

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

北蟲草豆類固態發酵基質之篩選及其機能性成分與呈
味性質分析

**Screening of *Cordyceps militaris* fermented beans by
solid-state fermentation and their functional
components and taste characteristics**

林昱均
Yu-Chun Lin

指導教授：梁志弘 博士
Advisor: Chih-Hung Liang, Ph.D.

中華民國一百零八年六月
June, 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 林昱均 君所提之論文

北蟲草豆類固態發酵基質之篩選及其機能性成分與呈

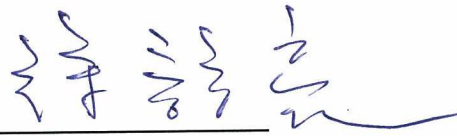
味性質分析

Screening of *Cordyceps militaris* fermented beans by
solid-state fermentation and their functional components
and taste characteristics

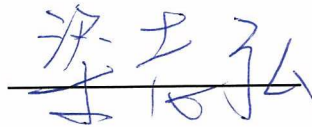
係由本人指導撰述，同意提付審查

此致

食品科學系系主任



指導教授



中華民國一零八年六月十八日

碩士論文考試委員審定書

食品科學系碩士班食品科技組 林昱均 君所提之論文

北蟲草豆類固態發酵基質之篩選及其機能性成分與呈味性質
分析

Screening of *Cordyceps militaris* fermented beans by solid-state
fermentation and their functional components and taste
characteristics

經本委員會審定通過，特此證明。

論文考試委員會

委員：

梁志欣 大葉大學生物資源系教授

蔣真思 國立中興大學食品暨生物應用科技學系助理教授

梁志弘 東海大學食品科學系副教授

王如邦 東海大學食品科學系助理教授

指導教授：

梁志弘

中華民國一零八年六月十八日

謝誌

在指導教授 梁志弘 博士的實驗室中渡過大四及研究所兩年的光陰，感謝老師於研究期間的指導及經驗分享，百忙中對論文的修正及建議，諄諄教誨，特誌卷首，深表感謝。研究過程中感謝 蔣慎思 老師給予的指正及實驗之建議，使研究更加謹慎可信。

論文初成之際，承蒙梁志欽博士、蔣慎思博士與王如邦博士百忙之中逐字詳加審閱，指正疏漏，並於口試時給予諸多指導與寶貴的意見，使論文內容更加周詳，謹此致上最深的謝意。

研究期間，特別感謝實驗室的芸禎學姊及懋碩學長，對實驗技術上的諸多指導兼任心靈導師一職；仲雯、純蕙學姊及庭瑋學長，帶來歡樂讓大家有好心情做實驗；予捷學姊，協助口試申請時遇到的問題；同學皓元，討論實驗上的缺失並一同解決問題；子葶學妹及凱勛學弟，機靈、認真負責讓我可以專心完成實驗；瀚方及韻方學妹，口試上的協助。另感謝上詠、琮霖、承彥、鄧殷學長及嘉鈴(嘎嘎)、琿綾、文彥學姊；同學育菁、郁涵、可莉、宜臻、嘉軒、怡文、美涓、正興、博榕；宥捷學弟及宜錚、瑋心學妹等，在求學期間給予我的幫助、歡樂及陪伴，讓我有繼續前進的動力，在此獻上最深的感謝，能夠在東海認識你們我感到很幸運很幸福，願大家一切平安順利。此外，感謝 黃進發 博士及實驗室成員奕安、義鈞學長及宜璇、冠綺、念廷學妹，讓我到弘光學習時不會感到陌生害怕，反而多認識了一群朋友。

最後，感謝爸爸讓我在求學期間毫無顧慮，也謝謝親人給我的支持與關心，完成碩士學業的喜悅與你們分享，感恩之情，不茆言謝。

謹以此論文獻給所有關心我的親人、師長與朋友。

林昱均 謹致於

東海大學食品科學系
中華民國一百零八年六月

摘要

北蟲草(*Cordyceps militaris*)是著名的食藥用菇，因人工培育相較於冬蟲夏草(*Cordyceps sinensis*)容易，故佔有一席之地。其中機能性成分包括腺苷、蟲草素及麥角固醇等；具有抗氧化、抗腫瘤和調節免疫等功能，故目前常經由固態發酵、萃取及純化等技術運用於藥品和保健食品之開發。豆科(Legume)則是近年固態發酵技術中利用的基質之一，豆類中的抗氧化物質包括生育酚、類胡蘿蔔素及酚類化合物等；已被證實具有降高血脂、減少血栓形成和抗癌等功能。固態發酵技術不僅成本低、所需設備較少，亦可於低水活性下進行發酵，可提供一個與菇類自然生長相近的環境，在適當的人工培育下，可獲得豐富的二次代謝產物。目前以豆類作為基質進行菇類固態發酵之研究相對較少；故本論文主要利用固態發酵之技術，使北蟲草利用不同豆類基質生長並進行篩選、機能性成分及呈味性質分析。

本研究首先探討不同豆類(紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆和黃豆)之北蟲草固態發酵最適水分添加量，以此探討結果進行後續 8 週培養並每週採樣，同時加入糙米基質作為對照，而後第一階段以產品中機能性成分的含量來篩選各基質最佳培養天數；第二階段以產品中抗氧化物質含量評估最佳之豆類基質。另瞭解發酵前後之一般成分，並以固態發酵較佳之北蟲草豆類產品進行呈味特性分析。

固態發酵培養結果，豆類之最適水分添加量為 50%，且菌絲體有深入基質之情況，以此結果進行後續北蟲草豆類固態發酵。培養完成之產品進行第一階段篩選，評估項目主要以發酵基質中最高蟲草素生成量來判斷不同北蟲草發酵基質之最佳培養天數，分別為 42 天(糙米)、49 天(紅豆)、21 天(綠豆)、35 天(花豆)、14 天(鷹嘴豆)、21 天(黑豆)、14 天(黃豆)，而蟲草素含量最高者為北蟲草紅豆(5.99 mg/g)、綠豆(2.52 mg/g)為第二、糙米(1.90 mg/g)為第三。上述 7 種北蟲草發酵物進行第二階段抗氧化物質含量之篩選，結果顯示發酵後之總生育酚含量，以北蟲草黑豆中含量最多(99.63 $\mu\text{g/g}$)、次之為黃豆(62.47 $\mu\text{g/g}$)、再者為紅豆(44.53 $\mu\text{g/g}$)；總類胡蘿蔔素與葉綠素含量部分，總類胡蘿蔔素含量最高之前三者為北蟲草黑豆(29.57 $\mu\text{g/g}$)、綠豆(9.82 $\mu\text{g/g}$)、鷹嘴豆(9.08 $\mu\text{g/g}$)，葉綠素含量以北蟲草黑豆(青仁)

為多(10.21 µg/g)；總酚含量以北蟲草紅豆(226.94 mg/g)、綠豆(235.79 mg/g)、黑豆(230.34 mg/g)和黃豆(267.83 mg/g)之含量無顯著差異並列最多。將這些抗氧化物質含量經加總統計分析後，第二階段評估之結果，北蟲草紅豆、綠豆、黑豆和黃豆無顯著差異為最佳。綜兩階段篩選，得知北蟲草紅豆為7種基質中最佳，次之為北蟲草綠豆。

在一般成分方面，蛋白質含量部分，除北蟲草鷹嘴豆外其他於發酵後提升；脂肪含量部分，發酵後含量皆提高；碳水化合物部分，北蟲草花豆及鷹嘴豆含量增多、其他則減少；粗纖維含量部分，北蟲草糙米、黃豆及黑豆含量提高，其他為降低。在呈味性質方面，紅豆與綠豆經北蟲草固態發酵後其總可溶性糖醇、總游離胺基酸和總核苷酸含量增加，此結果表示呈味價值提升。

綜上所述，7種基質中最佳的北蟲草基質為紅豆、次之為綠豆，另紅豆與綠豆經北蟲草固態發酵後其呈味特增加。本研究結果可作為開發具保健功效北蟲草相關產品之應用參考。

關鍵字：北蟲草、豆科、固態發酵、機能性成分、呈味性質

Abstract

Cordyceps militaris is a famous edible medicinal mushroom species that gained their popularity in recent years to replaced the use of *Cordyceps sinensis* owing to its ease of cultivation property. The functional components of *C. militaris* including adenosine, cordycepin and ergosterol *etc.*, which obtained through solid-state fermentation, extraction, purification and other technologies, showed great activities in anti-oxidation, anti-tumor and immune regulation and had currently been applied to medicinal and functional food industries. Legume is one of the substrates that used in the solid-state fermentation technology in recent years for the cultivation of *C. militaris*. It contains tocopherols, carotenoids phenolic compounds and has been confirmed to have activities in hypolipidemic regulation, thrombosis attenuation and anti-cancer. Solid-state fermentation is a cost effective method when it comes to mushroom cultivation. It can be operated in low water conditions that resembles to the natural growth condition of mushrooms, which under proper operation large amounts of secondary metabolites can be obtained. Unfortunately, there were relatively few studies regarding to the solid-state cultivation of mushrooms using legume as substrates. Therefore, the purpose of this study is to use legume as a substrate for *C. militaris* cultivation and to analyze the functional components and the taste characteristics of legume after the cultivation process.

We first optimize the optimum water content for the growth of *C. militaris* in azuki bean, mung bean, speckled kidney bean, chickpea, black bean, and soy bean. Meanwhile, the amount of antioxidative compounds, biomass, adenosine, and cordycepin produced during 8 weeks of cultivation were also analyzed. Finally, the tasting characteristics of the fermented legume with the first two highest polyphenol were analyzed.

Results showed that the optimum moisture content of the beans to promote the best

growth of *C. militaris* was 50%, which showed deep penetration of the mycelium into the matrix. The cordycepin contents peaks at 42, 49, 21, 35, 14, 21, and 14 days of *C. militaris* cultivation in brown rice, azuki bean, mung bean, speckled kidney bean, chickpea, black bean, and soy bean respectively. The highest cordycepin content was the *C. militaris* cultivated in azuki bean (5.99 mg/g), followed by mung bean (2.52 mg/g), and brown rice (1.90 mg/g). The total tocopherols content after fermentation were 99.63, 62.47, and 44.53 $\mu\text{g/g}$ for the black bean matrix, soybean, and azuki bean respectively; the total carotenoids content after fermentation were 29.57, 9.82, and 9.08 $\mu\text{g/g}$ for black beans, mung beans, and chickpeas respectively. Myceliums which were cultivated in black bean matrix produce highest amount of chlorophyll (10.21 $\mu\text{g/g}$) compared to other matrix. However, there were no significant difference in the total phenolic content among different cultivation matrix including azuki bean (226.94 mg/g), mung bean (235.79 mg/g), black beans (230.34 mg/g) and soybean (267.83 mg/g). Our results showed that the best matrix for the cultivation of *C. militaris* was azuki bean, followed by mung bean.

For the results of general composition analysis. We found that there were significant increase of the protein content in all groups of matrix except chickpea. However, fat content increased in all fermentation groups; the carbohydrate contents decreased except speckled kidney bean and chickpea; the crude fiber content decreased in all groups except brown rice, black soybean, and soybean. For the results of taste characteristic analysis, the taste of *C. militaris* which cultivated in azuki bean and mung bean had improved owing to the significant increase of total soluble sugar alcohol, total free amino acids, and total 5'-nucleotide.

In conclusion, the solid-state fermentation of azuki bean by *C. militaris* is the best among the other bean, followed by the mung bean. Furthermore, the *C. militaris* fermented azuki bean and mung bean improved their taste after fermentation. The

results of this study can be used as a reference for the development of health-care products related to *C. militaris*.

Keywords: *Cordyceps militaris*, legume, solid-state fermentation, functional components, taste characteristics



目錄

謝誌.....	
摘要.....	I
Abstract.....	III
表次.....	VIII
圖次.....	IX
第一章 前言.....	1
第二章 文獻回顧.....	3
一、 北蟲草.....	3
(一) 北蟲草之特性及分布.....	3
(二) 北蟲草之機能性成分.....	3
(三) 北蟲草之生理活性.....	6
(四) 蟲草素生成機制.....	9
二、 豆類.....	11
(一) 紅豆.....	11
(二) 綠豆.....	12
(三) 花豆.....	13
(四) 鷹嘴豆.....	14
(五) 黑豆與黃豆.....	15
三、 發酵.....	17
(一) 固態發酵定義.....	17
(二) 液態發酵定義.....	17
(三) 固態發酵與液態發酵之比較.....	20
(四) 固態發酵生物質量之測量方法.....	20
四、 食藥用菇之呈味特性.....	24
(一) 可溶性糖醇.....	24
(二) 游離胺基酸.....	24
(三) 核苷酸.....	28
五、 實驗目的與架構.....	31
第三章 材料與方法.....	33
一、 實驗材料.....	33
二、 實驗方法.....	33
(一) 菌株培養及接種源製備.....	33

(二) 固態培養.....	34
(三) 機能性成分與抗氧化物質分析.....	36
(四) 一般成分分析.....	39
(五) 呈味物質分析.....	41
(六) 統計分析.....	44
第四章 結果與討論.....	45
一、 豆類最適水分添加量探討.....	45
二、 不同北蟲草固態發酵基質之生物質量、腺苷和蟲草素含量.....	48
(一) 北蟲草糙米之菌絲體、腺苷和蟲草素含量.....	48
(二) 北蟲草紅豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量.....	51
(三) 北蟲草綠豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量.....	51
(四) 北蟲草花豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量.....	55
(五) 北蟲草鷹嘴豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量.....	59
(六) 北蟲草黑豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量.....	59
(七) 北蟲草黃豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量.....	64
(八) 北蟲草糙米與豆類基質之菌絲體、腺苷和蟲草素含量比較討論.....	67
三、 北蟲草固態發酵產品之抗氧化成分.....	68
(一) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總生育酚(維生素E)含量.....	68
(二) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總類胡蘿蔔素含量.....	70
(三) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵後之葉綠素含量.....	75
(四) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總酚含量.....	75
(五) 北蟲草糙米與北蟲草豆類之抗氧化物質含量比較.....	79
四、 一般成分分析.....	80
(一) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之蛋白質含量.....	80
(二) 糙米與豆類經北蟲草固態發酵培養之脂肪含量.....	83
(三) 糙米與豆類經北蟲草固態發酵培養後之碳水化合物含量.....	83
(四) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之粗纖維含量.....	88
五、 呈味物質分析.....	91
(一) 北蟲草紅豆與綠豆發酵前後可溶性糖醇組成.....	91
(二) 北蟲草紅豆與綠豆發酵前後游離胺基酸之組成.....	93
(三) 北蟲草紅豆與綠豆發酵前後核苷酸之組成.....	95
第五章 總結論.....	100
第六章 參考文獻.....	101

表次

附表一、固態與液態發酵比較	21
附表二、L-胺基酸之呈味特性	26
附表三、胺基酸之相對甜度	27
附表四、鮮味胺基酸及鮮味核苷酸之個別相對鮮味強度	29
表一、北蟲草糙米固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	50
表二、北蟲草紅豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	53
表三、北蟲草綠豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	56
表四、北蟲草花豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	58
表五、北蟲草鷹嘴豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	61
表六、北蟲草黑豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	63
表七、北蟲草黃豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	66
表八、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總生育酚含量	71
表九、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總類胡蘿蔔素及總葉綠素含量	74
表十、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總酚含量	78
表十一、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之蛋白質含量	82
表十二、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之脂肪含量	85
表十三、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之碳水化合物含量	87
表十四、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之粗纖維含量	90
表十五、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後可溶性糖醇組成	92
表十六、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後游離胺基酸之組成	94
表十七、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後游離胺基酸之呈味特性	96
表十八、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後之呈味核苷酸含量	97
表十九、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後之等價鮮味濃度	99

圖次

附圖一、北蟲草主要機能性成分之結構	5
附圖二、蟲草素生成機制圖	10
附圖三、固態發酵示意圖	18
附圖四、固態發酵微觀示意圖	19
附圖五、實驗架構圖	32
圖一、不同水分添加量之北蟲草豆類固態發酵菌絲生長情形	46
圖二、北蟲草豆類水分添加量 50%及 60%之剖面圖	47
圖三、北蟲草糙米固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	49
圖四、北蟲草紅豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	52
圖五、北蟲草綠豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	54
圖六、北蟲草花豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	57
圖七、北蟲草鷹嘴豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	60
圖八、北蟲草黑豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	62
圖九、北蟲草黃豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化	65
圖十、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總生育酚含量	69
圖十一、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總類胡蘿蔔素含量	73
圖十二、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總葉綠素含量	76
圖十三、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總酚含量	77
圖十四、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之蛋白質含量	81
圖十五、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之脂肪含量	84
圖十六、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之碳水化合物含量	86
圖十七、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之粗纖維含量	89

第一章 前言

華人「預防勝於治療」的觀念，讓我們關注的不只是如何治療，更關切公共衛生、日常飲食及生活作息等預防觀念。「養生」概念日益受到重視，除規律生活及健康飲食外，具有保健功效產品之開發亦蓬勃發展，其中與冬蟲夏草相似的北蟲草已呈現蓬勃發展之勢。

北蟲草(*Cordyceps militaris*)又名北冬蟲夏草、蛹蟲草，在分類上與冬蟲夏草為同屬不同種之真菌(Sung *et al.*, 2007)，兩者具有相似生物活性成分及功效，北蟲草之蟲草素含量和抗氧化活性皆高於冬蟲夏草(劉等, 2013)；其生理功能如抗憂鬱、抗高血脂及抗腫瘤等(Hou *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2014)。野生的北蟲草孢子被幼蟲攝食進入體內，當幼蟲成蛹時蟲體死亡，北蟲草即從寄主頭部或蟲體節部生長出橘黃色棒狀子座(呂, 2009)。由於野生的北蟲草生長受限，故可藉由人工培養取代，以往以穀類做為基質近年開始利用豆類作為北蟲草固態發酵基質，且具有良好之成果。

豆類之健康益處為飽和脂肪含量低、必需營養素和植物化學物質含量高，且因含豐富蛋白質成為素食者重要的蛋白質來源(Murphy *et al.*, 2018)。研究發現食用豆類有助於降低心血管疾病、第二型糖尿病及特定癌症的風險(Fabbri *et al.*, 2016)等。此外，已證實綠豆及鷹嘴豆經北蟲草固態發酵後其營養價值與抗氧化能力皆提高(Xiao *et al.*, 2015a; 2015b)。

固態發酵指微生物在沒有多餘游離水之固體基質生長，但此時基質仍含有足夠的水分來支持微生物的生長及代謝(Pandey, 2003)。此技術所需能源較低且產生廢水較少，可減輕環境壓力(Neves *et al.*, 2006)。目前常使用之固態發酵基質包括穀物和農業廢棄物，僅少數以豆類作為基質進行菇類固態發酵質培養。

本論文將以不同豆類(紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆及黃豆)作為北蟲草固態發酵之基質，針對其機能性成分及抗氧化物質含量進行篩選，最後瞭解發酵前後一般成分及較佳產品之呈味特性，以供日後產品開發之應用參考。

本論文探討重點如下：

- 一、探討紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆及黃豆之最適水分添加量，而後進行 8 周的北蟲草固態發酵培養。
- 二、第一階段以北蟲草豆類機能性成分含量進行篩選，得出各豆類基質最佳之培養天數；第二階段則以上述所獲得之產品針對抗氧化成分進行分析，篩選出最佳之北蟲草豆類產品。
- 三、分析所有北蟲草豆類發酵前後之一般成分，另挑選機能性和抗氧化成分含量最佳之前二產品，進行呈味特性分析。



第二章 文獻回顧

一、北蟲草

(一) 北蟲草之特性及分布

北蟲草又稱北冬蟲夏草、蛹蟲草、蛹草、蛹草菌等(朱等, 2018); 屬真菌界(Fungi)、子囊菌門(Ascomycota)、囊殼菌綱(Sordariomycetes)、肉座菌目(Hypocreales)、麥角菌科(Clavicipitaceae)、蟲草屬(*Cordyceps*) (丘, 2011)。同屬的冬蟲夏草是一珍貴之藥用菇, 因對寄主具專一性故目前仍以野生來源為主, 由於受限產地且近年環境破壞及汙染問題導致採集困難, 使得冬蟲夏草價格居高不下; 反之, 北蟲草對寄主無專一性、利於人工培育, 故日漸取代其地位成為重要研究目標(呂, 2009)。

當北蟲草孢子被鱗翅目幼蟲食入後, 於蟲體內形成菌核, 進入蛹期後蟲體會死亡, 之後北蟲草從蛹內生長出來, 因而得名蛹蟲草; 其外部型態呈棒狀且頂部略為膨大, 顏色為橘黃或橘紅色(呂, 2009)。其生長週期可分為菌絲體和子實體兩階段, 菌絲體生長階段不需要光照; 子實體生長階段需要光照來孕育生長, 菌絲體顏色亦會因光線照射, 由白色漸漸轉為橘黃色(Li *et al.*, 2014; Tao *et al.*, 2014)。

北蟲草為一種食用與藥用兼具的菇類, 在東亞國家已被廣泛運用做為藥材及民間滋補品(Xing *et al.*, 2015)。在寒、溫、熱和亞熱帶地區皆可生長(曾等, 2011), 廣泛分布於韓國、中國、日本等東亞地區(Can *et al.*, 2013); 另在歐洲巴爾幹半島的斯洛維尼亞亦發現北蟲草之生長(Dang *et al.*, 2018)。其營養成分豐富, 如蛋白質、胺基酸和多種維生素等; 亦具多種機能性成分, 如蟲草素、甘露醇、多糖等(周等, 2014)。

(二) 北蟲草之機能性成分

研究顯示北蟲草含有和冬蟲夏草相似之活性成分, 包括腺苷(Adenosine) (Chiang *et al.*, 2017)、蟲草素(Cordycepin) (Lin *et al.*, 2018)、噴司他丁(Pentostatin) (Xia *et al.*, 2017)、甘露醇(Mannitol)、多醣(Polysaccharide) (Ying *et al.*, 2019)、

類胡蘿蔔素(Carotenoid) (Sharoni *et al.*, 2012)等機能性成分。

1. 腺苷(Adenosine)

腺苷是核苷的一種，其結構由核糖和部分腺苷嘌呤經 β -N₉-糖苷鍵鍵結而成(附圖一(1))，是有效的免疫抑制劑，對於維持組織穩定及預防炎症至關重要(Ohta *et al.*, 2001)，亦是能量轉移及穩定中樞神經系統與體內平衡的重要調節劑(Sato *et al.*, 2005)。此外，腺苷具有治療慢性心臟衰竭(Kitakaze *et al.*, 2000)、調控血管擴張與刺激末梢神經(Tabrizchi *et al.*, 2001)、抗新血管生成(Yoo *et al.*, 2004)、調整睡眠(Basheer *et al.*, 2004)、抗憂鬱(Carlezon *et al.*, 2005)、抑制 HIV-1 病毒(Jiang *et al.*, 2011)、調節腦部缺血損傷(Gomes *et al.*, 2011)等功能；另在妊娠期糖尿病和肥胖的發炎反應中亦扮演重要之角色，主要是透過激活四種腺苷受體發揮其作用(Cabalín *et al.*, 2019)。

2. 蟲草素(Cordycepin)

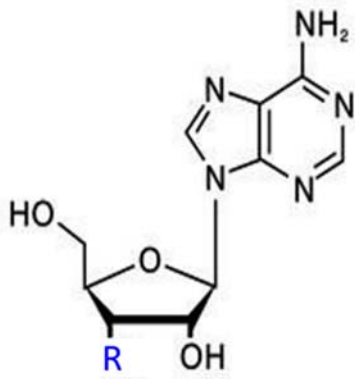
蟲草素化學結構與腺苷相似附圖一(2)中，兩者差異僅於3號碳上所接之官能基。蟲草素具抗疲勞(Jung *et al.*, 2004)、抑制血小板凝集(Cho *et al.*, 2007)、改善酒精性肝毒(Cha *et al.*, 2013)、抗血栓作用(Kwon *et al.*, 2016)、抗發炎(Chiu *et al.*, 2016)、抗腫瘤(Jin *et al.*, 2018)、抑制急性肺損傷(Wei *et al.*, 2018)及抗肥胖(Qi *et al.*, 2019)等生理活性。

3. 噴司他丁(Pentostatin)

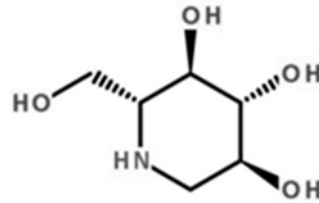
研究指出，北蟲草中具有噴司他丁(Xia *et al.*, 2017) (附圖一(3))，此物質可被用於治療惰性淋巴細胞增生性疾病(Ho *et al.*, 2006)，若與阿倫單抗(Alemtuzumab)配合使用可治療成人 T 細胞白血病(Adult T-cell leukemia) (Ravandi *et al.*, 2006)，故噴斯他丁已被作為抗白血病之藥物(Bar *et al.*, 2018)。

4. 甘露醇(Mannitol)

甘露醇又稱蟲草酸(Cordycepic acid)，是一種多元醇(附圖一(4))，能治療急性中風(Bereczki *et al.*, 2001)及顱內高壓，亦可預防心臟和血管手術後引起的腎臟衰竭(Shawkat *et al.*, 2012)，另研究指出甘露醇可抑制大鼠空腸中的葡萄糖吸



(Xia *et al.*, 2017)

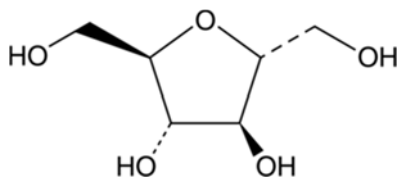


(Xia *et al.*, 2017)

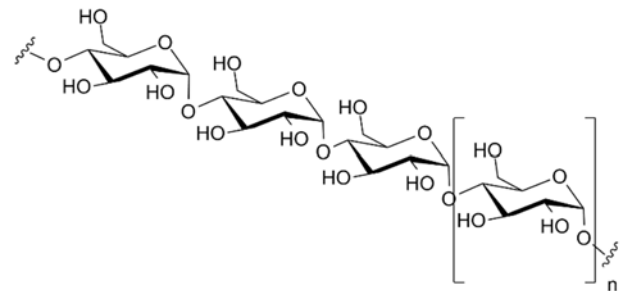
(1) Adenosine (R=OH)

(3) Pentostatin

(2) Cordycepin (R=H)



(Bereczki *et al.*, 2001)



(Lee *et al.*, 2009)

(4) Mannitol

(5) Polysaccharide

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*.

收(Chukwuma *et al.*, 2019)。

5. 多醣(Polysaccharide)

北蟲草中的多醣結構如附圖一(5)為 β -1,4 支鏈 β -1,6-葡萄糖半乳糖甘露聚糖(β -1,4branched- β -1,6-galactoglucomannan) (Lee *et al.*, 2009)，具有抗老化(Gao *et al.*, 2010)、降血脂和保肝作用(Jia *et al.*, 2015)、免疫調節與抗氧化能力(Liu *et al.*, 2016)及抗腫瘤(Kopparapu *et al.*, 2016)等生理活性。

6. 類胡蘿蔔素(Carotenoid)

北蟲草子實體外觀呈橘黃色，主要是含類胡蘿蔔素，具有提升視力(Bernstein *et al.*, 2001)、抗癌(Sharoni *et al.*, 2012; Xiumei *et al.*, 2013)和抗氧化(Ribeiro *et al.*, 2018)等功效。

(三) 北蟲草之生理活性

研究指出北蟲草具有多種生理活性，分述如下：

1. 抗疲勞

北蟲草子實體以 30%酒精進行萃取，所得之萃取物每日以 500 mg/kg 餵食 5 週齡 ICR 小鼠，持續 4 週並進行每週 15 分鐘/3 次強制游泳試驗；結果發現北蟲草酒精萃取物具有抗疲勞效果(Jung *et al.*, 2004)。另有研究發現北蟲草子實體以蒸餾水於 45°C 下萃取 3 小時，經離心後取其上清液，重複二次萃取並合併上清液，減壓濃縮及凍乾後，得萃取物粉末；之後連續餵食小鼠北蟲草萃取物 2 g/kg 2 周，發現可延遲小鼠疲勞現象(Teng *et al.*, 2015)。

2. 抗發炎

文獻指出將北蟲草接種於發芽大豆上，經熱水萃取得萃取物，於葡萄聚糖硫酸銨 (Dextran sodium sulfate, DSS) 誘發急性結腸炎實驗中，可透過調控基因 iNOS (Inducible nitric oxide synthase)和 TNF- α (Tumor necrosis factor-alpha) mRNA 表現量，達到抗發炎效果(Han *et al.*, 2011)。另研究發現北蟲草子實體之甲醇萃取物亦具有抗炎活性，可抑制促發炎 iNOS 蛋白累積，並降低脂多醣體 (Lipopolysaccharide, LPS)刺激小鼠(RAW264.7)巨噬細胞中 COX-2

(Cyclooxygenase-2)蛋白表達(Chiu *et al.*, 2016)。

3. 抗腫瘤

研究發現將北蟲草接種於發芽大豆上，經丁醇萃取所得萃取物，對結腸癌細胞具有抗增生作用(Mollah *et al.*, 2012)。另蟲草素是北蟲草中的特殊機能性成分之一，已被證實是一種抗腫瘤的化合物，能夠抗血管新生、抗轉移和抗增殖作用(Jin *et al.*, 2018)。

4. 抗氧化

研究發現經 STZ (Streptozotocin)誘發產生糖尿病之大鼠，餵食北蟲草白米後，可增加體內抗氧化的能力(Park *et al.*, 2011)；另研究指出北蟲草多醣可降低小鼠體內脂質過氧化終產物丙二醛(Malondialdehyde)的水平(Liu *et al.*, 2016)。

5. 抑菌

研究發現北蟲草搖瓶發酵之乙酸乙酯萃取物，可抑制金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、蠟狀芽孢桿菌(*Bacillus cereus*)、變形桿菌屬(*Proteus species*)、巨大芽孢桿菌(*Bacillus megaterium*)、棒狀桿菌(*Corynebacterium pekinense*)、綠色木黴(*Trichoderma viride*)及黃曲霉(*Aspergillus flavus*)；另正丁醇萃取物，可抑制馬鈴薯芽孢桿菌(*Bacillus mesentericus*)、變形桿菌屬、枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*)、綠色木黴及黃曲霉，兩者皆有濃度劑量效應(秦等, 2006)。此外，研究指出將北蟲草菌絲體培養液與銀奈米粒子結合成 AgNP (Silver nanoparticles)，此合成物對所有水生和臨床病原菌具有優越之抗菌活性(Su *et al.*, 2016)。

6. 降血脂

研究指出高血脂症之大鼠和倉鼠，餵食蟲草素後，可降低總膽固醇(TC)、三酸甘油酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)和極低密度脂蛋白(VLDL-C)之含量，顯示其具有降血脂作用(Jian *et al.*, 2011)。亦有研究指出北蟲草多醣可降低小鼠血液及肝臟中的脂質含量(Jia *et al.*, 2015)。

7. 降血糖

研究發現經 STZ 誘發產生糖尿病之大鼠，餵食北蟲草白米後，可降低血糖及膽固醇(Park *et al.*, 2011)。另北蟲草菌絲體之乙醇萃取物，可提高葡萄糖的代謝，進而達到降血糖之作用(Jing *et al.*, 2014)。

8. 改善腎損傷

研究指出經氫化皮質醇誘導腎損傷之高齡小鼠，餵食北蟲草菌絲體之乙醇萃取物，對小鼠腎損傷具有保護作用；另亦發現可降低腎臟之血尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)及血清肌酸酐(Serum creatinine, SCr)含量，提高血清促腎上腺皮質激素(Adrenocorticotrophic hormone, ACTH)及皮質醇(Cortisol, Cor)含量，減輕誘導所引起之腎臟組織傷害(施等, 2009)。此外，研究發現以鏈脲佐菌素誘導 II 型糖尿病大鼠，餵食北蟲草水萃取物和酒精萃取物後，會降低血尿素氮、肌酸酐、尿酸和蛋白質含量，顯示具有保護腎損傷效果(Jing *et al.*, 2014)。

9. 免疫調節功能

研究發現於樹突細胞中加入北蟲草子實體水萃取物，可提高 I、II 類主要組織相容性複合體(Major histocompatibility complex, MHC)之表現量，但不會影響外源性白蛋白(Ovalbumin)的吞噬活性(Shin *et al.*, 2010)。另研究亦發現餵食小鼠北蟲草多醣後，可提升其脾臟指數、胸腺指數、脾淋巴細胞活性、白細胞總量和 IgG 功能(Liu *et al.*, 2016)。

10. 護肝作用

研究指出將蟲草素或干擾素- α (Interferon- α)與瑞比達(Ribavirin)藥物合併使用，對 C 型肝炎病毒(Hepatitis C virus)具有抑制作用，可預防肝硬化及肝癌之發生(Ueda *et al.*, 2014)。另亦有研究顯示北蟲草多醣可降低肝臟之損傷並改善丙胺酸轉氨酶(Alanine transaminase, ALT)之含量(Jia *et al.*, 2015)；此外，研究指出以雷公藤內酯誘導急性肝損傷之大鼠，餵食富硒之北蟲草後，可減緩誘導造成的病理損傷(Zheng *et al.*, 2018)。

11. 抗血栓

研究發現北蟲草液態培養液可分離純化出新型之纖維蛋白分解酶，能作為

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)，能水解三種纖維蛋白原鏈(α 、 β 和 γ)，達到預防血栓形成之效果(Sun *et al.*, 2017)。

12. 防止急性肺損傷

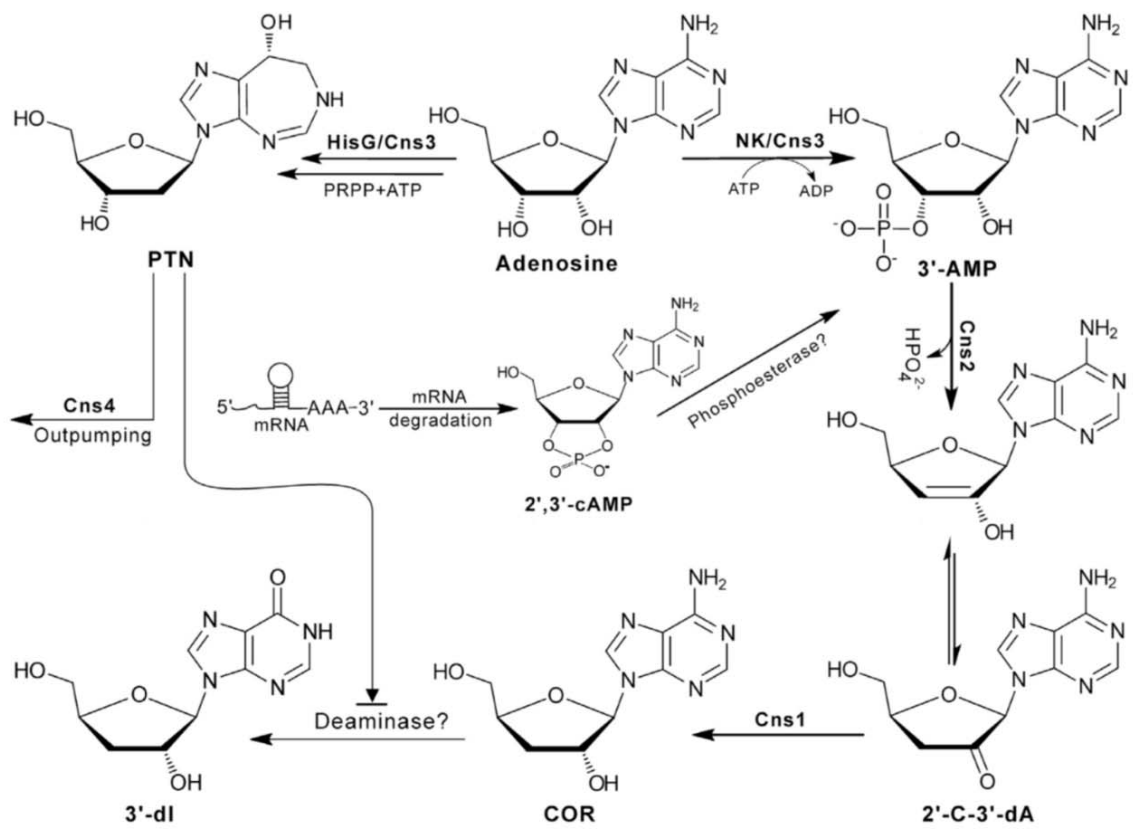
研究指出以蟲草素餵食經 LPS 誘導急性肺損傷(Acute lung injury)小鼠，可降低小鼠肺之濕/乾(W/D)比率、髓過氧化物酶(Myeloperoxidase)活性、丙二醛含量及發炎因子 TNF- α 與 IL-1 β 含量，顯示蟲草素可藉由發炎反應和氧化壓力抑制，減輕小鼠之急性肺損傷(Lei *et al.*, 2017)。

13. 緩解過敏性皮膚炎

研究發現將北蟲草培養於發芽大豆經過萃取所得之萃取物，可降低經 2,4-二硝基苯基氟苯誘導 C57BL/6 小鼠過敏性皮膚炎；小鼠之 T 細胞及肥大細胞會進入受損皮膚，緩解過敏性皮膚炎(Hyejin, 2015)。

(四) 蟲草素生成機制

蟲草素是北蟲草最主要之機能性成分，具有許多生理活性都與其有關，包括可誘導細胞凋亡(Jeong *et al.*, 2011)、抗腫瘤(Hsu *et al.*, 2017)及提高乳癌細胞對輻射敏感(Dong *et al.*, 2019)等功能。附圖二是 Xia 等人(2017)提出之蟲草素之生成機制圖。合成是從腺苷(Adenosine)開始，經由基因 Cns3 表現作用，核苷激酶(nucleoside/nucleotide kinase, NK)使腺苷磷酸化形成腺苷三磷酸(adenosine 3'-monophosphate, 3'-AMP)，接著基因 Cns2 表現作用，3'-AMP 轉化成 2'-羰基-3'-脫氧腺苷(2'-carbonyl-3'-deoxyadenosine, 2'-C-3'-dA)，最後再經由還原反應和基因 Cns1 表現作用，形成蟲草素(Cordycepin, COR)；此外，腺苷亦可經基因 Cns3 表現作用下，磷酸核糖轉移酶(HisGtype ATP phosphoribosyltransferase, HisG)使腺苷形成噴司他丁(Pentostatin, PTN)，且噴斯他丁(PTN)會對去氨酶(Deaminase)產生抑制作用；仍尚未確定之部分為，蟲草素(COR)是否經去氨酶(Deaminase)作用導致降解形成(3'-deoxyinosine, 3'-dl)，若此反應成立，則表示噴斯他丁(PTN)之存在，有助於預防蟲草素降解的發生(Xia *et al.*, 2017)。



(Xia *et al.*, 2017)

附圖二、蟲草素生成機制圖

Referred figure 2. Cordycepin production mechanism diagram.

二、豆類

豆類的組成遠比穀類複雜，一般豆類可分為兩類，第一類為澱粉類，如紅豆、綠豆、花豆、皇帝豆和豌豆仁等；第二類為高蛋白質與脂肪類，如黃豆、黑豆和毛豆等(李等，2008)。根據研究顯示，豆類之健康益處主要是因其飽和脂肪酸含量低，同時具有必需營養素和植物化學物質，另可替代動物性產品蛋白質來源；豆類含有許多有益健康物質，包括纖維、酚類化合物、生育酚、類胡蘿蔔素和礦物質等；此外，攝食豆類可調節血液中脂肪和葡萄糖含量，改善胰島素阻抗；另具有抗發炎和抗氧化功能(Murphy *et al.*, 2018)。

(一) 紅豆

1. 紅豆之特性及分布

紅豆又稱赤豆，種子為暗紅色，屬於植物界(Plantae)、維管束植物門(Tracheophyta)、木蘭綱(Magnoliopsida)、豆目(Fabales)、豆科(Fabaceae)、豇豆屬(*Vigna*)(Greene *et al.*, 2005)。主要分布於中國(華北、東北、黃河中下游、長江下游及錢塘江口)、印度、朝鮮半島、日本及台灣(高雄、屏東)等東亞地區，近年美國有少量生產(周，2005)。中醫認為其氣味甘、酸、平、無毒，且對心及脾經，具有消熱去毒、益脾健胃、消腫利尿和除煩通氣等功能(張等，2018)。紅豆內含有豐富的碳水化合物、蛋白質、膳食纖維、必需胺基酸、維生素及微量元素等(于等，2017)。

2. 紅豆之機能性成分

紅豆中的多醣能夠清除人體的超氧自由基與羥基自由基，可有效阻斷亞硝酸合成及清除亞硝酸鈉(李等，2014)。另紅豆中的植物蛋白具有很高的營養價值，其蛋白多肽具諸多生理活性如降血壓(張，2016)。

3. 紅豆之生理活性

紅豆自古就被認為是養生食品，其生理功能分述如下：

(1) 抗氧化及免疫調節

研究指出紅豆水溶性多醣具有清除 DPPH 能力，顯示紅豆多醣具有抗氧

化劑與免疫調節劑的潛力(Yao *et al.*, 2015)。

(2) 降血糖

研究發現紅豆多醣具有抗糖尿病活性，可顯著改善小鼠肝醣之含量，另可穩定小鼠之肝醣(Wu *et al.*, 2019)。

(二) 綠豆

1. 綠豆之特性及分布

綠豆屬於植物界(Plantae)、維管束植物門(Tracheophyta)、木蘭綱(Magnoliopsida)、豆目(Fabales)、豆科(Fabaceae)、豇豆屬(*Vigna*)(Ganesan *et al.*, 2018)。普遍分布東南亞國家，原產於印度和緬甸，而緬甸為其主要的出口國，在歐洲也有少量的栽種；在台灣綠豆的種植區域主要分布於嘉南平原，而嘉義朴子為重要產地(Kang *et al.*, 2014)。綠豆含有蛋白質、維生素、礦物質等營養物質，是一種具有藥用價值且廣為人所喜愛的作物(王等，2009)。李時珍《本草綱目》記載：「綠豆消腫下氣，治寒熱，止泄痢，利小便，除脹氣，厚實腸胃，補益元氣，調和五臟，安精神，去浮風，潤皮膚，解金石、砒霜、草本等一切毒。」

2. 綠豆之機能性成分

綠豆富含抗氧化成分、黃酮類、微量元素、蛋白質與必需胺基酸等(Xie *et al.*, 2019)；綠豆中的葉綠素可促進傷口癒合、治療缺鐵性貧血、清除體內自由基和抗發炎之作用(Peng *et al.*, 2019)。

3. 綠豆之生理活性

綠豆的生理活性功能分述如下：

(1) 抗腫瘤

綠豆中的胰蛋白酶抑制劑 Lysine 活性片段的 33 個殘基，將其命名為 mTI，並指出其具有強烈的胰蛋白酶抑制活性；而葡萄糖調節蛋白 78 (GRP78) 存在癌細胞的細胞膜上，故作者建構含有葡萄糖調節蛋白 78 (GRP78) 結合肽 WIFPWIQL 及 mTI 的融合蛋白，此融合蛋白抑制結腸和直腸癌細胞的生長並

誘導癌細胞凋亡(Chao *et al.*, 2014)。

(2) 抗糖尿病

研究指出以綠豆為基質經由 *Rhizopus oligosporus* 發酵後，其總酚含量會提高，另 L-DOPA 含量及抗氧化活性亦會增強，進而提高對澱粉酶和幽門螺旋桿菌之抑制。另研究指出低血糖指數食物中，若含有較高的 α -澱粉酶抑制活性，伴隨較高 L-DOPA 含量，可控制碳水化合物代謝紊亂(如第二型糖尿病)之問題(Randhir *et al.*, 2007)。

(3) 降血壓

研究發現分子量小於 3 kDa 之綠豆蛋白質水解物，具有抑制抗血管緊張素 I 轉換酶(ACE-I)；當 ACE-I 活性被抑制，會減少血管收縮，使血管周邊阻力下降，進而達到降血壓效果(Xie *et al.*, 2019)。

(三) 花豆

1. 花豆之特性及分布

花豆屬於植物界(Plantae)、被子植物門(Angiospermae)、雙子葉植物綱(Dicotyledoneae)、薔薇目(Rosales)、豆科(Leguminosae)、菜豆屬(*Phaseolus*)(中國科學院編委會，1995)。花豆為一年生草本豆科植物的種子，紫紅色的種皮上有白色雲狀的花紋(郭，2004)。原產於中南美洲，於日治時代引進台灣，目前主要以雲林、屏東為其種植地；花豆為拉丁美洲的基本飲食之一，主要的生產和出口地區在阿根廷西北部的薩爾塔省、胡胡伊省和土庫曼省(Sáez *et al.*, 2017)。

2. 花豆之機能性成分

花豆含有豐富的黃酮類、生物鹼及有機酸等，能夠抗衰老和抗發炎等功效(梁等，2016)，鈣、鉀、膳食纖維、維生素 B₁ 和色胺酸，可促進腸胃蠕動、預防便秘；其豆仁含有豐富的蛋白質、澱粉質及醣類，屬於高熱量食物(薛，1997)。

3. 花豆之生理活性

(1) 抗菌作用

研究指出花豆外皮以 80% 甲醇萃取後經冷凍乾燥，其凍乾粉末以 100 mg/mL 溶於二甲基亞砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)中，結果顯示具有抑制革蘭氏陽性菌之作用，可作為天然的抗菌劑及食品防腐劑應用(Gan *et al.*, 2016)。

(2) 抗腫瘤

研究發現從花豆中可分離出二聚葡萄糖胺凝集素(CHL)，對人類鼻咽癌細胞(CN1)及肝癌細胞(Hep2)具有抑制增值作用，其 IC₅₀ 值為 50 μM；此外，CHL 可減緩乳腺癌細胞(MCF7)之增值(Pan *et al.*, 2015)。

(四) 鷹嘴豆

1. 鷹嘴豆特性及分布

鷹嘴豆又稱雪蓮子，是國外常見主食之一，分類學上屬於植物界(Plantae)、維管束植物門(Tracheophyta)、木蘭綱(Magnoliopsida)、豆目(Fabales)、豆科(Fabaceae)、鷹嘴豆屬(*Cicer*) (Esmail *et al.*, 2016)。栽種於世界各地，範圍涵蓋亞洲、非洲、歐洲、澳大利亞、北美洲和南美洲大陸(Singh *et al.*, 2014)。印度和巴基斯坦兩國是主要耕種地，其中以印度為最大鷹嘴豆生產國，產量佔全球 66% (Archak *et al.*, 2016)。鷹嘴豆非常珍貴且稀有，其營養素也特別地豐富含有蛋白質、胺基酸、礦物質及膳食纖維等營養素，另亦含有豐富的植物性類雌激素；此外鷹嘴豆能夠調節更年期女性之荷爾蒙濃度，促進荷爾蒙的活化能力，另可改善視力不佳問題(梁，2018)。

2. 鷹嘴豆之機能性成分

鷹嘴豆蛋白質含量相對較高，主要蛋白質是球蛋白、白蛋白和穀蛋白(Chang *et al.*, 2011)。種子中含有異黃酮，包括生物素 A (biochanin A)、刺芒炳花素(formonoetin)、芒炳花苷(formonoetin glucoside)、雞豆黃素配糖物(biochanin A glucoside)；而生物素 A 具有抗炎、抗癌和降血脂的功能(Wahby *et al.*, 2017)。

3. 鷹嘴豆之生理活性

(1) 抗 γ -輻射治療之副作用

γ -輻射治療引起的肝、腎和骨損傷，以鷹嘴豆萃取物經調節氧化/抗氧化途徑進行治療，研究結果，不僅可使氧化損傷降低至最小，且可透過與 $O_2 \cdot -$ 和 H_2O_2 氧化鏈級聯反應來抑制活性，作為傳播途徑的終止因子；除此之外，可經由增加穀胱甘肽(GSH)、超氧歧化酶(SOD)、過氧化氫酶(CAT)、穀胱甘過氧化酶(GPx)等抗氧化劑分子來提高抗氧化劑的狀態(Sayed *et al.*, 2018)。

(2) 促進成骨細胞分化

研究發現鷹嘴豆含有 Medicarpin (Med)，是一種豆科植物抗毒素；當 Med 濃度低至 10^{-10} M 時，藉由刺激雌激素受體(Estrogen receptor)使骨細胞分化和礦化，促峰值骨量再現(Bhargavan *et al.*, 2012)。

(3) 抗增殖作用

研究指出鷹嘴豆之白蛋白水解產物，鷹嘴豆肽稱之為 CPe-III，對人類乳癌細胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 具有抑制活性，其半抑制濃度 EC_{50} 值分別為 2.38 和 1.50 $\mu\text{mol/mL}$ ；另當 CPe-III 濃度增加，p53 蛋白會隨之增加，可有效抑制乳腺癌細胞的增殖(Xue *et al.*, 2015)。

(4) 降血脂

研究發現鷹嘴豆肽可顯著降低血清總膽固醇、總三酸甘油酯、低密度脂蛋白膽固醇含量；另亦可增加血清高密度脂蛋白膽固醇含量、抑制脂肪酸合成酶和 HMG-CoA 還原酶之作用(Shia *et al.*, 2019)。

(五) 黑豆與黃豆

1. 黑豆與黃豆特性及分布

大豆類料理與製品常出現在生活中，眾所皆知的黃豆、黑豆、毛豆都是大豆，而黑豆與黃豆的差異僅僅是他們的種皮顏色不同，毛豆則是在成長至八分熟時被摘採下的黃豆，所以這三種豆可說是三兄弟(范，2005)。黑豆及黃豆皆屬於植物界(Plantae)、維管束植物門(Tracheophyta)、木蘭綱(Magnoliopsida)、

豆目(Fabales)、豆科(Fabaceae)、大豆屬(*Glycine*) (Badole *et al.*, 2013)。栽種地以北美洲、南美洲及亞洲種植面積為最大，全球約有九成的產量集中在美國、巴西、中國大陸和阿根廷四個國家；其中以美國為最大生產國及出口國，其產量約占全球年產量之一半；巴西則為世界第二大生產國，再者為中國大陸與阿根廷(Fehlenberg *et al.*, 2017)。大豆食品是蛋白質、維生素、礦物質和纖維的良好來源；另其飽和脂肪含量很低(Jayachandran *et al.*, 2019)。

黑豆是一種帶有黑色種皮的大豆，而黑色種皮中含有水溶性色素花青素，在植物中會呈現粉紅色、紅色、藍色或紫色(Ryu *et al.*, 2018)；此外，黑豆含有多種植物化學化合物，如大豆異黃酮(Kurimoto *et al.*, 2013)。

黃豆是一種非常好的蛋白質來源，含有完整的必需胺基酸(X. Zhao *et al.*, 2018)。生活中常見的黃豆製品，包括醬油、豆腐、腐皮、豆漿和豆花等，經加工過的黃豆製品經濟效益更高。另黃豆富含異黃酮，是一種天然的荷爾蒙，許多植物皆有，但以黃豆含量較多(Daijie *et al.*, 2019)。

2. 黑豆與黃豆之機能性成分

大豆中含有豐富的白質、維生素B群、E、膳食纖維及鉀，這些都是能夠使血糖降低的重要成分；另具有大豆皂苷、酚酸化合物等抗氧化物質，具有清除自由基、預防腫瘤生成和提高免疫力等功能(Ciabotti *et al.*, 2016)。

3. 黑豆與黃豆之生理活性

(1) 降血壓

從黃豆蛋白製備能抑制血管緊張素轉化酶的生肽，稱為大豆ACE抑制肽，研究結果顯示，以三種劑量(100, 500, 1000 mg/kg weight/day)餵食後，此抑制肽能顯著對自發性高血壓大鼠(SHR)產生降壓之作用(Jianping *et al.*, 2001)。

(2) 降血脂、抗發炎

研究指出黑豆種皮萃取物可降低血漿之總膽固醇及三酸甘油脂，其效果與常見減肥藥奧利司他片無顯著差異；另可降低腸系膜脂肪組織中的促炎細胞TNF- α 和IL6基因表現量；此外，可增加抗炎因子IL-10之表現量，高於高脂

飲食組及服用奧利司他片組別(Choi *et al.*, 2015)。

(3) 改善帕金森氏症症狀

研究發現帕金森氏症病患口服補充多巴胺及Carbidopa，並搭配黃豆食用，可延長血漿中左旋多巴胺代謝時間、病患之異常不自主運動量表分數會明顯降低(Nagashima *et al.*, 2016)。

(4) 減少血栓形成

研究發現黑豆酒精萃取物可抑制膠原誘導的血小板聚集和抑制血小板活化(Kim *et al.*, 2011)。

三、發酵

(一) 固態發酵定義

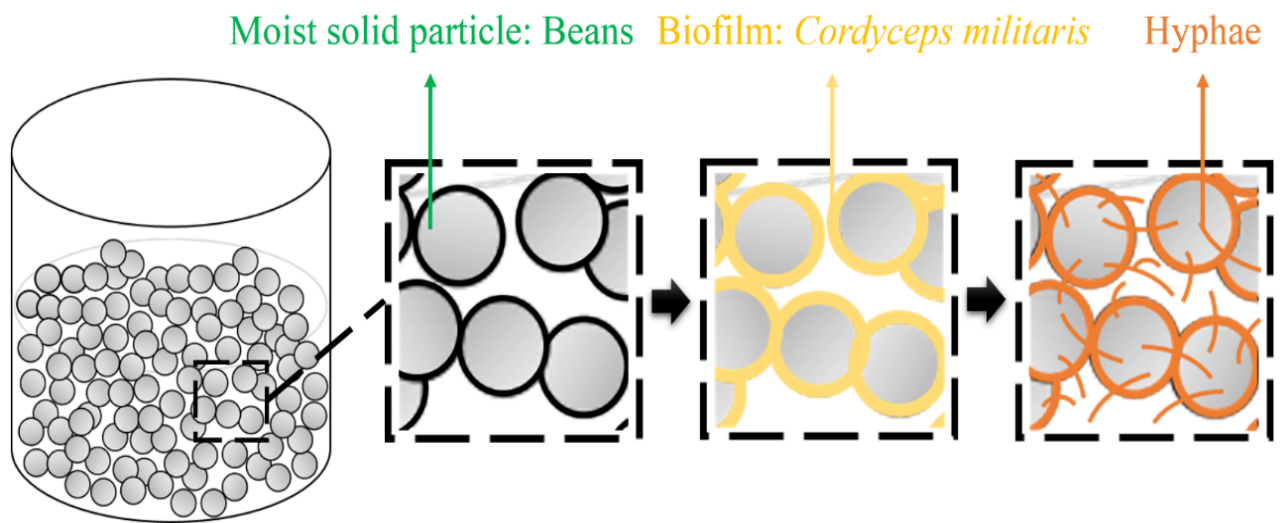
固態發酵指微生物在沒有多餘游離水之固體基質生長，但此時基質仍含有足夠的水分來支持微生物的生長及代謝(Pandey, 2003)。固體基質可提供微生物生長時所需營養源，使不斷增長的微生物附著之，而固體顆粒間之空隙則有利於空氣進入，供微生物生長(Mitchell *et al.*, 2011; Osmolovskiy *et al.*, 2014)。此技術所需能源較低和產生廢水較少，可減輕環境壓力(Neves *et al.*, 2006)。

固態發酵示意圖如(修改自(Mitchell *et al.*, 2011))

附圖三所示(修改自(Mitchell *et al.*, 2011))，將濕潤的固態基質與菌體混合後，使菌體生長依附並利用基質養分生長，進而產生菌絲，向基質外延伸並向基質內扎根。另固態發酵微觀示意圖如附圖四所示(修改自(Osmolovskiy *et al.*, 2014))，最下層為固態基質，菌絲體會包覆基質並開始向外及向基質內生長，深入基質之菌絲體稱為穿透菌絲；基質上方之菌絲體較為緻密，此層為厭氧層，緻密的菌絲體上方為相對蓬鬆之菌絲體層為好氧層；最外一層菌絲體為氣生菌絲，而真菌與人體一樣利用氧氣並釋出二氧化碳。

(二) 液態發酵定義

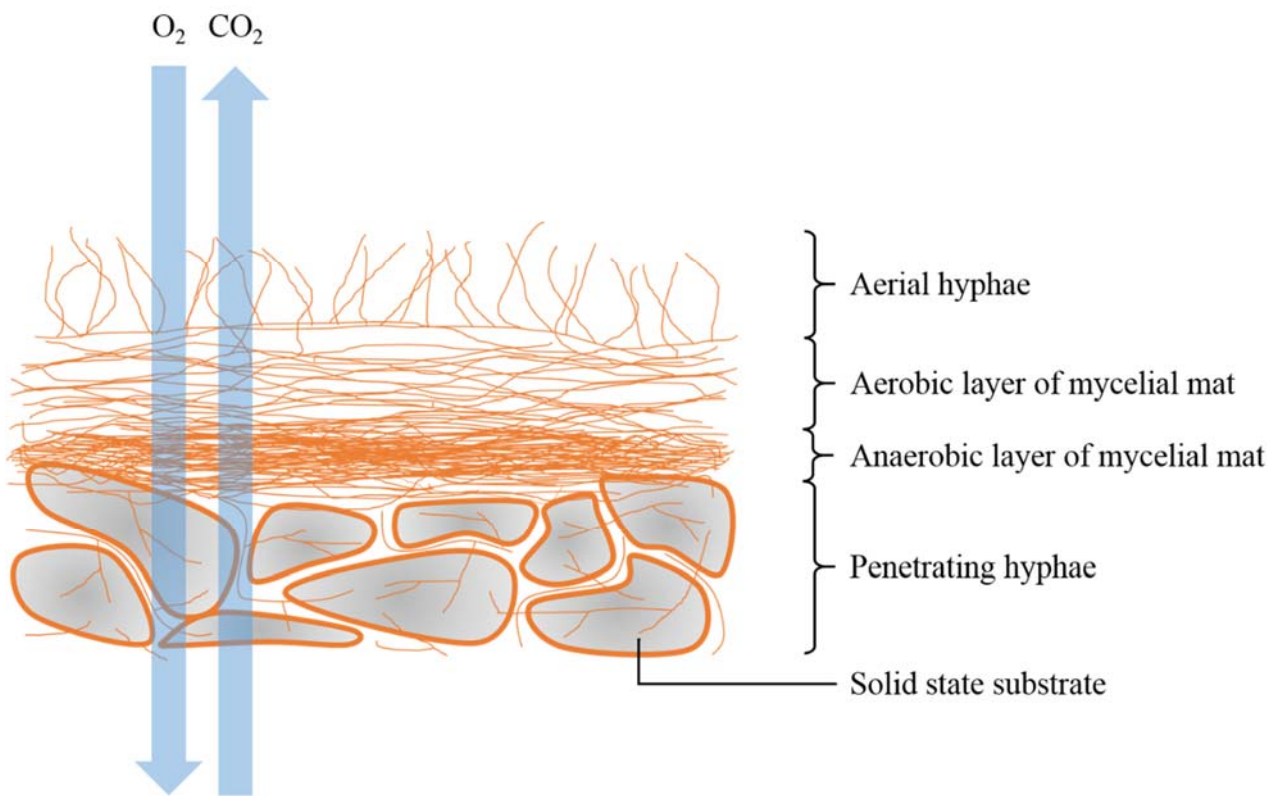
液態發酵之定義微生物在水分含量較多的液體基質發酵，其優點為易於滅菌與設計，可根據不同菌株和培養條件而使用不同的生產模式；由於方便監測及處理，目前許多大規模的生技產品都使用此技術(Mathew *et al.*, 2016)。



(修改自(Mitchell *et al.*, 2011))

附圖三、固態發酵示意圖

Referred figure 3. Scheme of micromycete mycelium with a solid-state fermentation.



(修改自(Osmolovskiy *et al.*, 2014))

附圖四、固態發酵微觀示意圖

Referred figure 4. Microscopic scheme of micromycete mycelium with a solid-state fermentation.

(三) 固態發酵與液態發酵之比較

Kosseva (2013)整理固態發酵和液態發酵之差異，如附表一所示，固態發酵之菌相和基質屬於靜態，故系統對熱量和質量傳遞會造成困難；其低水分含量意味著發酵時水活性低，能減少污染，另發酵過程需控制之參數包括溫度(T)、酸鹼值(pH)、基質濃度(C_s)、營養物質濃度(C_n)、氧氣量及水分控制中，其中水分之調控至關重要。此外，固態發酵可減少生物器所佔的空間，但大塊固體帶來的屏障，會產生散熱問題；反之，液態發酵需較多水來防止培養基過於黏稠。菌體生長的型態如其名；固態發酵菌體堅固地生長在基質上，故菌體濃度較高；液態發酵則是均於分布於基質中，菌體濃度較低，也因水分含量多，所以菌體呈現糊狀的樣子。兩者相較下，液態發酵產生的廢液較多，且發酵過程中需攪動或搖晃，因此物理能量需求也較大，整體所需的成本也較高。

(四) 固態發酵生物質量之測量方法

1. 細胞數量測定法

(1) 血球計數器法

西元 1873 年 Louis Melassez 發明血球計數器，此工具為直接計數法之應用，利用計數器在顯微鏡下直接觀察、計算，方便、快速、省時為其優點。計數器上有一高度 0.1 mm、大小 1×1 mm 的正方格，格內分為 25 個大方格，每大格中細分為 16 個小格子(0.05×0.05 mm)，故每小格體積為 0.00025 mm³。將含有微生物的樣品液，經無菌水稀釋並確認其稀釋液之吸光值介於 2~0.01 之間，避免樣品液過於濃稠或稀薄，汲取適當樣品液滴入，最後蓋上蓋玻片(22×22 mm)，置於顯微鏡下觀察並計數。隨機選取 10 個大方格，計數大格中 16 小格之微生物總數，最後求取 10 的大方格之平均數，可得單位體積樣品液之總菌數(Moll *et al.*, 2016)。

(2) 平板測定法

含有微生物的樣品液，經由無菌水稀釋之步驟後，利用已滅菌的三角或 L 型玻棒均勻平鋪於平板培養基上，將其置於適當溫度之培養箱中；培養完成

附表一、固態與液態發酵比較

Referred table 1. Comparison of solid and liquid fermentation.

Characteristics	Solid-state fermentation	Submerged fermentation
Microorganism, substrate	Static	Agitated
Water usage	Limited	Unlimited
Oxygen supply via	Diffusion	Aeration
Distribution of parameters	Gradients of T, pH, C _s , C _n	Uniform
Parameters controlled	T, O ₂ , H ₂ O (H ₂ O control critical)	T, O ₂
Inoculum ratio	Large	Low
Intra-particle resistances	Exists	No such resistance
Bacterial and yeast cells	Adhere to solid or grow inside the substrate matrix	Uniformly distributed
Product	Highly concentrated	Low concentration
Volum of fermentation mash	Smaller	Larger
Liquid waste produced	Negligible	Significant volum
Physical energy requirement	Low	High
Human energy requirement	High	Low
Capital investment	Low	High

(Kosseva, 2013)

後，分辨菌落型態並計算平板上之菌落數量；透過培養皿中的菌落數與稀釋倍數可得知單位體積中微生物的群落總數(Achilleos *et al.*, 2017)。

(3) 濾膜過濾法

利用抽氣幫浦將樣品液中的微生物，滯留於孔徑 0.45 μm 無菌濾膜上，之後將濾膜移至培養基，於培養箱中倒置並控溫培養，最後計算菌落數量，即可得知總菌落數量(Lath *et al.*, 2019)。

2. 細胞重量測定法

(1) 細胞乾重法

細胞乾重是判斷微生物生長重要的參數之一，取得細胞乾重的方法可分為兩種，一種是離心法，將待測樣品液倒入離心管中，經離心、洗滌和乾燥程序，將乾燥之沉澱物秤重，可得細胞乾重；另一種為過濾法，此方法適用於絲狀微生物，真菌即適合過濾法，將樣品液過濾，並以乾淨的水清洗留在濾紙上之菌體，之後將菌體烘乾並秤重，則可得菌體乾重(Botella *et al.*, 2019)。

(2) 濁度測定法

分光儀是光探測器在不同波長位置，測量普現強度的裝置；於波長 600 nm 下測量菌體之濃度，所得之吸光值簡稱為 OD 值，利用不同菌液濃度分別得到吸光值，繪製標準曲線；之後進行待測樣品液的測定，利用樣品液之 OD 值推算出實際菌液濃度(林等，2007)。

(3) 電阻抗法

微生物生長代謝時，會使培養基中電活性物質，如碳水化合物、脂類和蛋白質轉換成電活性物質，此過程為電特性的變化；隨著微生物增長，培養基中電活性分子及離子會逐漸取代電活性物質，使導電性增強、電阻抗性減弱，透過測量此變化可得知微生物之含量(Liu, *et al.*, 2011)。

3. 菌體活性測定法

(1) ATP 生物冷光反應法

此方法與螢火蟲發光原理相同，當螢光素與螢光素酶存在情況下，ATP 與

它們作用產生光，形成光子的過程中不會產生熱能，因此又稱生物冷光。反應方程式如下：



ATP 為一能量分子，所有活體生物，如動物、植物、細菌、酵母菌和真菌細胞皆需要；可利用此方法應用於微生物含量測定，當 ATP 含量越多，則表示微生物量越多(Nguyen *et al.*, 2015)。

(2) 脫氫酶活性測定法

氧化酶和脫氫酶為參與生物氧化的二大類重要酵素，其中以脫氫酶類最為重要，能促使有機物質脫氫，進而將氫原子傳遞給特定受氫體，完成氧化還原反應；脫氫酶活性可以反應微生物量及其對有機物的代謝能力，當脫氫酶活性越好，則表示其微生物含量越多(黃等，2011)。

(3) 氧氣攝取率測定法

研究指出特定氧攝取率與生物量會成正比，實驗方法為在環境空氣飽和情況下，連續攪拌 30 mL 的生物反應器液體，溫度保持在 35°C 下；之後加入少量正丙醇並將極譜氧探針(Polarographic oxygen probe)緩慢浸入瓶中，密封以避免大氣中的氧氣擴散進入液體中；從探針輸出之資料，經計算即可得知生物量(Gikas *et al.*, 1998)。

4. 生物體中特殊物質含量

(1) 核酸檢測法

利用 DNA 雜交或探針捕捉、聚合酶連鎖反應(Polymerase Chain Reaction)、恆溫核酸擴大技術(iiPCR、LAMP、NASBA)，將 DNA 或 RNA 放大並加以偵測，估算真菌的生物量(Song *et al.*, 2014)。

(2) 麥角固醇測定法

麥角固醇是真菌細胞膜中主要的甾醇，為菌絲體、孢子和營養細胞的主要成分，其被應用於量化真菌生長，透過計算麥角固醇濃度可得知真菌含量，此評估方法更為準確，而麥角固醇與生物含量呈正相關，當麥角固醇含量越多，

則表示菌絲體生長情況越好(Nurika *et al.*, 2018)。

(3) 葡萄糖胺測定法

葡萄糖胺為細胞壁之成分，被視為良好之生物量指標物。利用葡萄糖胺量估算固態發酵所產生之生物量之方法被認為是可靠的間接計算方法(Scotti *et al.*, 2001)。

四、食藥用菇之呈味特性

菇類是普遍存在生活中的食物和調味物質，具有特殊的香味與鮮味，可被分為揮發性與非揮發性物質，其中香味之呈現因菇中含有非發性的八碳化合物，如菇醇(1-octen-3-ol)和菇酮(1-octen-3-one) (Maga, 1981)；另鮮味之呈現因菇中含有非揮發性的成分，如可溶性糖醇、游離胺基酸和 5'-核苷酸(Litchfield, 1967)。其主要非揮發性的成分分述如下：

(一) 可溶性糖醇

人類舌頭上味覺細胞的受體能夠表達味覺感受，而甜味與鮮味共享一個受體(Lazutkaite *et al.*, 2017)。而菇類中的醣類以單醣、雙醣、寡醣、多醣和糖醇類居多，具呈味特性的為單醣類和糖醇類，其含量依菇種類不同，單醣和糖醇種類也會有差異，且其含量會因菌絲體漢子實體培養過程與使用基質不同而有所變化(Mau *et al.*, 1998)。除此之外，菇類於儲存過程中，呈味特性也會有所變化，並可能出現苦味，如猴頭菇(Tseng *et al.*, 1999)。研究顯示，香菇子實體發育過程中游離糖與糖醇類含量各不相同，且不同部位其含量也有所差異，如菇柄大部分為阿拉伯糖醇，而發育後期菇傘中累積較大量的蕈糖(Trehalose 又名海藻糖)，收穫後之儲藏期間，游離糖和糖醇之含量會隨之遞減，尤其阿拉伯糖醇含量下降明顯(Yoshida *et al.*, 1987)。菇類中的可溶性糖包含葡萄糖、蕈糖、核糖、阿拉伯糖及果糖，以蕈糖為主要的可溶性糖；另常見之可溶性糖醇為甘露糖醇(Mannitol) (Bano *et al.*, 1988; Denter *et al.*, 1998; Hammond *et al.*, 1976)。

(二) 游離胺基酸

食品蛋白質中約有 20 種胺基酸，部分胺基酸於人體中經由胺基酸間的轉換

而產生，其他則須藉由外在攝取而得，這些胺基酸即稱為必需胺基酸，共有九種，包括蘇胺酸(Threonine)、纈胺酸(Valine)、甲硫胺酸(Methioine)、異白胺酸(Isoleucine)、白胺酸(Leucine)、苯丙胺酸(Phenylalanine)、色胺酸(Tryptophan)、離胺酸(Lysine)及組胺酸(Histidine) (Miles *et al.*, 1989)。食品中的呈味與胺基酸之組成有關聯，如蝦子中含有甘胺酸、脯胺酸及丙胺酸，尤其甘胺酸是蝦子美味的最大來源、海膽富有之特殊風味則因含有甲硫胺酸、貝類含有大量的甘胺酸、丙胺酸及脯胺酸(Schoffeniels, 1970)。研究指出牛、雞和豬類牲畜中，主要胺基酸以麩胺酸、離胺酸、丙胺酸及組胺酸為主所，且胺基酸含量較水產動物類少(Zakhariev *et al.*, 1980)。在蔬果部分，含有天門冬硫胺、麩胺酸及絲胺酸等胺基酸(Ogasawara *et al.*, 2006)。食用蕈類部分，其非揮發性的化合物，如游離胺基酸、5'-核苷酸、糖、多元醇、有機酸有助於增加蕈類的味道(Mau, 2005)。而菇類中皆含必需胺基酸和非必需胺基酸，而必需胺基酸中以離胺酸含量最多、色胺酸和甲硫胺酸最少(Chang *et al.*, 1989)；非必需胺基酸則以麩胺酸(Glutamic acid)最重要，可與食鹽作用產生味精 (MSG)，是菇類鮮味的主要來源之一(王等, 2009)。

食品中胺基酸可使呈味具有滑順感，有緩和尖銳味覺的功能；另不同胺基酸之組合表現出各獨特的風味，如煙燻鱈魚的煙燻味即是胺基酸組合之結果(Kaya *et al.*, 2008)，故菇類富有之風味與其胺基酸的組合有著密切的關係。如附表二可將胺基酸分為苦、鮮、甜和無味四種味覺感受，屬於苦味胺基酸為甲硫胺酸(Met)、異白胺酸(Ile)、白胺酸(Leu)、苯丙胺酸(Phe)、離胺酸(Lys)、組胺酸(His)、精氨酸(Arg)、色胺酸(Trp)、酪胺酸(Tyr)和纈胺酸(Val)；屬於鮮味胺基酸(MSG-like)為天門冬胺酸(Aspartic acid)及麩胺酸(Glutamic acid)；屬於甜味胺基酸為蘇胺酸(Threonine)、絲胺酸(Serine)、甘胺酸(Glycine)、丙胺酸(Alanine)和脯胺酸(Proline)；胱胺酸(Cystine)和酪胺酸(Tyrosine)屬於無味胺基酸，另 γ -胺基丁酸(γ -Aminobutyric acid, GABA)亦是無味(Chen *et al.*, 2018; Yamaguchi *et al.*, 1971)。各種胺基酸 D-及 L-型相對甜度情形如附表三，D-型與 L-型異構胺基酸

附表二、L-氨基酸之呈味特性

Referred table 2. Tastes of L-Amino acid.

Free amino acid	Taste attributes	Threshold value (g/dl)
Aspartic acid (Asp)	Sour	0.003
Sodium-Asp	Umami	0.10
Glutamic acid (Glu)	Sour	0.005
Sodium-Glu	Umami	0.03
Glycine (Gly)	Sweet	0.13
Alanine (Ala)	Sweet	0.06
Threonine (Thr)	Sweet	0.26
Serine (Ser)	Sweet	0.15
Proline	Sweet	
Hydroxy proline	Sweet	0.05
Methionine (Met)	Bitter	0.03
Isoleucine (Ile)	Bitter	0.09
Leucine (Leu)	Bitter	0.19
Phenylalanine (Phe)	Bitter	0.09
Lysine (Lys)	Bitter	
Histidine (His)	Bitter	
His-HCl	Sour	0.005
Arginine (Arg)	Bitter	0.05
Tryptophan (Trp)	Bitter	0.09
Tyrosine (Tyr)	Bitter	
Valine (Val)	Bitter	0.04
Cysteine (Cys)	Tasteless	
γ -Aminobutyric acid (GABA)	Tasteless	

附表三、胺基酸之相對甜度

Referred table 3. Sweetness of amino acids relative to sucrose.

Amino Acid	L-Isomer	D-Isomer
Tryptophan	Bitter	Sweet (35×)
Phenylalanine	Bitter	Sweet (7×)
Histidine	Bitter	Sweet (7×)
Tyrosine	Bitter	Sweet (6×)
Leucine	Bitter	Sweet (4×)
Alanine	Sweet (1.5×)	Bitter
Glycine	Sweet (1.5×)	Sweet (1.5×)
Arginine	Flat	Slightly
Aspartic acid	Flat	Flat
Isoleucine	Flat	Flat
Lysine	Flat	Flat
Proline	Flat	Flat
Serine	Flat	Flat
Threonine	Flat	Flat
Valine	Flat	Flat
Cysteine	Sulfurous	Sulfurous
Glutamic acid	Unique	
Methionine	Sulfurous	Sulfurous

(Kier, 1972)

的差異也會影響呈味，如 L-型的色胺酸(Trp)、苯丙胺酸(Phe)、組胺酸(His)、酪胺酸(Tyr)及白胺酸(Leu)具有苦味；其 D-型異構物則呈現甜味，另 L-型丙胺酸(Ala)具有甜味；呈 D-型時則具苦味(Kier, 1972)。

(三) 核苷酸

5'-核苷酸中的腺苷酸(5'-adenosine monophosphate, 5'-AMP)、鳥苷酸(5'-guanosine monophosphate, 5'-GMP)、肉苷酸(5'-inosine monophosphate, 5'-IMP)、尿苷酸(5'-uridine monophosphate, 5'-UMP)及黃苷酸(5'-xanthine monophosphate, 5'-XMP)屬於鮮味物質；鮮味強度由強至弱，依序為 5'-GMP、5'-IMP、5'-XMP、5'-AMP；相較於四種基本呈味酸、甜、苦和鹹，鮮味主要來源是麩胺酸，呈味核苷酸皆共有之構造為鹽基部分的嘌呤(Purine)，且於第六號碳上具有羥基；同時磷酸鍵結於核糖的第五號碳上，符合以上兩條件才會具有鮮味(Umami) (Komata, 1990)。

菇類中主要以鳥苷酸(5'-GMP)、肉苷酸(5'-IMP)和尿苷酸(5'-UMP)為主，其中鳥苷酸會因烹煮而導致分解；另核苷酸與麩胺酸能夠產生加乘作用(Synergistic effect)而產生特殊風味，如肉苷酸、腺苷酸及鳥苷酸皆可與麩胺酸產生加乘作用，而成為菇類的鮮味來源(Yamaguchi, 1967)。核苷酸可作為呈味上的緩和劑，其在能夠使呈味帶有滑順感，同時抑制較不佳的味道，如酸味及苦味，但核苷酸在呈味上貢獻並不在於其含量的多寡，而是與本身之相對鮮味強度有關，如附表四所示，鮮味胺基酸(如麩胺酸及天門冬胺酸)會與 5'-核苷酸(如肉苷酸、鳥苷酸及腺苷酸)產生加乘作用，使鮮味增強(Yamaguchi *et al.*, 1971)。另研究顯示，有些微生物利用酵素分解 RNA，而使發酵過程中產生呈味核苷酸(Yamaguchi, 1967)。

Yamaguchi (1967)提出味精(MSG)與肉苷酸(5'-IMP)的加乘作用可用以下方程式表示：

$$Y = u + ruv$$

Y%：等價鮮味，呈現等價鮮味值之味精(MSG)濃度

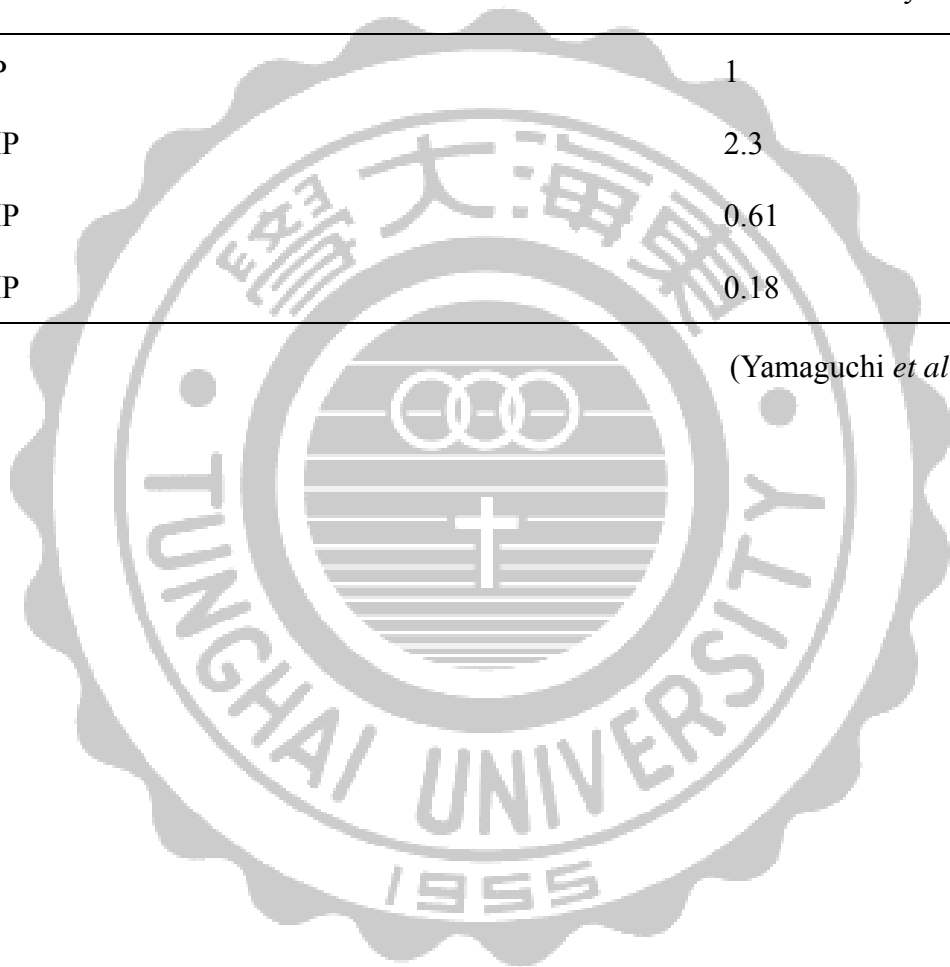
附表四、鮮味胺基酸及鮮味核苷酸之個別相對鮮味強度

Referred table 4. The relative umami intensity of umami amino acid and 5'-nucleotides.

Umami amino acid	Relative umami intensity
Monosodium glutamate (MSG)	1
L-Aspartic acid	0.077

Umami 5'-nucleotides	Relative umami intensity
5'-IMP	1
5'-GMP	2.3
5'-XMP	0.61
5'-AMP	0.18

(Yamaguchi *et al.*, 1971)



$u\%$ ：溶液中 MSG 濃度

$v\%$ ：溶液中 5'-IMP 濃度

r ：常數 1218

由於鮮味胺基酸與鮮味核苷酸具有加乘作用，故可將上述的方程式加以應用，轉換成以下之加成方程式：

$$Y = \sum a_i b_i + 1218 \sum (a_i b_i)(a_j b_j)$$

Y ：等價鮮味濃度(Equivalent umami concentration, EUC)

a_i ：鮮味胺基酸之濃度

a_j ：鮮味核苷酸之濃度

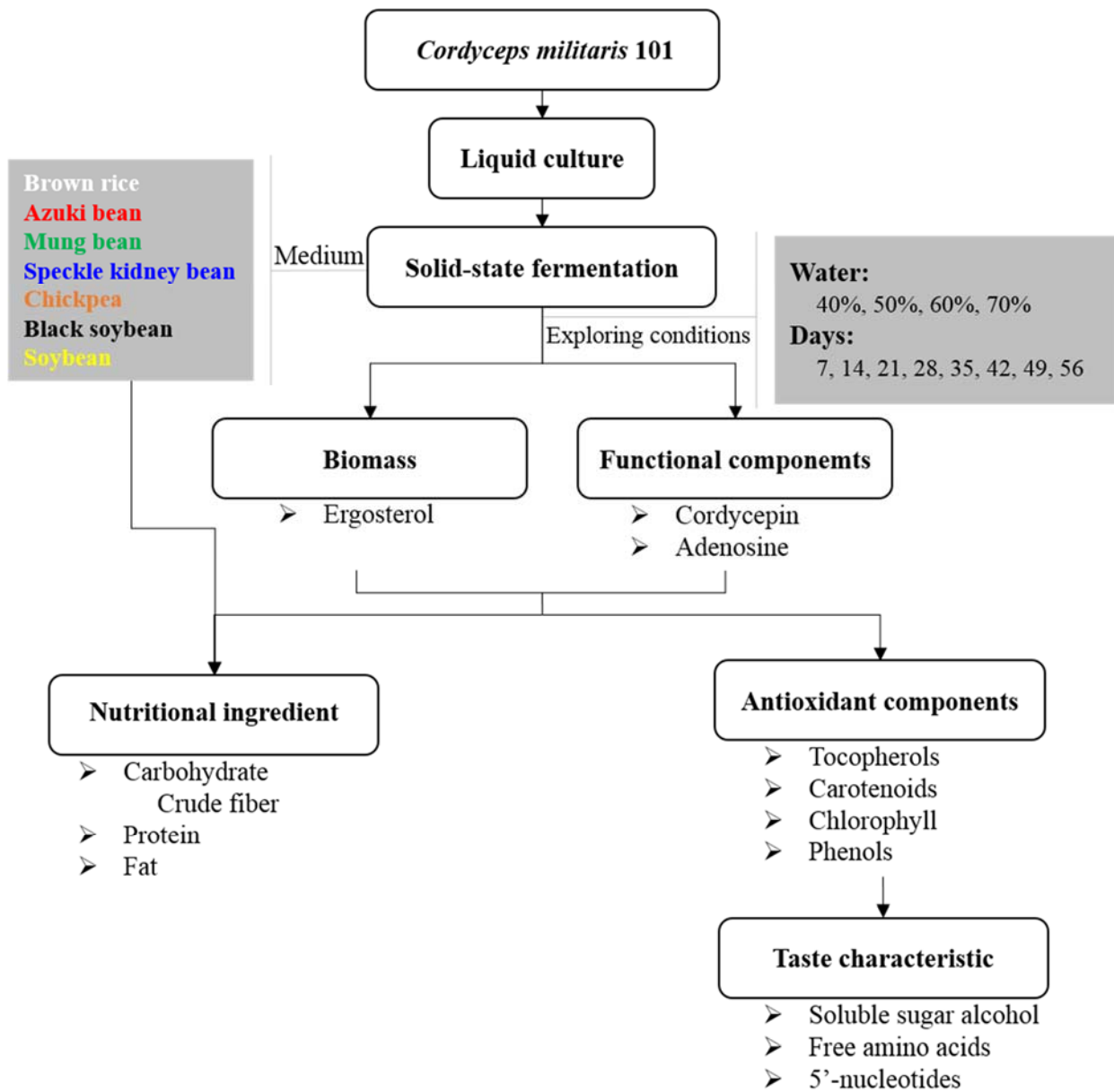
b_i ：各鮮味胺基酸對 MSG 之相對鮮味強度(附表四)

b_j ：各鮮味核苷酸對 5'-IMP 之相對鮮味強度(附表四)

1218：常數

五、實驗目的與架構

固態發酵可提供一個與菇類自然生長相近的環境，在適當的人工培育下，可獲得豐富的二次代謝產物。常使用之固態發酵基質包括穀物和農業廢棄物，目前研究指出北蟲草鷹嘴豆發酵物，其物理化學與功能特性獲得改善，蛋白質、必需胺基酸和體化消化率都有提升的現象(Xiao *et al.*, 2015a)；此外亦發表北蟲草發酵的綠豆，其酚類物質含量和抗氧化活性提高(Xiao *et al.*, 2015b)。另研究亦指出以扁豆為基質進行發酵，其酚類含量和抗氧化能力皆有提升(Sadh *et al.*, 2017)。目前仍較少利用豆類作為基質進行菇類固態發酵培養；故本論文主要以不同豆類作為北蟲草固態發酵基質，針對其生理活性物質進行評估篩選，實驗架構如附圖五所示。先前研究發現，基質水分含量對北蟲草固態發酵培養甚為重要，因此，先利用平板培養探討六種豆類基質(紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆及黃豆)的最適水分添加量。接著進行八週的北蟲草豆類固態發酵培養，每週採樣，另以穀物糙米作為對照組。第一階段以北蟲草豆類機能性成分含量進行篩選，得出各豆類基質最佳之培養天數；第二階段則以上述所獲得之產品針對抗氧化成分進行分析，篩選出最佳之北蟲草豆類產品；另分析所有北蟲草豆類發酵前後之一般成分，最後，挑選經第一階段機能性與第二階段抗氧化成分含量篩選之最佳前二產品，進行呈味特性分析。



附圖五、實驗架構圖

Referred figure 5. Experimental design.

第三章 材料與方法

一、實驗材料

1. 試驗菌種為北蟲草菌株(*Cordyceps militaris* 101)，菌株由大葉大學生物資源學系梁志欽教授提供。
2. 紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆、黃豆購自台中生暉餐飲食材烘焙原料。
3. 糙米購自義美食品。

二、實驗方法

(一) 菌株培養及接種源製備

1. 試藥及器材
 - (1) 馬鈴薯葡萄糖瓊脂(Potato dextrose agar ; PDA)、酵母萃取物(Yeast extract powder)購自 HIMEDIA 公司，孟買，印度。
 - (2) 葡萄糖(Glucose)購自 Sigma 公司，密蘇里州聖路易斯市，美國。
 - (3) 磷酸二氫鉀(Potassium phosphate monobasic)購自 J.T.Baker 公司，新澤西州菲利普斯堡，美國。
 - (4) 磷酸氫二鉀(Potassium phosphate dibasic)購自化學株式會社，東京都中央區，日本。
 - (5) 七水硫酸鎂(Magnesium sulfate 7-hydrate)購自 Panreac 公司，巴塞隆納，西班牙。
 - (6) 培養箱(LM-570 RD)購自裕德科技有限公司，新北市，台灣。

2. 菌種活化

將保存於 4°C 的北蟲草菌株接種於 PDA 培養基並放入 25°C 培養箱中，培養兩週後放回冰箱中保存。活化時，另取培養完全之培養皿，使用已滅菌之接種刀切取外圍活性較高之菌絲作為菌種，接種至新的 PDA 培養基於 25°C 下活化培養。

3. 液態培養

將已活化完成之菌種，以滅菌完成之接種刀切取 4 塊約 5 × 5 mm 大小的

菌絲塊，置於 100 mL 之液態培養基中，於 25°C、125 rpm 下進行震盪培養。

液態培養基分如下：

- (1) 葡萄糖 20 g/L
- (2) 酵母萃取物 5g/L
- (3) 磷酸二氫鉀(KH_2PO_4) 0.5 g/L
- (4) 磷酸氫二鉀(K_2HPO_4) 0.5 g/L
- (5) 七水硫酸鎂($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.5 g/L

(二) 固態培養

1. 試藥及器材

- (1) 正己烷(n-Hexane)購自 MACRON 公司，費城，美國。
- (2) 甲醇(Methanol)購自 Honeywell 公司，紐澤西州莫里斯敦，美國。
- (3) 培養箱(LIAN SHEN)購自頂生實業有限公司，台中，台灣。
- (4) 高效能液相層析儀(泵浦和 Photo Diode Array 檢測器)購自益弘儀器股份有限公司，台北，台灣。

2. 北蟲草豆類最適水分添加量探討

稱取 15 g 固態基質豆類並添加不同量之去離子水(40、50、60、70%)於廣口瓶中，以滅菌釜進行 121°C、21 分鐘滅菌。待其冷卻後，於已滅菌之固態基質中加入 5%北蟲草液態菌種均質液，均勻攪拌後將其平鋪於平板培養皿中，進行 8 天、25°C 的培養，並以照片記錄其 0、2、4、6、8 天的生長情況，得知生長速率較佳之水分添加量組別。

3. 北蟲草豆類與北蟲草糙米培養條件

針對實驗組北蟲草豆類與對照組北蟲草糙米所設定之培養條件如下：

- (1) 基質重量：豆類及糙米皆為 20 g。
- (2) 水分添加量：豆類及糙米分別為 50%、60%。
- (3) 接菌量：豆類及糙米皆為 5%。
- (4) 培養溫度：豆類及糙米皆為 25°C。

(5) 培養天數：豆類及糙米皆為每週採樣，為期 8 週。

開始培養的第 1 天至第 11 天於暗室中培養，第 11 天時給予冷刺激置於 4 °C 一天，並於第 12 天開始每天予以光照 12 小時及黑暗 12 小時。

4. 北蟲草發酵豆類與北蟲草發酵糙米粉末製備

將不同週數之北蟲草豆粉及北蟲草糙米收集，在 60°C 的乾燥箱中乾燥 2 天，再以磨粉機粉碎並將粉末以 40 mesh 篩網過篩，最後得到北蟲草豆類及北蟲草糙米粉末，放置於乾燥箱中保存。

5. 菌絲體含量之測定(Zhao *et al.*, 2005)

利用真菌中固醇類物質(麥角固醇)含量進行菌絲體含量的間接測定，其方法是以不同濃度麥角固醇標準品與其對應其積分面積繪製一檢量線；另以不同濃度菌絲體之麥角固醇含量繪製第二條檢量線，利用兩條檢量線由測得之麥角固醇含量間接得知樣品中菌絲體含量。

麥角固醇萃取方法如下：秤取磨粉過篩(40 mesh)之北蟲草豆粉 1 g 於離心管中，加入 4 mL 正己烷，經震盪萃取(vortex) 90 秒後，以 5000 rpm 離心沉澱，收集上清液，沉澱物再以相同條件萃取二次。將三次萃取收集之上清液，於 40°C 下減壓濃縮至乾，再以 5 mL 甲醇回溶。所得萃取溶液經 0.22 µm 微孔濾膜過濾，再以高效能液相層析儀(High performance liquid chromatograph, HPLC) 分析麥角固醇含量，經由兩條檢量線換算可得到菌絲體含量。

高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括 HITACHI Chromaster 5110 泵浦、HITACHI Chromaster 5430 Photo Diode Array 檢測器、數據處理系統 Chromaster Sys 1。

高效能液相層析條件如下：

- (1) 分離管柱：KNAUER (250 × 4.6 mm, 100-5 C18)。
- (2) 注射量：20 µL。
- (3) 檢測波長：282 nm。
- (4) 移動相：甲醇。

(5) 流速：1.2 mL/min。

(三) 機能性成分與抗氧物質分析

1. 試藥

- (1) 蟲草素(Cordycepin)、腺苷(Adenosine)購自 Cayman Chemical 公司，密西根州安娜堡，美國。
- (2) 乙腈(Acetonitrile)、鹽酸(Hydrochloric acid)購自 J.T.Baker 公司，新澤西州菲利普斯堡，美國。
- (3) 沒食子酸(Gallic acid)、生育酚(α -Tocopherol, δ -Tocopherol)購自 Sigma 公司，密蘇里州聖路易斯市，美國。
- (4) 甲醇(Methanol)、正己烷(Hexane)購自 MACRON 公司，費城，美國。
- (5) 碳酸鈉(Sodium carbonate)購自 Riedel-de Haën 公司，紐澤西州莫里斯敦，美國。
- (6) 福林試劑(Folin-Ciocalteu's reagent DC)、五倍子酚(Pyrogalllic acid)、氫氧化鉀(Potassium hydroxide)購自 Panreac 公司，巴塞隆納，西班牙。
- (7) 乙醇(Ethanol)購自生發化學生技股份有限公司，台中，台灣。
- (8) 甲苯(Toluene)購自 Burdick & Jackson 公司，紐澤西州莫里斯敦，美國。

2. 蟲草素(NY/T 2116-2012)

秤取磨粉過篩(40 mesh)之豆粉 0.5 g 置於 50 mL 的離心管中，加入 25 mL 去離子水，震盪萃取 90 分鐘。萃取完成之樣品，於 5000 rpm 下離心 15 分鐘後取其上清液，以去離子水定量至 50 mL，經 0.22 μ m 微孔過濾膜過濾，最後以高效能液相層析儀(High performance liquid chromatograph, HPLC)分析，利用不同濃度標準品之所得面積繪製出標準曲線，經由計算可得蟲草素之含量。

高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括 HITACHI Chromaster 5110 泵浦、HITACHI Chromaster 5430 Photo Diode Array 檢測器、數據處理系統 Chromaster Sys 1。

高效能液層析條件如下：

- (1) 分離管柱：Inertsil ODS-3 (4.6 I.D. × 250 mm, 5 μm)。
- (2) 注射量：20 μL。
- (3) 檢測波長：260 nm。
- (4) 移動相：乙腈：水= 5:95 (v/v)。
- (5) 流速：1.0 mL/min。

3. 腺苷(NY/T 2116-2012)

萃取與測定方法同蟲草素之分析方法，利用不同濃度標準品之所得面積繪製出標準曲線，經由計算可得腺苷之含量。

4. 生育酚測定(Niero *et al.*, 2018)

秤取 1 g 樣品粉末，加入 6 mL 之 6% 五倍子酚乙醇溶液(Pyrogallol-EtOH) 混和均勻，防止萃取過程中生育酚氧化。接著，加入 10 mL 甲醇和 10 mL 之 0.18 M 氫氧化鉀甲醇溶液/水(1:2, v/v)，混和均勻並將容器密封，放入沸水浴中 1 小時，冷卻後，使用 35% 乙醇定量至 50 mL。從定量瓶中取 10 mL 樣品溶液，加入 3 mL 之正己烷/甲苯(1:1, v/v)，於 125 rpm 轉速下搖晃震盪 5 分鐘，促使生育酚萃取。最後，於 5000 rpm 下離心 20 分鐘，並取上層液 2 mL，利用吹氮濃縮機將樣品液吹至乾燥，再以 1 mL 的甲醇回溶，以 0.22 μm 微孔過濾膜過濾，濾液以高效能液相層析儀(High performance liquid chromatograph, HPLC) 分析。

高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括 HITACHI Chromaster 5110 泵浦、HITACHI Chromaster 5440 Fluorescent Detector 檢測器、數據處理系統 Chromaster Sys 2。

高效能液層析條件如下：

- (1) 分離管柱：Inertsil ODS-3 (4.6 I.D. × 250 mm, 5 μm)。
- (2) 注射量：20 μL。

- (3) 檢測波長：excitation: 295 nm / emission: 330 nm。
- (4) 管柱烘箱溫度：30°C。
- (5) 移動相：A: 85% 甲醇/ B: 95% 甲醇/ C: 100% 甲醇。0 分鐘 A 液 100%；10 分鐘 A/B 液 50/50%；11 分鐘 C 液 100%，維持至 20 分鐘；21 分鐘 A 液 100%，維持至 30 分鐘；31 分鐘 C 液 100%，維持至 40 分鐘。
- (6) 流速：1.0 mL/min。

5. 總類胡蘿蔔素(Vo *et al.*, 2017)

秤取 1 g 樣品粉末，加入 3 mL 之乙醇/正己烷溶液(2:1, v/v)，旋渦萃取(vortex)2 分鐘後，加入 2 mL 之去離子水及 4 mL 之正己烷，再次旋渦萃取(vortex)2 分鐘，並於 5000 rpm 下離心 10 分鐘，並取其上層液。最後，以分光光度計，測量其 450 nm 下最大吸光值，利用摩爾吸收係數可得知總類胡蘿蔔素含量。計算公式如下：

$$\text{Total Carotene } (\mu\text{g/g}) = A_{450} \times 25.2$$

6. 葉綠素(Vo *et al.*, 2017)

萃取方法如總類胡蘿蔔素，同樣以分光光度計，測量其 645 nm 和 662 nm 下之吸光值，利用摩爾吸收係數及計算，可得知葉綠素含量。計算公式如下：

$$\text{Choloroph II a } (\mu\text{g/g}) = 11.75 \times A_{662} - 2.35 \times A_{645}$$

$$\text{Choloroph II b } (\mu\text{g/g}) = 18.61 \times A_{645} - 3.96 \times A_{662}$$

$$\text{Total Chlorophylls } (\mu\text{g/g}) = \text{Choloroph II a} + \text{Choloroph II b}$$

7. 總酚含量測定(Taga *et al.*, 1984)

秤取 0.1g 樣品粉末，加入 5 mL 之 0.3% HCl 甲醇/水(60:40, v/v)溶液混和均勻，汲取 100 μL 的樣品溶液與 2 mL 之 2% 碳酸鈉水溶液混和均勻，靜置 2 分鐘後，加入 100 μL 的 50% 福林試劑混和均勻並於暗室中靜置 30 分鐘。最後以分光光度計進行測定，於 750 nm 下測量樣品吸光值。標準曲線部分，使用沒食子酸(Gallic acid)來計算樣品中總酚類化合物之含量。

(四) 一般成分分析

1. 試藥

- (1) 乙醚(Ether, anhydrous)、硫酸(Sulfuric acid)、鹽酸(Hydrochloric acid)、甲基橙(Methyl orange)購自 J.T.Baker 公司，新澤西州菲利普斯堡，美國。
- (2) 氫氧化鈉(Sodium hydroxide)購自友和貿易股份有限公司，台中，台灣。
- (3) 消化錠購自 FOSS Analytical A/S 公司，哥本哈根，丹麥。
- (4) 溴甲酚綠(Bromocresol green)、甲基紅(Methyl red)、硼酸(Boric acid)、碳酸鈉(Sodium carbonate)購自 Sigma 公司，密蘇里州聖路易斯市，美國。
- (5) 核苷酸(Adenosine monophosphate, Cytidine monophosphate, Guanosine monophosphate, Inosine monophosphate, Uridine monophosphate, Xanthine monophosphate)購自 Jena Bioscience 公司，耶拿，德國。

2. 水分(AOAC, 2007)

稱取磨粉過篩(40 mesh)後之豆粉精稱 4 g (W_0)，置於乾淨恆重之稱量瓶(W)中，於 98~102°C 烘箱中連續乾燥 4~6 小時後，反覆乾燥、冷卻至恆重(W_1)。樣品所損失之重量除以該樣品原始重量，可得該樣品之水分含量，公式如下：

$$\text{水分含量(\%)} = \frac{(W+W_0)-W_1}{W_0} \times 100\%$$

3. 灰分(AOAC, 2007)

稱取磨粉過篩(40 mesh)後之豆粉精稱 5 g (W_0)，置於乾淨恆重之坩堝(W)中，於 300°C 灰化爐中碳化 2 小時，再升溫至 550°C 進行灰化待樣品呈灰白色，即完成灰化。當坩堝溫度下降至 200°C，移入乾燥器中冷卻並稱重(W_1)。樣品所損失之重量除以該樣品原始重量，可得該樣品之灰分含量，公式如下：

$$\text{灰分含量(\%)} = \frac{(W_1-W)}{W_0} \times 100\%$$

4. 粗蛋白(AOAC, 2007)

稱取磨粉過篩(40 mesh)後之豆粉精稱 0.2 g (W_0)，以稱量紙包覆置於消化管中，加入一顆消化錠及 10 mL 濃硫酸混合均勻，最後於分解裝置中以 400°C

加熱分解 2 小時至澄清。冷卻後，加入 75 mL 蒸餾水，移入凱氏氮蒸餾裝置，加入 40 mL 50% 氫氧化鈉溶液開始進行蒸餾，氮氣出口處以含有 BG-MR 指示劑之硼酸溶液接收，最後以 0.1 N 鹽酸標準溶液滴定至桃紅色。記錄空白(V₁)及樣品(V₂)滴定鹽酸之毫升數。樣品蛋白質含量，公式如下：

$$\text{蛋白質含量(\%)} = \frac{(V_2 - V_1) \times F_{\text{HCl}} \times 1.4006 \times 10^{-3}}{W_0} \times N \times 100\%$$

F=0.1 N 鹽酸之力價

1.4006=每 mL 之 0.1 N 鹽酸相當於 1.4006 mg 之氮

N=氮係數

5. 粗脂肪(AOAC, 2007)

秤取磨粉過篩(40 mesh)後之豆粉精稱 2 g (W₀)，以濾紙包覆置於底部已墊脫脂棉的圓筒濾紙中，頂部也使用脫脂棉蓋好，並於 100~105°C 烘箱中烘乾 2 小時。將 40 mL 的乙醚倒入恆重之鋁杯(W)，連同圓筒濾紙至於快速索式萃取裝置上。完成萃取後，將鋁杯置於 100~105°C 烘箱中烘乾 30 分鐘，移入乾燥器中冷卻並秤重(W₁)。鋁杯所增加之重量除以該樣品原始重量，可得該樣品脂肪含量，公式如下：

$$\text{脂肪含量(\%)} = \frac{(W_1 - W)}{W_0} \times 100\%$$

6. 碳水化合物

$$\text{碳水化合物含量(\%)} = 100 - (\text{水分} + \text{灰分} + \text{粗脂肪} + \text{粗蛋白})$$

7. 粗纖維(AOAC, 2007)

秤取磨粉過篩(40 mesh)且去除脂肪之豆粉 2 g (W₀)，放入無灰濾袋(W₁)中並置於粗纖維萃取裝置中，加入 1.25% 硫酸 200 mL、少許沸石和 1~2 滴消泡劑，加熱沸騰 30 分鐘後，取出無灰濾袋，以 RO 熱水沖洗殘渣至濾液為中性。粗纖維萃取裝置清洗後，再加入 1.25% 氫氧化鈉 200 mL、1~2 滴消泡劑，加熱沸騰 30 分鐘後，以 25 mL 之 1.25% 硫酸淋洗，再以 RO 熱水沖洗殘渣至濾液為中性。最後以 95% 酒精淋洗無灰濾袋及樣品，將其放入坩堝中，於 110°C 烘

箱中烘乾 2 小時，置於乾燥皿中冷卻並秤重(W_2)，接著於灰化爐中進行灰化待
樣品呈灰白色，置於乾燥皿中冷卻並秤重(W_3)。樣品粗纖維含量，公式如下：

$$\text{粗纖維含量(\%)} = \frac{(W_2 - W_1 - W_3)}{W_0}$$

(五) 呈味物質分析

1. 試藥

- (1) 乙醇(Ethanol)購自生發化學生技股份有限公司，台中，台灣。
- (2) 乙腈(Acetonitrile)、鹽酸(Hydrochloric acid)、磷酸二氫鉀(Potassium phosphate monobasic)購自 J.T.Baker 公司，新澤西州菲利普斯堡，美國。
- (3) 鄰苯二甲醛 OPA (*o*-phthalaldehyde)、2-巰基乙醇 β -ME (2-mercaptoethanol)、四氫呋喃(Tetrahydrofuran)、5'-單磷酸腺苷酸(5'-adenosine monophosphate, 5'-AMP)、5'-單磷酸胞苷酸(5'-cytidine monophosphate, 5'-CMP)、5'-單磷酸鳥苷酸(5'-guanosine monophosphate, 5'-GMP)、5'-單磷酸肌苷酸(5'-inosine monophosphate, 5'-IMP)、5'-單磷酸腺尿苷酸(5'-uridine monophosphate, 5'-UMP)、5'-單磷酸黃苷酸(5'-xanthine monophosphate, 5'-XMP)、丙胺酸(L-Alanine)、天門冬胺酸(L-Aspartic acid)、精胺酸(L-Arginine)、麩胺酸(L-Glutamic acid)、 γ -胺基丁酸(γ -Aminobutyric acid, GABA)、絲胺酸(L-Serine)、酪胺酸(L-Tyrosine)、甘胺酸(L-Glycine)、組胺酸(L-Histidine)、異白胺酸(L-Isoleucine)、白胺酸(L-Leucine)、苯丙胺酸(L-Phenylalanine)、纈胺酸(Valine)、酥胺酸(Threonine)、甲硫胺酸(L-Methionone)、核糖(Ribose)、甘露醇(Mannitol)、蕁糖(Trehalose)、果糖(Fructose)、葡萄糖(Glucose)、乳糖(Lactose)、麥芽糖(Maltose)和蔗糖(Sucrose)購自 Sigma 公司，密蘇里州聖路易市，美國。
- (4) 甲醇(Methanol)購自 Honeywell 公司，紐澤西州莫里斯敦，美國。
- (5) 磷酸氫二鉀(Potassium phosphate dibasic)購自昭和化學株式會社，東京都中央區，日本。

2. 可溶性糖醇(Ajlouni *et al.*, 1990)

秤取磨粉過篩(40 mesh)之豆粉 1 g 置於 15 mL 的離心管中，加入 10 mL 之 80%乙醇，在室溫下震盪萃取 45 分鐘。萃取完成之樣品，於 5000 rpm 下離心 15 分鐘後取其上清液，以 80%乙醇定量至 10 mL，經 0.22 μm 微孔過濾膜過濾，最後以高效能液相層析儀(High performance liquid chromatograph, HPLC)分析，利用不同濃度標準品之所得面積繪製出標準曲線，經由計算可得可溶性醇之含量。

高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括 HITACHI Chromaster 5110 泵浦、HITACHI Chromaster 5450 紅外線檢測器、連結數據處理系統 Chromaster Sys 2。

高效能液相層析條件如下：

- (1) 分離管柱：Inertsil NH2 (4.6 I.D. \times 250 mm, 5 μm)。
- (2) 注射量：20 μL 。
- (3) 移動相：乙腈：水= 80:20 (v/v)。
- (4) 流速：1.2 mL/min。
- (5) 烘箱溫度：30 $^{\circ}\text{C}$ 。

3. 游離胺基酸(Mau *et al.*, 1997)

精秤 0.5 g 樣品置於 50 mL 的離心管中，加入 50 mL 之 0.1N HCl 混和均勻，在室溫中以超音波萃取 45 分鐘，接著於 5000 rpm 下離心 10 分鐘後取其上清液，經 0.22 μm 微孔過濾膜過濾。進樣分析前進行衍生化，將過濾之萃取液、OPA (*o*-phthalaldehyde)及 β -ME (2-mercaptoethanol)以 100:100:3 之比例混和，最後以高效能液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析，利用不同濃度標準品之所得面積繪製出標準曲線，經由計算可得胺基酸之含量。

高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括 HITACHI Chromaster 5110 泵浦、HITACHI Chromaster 5440 Fluorescent Detector 檢測器、數據處理

系統 Chromaster Sys 2。

高效能液相層析條件如下：

- (1) 分離管柱：Intersil ODS-3 (100 × 4.6 mm, 3 μ m, I.D.)。
- (2) 注射量：20 μ L。
- (3) 檢測波長：excitation: 340 nm、emission: 450 nm。
- (4) 移動相：A: CH₃OH : 50 mM Na₂HPO₄ : 50 mM NaH₂PO₄ : THF

=100 : 450 : 450 : 10, v/v/v/v

B: CH₃OH : 50 mM Na₂HPO₄ : 50 mM NaH₂PO₄

=600 : 200 : 200, v/v/v

0-25 分鐘 A 液 100%; 30 分鐘 A/B 液 40/60%; 40 分鐘 B 液 100%。

- (5) 流速：1.2 mL/min

4. 核苷酸(Manninen *et al.*, 2018)

秤取 0.5 g 樣品置於 15 mL 的離心管中，加入 10 mL 之去離子水混和均勻，在沸水中萃取 1 分鐘，接著以超音波震盪 10 分鐘。而後於 5000 rpm 下離心 10 分鐘後取其上清液，將沉澱物以相同方式在萃取一次，合併兩次上清液，定量至 20 mL 且經 0.22 μ m 微孔過濾膜過濾，最後以高效能液相層析儀(High performance liquid chromatograph, HPLC)分析，利用不同濃度標準品之所得面積繪製出標準曲線，經由計算可得核苷酸含量。

高效能液相層析儀分析方法：高效能液相層析儀包括 HITACHI Chromaster 5110 泵浦、HITACHI Chromaster 5430 Photo Diode Array 檢測器、數據處理系統 Chromaster Sys 1。

高效能液相層析條件如下：

- (1) 分離管柱：Vertex Plus (250 × 4.6 mm, 100-5 μ m)。
- (2) 注射量：20 μ L。
- (3) 檢測波長：254 nm。
- (4) 移動相：A: 20 mM 磷酸緩衝溶液(pH 5.9) B: 100% 甲醇。0-3 分鐘維持 A 液

100%;於 12-13.50 分鐘調整 A 液為 70%;並於 16-25 分鐘回復至 A 液 100%。

(5) 流速：1.0 mL/min。

5. 等價鮮味濃度

等價鮮味濃度(Equivalent umami concentration, EUC)利用公式進行計算，得知鮮味胺基酸與鮮味核苷酸加乘作用後的鮮味濃度，公式如下：

$$Y = \sum a_i b_i + 1218 \sum (a_i b_i)(a_j b_j)$$

Y：等價鮮味濃度

a_i ：鮮味胺基酸之濃度

a_j ：鮮味核苷酸之濃度

b_i ：各鮮味胺基酸對 MSG 之相對鮮味強度(附表四)

b_j ：各鮮味核苷酸對 5'-IMP 之相對鮮味強度(附表四)

1218：常數

(六) 統計分析

本研究之所有分析項目皆進行三重複測定，數據結果皆以 mean ± standard derivation (SD)表示，統計分析部分使用 Statistical Analysis System (SAS) 9.4 軟體，以 ANOVA 程序做變異分析，並以鄧肯氏多變域試驗法(Duncan's multiple range test) $p < 0.05$ 下比較平均值間的顯著差異性。

第四章 結果與討論

一、豆類最適水分添加量探討

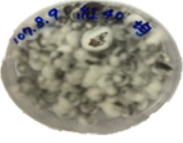
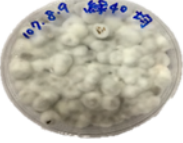


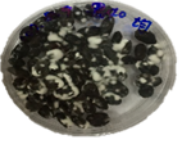
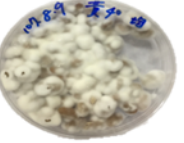
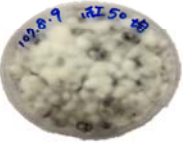



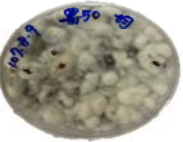

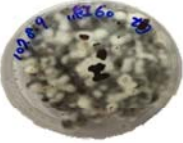
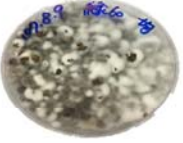

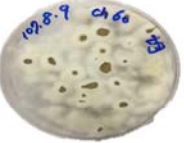





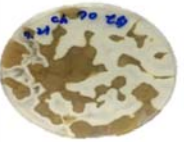


日常生活中有些食品是利用微生物固態發酵製作出來的，如天貝(Tempeh)、味增、紅麴、納豆等；微生物的生長需要水分來進行孢子萌發，進而利於菌絲體之延伸與代謝，故水分之添加對固態發酵是關鍵之因素(Zhu *et al.*, 2019)。一般固態發酵基質水分含量在 30-80%，而真菌培養最適水分介於 40-80%之間，較低的水分含量有助於減少細菌汙染(廖，2003)。

本研究探討不同水分添加量(40%、50%、60%、70%)對北蟲草豆類固態發酵菌絲生長之影響，當豆類基質被北蟲草白色菌絲體包覆完全，則為停止觀察日期，觀察期間為 8 天並於第 9 天將其剖面觀察菌絲深入情況。圖一中的培養天數為 6 種北蟲草豆類產品在 8 天觀察中，可明顯判斷其生長差異之天數；由圖可知北蟲草紅豆和黑豆在第 4 天，其餘北蟲草豆類產品在第 6 天。

由圖一可知水分添加量為 70%時，所有北蟲草豆類產品生長情形皆較差，菌絲體生長量較其他 3 種水分條件少，尤其以花豆、黑豆和黃豆基質最為明顯。廖(2003)指出固態發酵過程中，基質含水量過高會造成基質黏稠而降低氣體通透性不佳。另水分添加量為 40%時，北蟲草豆類產品生長情形較慢，部分菌絲未完全覆蓋豆類基質表面；這可能是水分較少，在殺菌時無法讓豆類基質軟化而影響菌絲生長。菌絲體生長情況較佳之北蟲草豆類產品，初步觀察為水分添加量 50%及 60%。

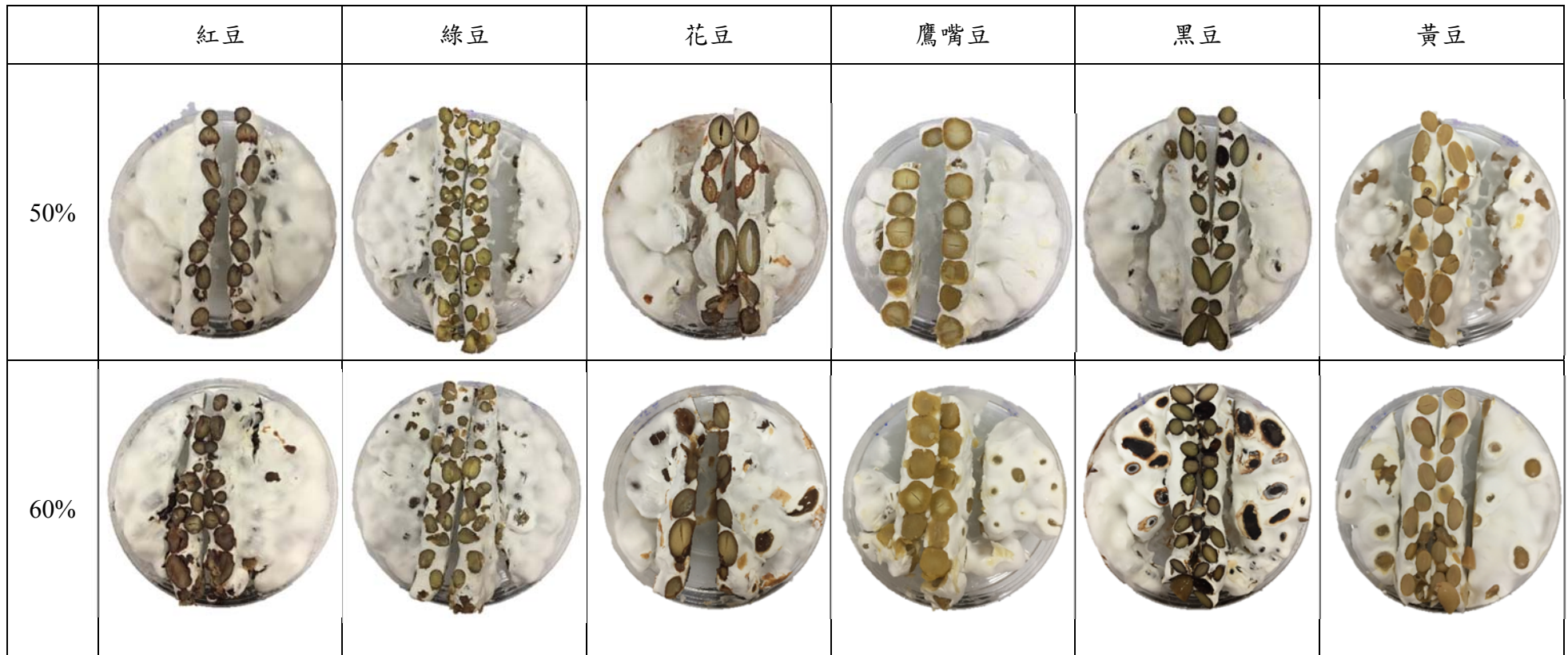
為進一步確認，將北蟲草豆類產品剖面，觀察菌絲體深入豆類基質內部生長情形；由圖二可得知，水分添加量為 50%時，北蟲草綠豆和花豆有明顯白色菌絲體深入豆類基質內部，另黑豆亦有部分菌絲體深入基質中；而水分添加量為 60%時則無此現象，故後續實驗水分添加量固定為 50%。

研究指出固態發酵製備北蟲草紫米之最適水分添加量為 60%，其次為 50%及 70%；另猴頭菇糙米之固態發酵最適水分添加量為 50%與 60%，兩者無顯著差異；此外，在北蟲草茶葉之固態發酵，其最適水分添加量為 60%(陳，2015；涂，2016；

	紅豆	綠豆	花豆	鷹嘴豆	黑豆	黃豆
培養天數	第 4 天	第 6 天	第 6 天	第 6 天	第 4 天	第 6 天
40%						
50%						
60%						
70%						

圖一、不同水分添加量之北蟲草豆類固態發酵菌絲生長情形

Figure 1. Growth condition of solid-state fermentation of *Cordyceps militaris* with different water addition.



圖二、北蟲草豆類水分添加量 50%及 60%之剖面圖

Figure 2. Sectional view of solid-state fermentation of *Cordyceps militaris* with 50% and 60% water addition.

郭，2018)，此外北蟲草咖啡豆以 50%水分添加量培養(陳，2019)，由上述相關文獻發現，固態發酵的最佳水分添加量大多為 50%或 60%，而與本研究結果相似。

綜合圖一及圖二兩種結果，以 50%水分添加量對北蟲草豆類的生長較為適合，故後續 8 週北蟲草豆類培養，最適水分添加量以 50%為其選擇。

二、不同北蟲草固態發酵基質之生物質量、腺苷和蟲草素含量

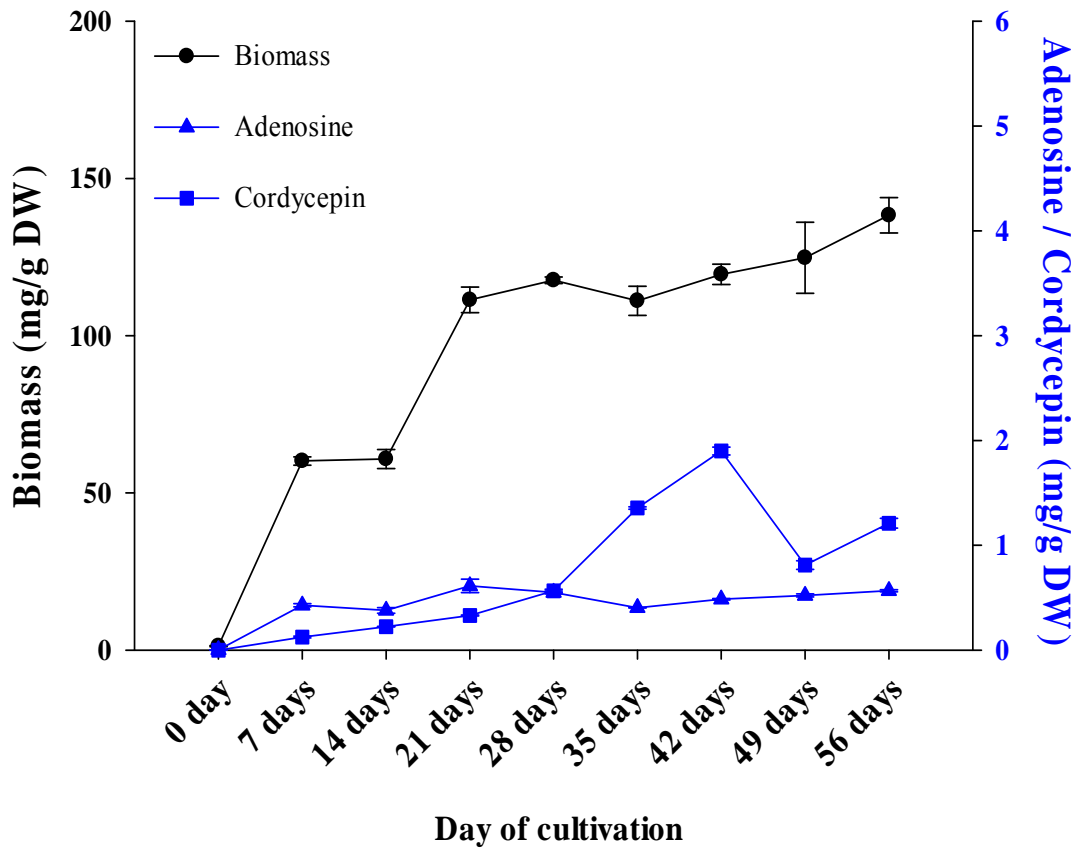
第一階段以北蟲草中機能性成分含量進行篩選，其中麥角固醇是菌絲體、孢子和營養細胞中的主要成分，可以被用來量化真菌的含量(Newell, 1992; Pasanen *et al.*, 1999)；蟲草素為北蟲草中的重要活性成分，可經由提取純化而得(劉等，2007)；另腺苷亦為北蟲草中的生理活性成分之一，且可經一連串得生物化學反應形成蟲草素(Xia *et al.*, 2017)。

(一) 北蟲草糙米之菌絲體、腺苷和蟲草素含量

研究指出目前台灣北蟲草子實體培養，主要是以糙米為原料，額外添加輔助原料，如蠶蛹粉、蛋白朊、維生素 B₁ 及蔗糖等(陳等，2010)。故在北蟲草豆類固態發酵研究中，將以北蟲草糙米作為對照組，藉以比較糙米基質與更複雜之豆類基質，菌絲體生長及機能性成分是否有差異；之後會綜合評估菌體生長情形及其腺苷及蟲草素含量，進行各基質之最佳培養天數之篩選。菌體生長階段可分為 4 階段遲滯期、對數期、穩定期和死滅期，曲線中的斜率表示菌體的生長速率(李等，2017)。

圖三為北蟲草糙米固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化，從中可發現菌絲體生長之遲滯期較不明顯，對數生長期之部分可看出 0 天至 21 天北蟲草糙米之菌絲體生長快速，且於 21 天後呈現穩定生長之狀態。整體 8 週發酵中並未觀察到北蟲草糙米之死滅期的出現，發酵 56 天時，北蟲草糙米之菌絲體具有最佳之狀態，由表一可知，每 g 北蟲草糙米乾重含有 138.32 mg 之菌絲體。

由圖三可知 0 天至 21 天固態發酵期間，腺苷含量會高於蟲草素，28 天時兩者差不多，之後蟲草素含量會明顯提升，直至 56 天發酵期間，皆高於腺苷含



圖三、北蟲草糙米固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Figure 3. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented brown rice by solid-state fermentation.

Each value is expressed as mean \pm SD ($n = 3$).

表一、北蟲草糙米固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Table 1. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented brown rice by solid-state fermentation.

Day	Biomass (mg/g DW)	Adenosine (mg/g DW)	Cordycepin (mg/g DW)
0	1.26 ± 0.17 ^D	ND	ND
7	60.14 ± 1.32 ^C	0.43 ± 0.01 ^{CD}	0.12 ± 0.01 ^H
14	60.75 ± 3.02 ^C	0.38 ± 0.03 ^D	0.22 ± 0.00 ^G
21	111.38 ± 4.06 ^B	0.61 ± 0.06 ^A	0.33 ± 0.00 ^F
28	117.64 ± 1.05 ^B	0.55 ± 0.01 ^{AB}	0.56 ± 0.01 ^E
35	111.14 ± 4.62 ^B	0.40 ± 0.00 ^{CD}	1.36 ± 0.01 ^B
42	119.54 ± 3.23 ^B	0.49 ± 0.01 ^{BC}	1.90 ± 0.01 ^A
49	124.81 ± 11.30 ^{AB}	0.52 ± 0.01 ^B	0.81 ± 0.04 ^D
56	138.32 ± 5.62 ^A	0.57 ± 0.01 ^{AB}	1.21 ± 0.05 ^C

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

Mean with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).

量。蟲草素含量會隨著培養時間增加而增加，於 42 天時達最高含量為 1899.43 $\mu\text{g/g DW}$ (表一)，之後會下降；腺苷含量則於 21 天時達最高為 612.24 $\mu\text{g/g DW}$ (表一)，之後會緩慢下降，但變化不大，其含量約維持在 404.19~566.82 $\mu\text{g/g DW}$ 間。

綜上三種結果與考量機能性成分之形成較菌絲體含量重要，則以蟲草素含量之結果為優先篩選之條件，故將以 42 天之北蟲草糙米產品進行後續之抗氧化成分分析。

(二) 北蟲草紅豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量

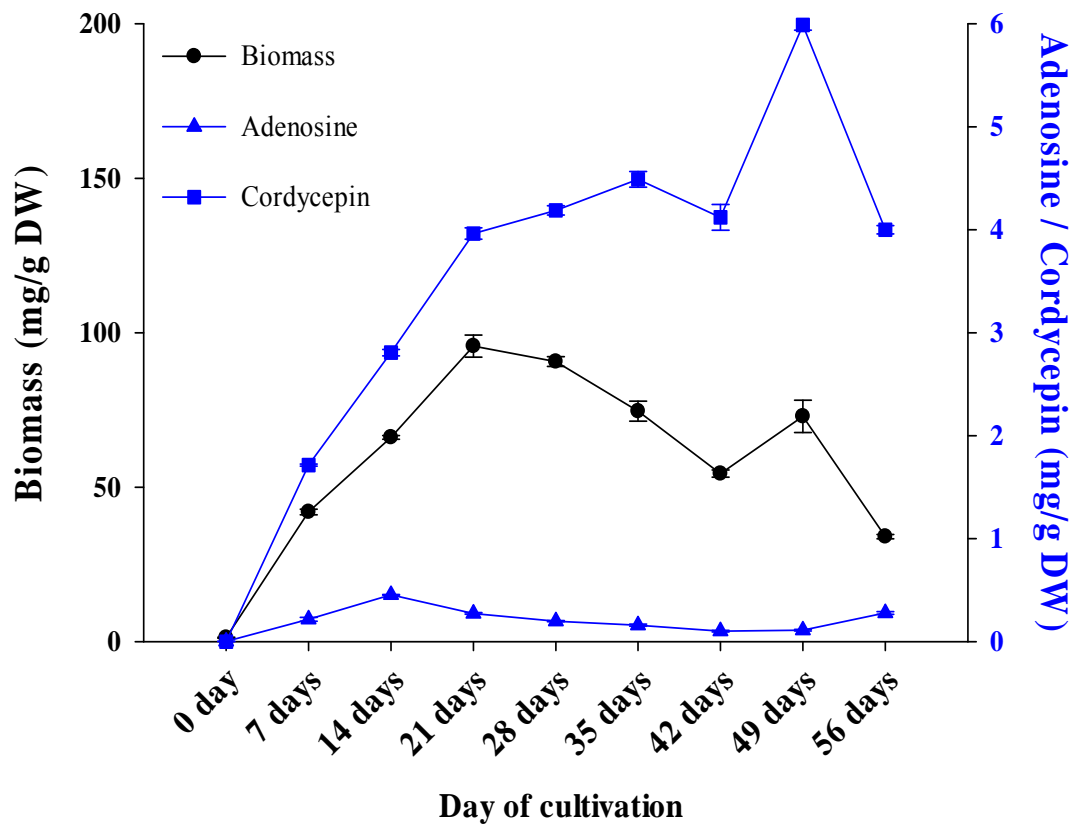
圖四為北蟲草紅豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化，從中可發現菌絲體生長之遲滯期較不明顯，而 0 天至 21 天菌絲體生長快速為北蟲草紅豆的對數生長期，穩定期的部分不明顯，於發酵 21 天進入死滅期菌絲體含量開始下降，至 49 天時出現些微上升後仍於 56 天時呈現持續減少的狀態。北蟲草紅豆菌絲體生長於 21 天時具有最佳之狀態，由表二可知，每 g 北蟲草紅豆乾重含有 95.71 mg 之菌絲體。

圖四中腺苷與蟲草素之含量在整體 8 週 56 天的發酵中，蟲草素含量皆明顯高於腺苷含量。腺苷 0 天至 14 天與蟲草素 0 天至 21 天之生成速率較快，腺苷含量於 14 天發酵後逐漸降低約莫至 101.97~278.34 $\mu\text{g/g DW}$ (表二)；蟲草素於 21 天至 42 天中含量變化較小範圍約為 3964.41~4489.82 $\mu\text{g/g DW}$ (表二)間。腺苷在 14 天發酵時出現最高生成量 455.46 $\mu\text{g/g DW}$ (表二)；蟲草素則在 49 天發酵時有最高生成量 5989.54 $\mu\text{g/g DW}$ (表二)。

綜上三種結果，考量發酵後形成之機能性成分較菌絲體含量重要，則以蟲草素含量之結果為優先篩選之條件，故北蟲草紅豆將以 49 天之發酵產品進行後續抗氧化成分分析。

(三) 北蟲草綠豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量

圖五為北蟲草綠豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量



圖四、北蟲草紅豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Figure 4. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented azuki bean by solid-state fermentation.

Each value is expressed as mean \pm SD ($n = 3$).

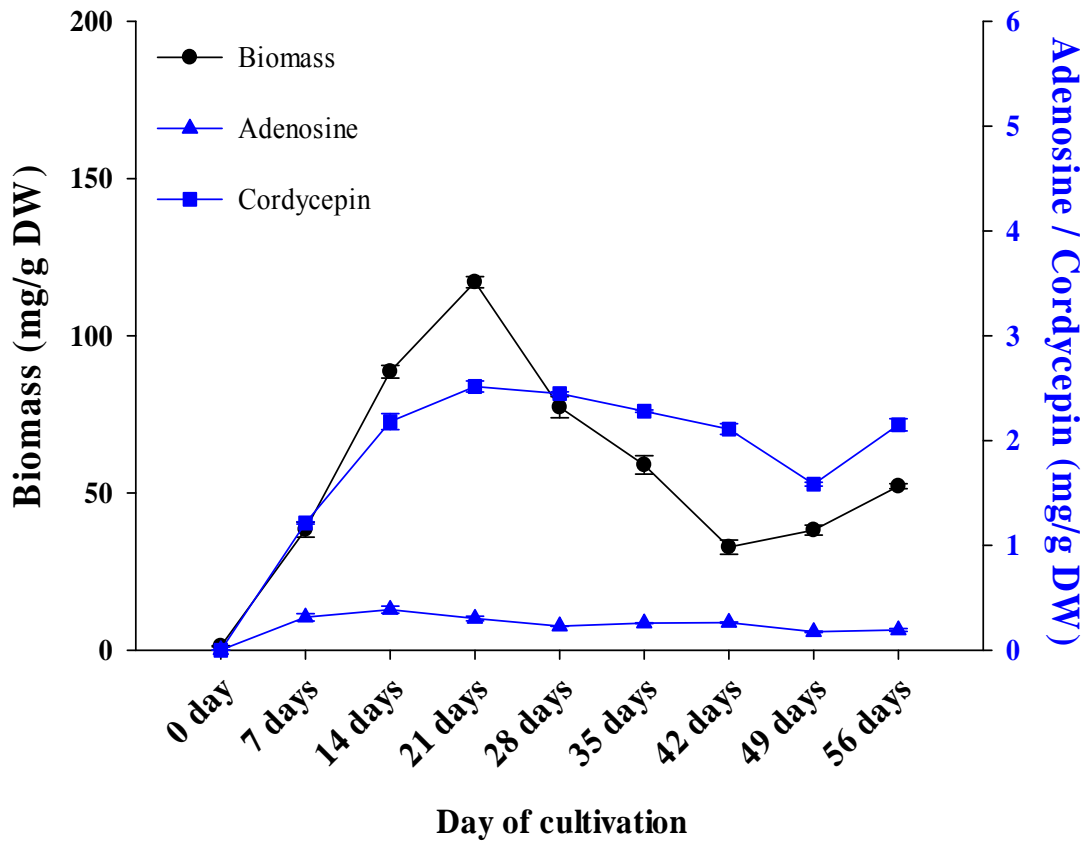
表二、北蟲草紅豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Table 2. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented azuki bean by solid-state fermentation.

Day	Biomass (mg/g DW)	Adenosine (mg/g DW)	Cordycepin (mg/g DW)
0	1.26 ± 0.17 ^F	ND	ND
7	41.96 ± 0.92 ^E	0.22 ± 0.02 ^C	1.71 ± 0.01 ^F
14	66.12 ± 0.58 ^C	0.46 ± 0.00 ^A	2.81 ± 0.03 ^E
21	95.71 ± 3.55 ^A	0.27 ± 0.01 ^B	3.96 ± 0.06 ^D
28	90.68 ± 1.60 ^A	0.20 ± 0.00 ^C	4.19 ± 0.05 ^C
35	74.59 ± 3.24 ^B	0.16 ± 0.01 ^E	4.49 ± 0.08 ^B
42	54.38 ± 1.18 ^D	0.10 ± 0.01 ^E	4.12 ± 0.13 ^{CD}
49	72.89 ± 5.24 ^C	0.11 ± 0.01 ^E	5.99 ± 0.05 ^A
56	33.99 ± 0.70 ^E	0.28 ± 0.01 ^B	4.00 ± 0.04 ^{CD}

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

Mean with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).



圖五、北蟲草綠豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Figure 5. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented mung bean by solid-state fermentation.

Each value is expressed as mean \pm SD ($n = 3$).

變化，從中可發現菌絲體生長之遲滯期較不明顯，可看出 0 天至 21 天為北蟲草綠豆的對數生長期，而穩定期的部分不明顯於 21 天發酵後，菌絲體含量開始下降進入死滅期，至 49 天和 56 天時有些微上升之情況。北蟲草綠豆菌絲體生長於 21 天時具有最佳之狀態，由表三可知，每 g 北蟲草綠豆乾重含有 117.09 mg 之菌絲體。

圖五中腺苷與蟲草素之含量在 56 天的發酵中，蟲草素含量皆明顯高於腺苷含量，腺苷 0 天至 14 天與蟲草素 0 天至 21 天之生成速率較快；腺苷含量於 14 天與蟲草素於 21 天至 49 天發酵後逐漸降低，而腺苷在 28 天至 56 天中其含量變化不明顯，其含量約為 175.41~262.49 $\mu\text{g/g DW}$ ；另蟲草素在 56 天時提升，此部分推測受生物質量變化影響。由表三可得知，腺苷於發酵 14 天時生成量為最高，具有 386.73 $\mu\text{g/g DW}$ ；蟲草素於發酵 21 天時生成量為最高，具有 2515.64 $\mu\text{g/g DW}$ 。

綜上三種結果與考量機能性成分之形成較菌絲體含量重要，則以蟲草素含量之結果為優先篩選之條件，故以 21 天之北蟲草綠豆產品進行後續之抗氧化成分分析。

(四) 北蟲草花豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量

圖六為北蟲草花豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化，從中可發現菌絲體生長之遲滯期較不明顯，可看出北蟲草綠豆之對數生長期為 0 天至 21 天，穩定期約在 21 天至 28 天間，於 28 天發酵後菌絲體含量開始下降進入死滅期，至 49 天和 56 天時有些微浮動上升。北蟲草花豆菌絲體生長於 28 天時具有最佳之狀態，由表四可知，每 g 北蟲草花豆乾重含有 73.50 mg 之菌絲體。

圖六中腺苷與蟲草素之含量在 56 天的發酵中，蟲草素含量皆明顯高於腺苷含量。發酵 14 天時腺苷具有最高含量 291.28 $\mu\text{g/g DW}$ (表四)，於 14 天發酵後逐漸降低趨緩，而 28 天至 56 天之間腺苷含量變化不明顯約為 86.58~161.58 $\mu\text{g/g}$

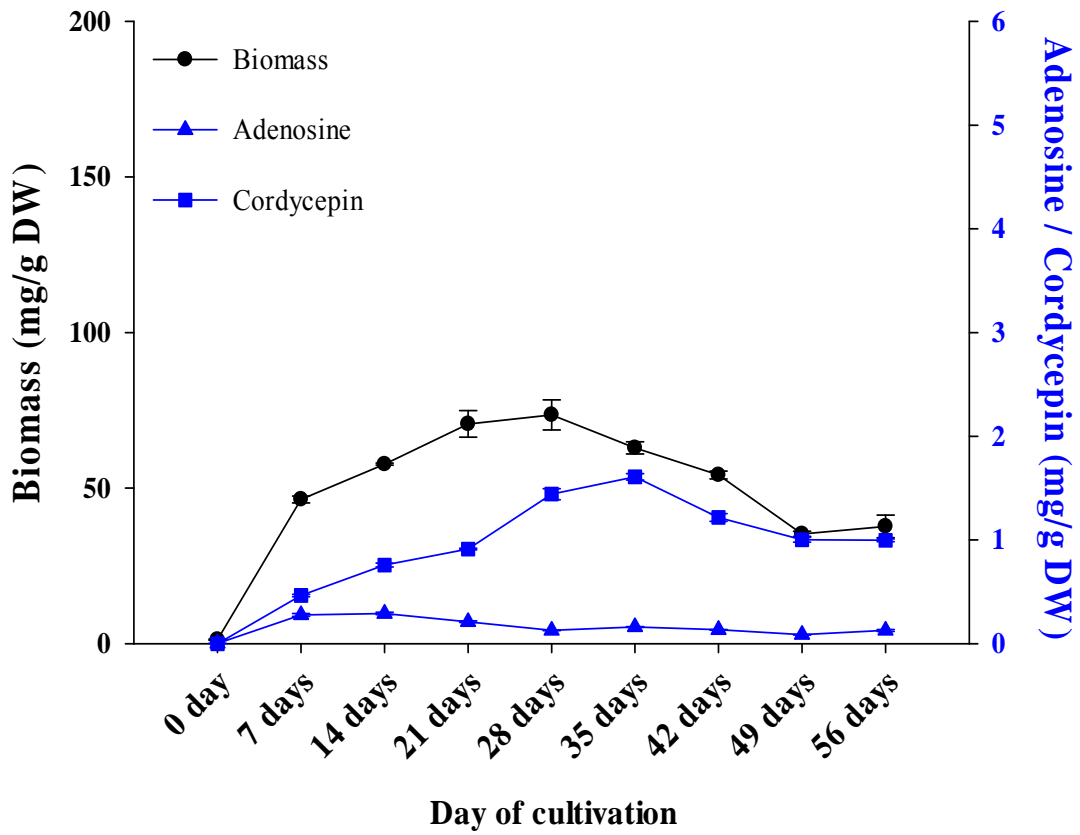
表三、北蟲草綠豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Table 3. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented mung bean by solid-state fermentation.

Day	Biomass (mg/g DW)	Adenosine (mg/g DW)	Cordycepin (mg/g DW)
0	1.26 ± 0.17 ^G	ND	ND
7	38.34 ± 2.41 ^F	0.31 ± 0.04 ^B	1.21 ± 0.01 ^E
14	88.57 ± 2.06 ^B	0.39 ± 0.03 ^A	2.18 ± 0.08 ^{BC}
21	117.09 ± 1.78 ^A	0.30 ± 0.02 ^B	2.52 ± 0.05 ^A
28	77.26 ± 3.35 ^C	0.23 ± 0.00 ^{CD}	2.45 ± 0.02 ^A
35	58.91 ± 2.92 ^D	0.26 ± 0.00 ^{BC}	2.28 ± 0.01 ^B
42	32.74 ± 2.26 ^F	0.26 ± 0.01 ^{BC}	2.11 ± 0.05 ^C
49	38.18 ± 1.58 ^F	0.18 ± 0.01 ^D	1.58 ± 0.02 ^D
56	52.11 ± 0.79 ^E	0.19 ± 0.01 ^D	2.15 ± 0.06 ^{BC}

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

Mean with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).



圖六、北蟲草花豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Figure 6. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented speckled kidney bean by solid-state fermentation.

Each value is expressed as mean \pm SD ($n = 3$).

表四、北蟲草花豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Table 4. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented speckled kidney bean by solid-state fermentation.

Day	Biomass (mg/g DW)	Adenosine (mg/g DW)	Cordycepin (mg/g DW)
0	1.26 ± 0.17 ^G	ND	ND
7	46.36 ± 1.10 ^E	0.28 ± 0.01 ^A	0.46 ± 0.01 ^G
14	57.68 ± 0.29 ^{CD}	0.29 ± 0.01 ^A	0.76 ± 0.02 ^F
21	70.61 ± 4.25 ^{AB}	0.21 ± 0.01 ^B	0.91 ± 0.01 ^E
28	73.50 ± 4.84 ^A	0.13 ± 0.00 ^D	1.44 ± 0.05 ^B
35	62.91 ± 1.98 ^{BC}	0.16 ± 0.00 ^C	1.61 ± 0.03 ^A
42	54.20 ± 1.27 ^{DE}	0.13 ± 0.00 ^D	1.22 ± 0.04 ^C
49	35.27 ± 0.83 ^F	0.09 ± 0.00 ^E	1.00 ± 0.02 ^D
56	37.68 ± 3.59 ^F	0.13 ± 0.01 ^D	1.00 ± 0.01 ^{DE}

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

Mean with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).

DW (表四)；另蟲草素含量於 0 天至 35 天皆處於生成階段，並於 35 天時有最高蟲草素含量 1607.62 $\mu\text{g/g DW}$ (表四)，而後含量開始降低，至 56 天發酵時含量已降低至 996.08 $\mu\text{g/g DW}$ (表四)。

綜上三種結果，考量發酵後形成之機能性成分較菌絲體含量重要，則以蟲草素含量之結果為優先篩選之條件，故將以 35 天之北蟲草花豆產品進行後續之抗氧化成份分析。

(五) 北蟲草鷹嘴豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量

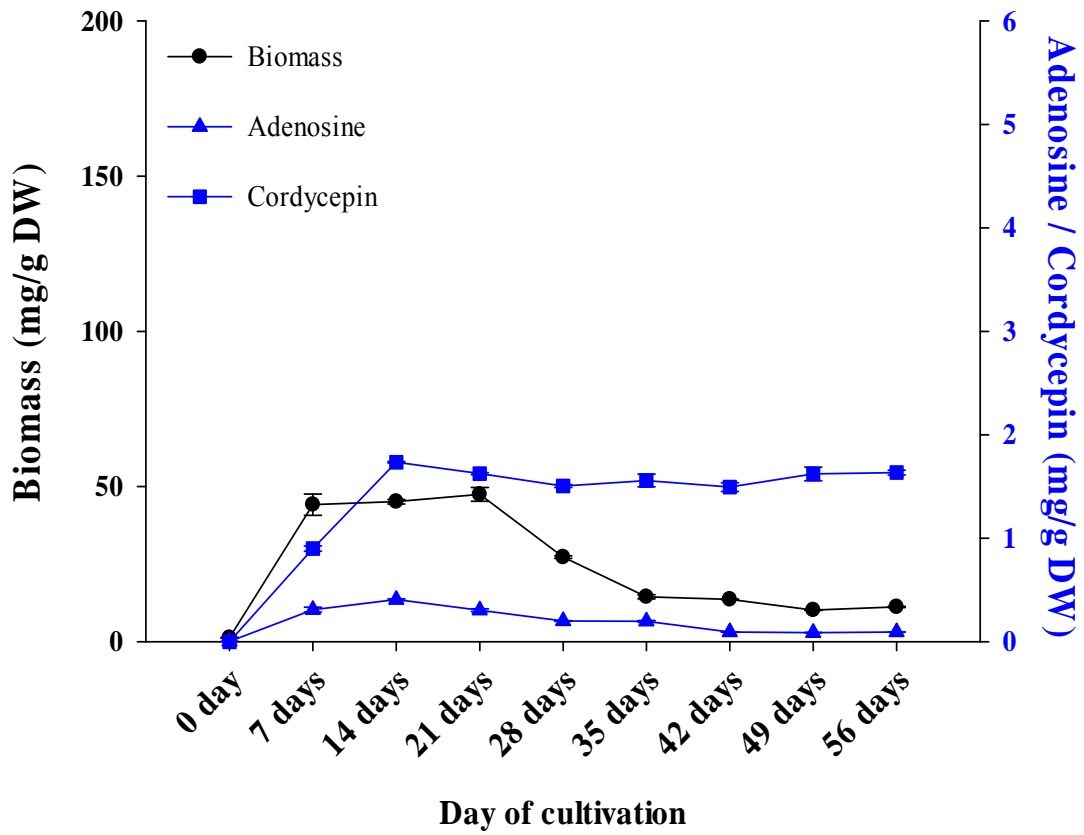
圖七為北蟲草鷹嘴豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化，可看出 56 天發酵期間北蟲草鷹嘴豆遲滯期並不明顯，數生長期之部分為 0 天至 7 天，穩定期約在 7 天至 21 天間，並於 21 天發酵後至 35 天間，菌絲體含量快速下降進入死滅期，35 天至 56 天時下降較趨緩。北蟲草鷹嘴豆菌絲體生長於 21 天時具有最佳之狀態，由表五可知，每 g 北蟲草鷹嘴豆乾重含有 47.45 mg 之菌絲體。

圖七中腺苷與蟲草素之含量在 56 天的發酵期間，蟲草素含量皆明顯高於腺苷含量。腺苷與蟲草素於 0 天至 14 天生成速率較快，且兩者皆於 14 天發酵後逐漸降低並趨於緩和。由表五可得知，腺苷與蟲草素皆於發酵 14 天時生成量最高，含量分別為 406.50 $\mu\text{g/g DW}$ 和 1734.48 $\mu\text{g/g DW}$ 。

綜上三種結果，考量菌絲體含量與機能性成分之形成以生成之機能性成分為重要；又因機能性成分含量以蟲草素為多，則以蟲草素含量之結果為優先篩選之條件，故北蟲草鷹嘴豆將以 14 天之發酵產品進行後續之抗氧化成份分析。

(六) 北蟲草黑豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量

圖八為北蟲草黑豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化，此部分發現菌絲體生長之遲滯期較不明顯，從圖中整體可看出 0 天至 7 天為北蟲草黑豆的對數生長期，穩定期約為 7 天至 21 天，並於 21 天發酵後至 35 天間菌絲體含量快速下降進入死滅期，而 35 天至 49 天時下降較為趨緩。北蟲草黑豆菌絲體生長於 21 天時具有最多之含量，由表六可知，每 g 北蟲草黑豆



圖七、北蟲草鷹嘴豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Figure 7. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented chickpea by solid-state fermentation.

Each value is expressed as mean \pm SD ($n = 3$).

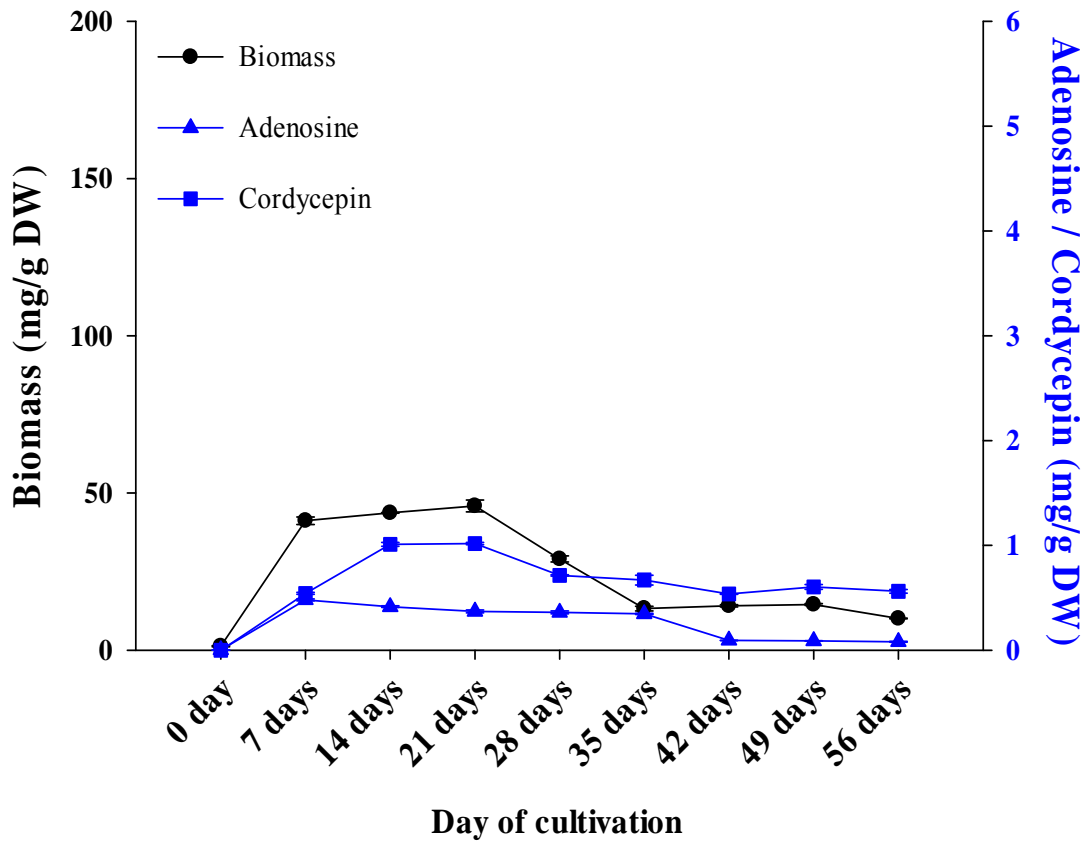
表五、北蟲草鷹嘴豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Table 5. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented chickpea by solid-state fermentation.

Day	Biomass (mg/g DW)	Adenosine (mg/g DW)	Cordycepin (mg/g DW)
0	1.26 ± 0.17 ^D	ND	ND
7	44.16 ± 3.42 ^A	0.31 ± 0.02 ^B	0.90 ± 0.03 ^D
14	45.11 ± 0.70 ^A	0.41 ± 0.01 ^A	1.73 ± 0.01 ^A
21	47.45 ± 2.23 ^A	0.30 ± 0.01 ^B	1.62 ± 0.01 ^{AB}
28	27.25 ± 0.41 ^B	0.20 ± 0.00 ^C	1.50 ± 0.01 ^C
35	14.50 ± 0.67 ^C	0.20 ± 0.01 ^C	1.56 ± 0.06 ^{BC}
42	13.65 ± 0.12 ^C	0.09 ± 0.00 ^D	1.49 ± 0.04 ^C
49	10.20 ± 0.12 ^C	0.09 ± 0.00 ^D	1.62 ± 0.07 ^{AB}
56	11.19 ± 0.16 ^C	0.09 ± 0.00 ^D	1.63 ± 0.02 ^{AB}

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

Mean with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).



圖八、北蟲草黑豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Figure 8. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented black soybean by solid-state fermentation.

Each value is expressed as mean \pm SD ($n = 3$).

表六、北蟲草黑豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Table 6. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented black soybean by solid-state fermentation.

Day	Biomass (mg/g DW)	Adenosine (mg/g DW)	Cordycepin (mg/g DW)
0	1.26 ± 0.17 ^F	ND	ND
7	41.17 ± 1.20 ^B	0.48 ± 0.01 ^A	0.54 ± 0.01 ^D
14	43.66 ± 0.14 ^{AB}	0.41 ± 0.01 ^B	1.01 ± 0.02 ^A
21	45.85 ± 1.87 ^A	0.37 ± 0.01 ^C	1.02 ± 0.01 ^A
28	29.00 ± 0.98 ^C	0.36 ± 0.01 ^C	0.71 ± 0.01 ^B
35	13.24 ± 0.75 ^D	0.35 ± 0.01 ^C	0.67 ± 0.05 ^B
42	14.10 ± 0.37 ^D	0.09 ± 0.00 ^D	0.54 ± 0.00 ^D
49	14.52 ± 0.30 ^D	0.09 ± 0.00 ^D	0.60 ± 0.02 ^C
56	10.08 ± 0.11 ^E	0.08 ± 0.00 ^D	0.56 ± 0.02 ^{CD}

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

Mean with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).

乾重含有 45.85 mg 之菌絲體。

圖八中腺苷與蟲草素之含量在 56 天的發酵期間，蟲草素含量皆明顯高於腺苷含量。腺苷含量於 0 天至 7 天生成速率較快，而 7 天至 35 天時其含量降低情況不明顯，於 35 天後至 56 天有較明顯下降情形；另蟲草素含量於 0 天至 14 天生成速率較快，且於 14 天至 21 天維持穩定，21 天後至 28 天間蟲草素含量明顯下降而後即趨於緩和。由表六可得知，腺苷含量在發酵 7 天時具有較多的含量，為 479.27 $\mu\text{g/g DW}$ ；蟲草素含量則在發酵 21 天時具有最高之含量，為 1016.65 $\mu\text{g/g DW}$ 。

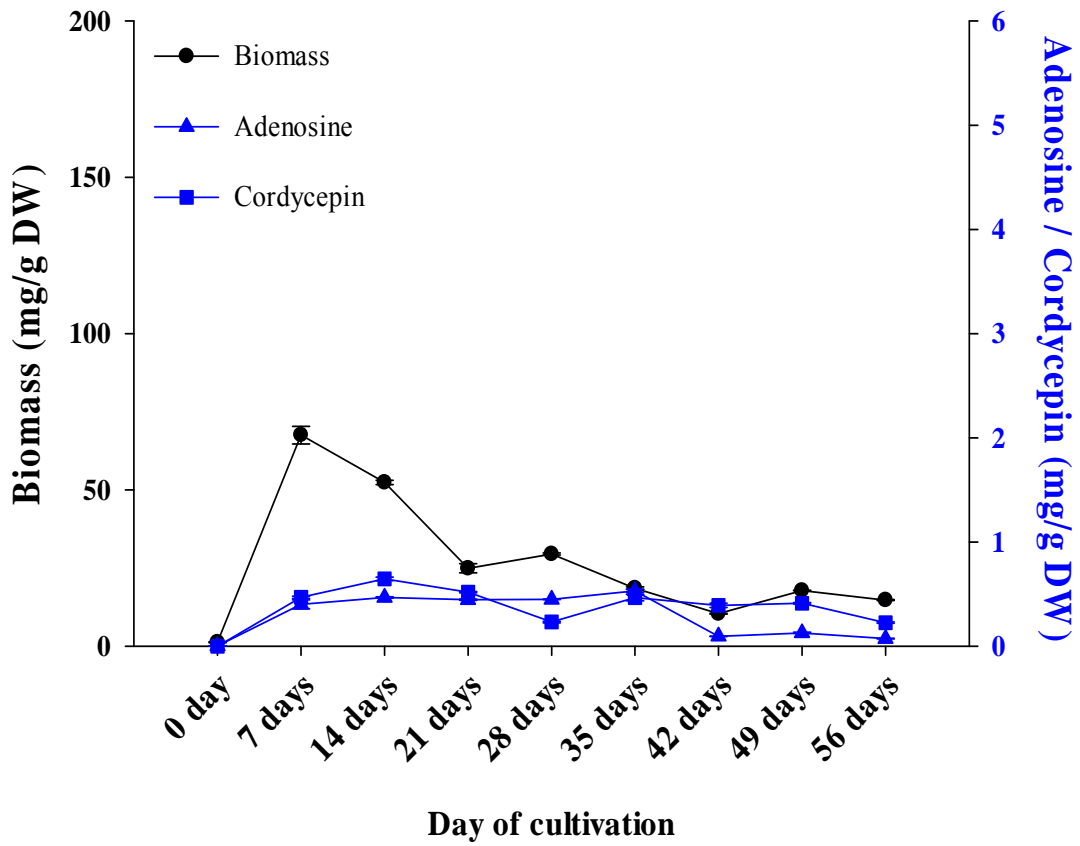
綜上三種評估結果並考量機能性成分之形成較菌絲體含量重要，則以蟲草素含量之結果為優先篩選之條件，故北蟲草黑豆將以 21 天之發酵產品進行後續之抗氧化成份分析。

(七) 北蟲草黃豆之菌絲體、腺苷和蟲草素含量

圖九為北蟲草黃豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化，從圖中可知遲滯期較不明顯，且 0 天至 7 天為北蟲草黃豆的對數生長期，而在 7 天後菌絲體含量下降，其中以 7 天至 21 天間下降幅度較為明顯。北蟲草黃豆菌絲體生長於 7 天時具有最佳之狀態，由表七可知，每 g 北蟲草黃豆乾重含有 67.53 mg 之菌絲體。

圖九中腺苷與蟲草素之含量在 56 天的發酵中，兩機能性成分含量相近。腺苷之含量於 0 天至 7 天上升至 402.35 $\mu\text{g/g DW}$ (表七)，至 28 天期間含量起伏不大，發酵至 35 天時腺苷含量略為上升後含量開始下降；另蟲草素之含量於 0 天至 14 天間呈上升趨勢，但於 14 天後開始下降。腺苷與蟲草素最高生成量分別於 35 天及 14 天發酵時，含量則為 531.39 $\mu\text{g/g DW}$ 和 646.68 $\mu\text{g/g DW}$ 。

綜上三種結果與考量機能性成分之形成較菌絲體含量重要，則以蟲草素含量之結果為優先篩選之條件，故北蟲草黃豆將以 14 天之發酵產品進行後續之抗氧化成份分析。



圖九、北蟲草黃豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Figure 9. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented soybean by solid-state fermentation.

Each value is expressed as mean \pm SD ($n = 3$).

表七、北蟲草黃豆固態發酵 56 天培養期間之生物質量、腺苷及蟲草素含量變化

Table 7. Changes of biomass, adenosine and cordycepin content during the 56-day cultivation of *Cordyceps militaris* fermented soybean by solid-state fermentation.

Day	Biomass (mg/g DW)	Adenosine (mg/g DW)	Cordycepin (mg/g DW)
0	1.26 ± 0.17 ^H	ND	ND
7	67.53 ± 2.79 ^A	0.40 ± 0.04 ^C	0.47 ± 0.01 ^B
14	52.40 ± 0.71 ^B	0.47 ± 0.01 ^B	0.65 ± 0.02 ^A
21	24.94 ± 1.42 ^D	0.45 ± 0.01 ^{BC}	0.52 ± 0.01 ^B
28	29.48 ± 0.35 ^C	0.45 ± 0.00 ^{BC}	0.23 ± 0.01 ^{CD}
35	18.55 ± 0.42 ^E	0.53 ± 0.02 ^A	0.47 ± 0.03 ^B
42	10.41 ± 0.10 ^G	0.10 ± 0.00 ^{DE}	0.39 ± 0.02 ^{BC}
49	17.83 ± 0.08 ^{EF}	0.13 ± 0.01 ^D	0.41 ± 0.01 ^B
56	14.78 ± 0.13 ^F	0.07 ± 0.00 ^E	0.23 ± 0.01 ^D

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

Mean with different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).

(八) 北蟲草糙米與豆類基質之菌絲體、腺苷和蟲草素含量比較討論

菌絲體含量部分，控制組北蟲草糙米和實驗組之 6 種北蟲草豆類中，可看出北蟲草糙米為 7 組中菌絲體含量最多者，次之為北蟲草綠豆，再者為北蟲草紅豆，而後依序為北蟲草花豆、黃豆、鷹嘴豆，最低菌絲體生成量為北蟲草黑豆。固態發酵之影響參數包含物理、化學及生物化學，例如粒徑大小、初始水分、酸鹼值、基質的預處理、相對濕度、培養溫度、接種物之年齡與大小、營養物質，如氮、磷和微量元素、補充之碳源及誘導劑等(Pandey, 2003)。

在基質顆粒大小方面，研究發現使用不同稻穀粒徑粗稻穀 $< 2000\ \mu\text{m}$ 、中等粒徑 $< 300\ \mu\text{m}$ 和最小粒徑 $< 74\ \mu\text{m}$ 三種顆粒大小，與 *C. termitidis* 及 *C. intestinale* 進行共同固態發酵培養，發酵條件為 5 g 基質含水量為 75%、菌液之添加比例為 5:1 (*C. termitidis* 和 *C. intestinale*)，結果顯示，粒徑越小之稻穀，增加顆粒之表面積，同時基質的可用性也提升(Tosuner *et al.*, 2018)。本篇研究結果亦發現菌絲體生長較佳之前 3 種基質中顆粒都較小，換言之，當基質相同重量時，顆粒愈小，表面積愈多，生物可利用性越大，故其菌絲體生長量越多。

菌體生長部分，研究顯示北蟲草紫米、猴頭菇糙米和北蟲草茶葉之生長曲線中，遲滯期明顯，其培養時間約為 16~25 天(陳, 2015; 涂, 2016; 郭, 2018)，推測因北蟲草生長快速而本研究每隔 7 天進行採樣，週期相對較大，故導致北蟲草發酵物 56 天培養之遲滯期不明顯；另研究指出，猴頭菇糙米和北蟲草茶葉分別於 12 天和 19 天後進入衰亡期，其培養容器為塑膠培養皿(涂, 2016; 郭, 2018)，推測本研究使用廣口瓶培養，其容量較塑膠培養皿大，使菌絲體生長空間增加，故菌體進入衰亡期之時間延後。

腺苷含量部分，北蟲草發酵的 7 種基質中腺苷含量以北蟲草糙米為最高、次之為北蟲草黃豆，而後依序為北蟲草黑豆、紅豆、鷹嘴豆、綠豆，生成含量最少為北蟲草花豆。蟲草素含量以北蟲草紅豆為最高、次之為北蟲草綠豆、再者依序為北蟲草糙米、鷹嘴豆、花豆、黑豆，生成含量最低為北蟲草黃豆。據研究指出，泰國黑茉莉香米經北蟲草發酵後，其腺苷含量為 103.47 mg/100g，

另於基質中加入螻蛄(Mole cricket)粉末補充養分，其腺苷含量為 156.73 mg/g，可知提高基質之養分能使北蟲草產生之腺苷含量增加(Sornpraser *et al.*, 2016)。與本研究之北蟲草糙米的腺苷含量進行比較，其腺苷含量經換算為 61.22 mg/100g 相較下北蟲草糙米之腺苷產量較低，目前台灣固態發酵出菇以糙米作為主要原料，亦會額外添加輔助原料(陳等，2010)，預期經添加養分之糙米基質腺苷產量亦會提升。

此外，研究亦發現泰國黑茉莉香米經北蟲草發酵後，其蟲草素含量為 209.42 mg/100g，另於基質中加入螻蛄(Mole cricket)粉末補充養分，其蟲草素含量為 208.17 mg/100g (Sornpraser *et al.*, 2016)，作者添加之補充養分配方，使北蟲草產生之蟲草素含量略微下降。此研究結果與本篇蟲草素產量最高之北蟲草紅豆進行含量比較，經換算得知北蟲草紅豆之蟲草素含量為 598.95 mg/100g，可知北蟲草紅豆之蟲草素生成量，不僅高於控制組的北蟲草糙米，亦高於北蟲草發酵之泰國黑茉莉香米。故以紅豆作為北蟲草發酵之基質，較穀類基質能使蟲草素之產量提高。

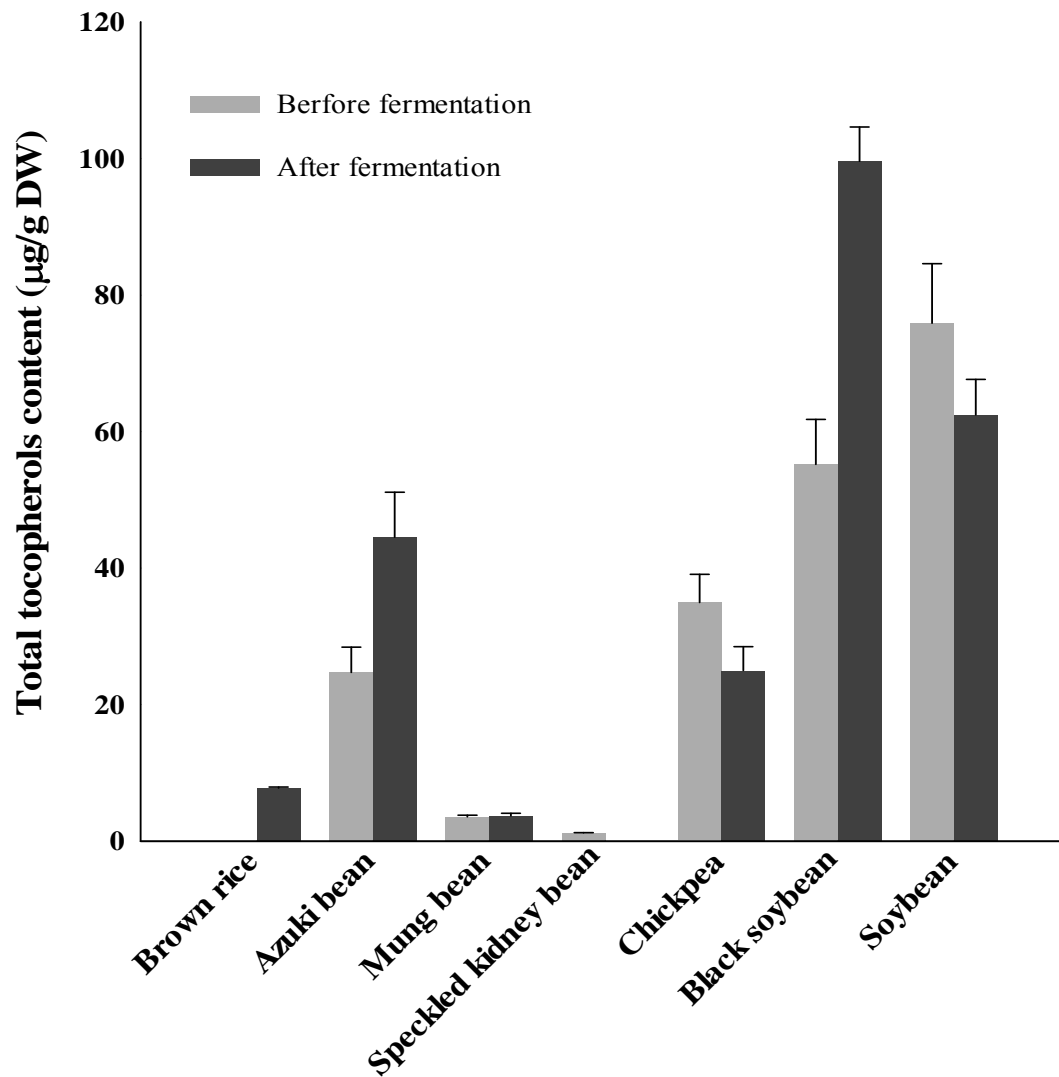
三、北蟲草固態發酵產品之抗氧化成分

本研究第一階段已針對北蟲草發酵產品機能性成分之生成量，篩選出各基質之最適培養天數。而豆類基質中也具有許多抗氧化成分，欲瞭解北蟲草之固態發酵是否改變基質中原先就存在之生理活性物質，故本研究擬針對發酵前後之糙米與豆類之抗氧化成分進行分析，包括生育酚、類胡蘿蔔素、葉綠素及總酚等。

(一) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總生育酚(維生素 E)含量

維生素 E 具有抗氧化的生理活性主要歸因於 α 、 β 、 γ 及 δ 四種生育酚，而一般在新鮮豆類中富含生育酚(Shupski *et al.*, 2012)；然經北蟲草固態發酵培養後，是否對生育酚含量有影響。

圖十為糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總生育酚含量，由圖可知糙米、紅豆和黑豆經北蟲草固態發酵後，總生育酚含量會提高，分別由未檢出增



圖十、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總生育酚含量

Figure 10. Total tocopherol content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Each value is expressed as mean \pm SD (n=3).

加至 7.78 $\mu\text{g/g DW}$ 、24.72 增加至 44.53 $\mu\text{g/g DW}$ 和 55.21 增加至 99.63 $\mu\text{g/g DW}$ (表八)；綠豆基質發酵前後則無顯著差異，分別為 3.57 和 3.72 $\mu\text{g/g DW}$ (表八)；而花豆、鷹嘴豆和黃豆經北蟲草固態發酵後，總生育酚含量反而下降，分別由 1.20 $\mu\text{g/g DW}$ 降至未檢出、34.96 降至 25.00 $\mu\text{g/g DW}$ 和 75.901 降至 62.47 $\mu\text{g/g DW}$ (表八)。

由表八可知在北蟲草豆類產品總生育酚含量，除北蟲草花豆(未檢出)及北蟲草綠豆(3.72 $\mu\text{g/g DW}$)較北蟲草糙米(7.77 $\mu\text{g/g DW}$)少外，其餘之北蟲草紅豆(44.53 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草鷹嘴豆(25.00 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草黑豆(99.63 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草黃豆(62.47 $\mu\text{g/g DW}$)皆高於對照組北蟲草糙米。在北蟲草豆類產品中，以北蟲草黑豆之總生育酚含量最高為 99.63 $\mu\text{g/g DW}$ ，其次是北蟲草黃豆含量為 62.47 $\mu\text{g/g DW}$ ，第三則為北蟲草紅豆 44.53 $\mu\text{g/g DW}$ 。

表八可知 α -生育酚含量由高而低依序為，北蟲草黑豆(20.72 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草鷹嘴豆(17.77 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草黃豆(10.89 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草糙米(6.96 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草紅豆(未檢出) = 北蟲草綠豆(未檢出) = 北蟲草花豆(未檢出)。另在 δ -生育酚含量方面，依序為北蟲草黑豆(78.91 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草黃豆(51.58 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草紅豆(44.53 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草鷹嘴豆(7.24 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草綠豆(3.72 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草糙米(0.81 $\mu\text{g/g DW}$) > 北蟲草花豆(未檢出)。

研究指出利用 14 種不同之 *Rhizopus* 屬真菌進行大豆之固態發酵，結果發現總生育酚含量(α -、 β -、 γ -和 δ -生育酚)則無顯著差異(Denter *et al.*, 1998)；而本篇針對生育酚之評估，僅分析 α -生育酚和 δ -生育酚含量，故於總量部分造成統計上之差異。另研究指出大米經冬蟲夏草固態發酵後，其生育酚含量會提升(Zhang *et al.*, 2008)；本研究結果得知，糙米、紅豆及黑豆經北蟲草固態發酵培養後，生育酚含量會提升。

(二) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總類胡蘿蔔素含量

蔬菜、水果和豆類是人類重要的食品，可促進人體健康且降低患病風險，其中的類胡蘿蔔素被認為對人體健康至關重要(Qudah, 2014)，其為抗氧化劑和

表八、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總生育酚含量

Table 8. Total tocopherol content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

	Total tocopherols content (µg/g DW)					
	Before fermentation			After fermentation		
	α-Tocopherol	δ-Tocopherol	Total	α-Tocopherol	δ-Tocopherol	Total
Brown rice	ND	ND	ND ^b	6.96 ± 0.13 ^C	0.81 ± 0.04 ^C	7.78 ± 0.17 ^{E a}
Azuki bean	ND	24.72 ± 3.70 ^C	24.72 ± 3.70 ^{C b}	ND	44.53 ± 6.61 ^B	44.53 ± 6.61 ^{C a}
Mung bean	ND	3.57 ± 0.24 ^D	3.57 ± 0.24 ^{D a}	ND	3.72 ± 0.37 ^C	3.72 ± 0.37 ^{E a}
Speckled kidney bean	ND	1.20 ± 0.04 ^D	1.20 ± 0.04 ^{D a}	ND	ND	ND ^b
Chickpea	26.65 ± 3.86 ^A	8.31 ± 0.27 ^D	34.96 ± 4.13 ^{C a}	17.77 ± 2.53 ^A	7.24 ± 0.98 ^C	25.00 ± 3.51 ^{D b}
Black soybean	13.75 ± 0.50 ^B	41.46 ± 6.11 ^B	55.21 ± 6.61 ^{B b}	20.72 ± 1.37 ^A	78.91 ± 3.65 ^A	99.63 ± 5.03 ^{A a}
Soybean	12.24 ± 0.56 ^B	63.66 ± 8.16 ^A	75.90 ± 8.72 ^{A a}	10.89 ± 0.66 ^B	51.58 ± 4.56 ^B	62.47 ± 5.21 ^{B b}

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

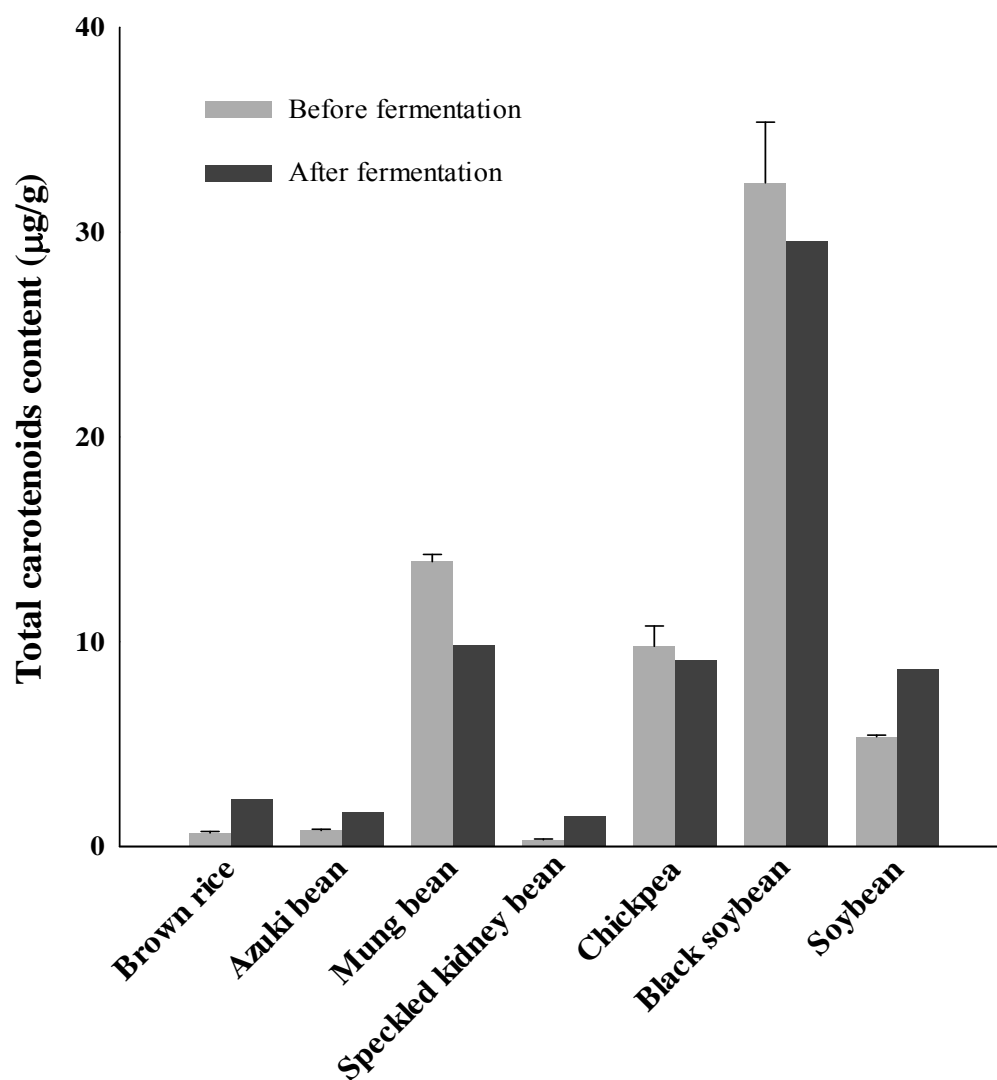
Means with different capital letters within a column are significantly different; means with different small letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

著色劑(Lia *et al.*, 2019);然糙米與豆類經北蟲草固態發酵培養後，是否對類胡蘿蔔素含量有影響。

圖十一為糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總類胡蘿蔔素含量，由圖可知糙米、紅豆、花豆和黃豆經北蟲草固態發酵後，總類胡蘿蔔素含量增加，分別由 0.66 增加至 2.31 $\mu\text{g/g DW}$ 、0.78 增加至 1.68 $\mu\text{g/g DW}$ 、0.32 增加至 1.47 $\mu\text{g/g DW}$ 和 5.36 增加至 8.64 $\mu\text{g/g DW}$ (表九);鷹嘴豆基質發酵前後含量(9.77 和 9.08 $\mu\text{g/g DW}$)與黑豆基質發酵前後含量(32.41 和 29.57 $\mu\text{g/g DW}$)，兩者無顯著差異(表九);而綠豆經北蟲草固態發酵後，總類胡蘿蔔素含量反而下降，由 13.91 $\mu\text{g/g DW}$ 降至 9.82 $\mu\text{g/g DW}$ (表九)。

由表九可知在北蟲草豆類產品總類胡蘿蔔素含量，除北蟲草紅豆(1.68 $\mu\text{g/g DW}$)及北蟲草花豆(1.47 $\mu\text{g/g DW}$)較控制組北蟲草糙米(2.31 $\mu\text{g/g DW}$)少外，其餘之北蟲草綠豆(9.82 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草鷹嘴豆(9.08 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草黑豆(29.57 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草黃豆(8.64 $\mu\text{g/g DW}$)皆高於對照組北蟲草糙米。在北蟲草豆類產品中，以北蟲草黑豆之總類胡蘿蔔素含量最高為 29.57 $\mu\text{g/g DW}$ ，其次北蟲草綠豆(9.82 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草鷹嘴豆(9.08 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草黃豆(8.64 $\mu\text{g/g DW}$)無顯著差異。

根據文獻指出，利用 14 種不同之 *Rhizopus* 屬真菌進行大豆之固態發酵，其中 6 種真菌能使總類胡蘿蔔素含量皆於發酵後提升(Denter *et al.*, 1998);與本研究之北蟲草糙米、紅豆、花豆和黃豆結果相似。另研究發現，類胡蘿蔔素降解方式有很多種，如物理降解、化學降解、生物降解等(朱等，2017)。此外，研究指出類胡蘿蔔素儲存於 -20°C 、 5°C 和 25°C 中，隨溫度升高裂解常數也隨之增加;類胡蘿蔔素具長鏈的共軛鍵，因此對於氧氣、光、熱和酸非常敏感，而導致裂解和異構物生成，並降低維生素 A 的活性(陳，2000)。綜上所述，本研究結果得知，糙米、紅豆、花豆及黃豆經北蟲草固態發酵培養後，總類胡蘿蔔素含量會提升。



圖十一、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總類胡蘿蔔素含量

Figure 11. The total carotenoids content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Each value is expressed as mean \pm SD (n=3).

表九、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總類胡蘿蔔素及總葉綠素含量

Table 9. The total chorophyll content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

	Total carotenoids content (μg/g DW)		Total chorophyll content (μg/g DW)	
	Before fermentation	After fermentation	Before fermentation	After fermentation
Brown rice	0.66 ± 0.07 ^{E b}	2.31 ± 0.07 ^{C a}	ND	ND
Azuki bean	0.78 ± 0.06 ^{E b}	1.68 ± 0.10 ^{C a}	ND	ND
Mung bean	13.91 ± 0.36 ^{B a}	9.82 ± 0.22 ^{B b}	1.89 ± 0.11 ^{B a}	0.57 ± 0.08 ^{B b}
Speckled kidney bean	0.32 ± 0.04 ^{E b}	1.47 ± 0.05 ^{C a}	ND	ND
Chickpea	9.77 ± 2.96 ^{C a}	9.08 ± 0.10 ^{B a}	ND	ND
Black soybean	32.41 ± 2.96 ^{A a}	29.57 ± 1.42 ^{A a}	16.51 ± 2.21 ^{A a}	10.21 ± 0.96 ^{A b}
Soybean	5.36 ± 0.08 ^{E b}	8.64 ± 0.46 ^{B a}	ND	ND

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

Means with different capital letters within a column are significantly different; means with different small letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

(三) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵後之葉綠素含量

可食之綠色植物為生活中葉綠素攝取之來源，為一具有抗氧化活性之物質 (Durga *et al.*, 2015)。本研究選擇之豆類基質，以綠豆及青仁黑豆中含有葉綠素；然經北蟲草固態發酵培養後，是否對葉綠素含量有影響。

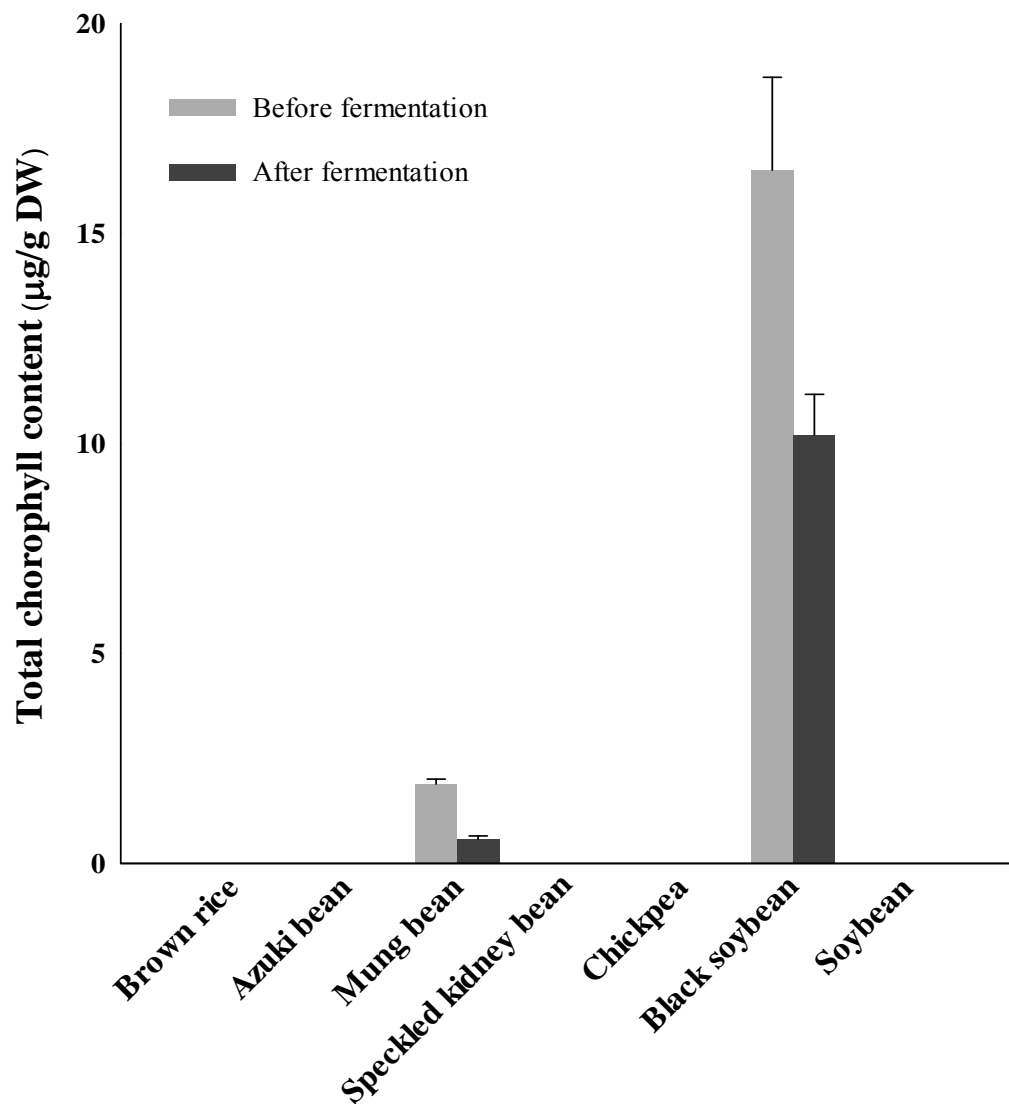
圖十二為糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總葉綠素含量，由圖可知綠豆和黑豆經北蟲草固態發酵後，總葉綠素含量皆降低，分別由 1.89 降至 0.57 $\mu\text{g/g DW}$ 和 16.51 降至 44.53 $\mu\text{g/g DW}$ (表九)。由表九可知，發酵後之北蟲草黑豆葉綠素含量為 44.53 $\mu\text{g/g DW}$ 顯著高於北蟲草綠豆之含量 0.57 $\mu\text{g/g DW}$ 。

葉綠素是自然界中的重要色素，存在所有能進行光合作用的植物體中，其合成之最適溫度，隨不同植物而異，此具抗氧化能力之色素並不穩定，當組織中缺乏水分或受強烈光照時，葉綠素會遭到破壞(蔡等, 2004)。本研究發酵過程，利用光照培養，推測光照強度過大(照度約 25000 lux)且距離較近，導致北蟲草綠豆與黑豆之葉綠素含量下降。綜上所述，經研究結果得知，黑豆經北蟲草固態發酵培養後，總葉綠素含量會高於綠豆基質。

(四) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總酚含量

酚類化合物含量為第二階段評估項目之一，已知酚類透過將氫原子轉移至 ROO· 自由基，以降低有機物質之氧化速率達到抗氧化之作用(Foti, 2007)，故以此為評估項目，並瞭解固態發酵對總酚含量之影響。

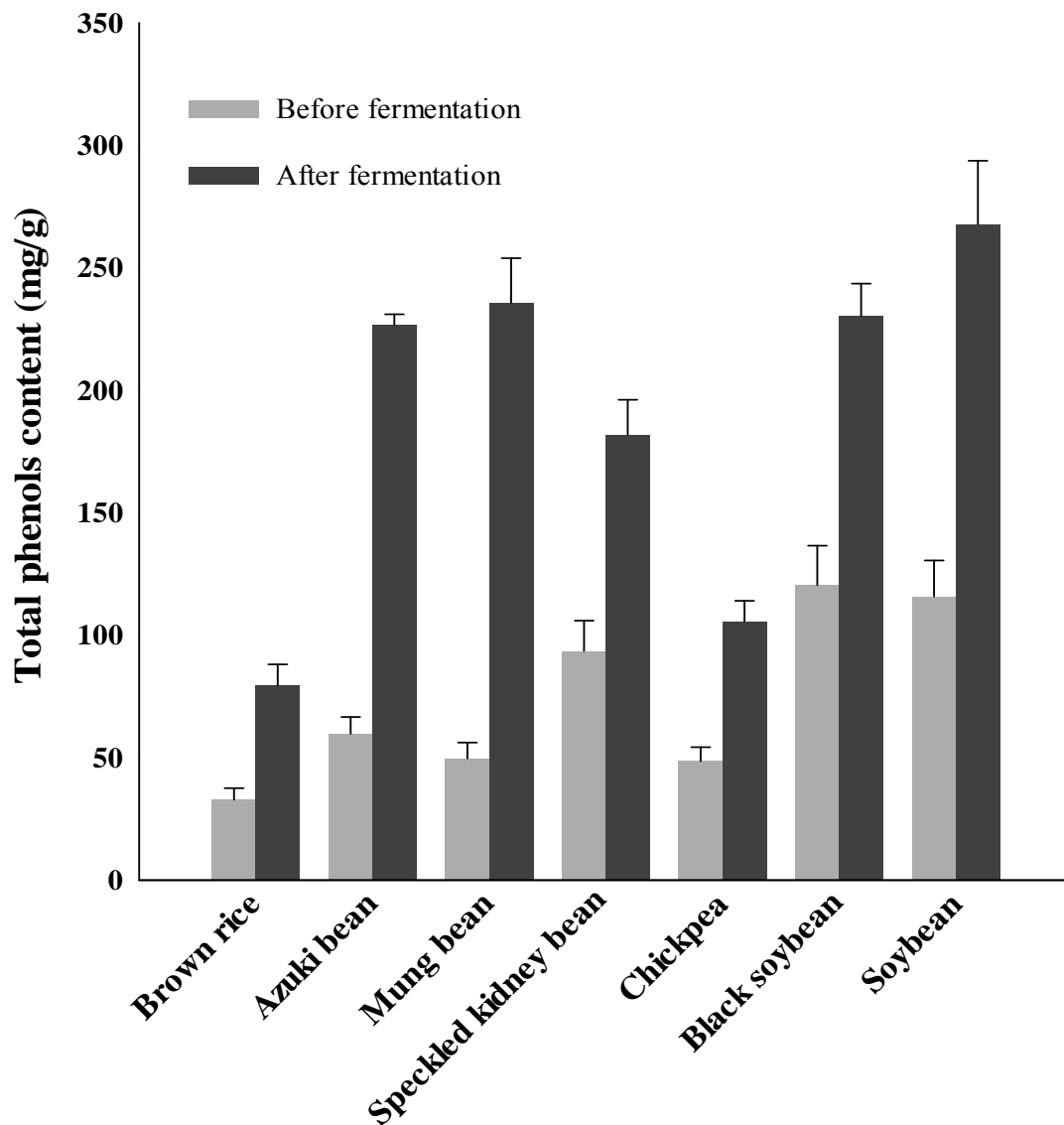
圖十三為糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總酚含量，由圖可知糙米與 6 種豆類基質(紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆與黃豆)經北蟲草固態發酵後，總酚含量皆提升，依序為糙米基質由 32.86 增加至 79.50 $\mu\text{g/g DW}$ 、紅豆基質由 59.75 增加至 226.94 $\mu\text{g/g DW}$ 、綠豆基質由 49.64 增加至 235.79 $\mu\text{g/g DW}$ 、花豆基質由 93.53 增加至 182.00 $\mu\text{g/g DW}$ 、鷹嘴豆基質由 48.59 增加至 105.66 $\mu\text{g/g DW}$ 、黑豆基質由 120.52 增加至 230.34 $\mu\text{g/g DW}$ 、黃豆基質由 115.85 增加至 267.83 $\mu\text{g/g DW}$ (表十)。



圖十二、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總葉綠素含量

Figure 12. The total chlorophylls content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Each value is expressed as mean \pm SD (n=3)



圖十三、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總酚含量

Figure 13. The total phenols content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Each value is expressed as mean \pm SD (n=3).

表十、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之總酚含量

Table 10. The total phenols content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Total phenols content (mg/g DW)		
	Before fermentation	After fermentation
Brown rice	32.86 ± 4.69 ^{B b}	79.50 ± 8.58 ^{C a}
Azuki bean	59.75 ± 6.87 ^{B b}	226.94 ± 4.16 ^{A a}
Mung bean	49.64 ± 6.52 ^{B b}	235.79 ± 18.23 ^{A a}
Speckled kidney bean	93.53 ± 12.44 ^{A b}	182.00 ± 14.16 ^{B a}
Chickpea	48.59 ± 5.67 ^{B b}	105.66 ± 8.40 ^{C a}
Black soybean	120.52 ± 16.02 ^{A b}	230.34 ± 13.27 ^{A a}
Soybean	115.85 ± 14.69 ^{A b}	267.83 ± 25.91 ^{A a}

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

Means with different capital letters within a column are significantly different; means with different small letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

由表十可知在經北蟲草發酵的豆類產品其總酚含量，皆高於控制組北蟲草糙米(79.50 $\mu\text{g/g DW}$)，而北蟲草紅豆(226.94 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草綠豆(235.79 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草黑豆(230.34 $\mu\text{g/g DW}$)、北蟲草黃豆(267.83 $\mu\text{g/g DW}$)之總酚含量無顯著差異為 7 個產品中最高；次之為北蟲草花豆(182.00 $\mu\text{g/g DW}$)；最後則為北蟲草鷹嘴豆(105.66 $\mu\text{g/g DW}$)與控制組無顯著差異。

根據研究顯示，利用綠豆與北蟲草進行固態發酵，發酵後產物的酚類化合物含量增加，且進行 DPPH 自由基清除活性、ABTS 自由基陽離子清除活性、鐵降低抗氧化能力檢測、還原力及螯合亞鐵離子能力，研究結果其抗氧化能力於發酵後提升(Xiao *et al.*, 2015b)。另研究發現，不同溶劑萃取發酵之黃豆，其總酚含量顯著高於發酵前(Juan *et al.*, 2010)。本研究選擇之豆類基質之總酚含量即高於糙米，且經發酵後總酚含量北蟲草豆類仍高於北蟲草糙米，綜上所述，經北蟲草發酵之糙米與 6 種豆類基質總酚含量皆提高，且紅豆、綠豆、黑豆和黃豆發酵後之總酚含量無顯著差異為 7 種基質中最多。

(五) 北蟲草糙米與北蟲草豆類之抗氧化物質含量比較

第二階段之不同北蟲草發酵基質之抗氧化物質含量，其評估項目為生育酚、類胡蘿蔔、葉綠素及總酚之含量，將以上分析之抗氧化物質加總後經統計分析比較，結果顯示其含量為北蟲草糙米(79.51 mg/g)、北蟲草紅豆(226.99 mg/g)、北蟲草綠豆(235.80 mg/g)、北蟲草花豆(182.00 mg/g)、北蟲草鷹嘴豆(105.69 mg/g)、北蟲草黑豆(230.48 mg/g)、北蟲草黃豆(267.90 mg/g)。由此結果可知，北蟲草豆類與控制組北蟲草糙米相較下，總抗氧化成分含量會較多；另不同北蟲草豆類中，北蟲草紅豆、綠豆、黑豆和黃豆之抗氧化物質含量經統計分析，無顯著差異並列第一。

綜合第一階段與第二階段之篩選結果，第一階段以北蟲草紅豆之蟲草素含量最高，次之為北蟲草綠豆；第二階段北蟲草紅豆、綠豆、黑豆和黃豆之抗氧化物質含量無顯著差異，故 7 個基質中以紅豆基質為最佳、次之則為綠豆基質。

四、一般成分分析

分析糙米和 6 種豆類基質(紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆及黃豆)，其經北蟲草固態發酵後之蛋白質、脂肪、碳水化合物和粗纖維含量，藉以瞭解基質中養分利用情況。

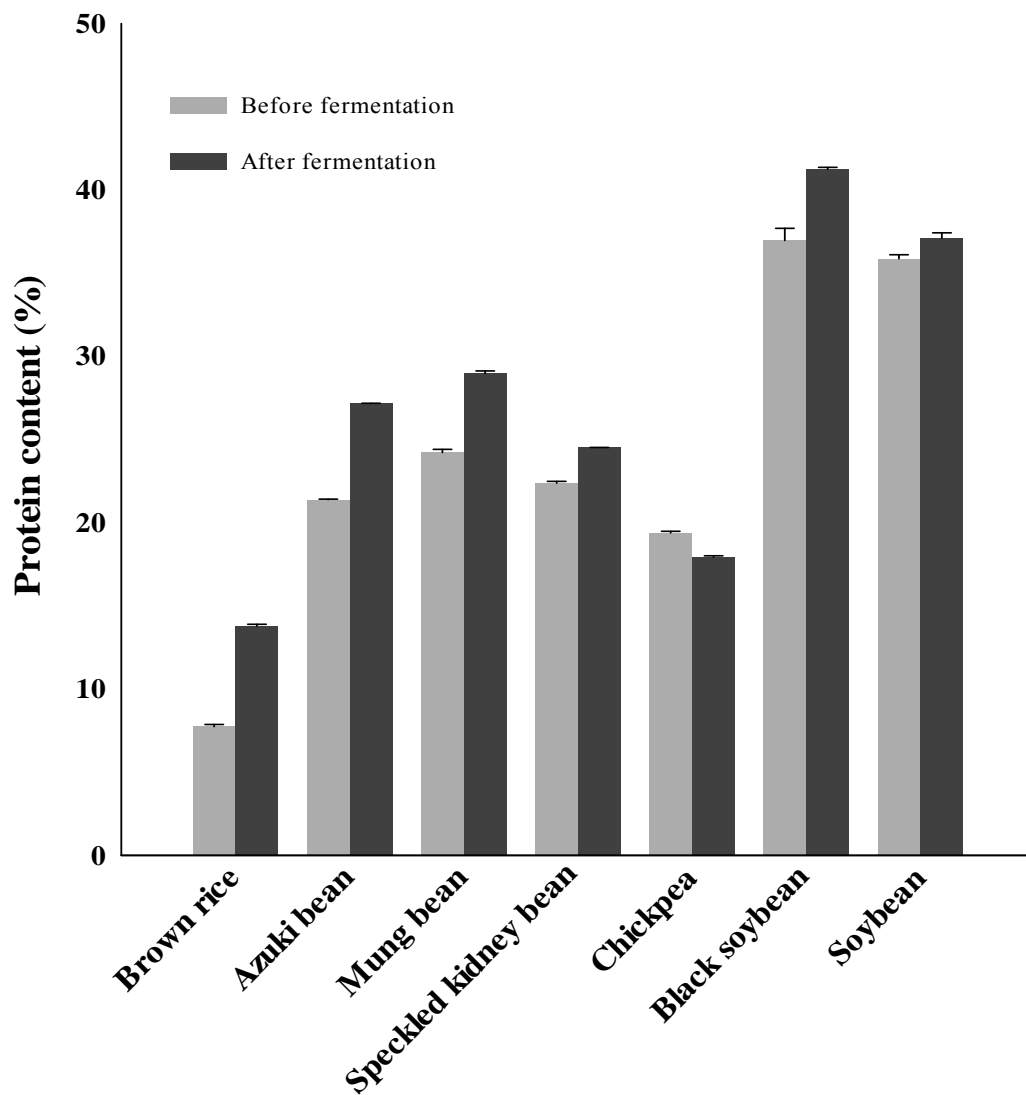
(一) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之蛋白質含量

粗蛋白測定以凱氏氮法(Kjeldahl method)進行，再經氮轉換係數(N conversion factor)計算粗蛋白之含量。

圖十四為糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之蛋白質含量，由圖可知鷹嘴豆經北蟲草固態發酵後，蛋白質含量會降低由 19.38 降至 17.94%；其餘基質經北蟲草發酵後，蛋白質含量皆會上升，糙米由 7.74 增加至 13.77%、紅豆由 21.40 增加至 27.17%、綠豆由 24.21 增加至 28.97%、花豆由 22.39 增加至 24.52%、黑豆由 36.97 增加至 41.24%、黃豆由 35.87 增加至 37.11% (表十一)。

由表十一可知北蟲草豆類產品的蛋白質含量，皆高於控制組北蟲草糙米 (13.77%)，而蛋白質含量依序為北蟲草黑豆(41.24%)、北蟲草黃豆(37.11%)、北蟲草綠豆(28.97%)、北蟲草紅豆(27.17%)、北蟲草花豆(24.52%)、北蟲草鷹嘴豆 (17.94%)。

研究發現糙米經猴頭菇菌種固態發酵培養後，其蛋白質含量會提高，由 8.03 增加至 8.73%(涂，2016)；另研究發現大豆廢棄物經六種不同酵母菌株固態發酵培養後，蛋白質含量會由 20.10 增加至 54.40% (Rashad *et al.*, 2011)；此外，研究指出黃豆渣經酵母菌固態發酵後，蛋白質含量亦會提高，此乃因接種酵母菌後細胞快速生長所致(Santos *et al.*, 2018)。由此可知，本研究北蟲草豆類固態發酵培養後，蛋白質含量增加，應該是因北蟲草菌絲體生長所致。研究指出鷹嘴豆預先浸泡一晚後，經高壓滅菌後冷卻，再接種北蟲草 SN-18 進行固態發酵，其蛋白質含量上升(Xiao *et al.*, 2015a)，然與本研究結果相異，推測主要原因在浸泡之步驟，浸泡有助於體積較大之豆類基質軟化，以利真菌利用生長。



圖十四、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之蛋白質含量

Figure 14. Protein content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Each value is expressed as mean \pm SD (n=3)

表十一、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之蛋白質含量

Table 11. Protein content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

	Protein content (%)	
	Before fermentation	After fermentation
Brown rice	7.74 ± 0.13 ^{G b}	13.77 ± 0.11 ^{G a}
Azuki bean	21.40 ± 0.03 ^{E b}	27.17 ± 0.02 ^{D a}
Mung bean	24.21 ± 0.21 ^{C b}	28.97 ± 0.15 ^{C a}
Speckled kidney bean	22.39 ± 0.10 ^{D b}	24.52 ± 0.00 ^{E a}
Chickpea	19.38 ± 0.09 ^{F a}	17.94 ± 0.07 ^{F b}
Black soybean	36.97 ± 0.73 ^{A b}	41.24 ± 0.13 ^{A a}
Soybean	35.87 ± 0.24 ^{B b}	37.11 ± 0.31 ^{B a}

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

Means with different capital letters within a column are significantly different; means with different small letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

(二) 糙米與豆類經北蟲草固態發酵培養之脂肪含量

脂肪難溶於水，易溶於有機溶劑，如乙醚、氯仿等，故本研究之脂肪萃取溶劑為乙醚，並利用索式萃取法得到產品中粗脂肪含量；而粗脂肪中包含游離脂肪酸、單酸甘油脂、雙酸甘油脂、三酸甘油脂、磷脂類和固醇類等。

圖十五為糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之脂肪含量，由圖可知所有基質糙米、紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆和黃豆經北蟲草固態發酵後，脂肪含量皆會增加，糙米由 1.64 增加至 4.02%、紅豆由 0.45 增加至 0.55%、綠豆由 0.66 增加至 1.12%、花豆由 0.80 增加至 1.15%、鷹嘴豆由 5.40 增加至 7.18%、黑豆由 16.90 增加至 21.15%、黃豆由 18.37 增加至 21.85% (表十二)。

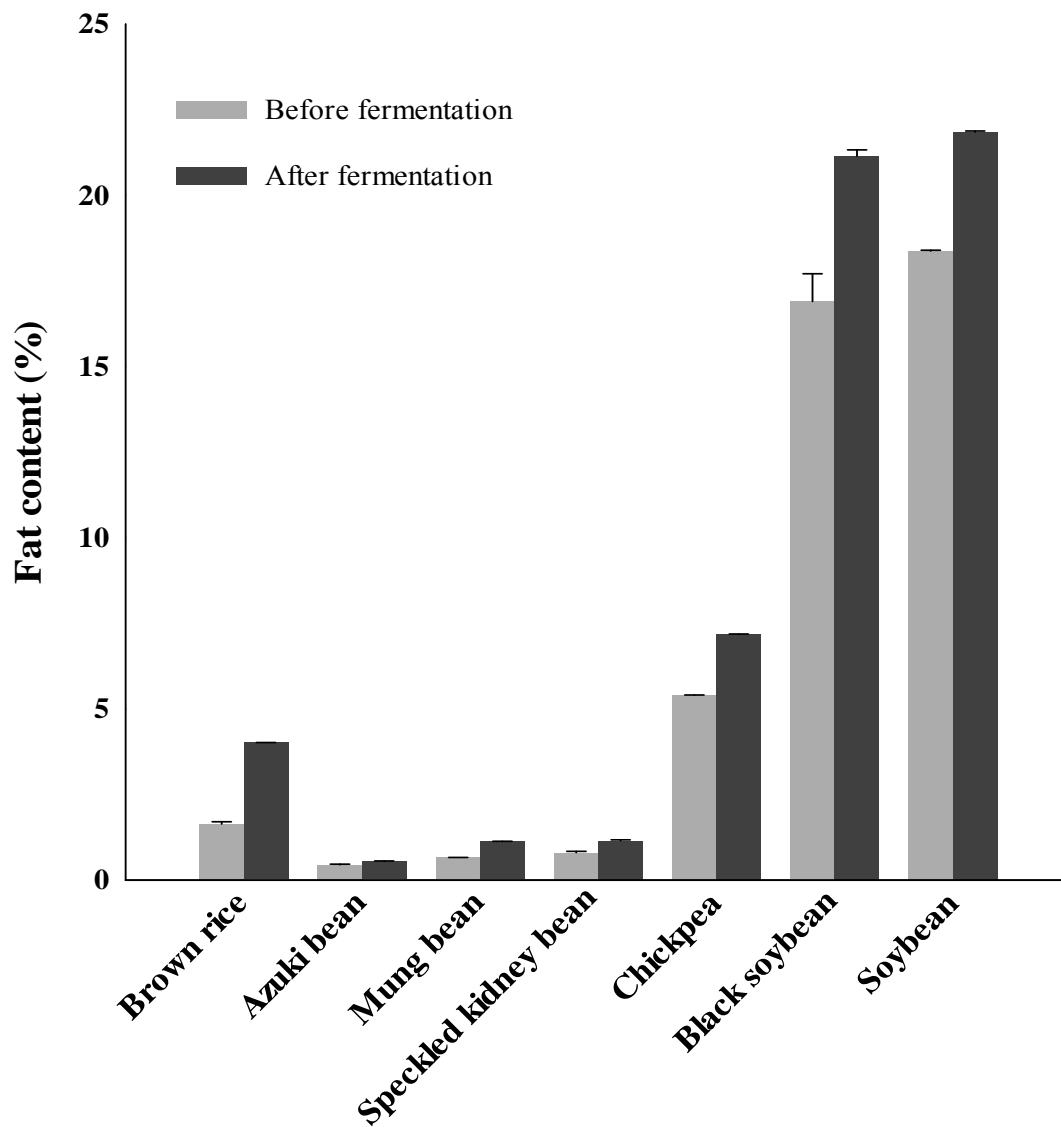
由表十二可知在北蟲草豆類產品脂肪含量，北蟲草紅豆(0.55%)、北蟲草綠豆(1.12%)和北蟲草花豆(1.15%)脂肪含量低於控制組北蟲草糙米(4.02%)；另北蟲草鷹嘴豆(7.18%)、北蟲草黑豆(21.15%)和北蟲草黃豆(21.85%)脂肪含量則高於控制組。在北蟲草豆類產品中，以北蟲草黃豆之脂肪含量最高，次之為北蟲草黑豆，第三則為北蟲草鷹嘴豆。

研究顯示，小米經 *Nilamadana* 菌種固態發酵後，脂肪含量會提升 50%，作者認為是因發酵過程中真菌產生脂肪酸所致(Dwivedi *et al.*, 2015)。另文獻指出，將 192 小時與 96 小時之 *Mortierella alpina* (CBS 528.72) 真菌菌絲體，接種於豆粕進行比較，結果發現年輕菌絲體生成脂肪酸之速度會比老菌絲體快且多(Asadi *et al.*, 2017)。

(三) 糙米與豆類經北蟲草固態發酵培養後之碳水化合物含量

菌主要是利用碳水化合物來幫助生長，利用前菌類會分泌胞外酶將碳水化合物分解成還原糖，以利吸收；此外，雙糖也能直接被運送至菌細胞中，然後經酵素作用降解成單糖(秦等，2004)。

圖十六為糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之碳水化合物含量，由圖可知花豆和鷹嘴豆經北蟲草固態發酵後，碳水化合物含量會提高，分別由 60.6 增加至 61.90%、63.49 增加至 64.09% (表十三)；而糙米、紅豆、綠豆、黑豆和黃豆經北



圖十五、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之脂肪含量

Figure 15. Fat content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Each value is expressed as mean \pm SD (n=3)

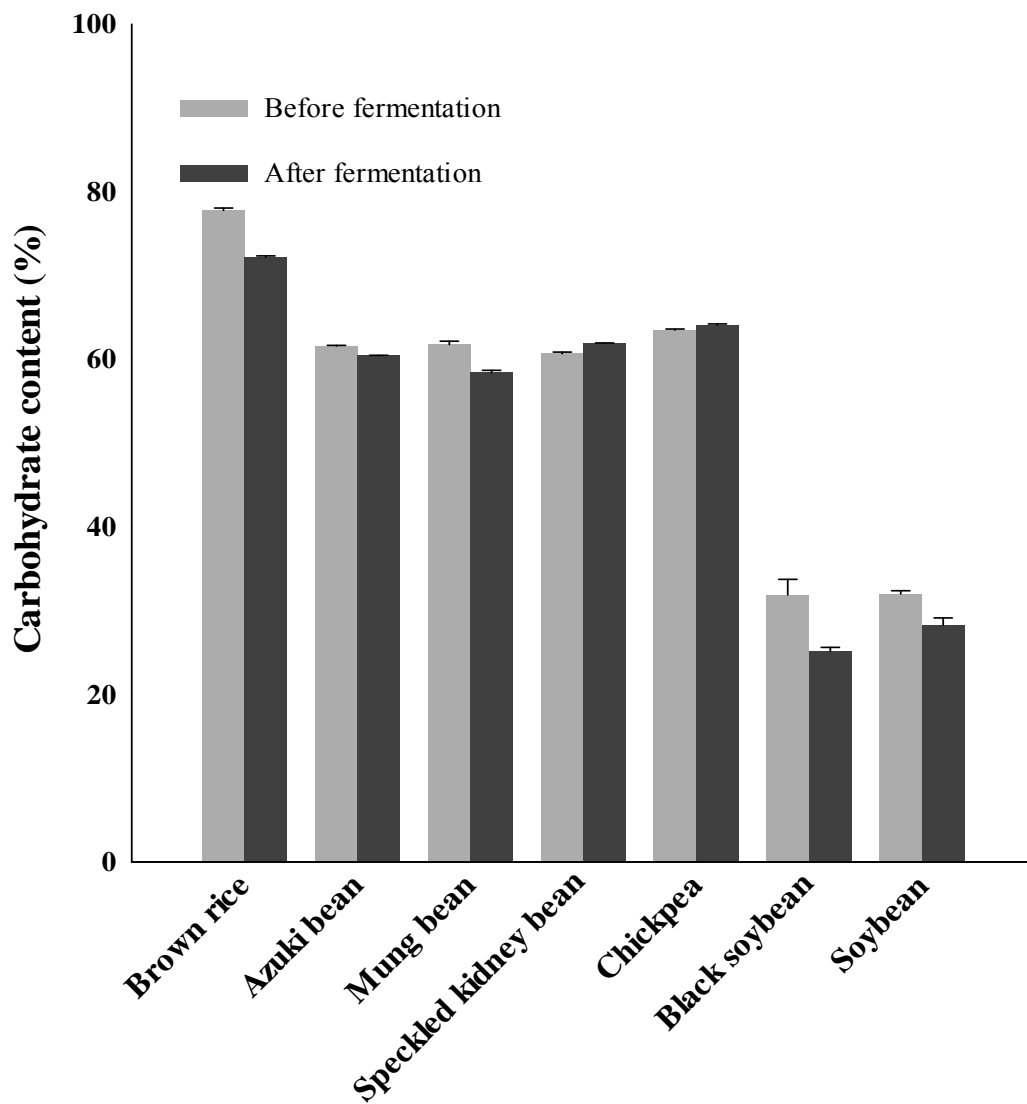
表十二、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之脂肪含量

Table 12. Fat content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

	Fat content (%)	
	Before fermentation	After fermentation
Brown rice	1.64 ± 0.07 ^{D b}	4.02 ± 0.00 ^{D a}
Azuki bean	0.45 ± 0.02 ^{E b}	0.55 ± 0.01 ^{F a}
Mung bean	0.66 ± 0.00 ^{E b}	1.12 ± 0.01 ^{E a}
Speckled kidney bean	0.80 ± 0.04 ^{DE b}	1.15 ± 0.03 ^{E a}
Chickpea	5.40 ± 0.01 ^{C b}	7.18 ± 0.00 ^{C a}
Black soybean	16.90 ± 0.81 ^{B b}	21.15 ± 0.18 ^{B a}
Soybean	18.37 ± 0.03 ^{A b}	21.85 ± 0.03 ^{A a}

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

Means with different capital letters within a column are significantly different; means with different small letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).



圖十六、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之碳水化合物含量

Figure 16. Carbohydrate content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Each value is expressed as mean \pm SD (n=3)

表十三、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之碳水化合物含量

Table 13. Carbohydrate content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

	Carbohydrate content (%)	
	Before fermentation	After fermentation
Brown rice	77.80 ± 0.28 ^{A a}	72.20 ± 0.16 ^{A b}
Azuki bean	61.58 ± 0.12 ^{BC a}	60.45 ± 0.04 ^{D b}
Mung bean	61.77 ± 0.40 ^{BC a}	58.41 ± 0.30 ^{E b}
Speckled kidney bean	60.69 ± 0.19 ^{C b}	61.90 ± 0.07 ^{C a}
Chickpea	63.49 ± 0.14 ^{B b}	64.09 ± 0.16 ^{B a}
Black soybean	31.86 ± 1.86 ^{D a}	25.18 ± 0.44 ^{G b}
Soybean	31.98 ± 0.38 ^{D a}	28.26 ± 0.87 ^{F b}

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

Means with different capital letters within a column are significantly different; means with different small letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

蟲草固態發酵後，總碳水化合物含量呈現下降之趨勢，糙米由 77.80 降至 72.20%、紅豆由 61.58 降至 60.45%、綠豆由 61.77 降至 58.41%、黑豆由 31.86 降至 25.18%、黃豆由 31.98 降至 28.26% (表十三)。

由表十三可知在北蟲草豆類產品之碳水化合物含量皆低於控制組北蟲草糙米(72.20%)，其碳水化合物含量依序為，北蟲草鷹嘴豆(64.09%)、北蟲草花豆(61.90%)、北蟲草紅豆(60.45%)、北蟲草綠豆(58.41%)、北蟲草黃豆(28.26%)和北蟲草黑豆(25.18%)。

研究指出微生物生長時會大量消耗基質可利用之碳源，作為生長繁殖能量和合成菌體細胞所必須之碳成分，常用之碳源如碳水化合物、脂類、有機酸和煙類 (Arotupin, 2007)。另研究發現，米經冬蟲夏草固態發酵培養後，碳水化合物含量會增加 4.21%，含量為 80.61%；另冬蟲夏草菌絲體含量為乾重之 39.40%，作者將此結果歸因於，發酵過程中冬蟲夏草菌絲體的生成(Zhang *et al.*, 2008)。由此可知，碳水化合物的增減主要是基質消耗與菌絲體生長間之轉換。

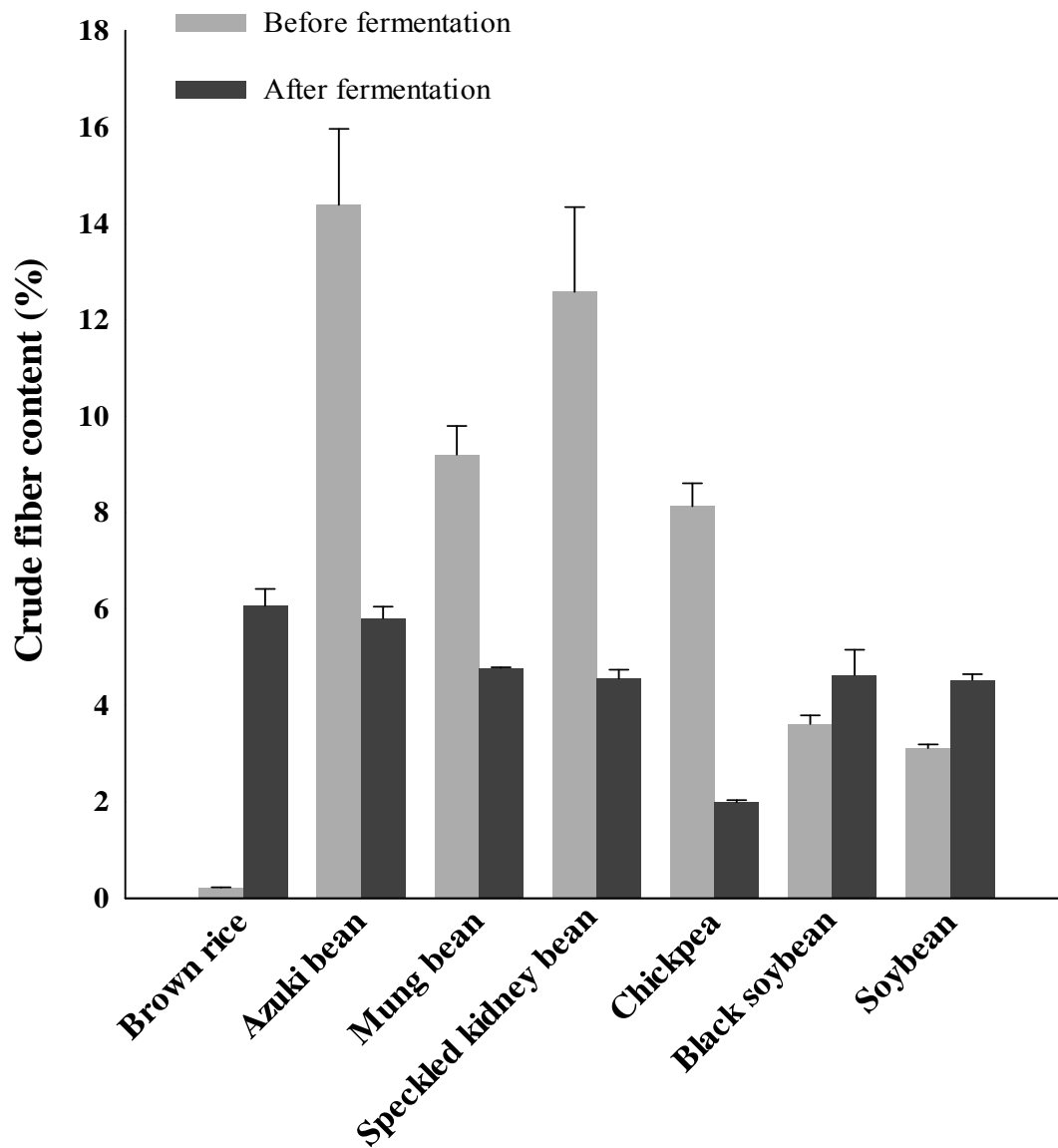
(四) 糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之粗纖維含量

纖維素是腸道代謝廢物最佳的幫手，而粗纖維中含有大量纖維素，不僅能幫助排出固體廢物，亦能防止脂肪吸收(Charles *et al.*, 1978)。

圖十七為糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之粗纖維含量，由圖可知除糙米、黑豆和黃豆經北蟲草固態發酵後，粗纖維含量增加，分別由 0.22 增加至 6.07%、3.61 增加至 4.63%和 3.11 增加至 4.53% (表十四)；而紅豆、綠豆、花豆和鷹嘴豆基發酵後粗纖維含量則減少，分別為 14.39 降至 5.80%、9.20 降至 4.78%、12.58 降至 4.56%和 8.14 降至 1.99% (表十四)。

由表十四可知在北蟲草豆類產品中，北蟲草紅豆粗纖維含量(5.80%)與控制組北蟲草糙米(6.07%)無顯著差異，為 7 種發酵基質中最高，次之為北蟲草綠豆(4.78%)、北蟲草花豆(4.56%)、北蟲草黑豆(4.63%)和北蟲草黃豆(4.53%)並無顯著差異，粗纖維含量最低者為北蟲草鷹嘴豆(1.99%)。

細菌、真菌和某些動物體內都能產生纖維素酶，纖維素酶主要分為三大類，



圖十七、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之粗纖維含量

Figure 17. Crude fiber content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

Each value is expressed as mean \pm SD (n=3)

表十四、糙米和豆類經北蟲草固態發酵培養後之粗纖維含量

Table 14. Crude fiber content of brown rice and beans by solid-state fermentation with *Cordyceps militaris*.

	Crude fiber content (%)	
	Before fermentation	After fermentation
Brown rice	0.22 ± 0.01 ^{D b}	6.07 ± 0.35 ^{A a}
Azuki bean	14.39 ± 1.57 ^{A a}	5.80 ± 0.25 ^{A b}
Mung bean	9.20 ± 0.60 ^{B a}	4.78 ± 0.01 ^{B b}
Speckled kidney bean	12.58 ± 1.76 ^{A a}	4.56 ± 0.18 ^{B b}
Chickpea	8.14 ± 0.47 ^{B a}	1.99 ± 0.04 ^{C b}
Black soybean	3.61 ± 0.18 ^{C b}	4.63 ± 0.52 ^{B a}
Soybean	3.11 ± 0.08 ^{C b}	4.53 ± 0.12 ^{B a}

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

Means with different capital letters within a column are significantly different; means with different small letters within a row are significantly different ($p < 0.05$).

內切行纖維素分解酵素、外切型纖維素分解和 β -葡萄糖苷酵素，可在分解纖維素時產生作用，將聚合之纖維素慢慢地分解成最原始的葡萄糖結構(Bguin *et al.*, 1994)；故可解釋北蟲草紅豆、綠豆、花豆及鷹嘴豆可發現發酵後粗纖維含量下降之情況。另文獻指出，每克北蟲草菌絲體菌，其粗纖維含量為 177.7 mg，表示菌絲體亦具有粗纖維(Huang *et al.*, 2006)；因此北蟲草糙米、黑豆和黃豆發酵後粗纖維含量增加，推測為菌絲體之粗纖維部分。

五、呈味物質分析

菇類中呈味物質主要是非揮發性物質，包括可溶性糖醇、游離胺基酸和 5'-核苷酸，由前面兩階段篩選之結果，挑選出效果較佳之北蟲草紅豆和北蟲草綠豆進行呈味分析。

(一) 北蟲草紅豆與綠豆發酵前後可溶性糖醇組成

食品中可溶性糖醇為產生甜味的主要來源，其中具有呈味特性的為單糖類及糖醇類，其含量會影響食物的滋味及口感；而蕈類(子實體)中以蕈糖及甘露糖醇為菇類主要的可溶性糖醇(Tsai *et al.*, 2008)，另其他可溶性糖如葡萄糖、果糖及蔗糖也具有甜味。

表十五為北蟲草紅豆與綠豆發酵前後可溶性糖醇組成，紅豆總可溶性糖醇含量經北蟲草發酵後會增加；另北蟲草綠豆則與發酵前無顯著差異。特別可觀察到北蟲草紅豆之核糖、葡萄糖、甘露醇和蕈糖含量增加；另北蟲草綠豆之核糖、果糖、甘露醇、麥芽糖和蕈糖含量提升的現象。

根據文獻指出發酵過程蔗糖會被分解為果糖與葡萄糖(Krähmer *et al.*, 2015)；另研究顯示，D-葡萄糖和 D-果糖為重要的代謝產物，作者預測兩個糖在發酵物上呈現正增長之現象，並從其研究結果中得到證實，發酵後之葡萄糖與果糖含量皆提高(Aguilar-Pontes *et al.*, 2018)；此外，研究指出糙米經過猴頭菇固態發酵後，可溶性糖醇總量會增多，由 18.70 增加至 56.05 mg/g(涂, 2016)。更有文獻提及，真菌於菌絲體時期，甘露醇與蕈糖會快速累積，以提供進入子實體階段時，所需

表十五、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後可溶性糖醇組成

Table 15. Soluble sugar alcohol composition of before and after fermentation in azuki and mung bean.

	Soluble sugar alcohol (mg/g dry weight)			
	Azuki bean		Mung bean	
	Before fermentation	After fermentation	Before fermentation	After fermentation
Ribose	1.59 ± 0.16 ^a	1.86 ± 0.19 ^a	2.53 ± 0.23 ^b	6.00 ± 0.23 ^a
Fructose	ND	ND	ND	1.07 ± 0.02
Glucose	ND	10.61 ± 1.48	ND	ND
Mannitol	1.02 ± 0.15 ^a	1.09 ± 0.07 ^a	1.51 ± 0.08 ^b	3.25 ± 0.27 ^a
Sucrose	4.34 ± 0.21	ND	13.58 ± 1.14	ND
Maltose	ND	ND	ND	6.13 ± 0.05
Trehalose	ND	0.50 ± 0.05	ND	0.07 ± 0.06
Total	6.95 ± 0.52 ^b	14.06 ± 1.79 ^a	17.62 ± 1.45 ^a	16.52 ± 0.63 ^a

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

Means with different small letters within a row significantly different before and after fermentation ($p < 0.05$).

之生物轉化能量(Wang *et al.*, 2019)。以上研究結果與本篇結果相同，綜上所述，紅豆經北蟲草固態發酵後，可溶性糖醇含量會增加，提高其呈味特性；綠豆發酵前後之總可溶性糖醇則無顯著差異。

(二) 北蟲草紅豆與綠豆發酵前後游離胺基酸之組成

游離胺基酸為食用葷類中的非揮發性的化合物，有助於增加葷類的味道(Manninen *et al.*, 2018)。人體中之必需胺基酸包括酥胺酸(Threonine)、纈胺酸(Valine)、甲硫胺酸(Methionine)、異白胺酸(Isoleucine)、白胺酸(Leucine)、苯丙胺酸(Phenylalanine)、色胺酸(Tryptophan)、離胺酸(Lysine)及組胺酸(Histidine)，因這類胺基酸人體無法自行合成，故需藉由攝取食物來獲得(Miles *et al.*, 1989)。此外，研究指出攝取食物時，胺基酸可使味覺有滑順之口感，且具柔和尖銳味覺的效果(Yamaguchi *et al.*, 1971)。

表十六為北蟲草紅豆與綠豆發酵前後游離胺基酸之組成，紅豆基質中以麩胺酸(L-Glutamic acid)(101.84 mg/100g)為主要游離胺基酸；發酵後之北蟲草紅豆仍以麩胺酸之含量為最多(193.90 mg/100g)且提升 1.90 倍。綠豆與北蟲草綠豆中主要之游離胺基酸和紅豆一樣，以麩胺酸為主發酵前後分別為 122.61 mg/100g 和 490.38 mg/100g 且發酵後含量提高 4 倍之多。

必需胺基酸之部分可從表十六得知，紅豆和綠豆基質中必需胺基酸含量分別為 63.39 mg/100g 和 79.99 mg/100g；經北蟲草固態發酵後，北蟲草紅豆必需胺基酸含量為 345.31 mg/100g，北蟲草綠豆則為 841.15 mg/100g，由以上結果可知紅豆與綠豆經北蟲草發酵後，其必需胺基酸含量皆能顯著提高。另 GABA 存在人體的小腦皮質、脊髓和視網膜中，是重要的抑制神經訊息傳遞物質，若人體中缺少 GABA 意味著罹患精神方面疾病的機率提高，而本研究中發現紅豆和綠豆基質中 GABA 含量分別為 0.60 mg/100g 和 0.44 mg/100g；經北蟲草固態發酵後，北蟲草紅豆 GABA 含量為 8.06 mg/100g，北蟲草綠豆則為 8.70 mg/100g，由以上結果可知經北蟲草固態發酵後，北蟲草紅豆與北蟲草綠豆 GABA 含量皆顯著增加。

研究發現蟲草米，其主要游離胺基酸亦為麩胺酸(0.91 mg/g)，且總游離胺基

表十六、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後游離胺基酸之組成

Table 16. Free amino acids composition of before and after fermentation in azuki and mung bean.

	Free amino acids content (mg/100 g DW)			
	Azuki bean		Mung bean	
	Before fermentation	After fermentation	Before fermentation	After fermentation
L-Aspartic acid	39.99 ± 4.02	33.98 ± 3.98	60.85 ± 2.55	170.02 ± 10.41
L-Threonine	4.12 ± 0.02	26.14 ± 2.81	6.67 ± 0.60	73.60 ± 4.22
L-Serine	4.64 ± 0.05	42.55 ± 5.01	9.58 ± 0.19	130.59 ± 11.20
L-Glutamic acid	101.84 ± 11.21	193.90 ± 9.27	122.61 ± 8.91	490.38 ± 21.23
L-Glycine	7.50 ± 0.10	11.18 ± 0.81	5.66 ± 0.69	41.25 ± 1.01
L-Alanine	13.23 ± 0.57	97.42 ± 3.02	13.06 ± 2.74	160.49 ± 13.10
L-Valine	8.88 ± 0.77	54.46 ± 1.63	12.94 ± 1.99	129.48 ± 10.22
L-Methionine	1.86 ± 0.06	4.60 ± 0.09	2.77 ± 0.70	13.39 ± 0.08
L-Isoleucine	3.52 ± 0.40	75.32 ± 1.23	6.00 ± 0.99	132.57 ± 12.07
L-Leucine	5.26 ± 0.05	68.66 ± 2.88	8.09 ± 0.46	159.42 ± 8.09
L-Tyrosine	5.40 ± 0.11	33.68 ± 4.02	4.71 ± 0.07	83.82 ± 6.23
L-Phenylalanine	8.88 ± 0.71	46.07 ± 3.07	10.01 ± 1.47	133.27 ± 7.89
GABA	0.60 ± 0.07	8.06 ± 0.06	0.44 ± 0.01	8.70 ± 0.26
L-Tryptophan	13.91 ± 1.23	4.68 ± 0.20	13.91 ± 0.67	20.73 ± 0.86
L-Lysine	9.74 ± 1.44	51.52 ± 1.65	10.35 ± 0.42	139.83 ± 9.77
L-Histidine	7.22 ± 0.96	13.86 ± 2.78	9.25 ± 0.10	38.86 ± 2.74
L-Arginine	74.66 ± 3.56	79.89 ± 3.77	100.85 ± 9.08	121.37 ± 13.02
L(-)-Proline	5.54 ± 0.81	62.58 ± 2.12	10.03 ± 1.12	179.51 ± 9.90
NAA	63.39 ± 5.64 ^b	345.31 ± 16.34 ^a	79.99 ± 7.40 ^b	841.15 ± 55.94 ^a
Tatol	242.13 ± 26.14 ^b	908.55 ± 48.40 ^a	407.78 ± 32.76 ^b	2227.28 ± 142.30 ^a

NAA, essential amino acid

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

Means with different small letters within a row significantly different before and after fermentation ($p < 0.05$).

酸於發酵後增加，由 0.93 增加至 3.92 mg/g(郭，2005)。另蟬花米，其游離胺酸組成亦是以麩胺酸(2.97 mg/g)為主，且總游離胺基酸於發酵後增加，由 1.21 增加至 9.24 mg/g(紀，2014)。此外，糙米經猴頭菇發酵，其主要之游離胺基酸亦為麩胺酸(4.30 mg/g)，且總游離胺基酸於發酵後增加，由 8.47 增加至 24.20 mg/g(涂，2016)。將本研究結果與以上文獻相比，依序為猴頭菇糙米(24.20 mg/g) > 北蟲草綠豆(22.27 mg/g) > 蟬花米(9.24 mg/g) > 北蟲草紅豆(9.09 mg/g) > 蟲草米(3.92 mg/g)。紅豆與綠豆經北蟲草發酵後，總游離胺基酸的含量提升，由此可知北蟲草固態發酵，能提高紅豆與綠豆之呈味特性，藉以提升其價值。

胺基酸可分為苦味如 Met、Ile、Leu、Phe、Lys、His、Arg、Trp、Tyr 和 Val；鮮味(MSG-like)為 Asp 和 Glu；甜味如 Thr、Ser、Gly、Ala 和 Pro；無味則如 Cys 和 Tyr，另 GABA 亦呈無味。

表十七為北蟲草紅豆與綠豆發酵前後游離胺基酸之呈味特性，苦味部分，紅豆與綠豆發酵後苦位皆提升，分別由 139.33 加增至 432.74 mg/100g、178.88 加增至 972.74 mg/100g；鮮味經北蟲草發酵後亦提升，紅豆由 141.83 增加至 227.88 mg/100g、綠豆由 183.46 增加至 660.40 mg/100g；甜味部分經北蟲草固態發酵後亦有提升之情形，紅豆由 35.03 增加至 239.87 mg/100g、綠豆由 45.00 增加至 585.44 mg/100g；無味胺基酸含量於發酵後亦增多，紅豆由 6.00 增加至 41.74 mg/100g、綠豆由 5.15 增加至 92.52 mg/100g。綜上所述，紅豆與綠豆經北蟲草發酵後皆能提高呈味之價值。

(三) 北蟲草紅豆與綠豆發酵前後核苷酸之組成

5'-核苷酸屬於鮮味物質，鮮味強度由強至弱，依序為 5'-GMP、5'-IMP、5'-XMP、5'-AMP (Komata, 1990)；另 5'-GMP 之鮮味強度為 5'-IMP 的 2.3 倍，為呈味上最有貢獻之 5'-核苷酸(陳，1986)。核苷酸與麩胺酸能夠產生加乘作用(Synergistic effect)而產生特殊風味，而成為菇類的鮮味來源(Yamaguchi, 1967)。

表十八為北蟲草紅豆與綠豆發酵前後之呈味核苷酸含量，可知發酵前後皆具有 5'-CMP、5'-XMP、5'-GMP、5'-IMP 和 5'-AMP，且紅豆與綠豆經北蟲草固態

表十七、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後游離胺基酸之呈味特性

Table 17. Taste characteristics of before and after fermentation in azuki and mung bean.

	Taste component content (mg/g DW)			
	Azuki bean		Mung bean	
	Before fermentation	After fermentation	Before fermentation	After fermentation
Bitter	139.33 ± 15.80	432.74 ± 21.32	178.88 ± 17.19	972.74 ± 72.63
MSG-like	141.83 ± 15.23	227.88 ± 13.25	183.46 ± 11.46	660.40 ± 31.64
Sweet	35.03 ± 1.55	239.87 ± 13.77	45.00 ± 5.34	585.44 ± 39.43
Tasteless	6.00 ± 0.18	41.74 ± 4.08	5.15 ± 0.08	92.52 ± 6.49
Total	322.19 ± 32.76 ^b	942.23 ± 52.42 ^a	412.49 ± 34.07 ^b	2311.10 ± 150.19 ^a

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

Means with different small letters within a row significantly different before and after fermentation ($p < 0.05$).

Bitter, Met + Ile + Leu + Phe + Lys + His + Arg + Trp + Tyr + Val.

MSG-like, Asp + Glu.

Sweet, Thr + Ser + Gly + Ala + Pro.

Tasteless, Tyr + GABA.

表十八、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後之呈味核苷酸含量

Table 18. 5'-nucleotide contents of before and after fermentation in azuki and mung bean.

	5'-nucleotides (µg/g DW)			
	Azuki bean		Mung bean	
	Before fermentation	After fermentation	Before fermentation	After fermentation
5'-CMP	27.81 ± 1.38	228.25 ± 19.45	68.99 ± 2.77	55.41 ± 7.83
5'-XMP	73.84 ± 7.07	22.89 ± 0.37	78.12 ± 4.61	53.44 ± 2.33
5'-GMP	7.90 ± 0.25	119.04 ± 3.84	66.87 ± 6.82	63.29 ± 9.73
5'-IMP	12.92 ± 0.42	181.59 ± 26.09	8.21 ± 0.03	167.59 ± 6.73
5'-AMP	31.79 ± 2.71	28.08 ± 3.98	122.87 ± 13.06	71.34 ± 7.86
Flavor 5'-nucleotides	94.66 ± 7.74 ^b	323.52 ± 30.3 ^a	153.20 ± 11.46 ^b	284.32 ± 18.79 ^a
Total	154.26 ± 10.53 ^b	579.85 ± 53.73 ^a	345.06 ± 27.29 ^b	411.07 ± 34.48 ^a

5'-CMP, 5'-cytosine monophosphate

5'-XMP, 5'-xanthosine monophosphate

5'-GMP, 5'-guanosine monophosphate

5'-IMP, 5'-inosine monophosphate

5'-AMP, 5'-adenosine monophosphate

Flavor 5'-nucleotides, 5'-GMP + 5'-IMP + 5'-XMP

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

Means with different small letters within a row significantly different before and after fermentation ($p < 0.05$).

發酵後，總核苷酸之含量提高，紅豆由 154.26 增加至 579.85 $\mu\text{g/g DW}$ 、綠豆由 345.06 增加至 411.07 $\mu\text{g/g DW}$ 。另呈味胺基酸含量亦於發酵後增多，紅豆由 94.66 增加至 323.52 $\mu\text{g/g DW}$ 、綠豆由 153.20 增加至 284.32 $\mu\text{g/g DW}$ 。

核苷酸含量高不代表其對呈味貢獻大，而是根據其鮮味強度，經鮮味胺基酸 (Aspartic acid 及 Glutamic acid) 與鮮味核苷酸 (5'-GMP、5'-IMP、5'-XMP 及 5'-AMP)，產生的加成作用而決定其鮮味強度。Mau (2005) 將等價鮮味分為四級，分別為第一級數值 $> 1000\%$ (意即 > 10 克/克菇類乾重)；第二級數值 100-1000% (意即 1-10 克/克菇類乾重)；第三級數值 10-100% (意即 0.1-1 克/克菇類乾重)；最後第四級為數值 $< 10\%$ (意即 < 0.1 克/克菇類乾重)。

表十九為北蟲草紅豆與綠豆發酵前後之等價鮮味濃度，由表中結果可知，北蟲草固態發酵對紅豆與綠豆基質皆能提升其鮮味特性，發酵後之紅豆與綠豆皆屬於等價鮮味第三級，而基質紅豆與綠豆為等價鮮味第四級。

根據研究顯示，蟲草米等價鮮味濃度為 2.31%，屬第四級(郭，2005)；舞菇小麥等價鮮味濃度為 15.23%，屬第三級(林，2008)；蟬花米等價鮮味濃度為 10.35%，屬第三級(紀，2014)；猴頭菇糙米等價鮮味濃度為 12.08%，屬於第三級(涂，2014)，且同樣利用北蟲草進行發酵，北蟲草紅豆與綠豆之等價鮮味濃度分級比蟲草米高。綜上所述，紅豆與綠豆經北蟲草固態發酵後其等價鮮味濃度提高。

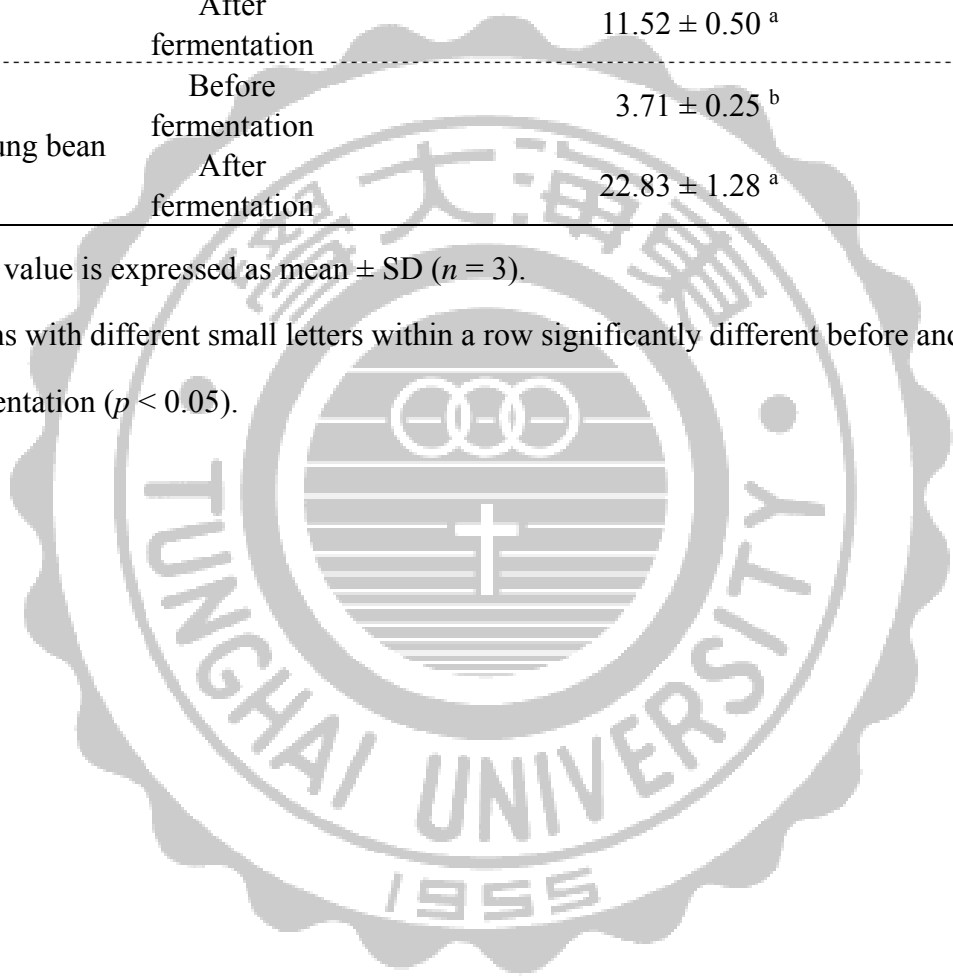
表十九、北蟲草紅豆與綠豆發酵前後之等價鮮味濃度

Table 19. Equivalent umami concentration of before and after fermentation in azuki and mung bean.

		EUC (g/100g DW)
Azuki bean	Before fermentation	1.15 ± 0.15 ^b
	After fermentation	11.52 ± 0.50 ^a
Mung bean	Before fermentation	3.71 ± 0.25 ^b
	After fermentation	22.83 ± 1.28 ^a

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

Means with different small letters within a row significantly different before and after fermentation ($p < 0.05$).



第五章 總結論

本研究主要探討不同北蟲草豆類固態發酵最適水分添加量且進行後續 8 週培養，經兩階段篩選出最佳豆類基質，並瞭解北蟲草豆類之呈味特性及豆類組成成分與生物質量、腺苷、蟲草素之相關性。研究結果得知，豆類之最適水分添加量為 50%，且菌絲體有深入基質之情況，以此結果進行後續北蟲草豆類固態發酵。培養完成之產品進行第一階段之篩選，結果顯示 6 種豆類(紅豆、綠豆、花豆、鷹嘴豆、黑豆和黃豆)及糙米基質中，生物質量部分生長最佳為糙米基質之菌絲體>綠豆>紅豆；腺苷生成量最高前三者為北蟲草糙米>黃豆>鷹嘴豆；蟲草素含量部分北蟲草紅豆生成量為最高>綠豆>糙米，第一階段評估以各基質生成最高蟲草素含量，來挑選不同北蟲草發酵基質之最佳培養天數，分別為北蟲草糙米(42 天)、紅豆(49 天)、綠豆(21 天)、花豆(35 天)、鷹嘴豆(14 天)、黑豆(21 天)、黃豆(14 天)。上述 7 種北蟲草發酵物進行第二階段之篩選，將測定之抗氧化物質經加總統計分析後，第二階段評估之結果，北蟲草紅豆、綠豆、黑豆和黃豆無顯著差異為最佳。綜兩階段篩選，得知紅豆為 7 種基質中最佳，次之為綠豆。

此外，發酵後的北蟲草糙米與豆類，蛋白質含量除北蟲草鷹嘴豆外其他於發酵後提升；脂肪含量發酵後含量皆提高；碳水化合物含量北蟲草花豆及鷹嘴豆含量增多、其他則減少；粗纖維含量北蟲草糙米、黃豆及黑豆含量提高，其他降低。最後，發酵成果最佳之前二產品，北蟲草紅豆與北蟲草綠豆其呈味特性，發酵後之總可溶性糖醇、總游離胺基酸和總核苷酸含量增加，提高呈味價值。

綜上所述 7 種基質中以紅豆做為基質進行北蟲草之固態發酵為最佳，若欲提高豆類之菌絲體生長與蟲草素生成，可選擇豆類基質中碳水化合物及粗纖維含量多者；另紅豆與綠豆經發酵後其呈味特性提升，本研究成果可作為後續開發具保健功效北蟲草相關產品之應用參考。

第六章 參考文獻

- 于忠娜、王軍、黃勝楠、韓榮偉。2017。響應面法優化發酵型紅豆薏米乳酸飲料的工藝。中國乳品工業。45(11): 43-48。
- 王小紅、錢驛、張衛明、趙伯濤。2009。食用菌呈味物質研究進展。中國野生植物資源。28(1):5-8。
- 王麗俠、程須珍、王素華。2009。綠豆種質資源、育種及遺傳研究進展。中國農業科學。42(5): 1519-1527。
- 中國科學院編委會。1995。荷包豆 *Phaseolus coccineus* Linn. [電子版]。中國植物志，14:298。
- 中華人民共和國農業部。2012。中華人民共和國農業行業標準。NY/T 2116-2012，蟲草製品中蟲草素和腺苷的測定高效液相色譜法。
- 丘錦朋。2011。北蟲草栽培鑑定與生物活性之研究。中山醫學大學醫學應用微生物研究所碩士論文。台中，台灣。
- 朱明明、樊明濤、何鴻舉。2017。類胡蘿蔔素降解方式的研究進展。食品科學。38(11): 308-317。
- 朱麗娜、劉艷芳、張紅霞、周帥、張忠、李傳華、高新華、唐慶九。2018。不同來源的蛹蟲草子實體活性成分的比較。菌物學報。37(12): 1695-1706。
- 呂欣怡、李宗貴、黃效旻。2007。蛹蟲草水萃取物之抗氧化、抗發炎與抗血管新生之研究。中山醫學大學營養學研究所碩士論文。台中，台灣。
- 呂昫陞。2009。蛹蟲草之特性與栽培現況。農業試驗所技術服務。78: 10-12。
- 李粉玲、蔡漢權、林澤平。2014。紅豆多醣抗氧化性及還原能力的研究。中國人文社會科學核心期刊。2: 186-190。
- 李蕙蓉、洪美鈴、徐嘉徽。2008。營養通訊《63》。財團法人國泰綜合醫院國泰醫訊。63: 1-4。
- 余明生。2013。血小板功能檢查在臨床中的應用。高雄醫師會誌。21(3): 243-245。
- 林欣儀。2008。以固態發酵製備舞菇小麥及其品質與抗氧化性質。國立中興大學食品暨應用生物科技學系碩士論文。台中，台灣。
- 林俐玲、杜怡德、蔡義誌。2007。應用濁度測定法於土壤微生物 *Pseudomonas fluorescens* 對飽和水力傳導度影響之研究。水土保持學報。39(2): 123-131。
- 周思靜、劉桂君、尚宏忠、楊素玲、孟佑婷、王平、顧海科。2014。蛹蟲草人工培養技術研究進展。江蘇農業科學。42(7): 13-17。
- 周國隆。2005。台灣農家要覽 農作篇(一)。台北，行政院農業委會。
- 范晉嘉。2005。大豆活性成分分析與抗老化之研究。嘉南藥理科技大學生活應用與保健系教師專題著作。台南，台灣。
- 紀彥甫。2014。以固態發酵製備蟬花米及其品質與抗氧化性質。東海大學食品科

- 學系碩士論文。台中，台灣。
- 施邦英。2001。帕金森氏症現況。高醫醫訊月刊。21(4): 5。
- 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。
- 孫南耀。2016。紅豆 ACE 抑制肽的制備及初步純化和螯合特性的研究。南昌大學食品工程(專業學位)碩士論文。江西，中國。
- 涂庭璋。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碩士論文。台中，台灣。
- 秦文、葉勁松、雷激。2004。食用蕈菌生物技術研究進展。食品科學。25(9): 205-208。
- 秦建春、李曉明、張鞍靈、董豔紅、高錦明。2006。蛹蟲草發酵液抗菌活性初步研究。西北植物學報。26(2): 402-406。
- 梁志遠、甘秀海、湯小生、吳英、黃玉。2016。響應面法優化乾花豆總黃酮提取工藝研究。廣西植物。36(9): 1119-1125。
- 郭華、周建平、彭荷花。2004。桂東花豆主要營養成分及理化性質研究。湖南農業大學學報。30(6): 579-582。
- 郭芸禎。2018。以固態發酵製備北蟲草茶葉及其抗氧化與抑菌活性。東海大學食品科學系碩士論文。台中，台灣。
- 郭惠菁。2005。以固態發酵製備蟲草米及其品質與抗氧化性質。國立中興大學食品暨應用生物科技學系碩士論文。台中，台灣。
- 陳美杏、呂昀陞、石信德。2010。新興菇類的栽培與發展。科學發展。446: 8-15。
- 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碩士論文。台中，台灣。
- 陳弘坤。1986。洋菇濃縮物呈味物質特性及粉末化之研究。國立中興大學食品科學系碩士論文。台中，台灣。
- 陳炳輝。2000。類胡蘿蔔素的特性與應用。科學發展月刊。28(8): 599-604。
- 陳懋碩。2019。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。東海大學食品科學系碩士論文。台中，台灣。
- 張小芳、朱海霞、孫俊良。2018。紅豆酸奶加工前處理工藝研究。食品研究與開發。39(1): 65-70。
- 張姚瑤、鄧源喜、董曉雪、丁雨、張秋江、單琴。2017。紅豆營養保健價值及在飲料工業中的應用進展。安徽農學通報。23(12): 153-156。
- 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。
- 廖仁宏。2003。固態培養生產靈芝菌絲體之研究。東海大學化學工程學系碩士論文。台中，台灣。
- 劉春泉、宋江峰、李大婧、金邦荃。2007。蟲草速的提取純化及測定方法研究進展。食品科學。28(11): 596-599。

- 劉桂君、周思靜、楊素玲、孟佑婷、王平、尚宏忠。蛹蟲草中蟲草素的研究發展。食品科學。34(21): 408-413。
- 蔡尚恬、蔡振章。2004。楓葉變紅了—天然色素的顏色化學。科學發展。381: 54-59。
- 薛志成。1997。花豆。廣西農業科學。6: 285。
- Achilleos, C., & Berthier, F. (2017). Evaluation of Qpcr and Plate Counting for Quantifying Thermophilic Starters in Cheese. *Food Microbiology*, 65, 149-159.
- Aguilar-Pontes, M. V., Brandl, J., McDonnell, E., Strasser, K., Nguyen, T. T. M., Riley, R., Mondo, S., Salamov, A., Nybo, J. L., Vesth, T. C., Grigoriev, I. V., Andersen, M. R., Tsang, A., & Vries, R. P. d. (2018). The Gold-Standard Genome of *Aspergillus Niger* Nrrl 3 Enables a Detailed View of the Diversity of Sugar Catabolism in Fungi. *Studies in Mycology*, 91, 61-78.
- Ajlouni, S. O., Beelman, R. B., Thompson, D. B., & Mau, J.-L. (1990). Changes in Soluble Sugars in Various Tissues of Cultivated Mushrooms, *Agaricus Bisporus*. During Postharvest Storage. *Annual Meeting of the Institute of Food Technologist*, 239, 1865-1880.
- AOAC. (2007). Official Methods of Analysis (18th Ed.). Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists.
- Archak, S., Tyagi, R. K., Harer, P. N., Mahase, L. B., Singh, N., Dahiya, O. P., Nizar, M. A., Singh, M., Tilekar, V., Kumar, V., Dutta, M., Singh, N. P., & Bansal, K. C. (2016). Characterization of Chickpea Germplasm Conserved in the Indian National Genebank and Development of a Core Set Using Qualitative and Quantitative Trait Data. *The Crop Journal*, 4(5), 417-424.
- Arotupin, D. J. (2007). Effect of Different Carbon Sources on the Growth and Polygalacturonase Activity of *Aspergillus Flavus* Isolated from Cropped Soils. *Journal of Microbiology*, 2(4), 362-368.
- Asadi, S. Z., Khosravi-Darani, K., Nikoopour, H., & Bakhoda, H. (2017). Production of Arachidonic Acid and Eicosapentaenoic Acid by *Mortierella Alpina* Cbs 528.72 on Date Waste. *Food Technology & Biotechnology*, 56(2), 197-207.
- Badole, S. L., & Bodhankar, S. L. (2013). Chapter 8 - Glycine Max (Soybean) Treatment for Diabetes. In R. R. Watson & V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes*, (pp. 77-82). San Diego: Academic Press.
- Bano, Z., Rajarathnam, S., & Steinkraus, K. H. (1988). *Pleurotus* Mushrooms. Part II. Chemical Composition, Nutritional Value, Post-Harvest Physiology, Preservation, and Role as Human Food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 27(2), 87-158.
- Bar, M., Flowers, M. E. D., Storer, B. E., Chauncey, T. R., Pulsipher, M. A., Thakar, M.

- S., Bethge, W., Storb, R., Maloney, D. G., & Sandmaier, B. M. (2018). Reversal of Low Donor Chimerism after Hematopoietic Cell Transplantation Using Pentostatin and Donor Lymphocyte Infusion: A Prospective Phase Ii Multicenter Trial. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, *24*, 308-313.
- Basheer, R., Strecker, R. E., Thakkar, M. M., & McCarley, R. W. (2004). Adenosine and Sleep–Wake Regulation. *Progress in Neurobiology*, *73*, 379-396.
- Bereczki, D., Liu, M., Prado, F. d., & Fekete, I. (2001). Mannitol for Acute Stroke. *Cochrane Database of Systematic Reviews*(1), 1730-1735.
- Bernstein, P. S., Khachik, F., Carvalho, L. S., Muir, G. J., Zhao, D. Y., & Katz, N. B. (2001). Identification and Quantitation of Carotenoids and Their Metabolites in the Tissues of the Human Eye. *Tissue Distribution of Ocular Carotenoids*, *72*, 215-223.
- Bguin, P., & Aubert, J.-P. (1994). The Biological Degradation of Cellulose. *Federation of European Microbiological Societies*, *13*, 25-58.
- Bhargavan, B., Singh, D., Gautam, A. K., Mishra, J. S., Kumar, A., Goel, A., Dixit, M., Pandey, R., Manickavasagam, L., Dwivedi, S. D., Chakravarti, B., Jain, G. K., Ramachandran, R., Maurya, R., Trivedi, A., Chattopadhyay, N., & Sanyal, S. (2012). Medicarpin, a Legume Phytoalexin, Stimulates Osteoblast Differentiation and Promotes Peak Bone Mass Achievement in Rats: Evidence for Estrogen Receptor B-Mediated Osteogenic Action of Medicarpin. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *23*, 27-38.
- Botella, C., Hernandez, J. E., & Webb, C. (2019). Dry Weight Model, Capacitance and Metabolic Data as Indicators of Fungal Biomass Growth in Solid State Fermentation. *Food and Bioprocess Technology*, *114*, 144-153.
- Cabalín, C., Villalobos-Labra, R., Toledo, F., & Sobrevi, L. (2019). Involvement of A2b Adenosine Receptors as Anti-Inflammatory in Gestational Diabetes. *Molecular Aspects of Medicine*, *66*, 31-39.
- Can, L., Dong, J. Z., Ding, J., Yu, P. Z., Zheng, X. J., & Wang, Y. (2013). Composition and Distribution of the Main Active Components in Selenium-Enriched Fruit Bodies of *Cordyceps Militaris* Link. *Food Chemistry*, *137*, 164-167.
- Carlezon, W. A., Jr., Mague, S. D., Parow, A. M., Stoll, A. L., Cohen, B. M., & Renshaw, P. F. (2005). Antidepressant-Like Effects of Uridine and Omega-3 Fatty Acids Are Potentiated by Combined Treatment in Rats. *Society of Biological Psychiatry*, *57*, 343-350.
- Cha, J.-Y., Ahn, H.-Y., Cho, Y.-S., & Je, J.-Y. (2013). Protective Effect of Cordycepin-Enriched *Cordyceps Militaris* on Alcoholic Hepatotoxicity in Sprague–Dawley Rats. *Food and Chemical Toxicology*, *60*, 52-57.

- Chang, T. S., & Miles, P. G. (1989). *Edible Mushrooms and Their Cultivation*. Boca Raton: CRC Press.
- Chang, Wei, Y., Alli, I., Konishi, Y., & Ziomek, E. (2011). Characterization of Protein Fractions from Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) and Oat (*Avena Sativa* L.) Seeds Using Proteomic Techniques. *Food Research International*, 44, 3094-3104.
- Chao, Zhao, Li, Z., Li, Z., Zhao, Y., Shan, S., Shi, T., & Li, J. (2014). Reconstructed Mung Bean Trypsin Inhibitor Targeting Cell Surface Grp78 Induces Apoptosis and Inhibits Tumor Growth in Colorectal Cancer. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 47, 68-75.
- Charles, H., Gopalakrishna, & Nichols, B. L. (1978). Fiber, Intestinalsterols, and Colon Cancer1. *The American Journal of Clinical Nutrition* 31, 516-526.
- Chen, Y., Liu, L., Luo, Q., Xu, N., Zhou, M., Gao, B., Wang, C., & Shi, Y. (2018). Fermenting Liquid Vinegar with Higher Taste, Flavor and Healthy Value by Using Discarded Cordyceps Militaris Solid Culture Medium. *LWT - Food Science and Technology* 98, 645-660.
- Chiang, S.-S., Liang, Z.-C., Wang, Y.-C., & Liang, C.-H. (2017). Effect of Light-Emitting Diodes on the Production of Cordycepin, Mannitol and Adenosine in Solid-State Fermented Rice by Cordyceps Militaris. *Journal of Food Composition and Analysis*, 60, 51-56.
- Chiu, C.-P., Liu, S.-C., Tang, C.-H., Chan, Y., El-Shazly, M., Lee, C.-L., Du, Y.-C., Wu, T.-Y., Chang, F.-R., & Wu, Y.-C. (2016). Anti-Inflammatory Cerebrosides from Cultivated Cordyceps Militaris. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 1540-1548.
- Cho, H.-J., Cho, J. Y., Rhee, M. H., & Park, H.-J. (2007). Cordycepin (3'-Deoxyadenosine) Inhibits Human Platelet Aggregation in a Cyclic Amp- and Cyclic Gmp-Dependent Manner. *European Journal of Pharmacology*, 558, 43-51.
- Choi, S., Kim, S. Y., Wi, H. R., Ha, T. J., Lee, B. W., & Lee, M. (2015). Inhibitory Effect of Anthocyanin-Rich Black Soybean Testa (*Glycine Max* (L.) Merr.) on the Inflammation-Induced Adipogenesis in a Dio Mouse Model. *Journal of Functional Foods* 4, 623-633.
- Chukwuma, C. I., Matsabisa, M. G., Erukainure, O. L., Ibeji, C. U., & Islam, M. S. (2019). D-Mannitol Modulates Glucose Uptake Ex Vivo; Suppresses Intestinal Glucose Absorption in Normal and Type 2 Diabetic Rats. *Food Bioscience*, 29, 30-36.
- Ciabotti, Silva, Juhasz, Mendonça, Tavano, Mandarino, & Gonçalves. (2016). Chemical Composition, Protein Profile, and Isoflavones Content in Soybean Genotypes

- with Different Seed Coat Colors. *International Food Research Journal*, 23(3), 612-629.
- Daijie, W., Zhao, H., Zhu, H., Yu, J., Lei, W., Li, L., Chen, L., & Geng, Y. (2019). A Novel Method for Highly Efficient Biotransformation and Separation of Isoflavone Aglycones from Soybean with High-Speed Counter-Current Chromatography. *Industrial Crops & Products*, 129, 224-230.
- Dang, H.-N., Wang, C.-L., & Lay, H.-L. (2018). Effect of Nutrition, Vitamin, Grains, and Temperature on the Mycelium Growth and Antioxidant Capacity of *Cordyceps Militaris* (Strains Ag-1 and Psj-1). *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 11, 130-138.
- Denter, J., Rehm, H.-J., & Bisping, B. (1998). Changes in the Contents of Fat-Soluble Vitamins and Provitamins During Tempe Fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 45, 129-134.
- Dong, J., Li, Y., Xiao, H., Luo, D., Zhang, S., Zhu, C., Jiang, M., Cui, M., Lu, L., & Fan, S. (2019). Cordycepin Sensitizes Breast Cancer Cells toward Irradiation through Elevating Ros Production Involving Nrf2. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 364, 12-21.
- Durga, d. M., & Banu.N. (2015). Study of Antioxidant Activity of Chlorophyll from Some Medicinal Plants. *Biotechnology*, 4(2), 1991-2250.
- Dwivedi, M., Vasantha, K. Y., Sreerama, Y. N., Haware, D. J., Singh, R. P., & Sattur, A. P. (2015). Nilamadana, New Fungal Fermented Cereal Based Food. *Journal of Functional Foods* 15, 217-224.
- Esmail, A., & Snafi, A. (2016). The Medical Importance of Cicer Arietinum - a Review. *Journal Of Pharmacy* 6(3), 29-40.
- Fabbri, A. D. T., & Crosby, G. A. (2016). A Review of the Impact of Preparation and Cooking on the Nutritional Quality of Vegetables and Legumes. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 3, 2-11.
- Fehlenberg, V., Baumann, M., Gasparri, N. I., Piquer-Rodriguez, M., Gavier-Pizarro, G., & Kuemmerle, T. (2017). The Role of Soybean Production as an Underlying Driver of Deforestation in the South American Chaco. *Global Environmental Change*, 45, 24-34.
- Foti, M. C. (2007). Antioxidant Properties of Phenols. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59, 1673-1685.
- Gan, R.-Y., Deng, Z.-Q., Yan, A.-X., Shah, N. P., Lui, W.-Y., Chan, C.-L., & Corke, H. (2016). Pigmented Edible Bean Coats as Natural Sources of Polyphenols with Antioxidant and Antibacterial Effects. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 168-177.

- Ganesan, K., & Xu, B. (2018). A Critical Review on Phytochemical Profile and Health Promoting Effects of Mung Bean (*Vigna Radiata*). *Food Science and Human Wellness*, 7, 11-13.
- Gao, M. B., Li, X. T., Li, H. C., Li, C. B., & Douz, D. Q. (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(6), 1093-1106.
- Gikas, P., & Livingston, A. G. (1998). Use of Specific Atp Concentration and Specific Oxygen Uptake Rate to Determine Parameters of a Structured Model of Biomass Growth. *Enzyme and Microbial Technology*, 22(6), 500-510.
- Gomes, C. V., Kaster, M. P., Tomé, A. R., Agostinho, P. M., & Cunh, R. A. (2011). Adenosine Receptors and Brain Diseases: Neuroprotection and Neurodegeneration. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1808, 1380-1399.
- Greene, S., R, H., A, A., NI, D., & A, K. (2005). Collecting Wild Crop Relatives in the Northwestern Steppes of Kazakhstan. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 141, 1-6.
- Hammond, J., & Nichols, R. (1976). Carbohydrate Metabolism in *Agaricus Bisporus* (Lange) Sing. : Changes in Soluble Carbohydrates During Growth of Mycelium and Sporophore *Journal of General Microbiology*, 93, 309-320.
- 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, 703-710.
- Ho, A. D., & Hensel, M. (2006). Pentostatin for the Treatment of Indolent Lymphoproliferative Disorders. *Seminars in Hematology*, 43, 2-10.
- Hou, Y., Li, B., Zhu, M., Bao, H., Nie, J., Zhang, G. Y., Shan, L., Yao, Y., Du, K., Yang, H., Li, M., Zheng, B., Xu, X., Xiao, C., & Du, J. (2016). 3'-Deoxyadenosine (*Cordycepin*) Produces a Rapid and Robust Antidepressant Effect Via Enhancing Prefrontal Ampa Receptor Signaling Pathway. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19(4), 1-11.
- Hsu, P.-Y., Lin, Y.-H., Yeh, E.-L., Lo, H.-C., Hsu, T.-H., & Su, C.-C. (2017). *Cordycepin* and a Preparation from *Cordyceps Militaris* Inhibit Malignant Transformation and Proliferation by Decreasing Egfr and Il-17ra Signaling in a Murine Oral Cancer Model. *Oncotarget*, 8, 93712-93728.
- Huang, jng, S., Tsai, S. y., Mau, J. l., & Lee, Y. l. (2006). Nonvolatile Taste Components of Fruit Bodies and Mycelia of *Cordyceps Militaris*. *Swiss Society of Food Science and Technology*, 39, 577-583.

- Hyejin, P. (2015). Ethanol Extract of Cordyceps Militaris Grown on Germinated Soybeans Inhibits 2, 4-Dinitrophenolfluorobenzene-Induced Allergic Contact Dermatitis. *Journal of Functional Foods*, 17, 938-947.
- Jayachandran, M., & Xu, B. (2019). An Insight into the Health Benefits of Fermented Soy Products. *Food Chemistry*, 271, 362-371.
- Jeong, J.-W., Jin, C.-Y., Park, C., Hong, S. H., Kim, G.-Y., Jeongf, Y. K., Lee, J.-D., Yoo, Y. H., & Choi, Y. H. (2011). Induction of Apoptosis by Cordycepin Via Reactive Oxygen Species Generation in Human Leukemia Cells. *Toxicology in Vitro*, 25, 817-824.
- Jia, L. S., Lin, H. Z., Zhang, J., Wang, L., Xu, N., & Jia, L. (2015). Antihyperlipidemic and Hepatoprotective Activities of Residue Polysaccharide from Cordyceps Militaris Su-12. *Carbohydrate polymers*, 131, 355-362.
- Jian, G., Ze-qin, L., Ping, Z., & Hai-bo, Z. (2011). Lipid-Lowering Effect of Cordycepin (3'-Deoxyadenosine) from Cordyceps Militaris on Hyperlipidemic Hamsters and Rats. *Acta Pharmaceutica Sinica* 46(6), 669-676.
- Jiang, Y., Wong, J. H., Fu, M., Ng, T. B., Liu, Z. K., Wang, C. R., Li, N., Qiao, W. T., Wen, T. Y., & Liu, F. (2011). Isolation of Adenosine, Iso-Sinensetin and Dimethylguanosine with Antioxidant and Hiv-1 Protease Inhibiting Activities from Fruiting Bodies of Cordyceps Militaris. *Phytomedicine*, 18, 189-193.
- Jianping, W., & Ding, X. (2001). Hypotensive and Physiological Effect of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Soy Protein on Spontaneously Hypertensive Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 501-506.
- Jin, Y., Meng, X., Qiu, Z., Su, Y., Yu, P., & Qu, P. (2018). Anti-Tumor and Anti-Metastatic Roles of Cordycepin, One Bioactive Compound of Cordyceps Militaris. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25, 991-995.
- Jing, T., Dong, Y., Meng, Q., Liu, C., Hu, S., Ma, Y., Liu, Y., Lu, J., Cheng, Y., Wang, D., & Teng, L. (2014). Studies on the Antidiabetic Activities of Cordyceps Militaris Extract in Diet-Streptozotocin-Induced Diabetic Sprague-Dawley Rats. *BioMed Research International*, 1, 1-11.
- Juan, M.-Y., & Chou, C.-C. (2010). Enhancement of Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Content of Black Soybeans by Solid State Fermentation with Bacillus Subtilis Brc 14715. *Food Microbiology*, 27, 586-591.
- Jung, K., Kim, I.-H., & Han, D. (2004). Effect of Medicinal Plant Extracts on Forced Swimming Capacity in Mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 75-81.
- Kang, Y. J., Kim, S. K., Kim, M. Y., Lestari, P., Kim, K. H., Ha, B.-K., Jun, T. H., Hwang, W. J., Lee, T., Lee, J., Shim, S., Yoon, M. Y., Jang, Y. E., Han, K. S.,

- Taepayoon, P., Yoon, N., Somta, P., Tanya, P., Kim, K. S., Gwag, J.-G., Moon, J.-K., Lee, Y.-H., Park, B.-S., Bombarely, A., Doyle, J. J., Jackson, S. A., Schafleitner, R., Srinives, P., Varshney, R. K., & Lee, S.-H. (2014). Genome Sequence of Mungbean and Insights into Evolution within Vigna Species. *Nature Communications*, *11*, 1-9.
- Kaya, Y., Turan, H., & Erdem, M. E. (2008). Fatty Acid and Amino Acid Composition of Raw and Hot Smoked Sturgeon (*Huso Huso*, L. 1758). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *59*(7-8), 635-642.
- Kier, L. B. (1972). A Molecular Theory of Sweet Taste. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *61*(9), 1394-1397.
- Kim, K., Lim, K.-M., Kim, C.-W., Shin, H.-J., Seo, D.-B., Lee, S.-J., Noh, J.-Y., Bae, O.-N., Shin, S., & Chung, J.-H. (2011). Black Soybean Extract Can Attenuate Thrombosis through Inhibition of Collagen-Induced Platelet Activation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *22*, 964-970.
- Kitakaze, M., & Hori, M. (2000). Adenosine Therapy: A New Approach to Chronic Heart Failure. *Expert opinion on investigational drugs*, *9*(11), 2519-2535.
- Komata, Y. (1990). Umami Taste of Seafoods. *Food Reviews International*, *6*(4), 457-487.
- Kopparapu, N. k., Liu, X., Li, Y., Deng, Y., & Zheng, X. (2016). Biochemical Characterization of a Novel Fibrinolytic Enzyme from *Cordyceps Militaris*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *94*, 793-801.
- Kosseva, M. R. (2013). Chapter 5 - Recovery of Commodities from Food Wastes Using Solid-State Fermentation. In M. R. Kosseva & C. Webb (Eds.), *Food Industry Wastes*, (pp. 77-102). San Diego: Academic Press.
- Krähmer, A., Engel, A., Kadow, D., Ali, N., Umaharan, P., Kroh, L. W., & Schulz, H. (2015). Fast and Neat – Determination of Biochemical Quality Parameters in Cocoa Using near Infrared Spectroscopy. *Food Chemistry*, *181*, 152-159.
- Kurimoto, Y., Shibayama, Y., Inoue, S., Soga, M., Takikawa, M., Ito, C., Nanba, F., Yoshida, T., Yamashita, Y., Ashida, H., & Tsuda, T. (2013). Black Soybean Seed Coat Extract Ameliorates Hyperglycemia and Insulin Sensitivity Via the Activation of Amp-Activated Protein Kinase in Diabetic Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*, 5558-5564.
- Kwon, H.-W., Shin, J.-H., Lim, D. H., Ok, W. J., Nam, G. S., Kim, M. J., Kwon, H.-K., Noh, J.-H., Lee, J.-Y., Kim, H.-H., Kim, J.-L., & Park, H.-J. (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.

- Lath, S., Knight, E. R., Navarro, D. A., Kookana, R. S., & McLaughlin, M. J. (2019). Sorption of Pfoa onto Different Laboratory Materials: Filter Membranes and Centrifuge Tubes. *Chemosphere*, 222, 671-678.
- Lazutkaite, G., Soldà, A., Lossow, K., Meyerhof, W., & Dale, N. (2017). Amino Acid Sensing in Hypothalamic Tanycytes Via Umami Taste Receptors. *Molecular Metabolism*, 6(11), 1480-1492.
- 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, 162-168.
- Lei, J., Wei, Y., Son, P., Li, Y., Zhang, T., Feng, Q., & Xu, G. (2017). Cordycepin Inhibits Lps-Induced Acute Lung Injury by Inhibiting Inflammation and Oxidative Stress. *European Journal of Pharmacology*, 818, 110-114.
- Li, Zhi-Yi, Huang, W.-F., Renb, Y., Onac, E., Zhou, G.-F., Peng, S., Wang, X.-J., & Li, H.-H. (2014). Led Lights Increase Bioactive Substances at Low Energy Costs in Culturing Fruiting Bodies of *Cordyceps Militaris*. *Scientia Horticulturae*, 175, 139-143.
- Lia, X., Wang, S., Xun, X., Zhang, M., Wang, S., Li, H., Zhao, L., Fu, Q., Wang, H., Li, T., Lian, S., Xing, Q., Li, X., Wu, W., Zhang, L., Hu, X., & Bao, Z. (2019). A Carotenoid Oxygenase Is Responsible for Muscle Coloration in Scallop. *BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864, 966-975.
- Lin, L.-T., Lai, Y.-J., Wu, S.-C., Hsu, W.-H., & Tai, C.-J. (2018). Optimal Conditions for Cordycepin Production Insurface Liquid-Culturedcordyceps Militaristreatedwith Porcine Liver Extracts for Suppression of Oralcancer. *Food and drug analysis*, 26, 135-144.
- Litchfield, J. H. (1967). Morel Mushroom Mycelium as a Food-Flavoring Material. *Biotechnology and Bioengineering*, 9(3), 289-304.
- Liu, J. y., Feng, C. p., Li, X., Chang, M. c., Meng, J. l., & Xu, L. j. (2016). Immunomodulatory and Antioxidative Activity of *Cordyceps Militaris* Polysaccharides in Mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 594-598.
- Maga, J. A. (1981). Mushroom Flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(1), 1-4.
- Manninen, H., Rotola-Pukkila, M., Aisala, H., Hopia, A., & Laaksonen, T. (2018). Free Amino Acids and 5´-Nucleotides in Finnish Forest Mushrooms. *Food Chemistry*, 247, 23-28.
- Mathew, J. J., Vazhacharickal, P. J., NK, S., & Ashokan, A. (2016). Amylase Production by *Aspergillus Niger* through Submerged Fermentation Using Starchy Food

- Byproducts as Substrate *International Journal of Herbal Medicine*, 4(6), 33-40.
- Mau, J. L. (2005). The Umami Taste of Edible and Medicinal Mushrooms *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 7, 119-125.
- Mau, J. L., Chyau, C. C., Li, J. Y., & Tseng, Y. H. (1997). Flavor Compounds in Straw Mushrooms *Volvariella Volvacea* Harvested at Different Stages of Maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4726-4729.
- Mau, J. L., & Tseng, Y. H. (1998). Nonvolatile Taste Components of Three Strains of *Agrocybe Cylindracea*. *American Chemical Society*, 46, 2071-2074.
- Miles, & Chang. (1989). *Edible Mushrooms and Their Cultivation*. Boca Raton: CRC Press.
- Mitchell, D., Luz, L. d. L., Krieger, N., & Berovic, M. (2011). Bioreactors for Solid-State Fermentation. *Comprehensive Biotechnology*, 2, 347-360.
- Moll, F., Cologne, Germany, Halling, T., Krischel, M., Fangerau, H., & Duesseldorf, G. (2016). Urinary Fever: A Forgotten Concept in Urologic and Medical History. *The Journal of Urology*, 195.
- 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*, 13, 1-7.
- Murphy, K. J., Marques-Lopes, I., & Sánchez-Tainta, A. (2018). Chapter 7 - Cereals and Legumes. In A. Sánchez-Villegas & A. Sánchez-Tainta (Eds.), *The Prevention of Cardiovascular Disease through the Mediterranean Diet*, (pp. 111-132): Academic Press.
- Nagashima, Y., Kondo, T., Sakata, M., Koh, J., & Ito, H. (2016). Effects of Soybean Ingestion on Pharmacokinetics of Levodopa and Motor Symptoms of Parkinson's Disease — in Relation to the Effects of Mucuna Pruriens. *Journal of the Neurological Sciences*, 361, 229-234.
- Neves, L., Ribeiro, R., Oliveira, R., & Alves, M. M. (2006). Enhancement of Methane Production from Barley Waste. *Biomass and Bioenergy*, 30, 599-603.
- Newell, S. Y. (1992). *Estimating Fungal Biomass and Productivity in Decomposing Litter*.
- Nguyen, L. H., & Chong, N.-M. (2015). Development of an Atp Measurement Method Suitable for Xenobiotic Treatment Activated Sludge Biomass. *Journal of Chromatography B*, 1000, 69-76.
- Niero, G., Penasa, M., Berard, J., Kreuzer, M., Cassandro, M., & Marchi, M. D. (2018). Technical Note: Development and Validation of an Hplc Method for the Quantification of Tocopherols in Different Types of Commercial Cow Milk.

- Journal of Dairy Science*, 101(8), 6866-6871.
- Nurika, I., Eastwood, D. C., & Barker, G. C. (2018). A Comparison of Ergosterol and Plfa Methods for Monitoring the Growth of Ligninolytic Fungi During Wheat Straw Solid State Cultivation. *Journal of Microbiological Methods*, 148, 49-54.
- Ogasawara, M., Katsumata, T., & Egi, M. (2006). Taste Properties of Maillard-Reaction Products Prepared from 1000 to 5000 Da Peptide. *Food Chemistry* 99, 600-604.
- Ohta, A., & Sitkovsky, M. (2001). Role of G-Protein-Coupled Adenosine Receptors in Downregulation of Inflammation and Protection from Tissue Damage. *Nature*, 414, 916-920.
- Osmolovskiy, A. A., Baranova, N. A., Kreier, V. G., Kurakov, A. V., & Egorov, N. S. (2014). Solidstate and Membranesurface Liquid Cultures of Micromycetes: Specific Features of Their Development and Enzyme Production (a Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(3), 219-227.
- Pan, W. L., & Ng, T. B. (2015). A Dimeric Phaseolus Coccineus Lectin with Anti-Oxidative, Anti-Proliferative and Cytokine-Inducing Activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 76, 960-966.
- Pandey, A. (2003). Solid-State Fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13, 81-84.
- Park, J. H., Park, N. S., Lee, S. M., & Park, E. (2011). Effect of Dongchunghacho Rice on Blood Glucose Level, Lipid Profile, and Antioxidant Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Food Science Biotechnol*, 20(4), 933-940.
- Pasanen, A. L., Pietila, K. Y., Pasanen, P., Kalliokoski, P., & Tarhanen, J. (1999). Ergosterol Content in Various Fungal Species and Biocontaminated Building Materials. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(1), 138-142.
- Peng, H., Zhang, Z., M, H., & Zeng, X. A. (2019). Effect of Inlet Air Drying Temperatures on the Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Whey Protein Isolate-Kale Leaves Chlorophyll (Wpi-Ch) Microcapsules. *Journal of Food Engineering*, 245, 149-156.
- Qi, G., Zhou, Y., Zhang, X., Yua, J., Lia, X., Cao, X., Chongming Wua, n., & Guo, P. (2019). Cordycepin Promotes Browning of White Adipose Tissue through an Amp-Activated Protein Kinase (Ampk)-Dependent Pathway. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 9(1), 135-143.
- Qudah, J. M. E. (2014). Estimation of Carotenoid Contents of Selected Mediterranean Legumes by Hplc. *World Journal of Medical Sciences*, 10(1), 89-93.
- Randhir, R., & Shetty, K. (2007). Mung Beans Processed by Solid-State Bioconversion Improves Phenolic Content and Functionality Relevant for Diabetes and Ulcer

- Management. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 197-204.
- Rashad, M. M., Mahmoud, A. E., Abdou, H. M., & Nooman, M. U. (2011). Improvement of Nutritional Quality and Antioxidant Activities of Yeast Fermented Soybean Curd Residue. *Journal of Biotechnology*, 10(28), 5504-5513.
- Ravandi, F., & Faderl, S. (2006). Complete Response in a Patient with Adult T-Cell Leukemia (AtL) Treated with Combination of Alemtuzumab and Pentostatin. *Leukemia Research*, 30, 103-105.
- Ribeiro, D., Freitas, M., Silva, A. M. S., Carvalho, F., & Fernandes, E. (2018). Antioxidant and Pro-Oxidant Activities of Carotenoids and Their Oxidation Products. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 681-699.
- Ryu, D., & Koh, E. (2018). Application of Response Surface Methodology to Acidified Water Extraction of Black Soybeans for Improving Anthocyanin Content, Total Phenols Content and Antioxidant Activity. *Food Chemistry*, 261, 260-266.
- Sadh, P. K., Saharan, P., Duhan, S., & Duhan, J. S. (2017). Bio-Enrichment of Phenolics and Antioxidant Activity of Combination of *Oryza Sativa* and *Lablab Purpureus* Fermented with *Gras Filamentous Fungi*. *Resource-Efficient Technologies*, 3, 347-352.
- Santos, V. A. Q., Nascimento, C. G., Schmidt, C. A. P., Mantovani, D., Dekker, R. F. H., & Cunha, M. A. A. d. (2018). Solid-State Fermentation of Soybean Okara: Isoflavones Biotransformation, Antioxidant Activity and Enhancement of Nutritional Quality. *LWT - Food Science and Technology*, 92, 509-515.
- Sato, A., Terata, K., Miura, H., Toyama, K., Jr., F. R. L., Hatoum, O. A., Saito, T., Sakuma, I., & Gutterman, D. D. (2005). Mechanism of Vasodilation to Adenosine in Coronary Arterioles from Patients with Heart Disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 288, 1633-1640.
- Sayed, A. A., Abbas, O. A., Saad, M. A., & Marie, M.-A. S. (2018). Cicer Arietinum Extract Ameliorate Γ -Irradiation Disorders Via Modulation of Oxidative/Antioxidative Pathway. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 183, 46-56.
- Schoffeniels, E. (1970). Isosmotic Intracellular Regulation in «*Maja Squinado*» Risso and «*Penaeus Aztecus*» Yves. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, 78(3), 461-466.
- Scotti, C. T., Vergoignan, C., Feron, G., & Durand, A. (2001). Glucosamine Measurement as Indirect Method for Biomass Estimation of *Cunninghamella Elegans* Grown in Solid State Cultivation Conditions. *Biochemical Engineering Journal*, 7, 1-5.

- Sharoni, Y., Hermoni, K. L., Khanin, M., Salman, H., Veprik, A., Danilenko, M., & Levy, J. (2012). Carotenoids and Apocarotenoids in Cellular Signaling Related to Cancer: A Review. *Molecular Nutrition & Food Research*, *56*, 259-269.
- Shawkat, H., Westwood, M.-M., & timer, A. M. (2012). Mannitol: A Review of Its Clinical Uses. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain j* *12*(2), 82-85.
- Shia, W., Houa, T., Guoa, D., & He, H. (2019). Evaluation of Hypolipidemic Peptide (Val-Phe-Val-Arg-Asn) Virtual Screened from Chickpea Peptides by Pharmacophore Model in High-Fat Diet-Induced Obese Rat. *Journal of Functional Foods*, *54*, 136-145.
- Shin, S., Park, Y., Kim, S., Oh, H.-E., Ko, Y.-W., Han, S., Lee, S., Lee, C.-K., Cho, K., & Kim, K. (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.
- Singh, S., Singh, I., Kapoor, K., Gaur, P., Chaturvedi, S., Singh, N. P., & Sandhu, J. S. (2014). Chickpea. In *Horse Gram*, (pp. 51-73). India.
- Słupski, J., & Lisiewska, Z. (2012). Tocopherol Retention and Vitamin E Activity in Frozen and Canned Immature Seeds of Five Cultivars of Common Bean. *Society of Chemical Industry*, *93*, 1326-1330.
- Sáez, G. D., Hébert, E. M., Saavedra, L., & Zárate, G. (2017). Molecular Identification and Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Kidney Beans Flours (*Phaseolus Vulgaris* L. And *P. Coccineus*) in Northwestern Argentina. *Food Research International*, *102*, 605-615.
- Song, Z., Vail, A., Sadowsky, M. J., & Schilling, J. S. (2014). Quantitative Pcr for Measuring Biomass of Decomposer Fungi in Planta. *Fungal ecology*, *7*, 39-46.
- Sornprasert, R., Hambananda, A., & Aroonsrimorakot, S. (2016). Cultivation of Cordyceps Militaris Using Different Cereal Grains and Local Insects and Inhibitory Efficiency against *Trichophyton Rubrum* and *Staphylococcus Aureus*. *The Journal of Kmutnb*, *26*(2), 239-251.
- Su, H., Xu, H., Wang, Y. Y., Wang, L., Liu, C. C., & Cheng, X. (2016). Antibacterial Activities of the Novel Silver Nanoparticles Biosynthesized Using Cordyceps Militaris Extract. *Current Applied Physics*, *16*, 969-973.
- Sun, X., Liu, F., Zhu, Z. Y., Gao, H., & Zhang, Y. M. (2017). The Preparation of Three Selenium-Containing Cordyceps Militaris Polysaccharides: Characterization and Anti-Tumor Activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, *99*, 196-204.
- Sung, G.-H., Spatafora, Hywel-Jones, N. L., Sung, J.-M., Luangsa-ard, J. J., Shrestha,

- B., & W, J. (2007). Phylogenetic Classification of Cordyceps and the Clavicipitaceous Fungi. *Studies in Mycology*, 57, 5-59.
- Tabrizchi, R., & Bedi, S. (2001). Pharmacology of Adenosine Receptors in the Vasculature. *Pharmacology & Therapeutics* 91, 133-147.
- Taga, M. S., Miller, E. E., & Pratt, D. E. (1984). Chia Seeds as a Source of Natural Lipid Antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61, 928-929.
- Tao, Y., & Dong, C. (2014). Photo Morphogenesis and Photo Response of the Blue-Light Receptor Gene Cmwc-1 in Different Strains of Cordyceps Militaris. *Federation of European Microbiological Societies*, 352, 190-197.
- Teng, M., Wang, Y., Song, J., Cai, G., Xu, H., Guo, H., Liu, Y., Wang, D., & Teng, L. (2015). Studies on the Antifatigue Activities of Cordyceps Militaris Fruit Body Extract in Mouse Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 1-15.
- Tosuner, Z. V., Taylan, G. G., & Ozmihc, S. (2018). Effects of Rice Husk Particle Size on Biohydrogen Production under Solid State Fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*.
- Tsai, S.-Y., Tsai, H.-L., & Mau, J.-L. (2008). Non-Volatile Taste Components of Agaricus Blazei, Agrocybe Cylindracea and Boletus Edulis. *Food Chemistry*, 107, 977-983.
- Tseng, Y. H., & Mau, J. L. (1999). Contents of Sugars, Free Amino Acids and Free 5'-Nucleotides in Mushrooms, Agaricus Bisporus, During Post-Harvest Storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1519-1523.
- Ueda, Y., Mori, K., Satoh, S., Dansako, H., Ikeda, M., & Kato, N. (2014). Anti-Hcv Activity of the Chinese Medicinal Fungus Cordyceps Militaris. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 447, 341-345.
- Vo, T., Mai, T., Vu, H., Van, D., Dao, H., Tran, P., Nguyen, N., Nguyen, P., & Nguyen, N. C. (2017). Effect of Osmotic Stress and Nutrient Starvation on the Growth, Carotenoid and Lipid Accumulation in Dunaliella Salina A9. *Science & Education Publishing*, 5, 1-8.
- Wahby, M. M., Mohammed, D. S., Newairy, A. A., Abdou, H. M., & Zaky, A. (2017). Aluminum-Induced Molecular Neurodegeneration: The Protective Role of Genistein and Chickpea Extract. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 57-67.
- Wang, Ying, L., Liang, X., Zhao, J., Wang, Y., & Li, S. (2019). Dynamic Analysis of Nucleosides and Carbohydrates During Developmental Stages of Cordyceps Militaris in Silkworm (Bombyxmori). *Journal of AOAC International* 102(3), 741-747.
- Wei, Y., Lei, J., Song, P., Li, Y., Zhang, T., Feng, Q., & Xu, G. (2018). Cordycepin

- Inhibits Lps-Induced Acute Lung Injury by Inhibiting Inflammation and Oxidative Stress. *European journal of pharmacology*, 818, 110-114.
- Wu, G.-J., Liu, D., Wan, Y.-J., Huang, X.-J., & Nie, S.-P. (2019). Comparison of Hypoglycemic Effects of Polysaccharides from Four Legume Species. *Food Hydrocolloids*, 90, 299-304.
- Xia, Y., Luo, F., Shang, Y., Chen, P., Lu, Y., & Wang, C. (2017). Fungal Cordycepin Biosynthesis Is Coupled with the Production of the Safeguard Molecule Pentostatin. *Cell Chemical Biology*, 24, 1479-1489.
- Xiao, Y., Xing, G., Rui, X., Li, W., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. (2015a). Effect of Solid-State Fermentation with Cordyceps Militaris Sn-18 on Physicochemical and Functional Properties of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Flour. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 1317-1324.
- Xiao, Y., Zhang, Q., Miao, J., Rui, X., Li, T., & Dong, M. (2015b). Antioxidant Activity and DNA Damage Protection of Mung Beans Processed by Solid State Fermentation with Cordyceps Militaris Sn-18. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 31, 216-225.
- Xie, J., Du, M., Shen, M., Wu, T., & Lin, L. (2019). Physico-Chemical Properties, Antioxidant Activities and Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitory of Protein Hydrolysates from Mung Bean (*Vigna Radiate*). *Food Chemistry*, 270, 243-250.
- Xing, G., Xiao, Y., Rui, X., Li, W., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. (2015). Effect of Solid-State Fermentation with Cordyceps Militaris Sn-18 on Physicochemical and Functional Properties of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Flour. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 1317-1324.
- Xiumei, Z., Shen, Y., Prinyawiwatkul, W., King, J. M., & Xu, Z. (2013). Comparison of the Activities of Hydrophilic Anthocyanins and Lipophilic Tocols in Black Rice Bran against Lipid Oxidation. *Food Chemistry*, 141, 111-116.
- Xu, N., Wang, L., Zhang, J., Zhao, H., Lin, L., Jia, S., & Jia, L. (2015). Antihyperlipidemic and Hepatoprotective Activities of Residue Polysaccharide from Cordyceps Militaris Su-12. *Carbohydrate Polymers*, 131, 355-362.
- Xue, Z., Wen, H., Zhai, L., Yu, Y., Li, Y., Yu, W., Cheng, A., Wang, C., & Kou, X. (2015). Antioxidant Activity and Anti-Proliferative Effect of a Bioactive Peptide from Chickpea (*Cicer Arietinum* L.). *Food Research International*, 77, 75-81.
- Yamaguchi, S. (1967). The Synergistic Taste Effect of Monosodium Glutamate and Disodium S-Inosinate. *Jurnal of Food Science*, 32, 473-478.
- Yamaguchi, S., Yoshikawa, T., Ikeoa, S., Tsunehiko, & Ninomiya. (1971). Measurement of the Relative Taste Intensity of Some L-A-Amino Acids and 5'- Nucleotides.

- Journal of Food Science*, 36(6), 846-849.
- Yang, S., Jin, L., Ren, X., Lu, J., & Meng, Q. (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.
- Yao, Y., Xue, P., Zhu, Y., Gao, Y., & Ren, G. (2015). Antioxidant and Immunoregulatory Activity of Polysaccharides from Adzuki Beans (*Vigna Angularis*). *Food Research International*, 77, 251-256.
- Ying, S. Q., Zhu, Z. Y., Wang, X. T., Chen, L. T., & Wang, D. Y. (2019). Effects of Solution Behavior on Polysaccharide Structure and Inhibitory of α -Glucosidase Activity from Cordyceps Militaris. *Journal of Molecular Structure*, 1178, 630-638.
- Yoo, H.-s., Shin, J.-w., Cho, J.-h., Son, C.-g., Lee, Y.-w., Park, S.-y., & Cho, C.-k. (2004). Effects of Cordyceps Militaris Extract on Angiogenesis and Tumor Growth. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25(5), 657-665.
- Yoshida, H., Sugahara, T., & Hayashi, J. (1987). Changes in Carbohydrates and Organic Acids During Development of Mycelia and Fruit-Bodies of Shiitake Mushroom [*Lentinus Edodes* (Berk.) Sing.]. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 34(5), 274-281.
- Zakhariev, T., Ibrishimov, N., & Monov, G. (1980). *Amino Acid Makeup of Beef* (Vol. 17).
- Zhang, Z., Lei, Z., Lu, Y., Lu, Z., & Chen, Y. (2008). Chemical Composition and Bioactivity Changes in Stale Rice after Fermentation with Cordyceps Sinensis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 106(2), 188-193.
- Zhao, R., X., Lin, Q., & Brookes, P. C. (2005). Does Soil Ergosterol Concentration Provide a Reliable Estimate of Soil Fungal Biomass? *Soil Biology & Biochemistry* 37, 311-317.
- Zhao, X., Zhang, X., Liu, H., Zhang, G., & Ao, Q. (2018). Functional, Nutritional and Flavor Characteristic of Soybean Proteins Obtained through Reverse Micelles. *Food Hydrocolloids*, 74, 358-366.
- Zheng, L., Wang, L., Xie, J. h., Huang, Q. h., Huang, Y. f., Qu, C., Chen, J. p., Yi, T. g., Zeng, H. f., & Li, H. l. (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.
- Zhu, Y., Jin, G., Rinzema, A., Wijffels, R. H., Ge, X., & Xu, Y. (2019). Water Dynamics During Solid-State Fermentation by *Aspergillus Oryzae* Yh6. *Bioresource Technology*, 277, 68-76.