethnopharmacology*, 131(2), 363-367.
- Reis, C. E., Dórea, J. G., & da Costa, T. H. (2018). Effects of coffee consumption on glucose metabolism: A systematic review of clinical trials. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 1-8.
- Reis, F. S., Barros, L., Calhella, R. C., et al. (2013). The methanolic extract of *Cordyceps militaris* (L.) Link fruiting body shows antioxidant, antibacterial, antifungal and antihuman tumor cell lines properties. *Food and chemical toxicology*, 62, 91-98.
- Sato, H., & Shimazu, M. (2002). Stromata production for *Cordyceps militaris*

- (Clavicipitales: Clavicipitaceae) by injection of hyphal bodies to alternative host insects. *Applied entomology and zoology*, 37(1), 85-92.
- Sato, K., & Sudo, S. (1999). Small-scale solid-state fermentations. *Manual of industrial microbiology and biotechnology*, 2, 61-63.
- Sharoni, Y., Linnewiel-Hermoni, K., Khanin, M., et al. (2012). Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: a review. *Molecular nutrition & food research*, 56(2), 259-269.
- Shawkat, H., Westwood, M.-M., & Mortimer, A. (2012). Mannitol: a review of its clinical uses. *Continuing education in anaesthesia, critical care & pain*, 12(2), 82-85.
- Shin, S., Park, Y., Kim, S., et al. (2010). *Cordyceps militaris* enhances MHC-restricted antigen presentation via the induced expression of MHC molecules and production of cytokines. *Immune network*, 10(4), 135-143.
- Tabrizchi, R., & Bedi, S. (2001). Pharmacology of adenosine receptors in the vasculature. *Pharmacology & therapeutics*, 91(2), 133-147.
- Takakura, K., Ito, S., Sonoda, J., et al. (2017). *Cordyceps militaris* improves the survival of Dahl salt-sensitive hypertensive rats possibly via influences of mitochondria and autophagy functions. *Heliyon*, 3(11), e00462.
- Tian, X., Li, Y., Shen, Y., et al. (2015). Apoptosis and inhibition of proliferation of cancer cells induced by cordycepin. *Oncology letters*, 10(2), 595-599.
- Tsai, C.-H., Yen, Y.-H., & Yang, J. P.-W. (2015). Finding of polysaccharide-peptide complexes in *Cordyceps militaris* and evaluation of its acetylcholinesterase inhibition activity. *Journal of food and drug analysis*, 23(1), 63-70.
- Tsuchiya, A., Kanno, T., & Nishizaki, T. (2014). Adenosine exerts potent anticancer effects through diverse signaling pathways. *Personalized Medicine Universe*, 3, 35-37.
- Ueda, Y., Mori, K., Satoh, S., et al. (2014). Anti-HCV activity of the Chinese medicinal fungus *Cordyceps militaris*. *Biochemical and biophysical research communications*, 447(2), 341-345.
- Wang, L., Huang, Q.-h., Huang, Y.-f., et al. (2018). Comparison of protective effect of ordinary *Cordyceps militaris* and selenium-enriched *Cordyceps militaris* on triptolide-induced acute hepatotoxicity and the potential mechanisms. *Journal of Functional Foods*, 46, 365-377.
- Wang, L., Liu, C.-C., Wang, Y.-Y., et al. (2016). Antibacterial activities of the novel silver nanoparticles biosynthesized using *Cordyceps militaris* extract. *Current Applied Physics*, 16(9), 969-973.
- Wang, L., Xu, N., Zhang, J., et al. (2015). Antihyperlipidemic and hepatoprotective

- activities of residue polysaccharide from *Cordyceps militaris* SU-12. Carbohydrate polymers, 131, 355-362.
- Wang, M., Meng, X., Yang, R., et al. (2013). *Cordyceps militaris* polysaccharides can improve the immune efficacy of Newcastle disease vaccine in chicken. International journal of biological macromolecules, 59, 178-183.
- Wei, C. J., Tanner, R. D. and Wood W. J. (1981). Elucidating the transition between submerged culture and solid-state baker's yeast fermentation. Biotechnology and bioengineering symposium Journal's. 11: 541-553.
- Wood, D. (1979). A method for estimating biomass of *Agaricus bisporus* in a solid substrate, composted wheat straw. Biotechnology Letters, 1(6), 255-260.
- Xiao, Y., Rui, X., Xing, G., et al. (2015). Solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 enhanced antioxidant capacity and DNA damage protective effect of oats (*Avena sativa* L.). Journal of Functional Foods, 16, 58-73.
- Xiao, Y., Zhang, Q., Miao, J., et al. (2015). Antioxidant activity and DNA damage protection of mung beans processed by solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 31, 216-225.
- Xiong, Y., Zhang, S., Xu, L., et al. (2013). Suppression of T-cell activation in vitro and in vivo by cordycepin from *Cordyceps militaris*. journal of surgical research, 185(2), 912-922.
- Yang, S., Jin, L., Ren, X., et al. (2014). Optimization of fermentation process of *Cordyceps militaris* and antitumor activities of polysaccharides in vitro. Journal of food and drug analysis, 22(4), 468-476.
- Yang, T., & Dong, C. (2014). Photo morphogenesis and photo response of the blue-light receptor gene *Cmwc-1* in different strains of *Cordyceps militaris*. FEMS microbiology letters, 352(2), 190-197.
- Yi, Z.-L., Huang, W.-F., Ren, Y., et al. (2014). LED lights increase bioactive substances at low energy costs in culturing fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. Scientia Horticulturae, 175, 139-143.
- Yoo, H.-S., Shin, J.-W., Cho, J.-H., et al. (2004). Effects of *Cordyceps militaris* extract on angiogenesis and tumor growth. Acta Pharmacologica Sinica, 25(5), 657-665.
- Yoon, J. Y., Kim, J. H., Baek, K.-S., et al. (2015). A direct protein kinase B-targeted anti-inflammatory activity of cordycepin from artificially cultured fruit body of *Cordyceps militaris*. Pharmacognosy magazine, 11(43), 477-485.
- Zheng, Z., & Shetty, K. (2000). Solid-state bioconversion of phenolics from cranberry pomace and role of *Lentinus edodes* β -glucosidase. Journal of agricultural and

food chemistry, 48(3), 895-900.

Zhong, L., Zhao, L., Yang, F., et al. (2017). Evaluation of anti-fatigue property of the extruded product of cereal grains mixed with *Cordyceps militaris* on mice. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14(15), 1-10.

