

第二章 文獻回顧

2.1 樟芝介紹

2.1.1 樟芝之命名

樟芝又稱牛樟芝、牛樟菇、樟菰等，第一次被發表時因為標本沾染靈芝孢子因而歸屬為靈芝屬，命名為*Ganoderma comphoratum*⁽¹¹⁾。張東柱等人於1995年，針對樟芝子實體外觀、氣味、生長速度及孢子顯微鏡結構等進行研究，重新命名為*Antrodia cinnamomea*。之後此兩種學名被證明代表同一種真菌，因而學名被合併為 *Antrodia camphorata*⁽¹²⁾，而*Antrodia cinnamomea* 被當作是同義名。

2.1.2 樟芝的分類地位

樟芝在分類上屬於真菌界(Fungi)、擔子菌(Basidiomycota)、擔子菌亞門(Basidiomycotina)、同擔子菌綱(Homobasidiomycetes)、無褶菌(Aphullophorales)、多孔菌科(Polyporaceae)、薄孔菌屬(*Antrodia*)⁽²⁾。樟芝子實體散發出微微清香含有高量精油，其子實體具強烈的樟樹香氣，外型為板狀或鐘狀，屬多年生且無柄 (Fig2.1)⁽¹³⁾。



Fig2.1 樟芝子實體 (1)正面 (2)背面

2.1.3 樟芝之抗氧化效用及其生理活性試驗

黃鈴娟指出，樟芝之新鮮子實體含有 68% 水分，其乾物成分中主要含有粗纖維及碳水化合物，但亦含有高量的粗脂質(32~37%)，其菌絲體中主要成分則為碳水化合物及蛋白質(53.46% 和 23.83%)。子實體與菌絲體之甲醇萃取物皆具有強的抗氧化性質，在抗氧化力(共軛雙烯法)、還原力、捕捉 1,1-二苯基-2-苦味甙基團(DPPH·)、超氧陰離子及螯合亞鐵離子之能力亦隨著濃度增加而有上升之趨勢。在天然抗氧化成分方面，樟芝的甲醇萃取物中含有多酚類化合物，但子實體含量顯著高於菌絲體，而其良好的抗氧化性質可能因其含有如多酚類之抗氧化成分所致⁽²⁾。

關於樟芝深層培養之菌絲體及發酵液的抗氧化生理活性試驗的論文有嚴貴榮、劉翠玲對小白鼠實驗發現樟芝發酵液或菌絲體具有降低血糖之效果，且發酵液有降低血脂異常的趨勢與改善肝臟之氧化壓力，故對於改善糖尿病具有正面的保健效果⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾。

此外，郭淑卿發現樟芝發酵液有改善四氯化碳誘發慢性肝炎的效果及抑制dimethylnitrosamine所引起的肝臟纖維化的效果⁽⁸⁾，葉怡真指出樟芝發酵液或樟芝菌絲體的萃取液可以保護血管內皮細胞自由基誘發的氧化傷害及抑制氧化型LDL的形成，進而降低動脈硬化的發生⁽⁹⁾。陳怡欣指出適量的牛樟芝菌絲體發酵過濾對肝臟生理機能性具有正面的影響，可降低肝纖維化及變性程度，增加肝臟與紅血球中GSH含量及增加抗氧化酵素活性，降低肝臟脂質過氧化程度，而有利於體內氧化壓力的下降⁽¹⁰⁾，由以上文獻可得樟芝深層培養所得的發酵液及菌絲體確具有防止肝臟纖維、抗氧化、降血脂等功能。

2.2 脂肪酸添加及碳氮比對液態培養之影響

2.2.1 脂肪酸添加對液態培養之影響

由文獻得知，脂肪酸添加有利靈芝多醣及菌絲體生長，添加油酸可刺激菌絲體生長，添加紅花籽油(safflower seed oil)可增加多醣產量⁽¹⁶⁾。

若以 olive oil 及 sunflower oil 來代替 polypropylene glycol 則可使 *Acremonium persicinum* 之 β -glucan 生成量增加⁽¹⁷⁾。

另外，其又發現單純脂肪酸、Tween 60 或 Tween 80 之添加，比不上植物油添加效果，且前者會使 pH 下降⁽¹⁸⁾。因此油脂類及高分子化合物之添加，有可能刺激菌體生長或使其分泌有效之生理活性物質。

2.2.2 碳氮比對於液態培養之影響

碳氮比(C:N)是深層培養很重要的因素，會影響菌絲生長速率與濃度，以及胞外多醣等產量，碳氮比一般在5:1 到25:1 之間，太高的碳氮比將使菌絲體中脂質含量高，蛋白質含量少⁽¹⁹⁾。分析菌絲體細胞組成，碳氮比約8:1 到12:1 之間。

在深層培養時，菌體發育生長中有50 %的碳源構成菌絲體細胞成份，另外需要50 %的碳源供呼吸所需能量，故需碳氮比16:1 到24:1 之比例⁽²⁰⁾⁽²¹⁾。但如果在出菇為子實體之生殖時期，需要較高之碳氮比，約32:1 到40:1 之間⁽²²⁾。另有文獻指出調整培養基碳氮比與菌體產物轉化率亦有相關⁽²³⁾。

故可知菇類培養之碳氮比對於其菌體生長及有效成分生成皆有影響。

2.3 氧化及抗氧化作用

2.3.1 脂質自氧化反應

脂質置於空氣中時，會氧化變味顯現毒性，氧化過程中會生成性質不安定的氫過氧化物 (hydroperoxide)，因而會再進一步生成複雜之二次生成物，如揮發性的羰基化合物 (volatile carbonyl)、活性氧自由基 (active

oxygenradical) 等，而脂質與氧分子間之自發性反應稱為脂質自氧化作用 (autoxidation of lipid)。脂質氧化會使營養價值流失，也會使得食品風味、色澤及質地劣變，若攝食脂質氧化之食品，則會對生物體健康產生不良之影響^{(24) (25)}。近年來，有許多研究指出，由油脂氧化所生成之自由基，不僅會攻擊細胞膜、細胞組成及危害細胞核內基因物質，且與人體的老化、致癌性及心血管疾病有密切之關連性。

脂質自氧化反應是由於不飽和脂肪酸或含有不飽和脂肪酸之油脂因輻射作用、助氧化劑或酵素之存在，以促使與氧分子結合後，依序進行一序列化學反應而造成食品之劣變⁽²⁶⁾。

脂質自氧化反應是一種自由基連鎖反應，整個反應機構可分為三個階段⁽²⁷⁾：

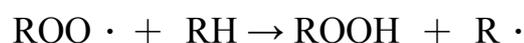
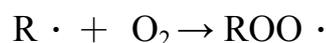
(1) 起始期 (initiation stage)

不飽和雙鍵上的碳氫化合物受到其他具化學活性物質 (如自由基) 的作用，以移除氫原子而形成一自由基，此步驟通常較慢，是此類反應的決定步驟：



(2) 連鎖生長期 (propagation stage)：

此階段的反應含一系列過氧化基及新的自由基生成：



(3) 終止期 (termination stage)：

在此反應階段，兩個自由基相互作用產生非游離基的產物而導致反應終止：





2.3.2 抗氧化劑

目前一般常使用之人工合成抗氧化劑有丁基羥基甲氧苯(butylated hydroxyanisole, BHA)、二丁基羥基甲苯(butylated hydroxy toluene, BHT)、梲酸丙酯(propyl gallate, PG)及第三丁基對氫羥(tertiary butyl hydroquinone, TBHQ)四種,如Fig.2-2⁽²⁸⁾。由於此類之抗氧化劑價格便宜且效果佳,因此被廣用於食品添加中。但近年來許多研究指出,添加於食品之人工合成抗氧化劑對人體造成不良之影響,如:導致肝臟的病變及致癌性等等。因此尋找出天然之抗氧化劑為重要課題之一。一般而言,天然之抗氧化劑可從植物、動物及微生物三大類去取得。而目前已知較具抗氧化性之天然抗氧化成分,有下列幾類:類黃酮(flavonoids)、維生素(vitamins)、類胡蘿蔔素(carotenoids)、抗壞血酸(ascorbic acid)、苯酚化合物(phenolic derivatives)、多醣類化合物(polysaccharides)、胺基酸(amino acid)及微量元素(minerals)等。近來也發現食藥用菇具有自由基清除能力;並有研究提出食藥用菇可為提供抗氧化物之來源,因此食藥用菇之抗氧化性質值得加以探討。

抗氧化劑依其作用機制可分為自由基連鎖反應終止劑(free radical inhibitor)、氧清除劑(oxygen scavenger)、脂質加氧酵素抑制劑(lipoxygenase inhibitor)及金屬螯合劑(metal chelator)。一般所謂的一級抗氧化劑是指能將高能的自由基或脂質自由基轉換成熱力學上較為穩定產物的抗氧化劑,如與自由電子反應。二級抗氧化劑所指的是能利用其他達到減緩脂質氧化開始反應速率的抗氧化劑。Fig.2-3 中代表當人體產生病變時, $\text{O}_2^- \cdot$ 與紅血球中之Ferritin- Fe^{3+} 作用,轉變為 O_2 、Ferritin和 Fe^{2+} 。 Fe^{2+} 會引發細胞膜中之

磷酯脂(phospholipid)發生一連串的氧化反應，最後導致細胞的傷害與死亡。
 所幸存在於人體內的抗氧化劑與保護酵素可延緩氧化反應的進行⁽²⁹⁾。

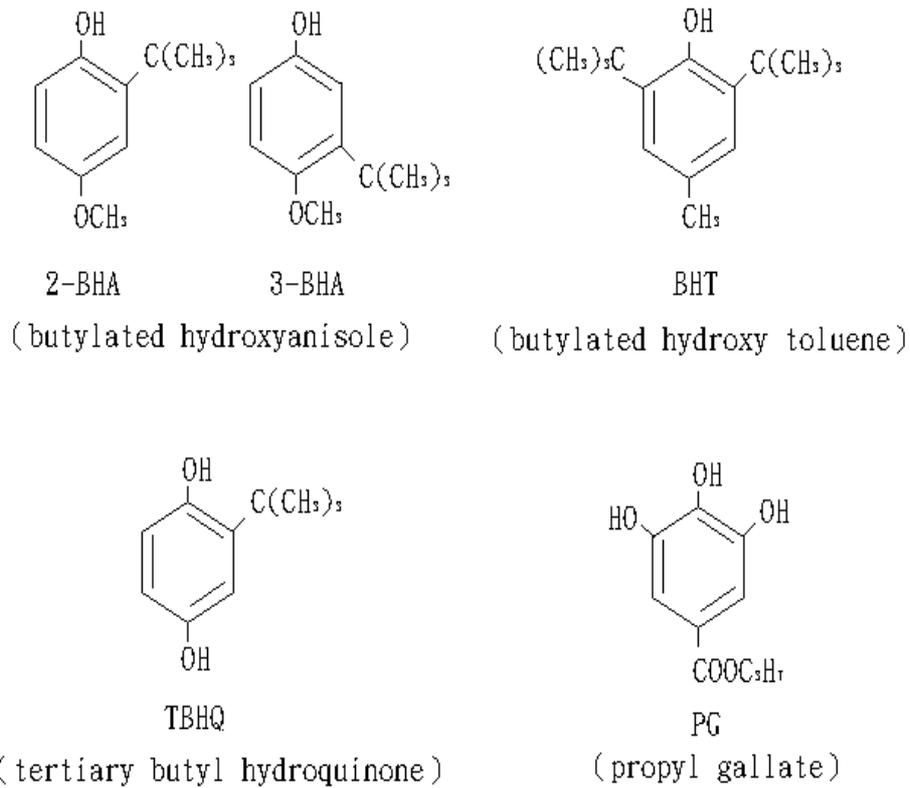


Fig.2-2 常用之人工合成抗氧化劑⁽²⁸⁾

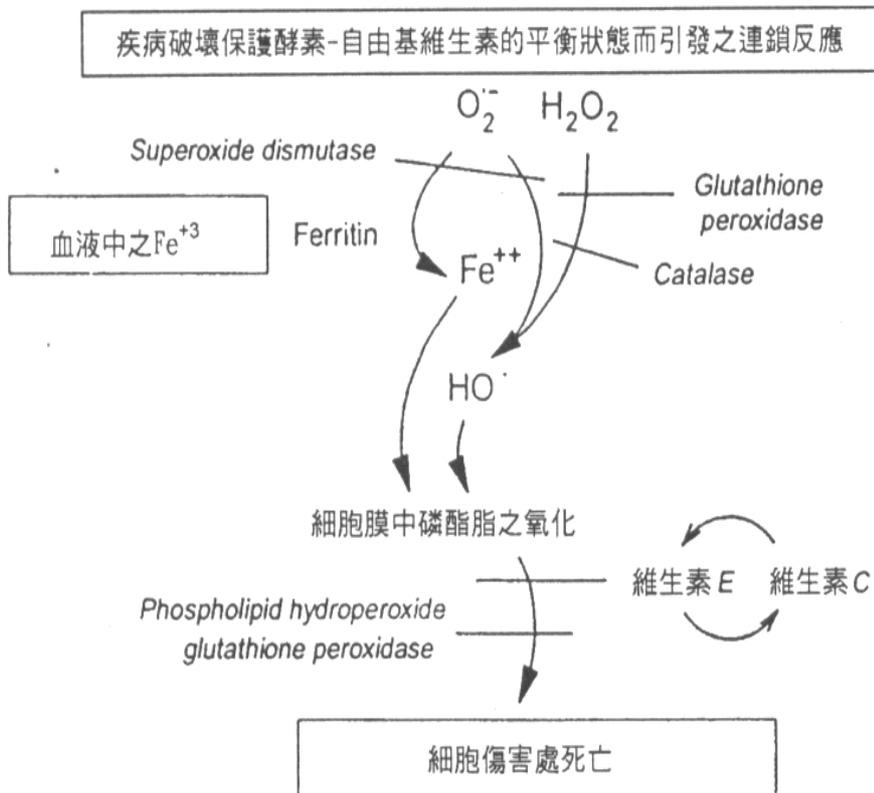


Fig.2-3 人體內之自由基與氧化反應與疾病生成之關係⁽²⁹⁾

2.4 多酚類化合物

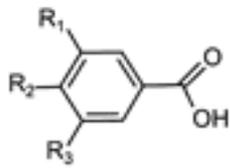
2.4.1 多酚類之化學結構

簡單的說，多酚類化合物的結構包含兩個部分：一個是苯環，另一個是苯環上的羥基，經過縮合及加成聚合而成的衍生物。多酚類為植物二次代謝的產物，主要以結合形式存在於植物中，會和一個以上的糖基結合 (glycosylation)。

多酚類幾乎存在所有的植物中，其分布範圍很廣且種類也非常多，目前已有8000種以上的酚類化合物結構被發現。當然植物性食品中也常含有多酚類，不同的食物種類及含量不同。Fig2.4及Fig2.5為常見多酚類化合物

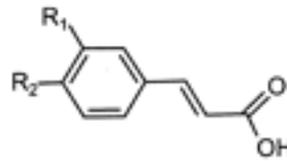
之結構，Table2.1為食物中多酚之種類⁽²¹⁾。

Hydroxybenzoic acids



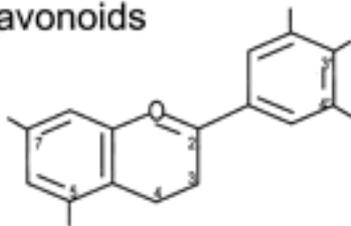
$R_1 = R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$: Protocatechuic acid
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Gallic acid

Hydroxycinnamic acids

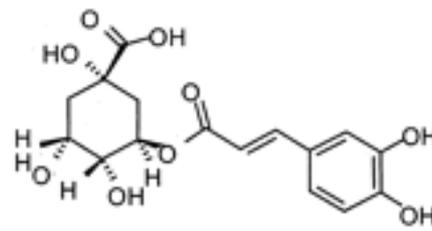


$R_1 = \text{OH}$: Coumaric acid
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Caffeic acid
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}$: Ferulic acid

Flavonoids

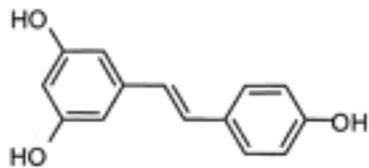


See Figure 2



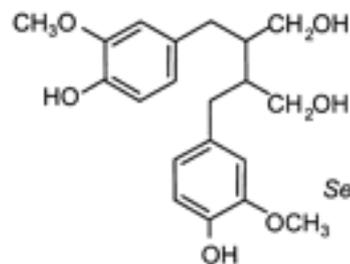
Chlorogenic acid

Stilbenes



Resveratrol

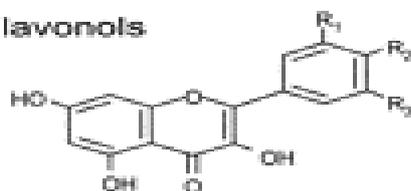
Lignans



Secoisolariciresinol

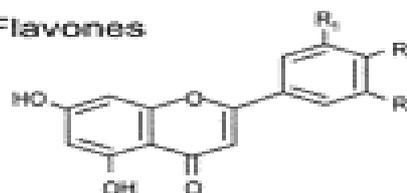
Fig2.4 Chemical structures of polyphenols⁽³⁰⁾

Flavonols



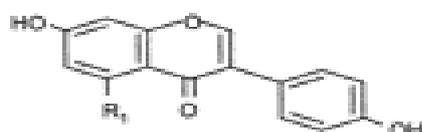
$R_2 = \text{OH}; R_1 = R_3 = \text{H}$: Kaempferol
 $R_1 = R_2 = \text{OH}; R_3 = \text{H}$: Quercetin
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Myricetin

Flavones



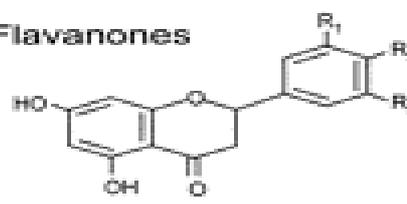
$R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OH}$: Apigenin
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Luteolin

Isoflavones



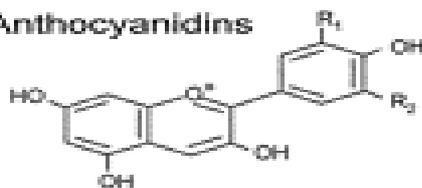
$R_1 = \text{H}$: Daidzein
 $R_1 = \text{OH}$: Genistein

Flavanones



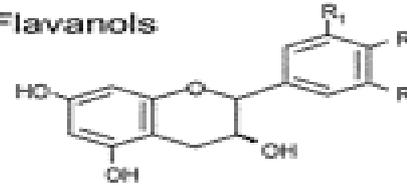
$R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OH}$: Naringenin
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Eriodictyol
 $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{OCH}_3$: Hesperetin

Anthocyanidins

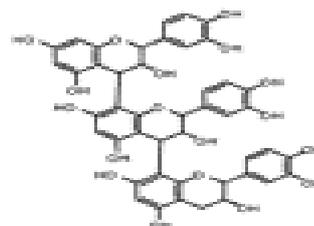


$R_1 = R_2 = \text{H}$: Pelargonidin
 $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}$: Cyanidin
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Delphinidin
 $R_1 = \text{OCH}_3; R_2 = \text{OH}$: Petunidin
 $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$: Malvidin

Flavanols



$R_1 = R_2 = \text{OH}; R_3 = \text{H}$: Catechins
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Gallicocatechin



Trimeric procyanidin

Fig2.5 Chemical structures of polyphenols ⁽³⁰⁾

Table 2.1 Polyphenols in foods ⁽³⁰⁾

Polyphenols in foods

	Source (serving size)	Polyphenol content		
		By wt or vol	By serving	
		<i>mg/kg fresh wt (or mg/L)</i>	<i>mg/serving</i>	
Hydroxybenzoic acids (2, 6) Protocatechuic acid Gallic acid <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid Hydroxycinnamic acids (2, 5–7) Caffeic acid Chlorogenic acid Coumaric acid Ferulic acid Sinapic acid	Blackberry (100 g)	80–270	8–27	
	Raspberry (100 g)	60–100	6–10	
	Black currant (100 g)	40–130	4–13	
	Strawberry (200 g)	20–90	4–18	
	Blueberry (100 g)	2000–2200	200–220	
	Kiwi (100 g)	600–1000	60–100	
	Cherry (200 g)	180–1150	36–230	
	Plum (200 g)	140–1150	28–230	
	Aubergine (200 g)	600–660	120–132	
	Apple (200 g)	50–600	10–120	
	Pear (200 g)	15–600	3–120	
	Chicory (200 g)	200–500	40–100	
	Artichoke (100 g)	450	45	
	Potato (200 g)	100–190	20–38	
	Corn flour (75 g)	310	23	
	Flour: wheat, rice, oat (75 g)	70–90	5–7	
	Cider (200 mL)	10–500	2–100	
	Coffee (200 mL)	350–1750	70–350	
	Anthocyanins (8–10) Cyanidin Pelargonidin Peonidin Delphinidin Malvidin	Aubergine (200 g)	7500	1500
		Blackberry (100 g)	1000–4000	100–400
Black currant (100 g)		1300–4000	130–400	
Blueberry (100 g)		250–5000	25–500	
Black grape (200 g)		300–7500	60–1500	
Cherry (200 g)		350–4500	70–900	
Rhubarb (100 g)		2000	200	
Strawberry (200 g)		150–750	30–150	
Red wine (100 mL)		200–350	20–35	
Plum (200 g)		20–250	4–50	
Red cabbage (200 g)		250	50	
Yellow onion (100 g)		350–1200	35–120	
Flavonols (11–18) Quercetin Kaempferol Myricetin		Curly kale (200 g)	300–600	60–120
	Leek (200 g)	30–225	6–45	
	Cherry tomato (200 g)	15–200	3–40	
	Broccoli (200 g)	40–100	8–20	
	Blueberry (100 g)	30–160	3–16	
	Black currant (100 g)	30–70	3–7	
	Apricot (200 g)	25–50	5–10	
	Apple (200 g)	20–40	4–8	
	Beans, green or white (200 g)	10–50	2–10	
	Black grape (200 g)	15–40	3–8	
	Tomato (200 g)	2–15	0.4–3.0	
	Black tea infusion (200 mL)	30–45	6–9	
	Green tea infusion (200 mL)	20–35	4–7	
	Red wine (100 mL)	2–30	0.2–3	
	Parsley (5 g)	240–1850	1.2–9.2	
	Celery (200 g)	20–140	4–28	
	Flavones (11–12, 14, 18) Apigenin Luteolin	Capsicum pepper (100 g)	5–10	0.5–1
Flavanones (19–21) Hesperetin Naringenin Eriodictyol		Orange juice (200 mL)	215–685	40–140
		Grapefruit juice (200 mL)	100–650	20–130
		Lemon juice (200 mL)	50–300	10–60
Isoflavones (22–25) Daidzein Genistein Glycitein	Soy flour (75 g)	800–1800	60–135	
	Soybeans, boiled (200 g)	200–900	40–180	
	Miso (100 g)	250–900	25–90	
	Tofu (100 g)	80–700	8–70	
	Tempeh (100 g)	430–530	43–53	
Monomeric flavanols (6, 17, 26, 27) Catechin Epicatechin	Soy milk (200 mL)	30–175	6–35	
	Chocolate (50 g)	460–610	23–30	
	Beans (200 g)	350–550	70–110	
	Apricot (200 g)	100–250	20–50	
	Cherry (200 g)	50–220	10–44	
	Grape (200 g)	30–175	6–35	
	Peach (200 g)	50–140	10–28	
	Blackberry (100 g)	130	13	
	Apple (200 g)	20–120	4–24	
	Green tea (200 mL)	100–800	20–160	
	Black tea (200 mL)	60–500	12–100	
	Red wine (100 mL)	80–300	8–30	
	Cider (200 mL)	40	8	

在酚類化合物中，以類黃酮化合物及花青素佔絕大部份。許多研究皆發現，類黃酮化合物及花青素具有抗氧化的生理特性。

1. 類黃酮化合物

類黃酮為植物的二級代謝產物，其主要化學結構為2-phenyl-benzo- α -pyropanes，是一種diphenylpropane 的骨架⁽³¹⁾，在其雜環上因不同取代基之存在而衍生出約4000 種不同的結構，其種類與含量則隨植物之不同而有差異。類黃酮在溶液中具有清除自由基的能力，能與超氧陰離子、氫氧自由基、脂質過氧化物自由基作用，並具有再生維生素E 的能力⁽³²⁾。

2. 花青素

花青素屬於植物的天然色素，廣泛存在於花卉、水果及蔬菜中。花青素須與醣類形成醣甘才具有抗氧化活性。最常見的花青素是在位置3 或3, 5 之位置發生醣甘(glycosylated) 鍵結⁽³³⁾。花青素萃取液可用來治療微血管疾病以及維持正常的血管滲透性⁽³⁴⁾。

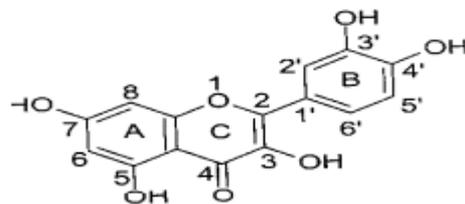
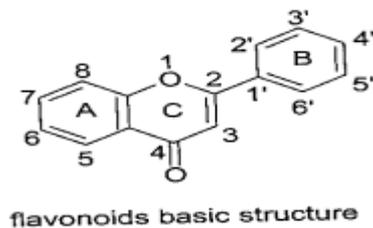
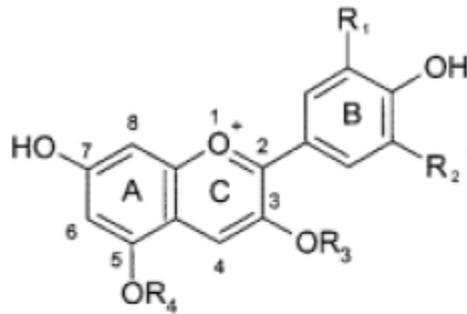


Fig 2.6 類黃酮的基本結構⁽³²⁾



	R ₁	R ₂	OR ₃	OR ₄
Delphinidin	OH	OH	H	H
Cyanidin	OH	H	H	H
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃	H	H
Malvin	OCH ₃	OCH ₃	Glucose	Glucose
Pelargonin	H	H	Glucose	Glucose

Fig 2.7 各種花青素的結構⁽³³⁾

2.4.2 多酚類之分析方法

目前在研究上大多以測量總多酚類化合物的含量來呈現。根據Folin - Ciocalteu的方法，於鹼性環境下，與可氧化受質 (oxidizable substrates) 作用，在一定時間及溫度下，會產生顏色變化，再以分光光度計測定樣品在 730nm 下的吸光值，並以 gallic acid 為標準液，最後以 gallic acid equivalent (GAE) 表示總多酚類含量⁽²⁾⁽³³⁾⁽³⁴⁾。

2.4.3 多酚類之功用

多酚類廣泛地存在於各種植物體中，例如：蔬菜、水果、茶葉或豆類等，常與植物的味道 (澀味)、型態表現 (形成色素)、發芽等生理反應有關。在植物體外，多酚類具有捕捉自由基的能力，有助於保護體內組織對抗氧化壓力⁽³⁵⁾。