

## 第四章 結果與討論

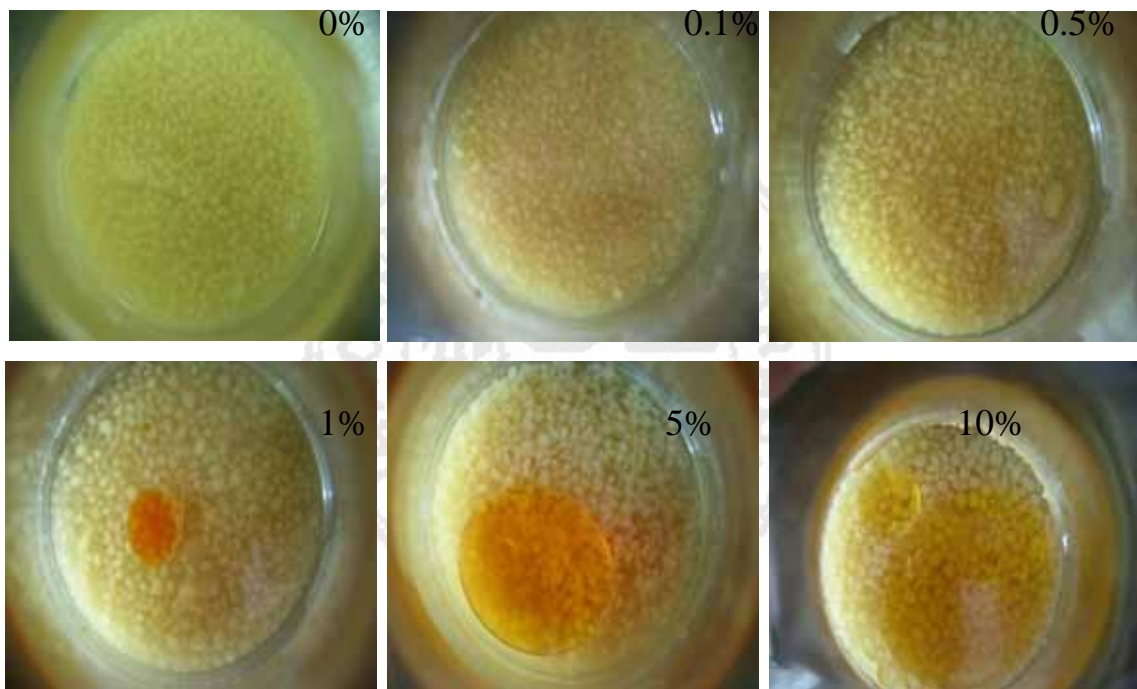
### 4.1 不同添加物對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

植物及其加工品大多含有酚類化合物，據文獻指出酚類化合物因為能夠提供氫，故其抗氧化能力與掃除DPPH活性具有相關性<sup>(2)</sup>。

故希望藉由添加不同脂肪酸刺激樟芝菌絲生產酚類化合物，提升其產物之抗氧化能力。

#### 4.1.1 添加橄欖油對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

添加橄欖油對樟芝菌絲體有刺激生長的效果，其中以添加橄欖油 5% 菌絲乾重最高達 1.33g/100ml，Final pH 值隨菌絲生長量增加而下降(Fig 4.2)，菌絲體顏色偏黃，而添加 1%、5% 之橄欖油轉為紅色(Fig 4.1)。



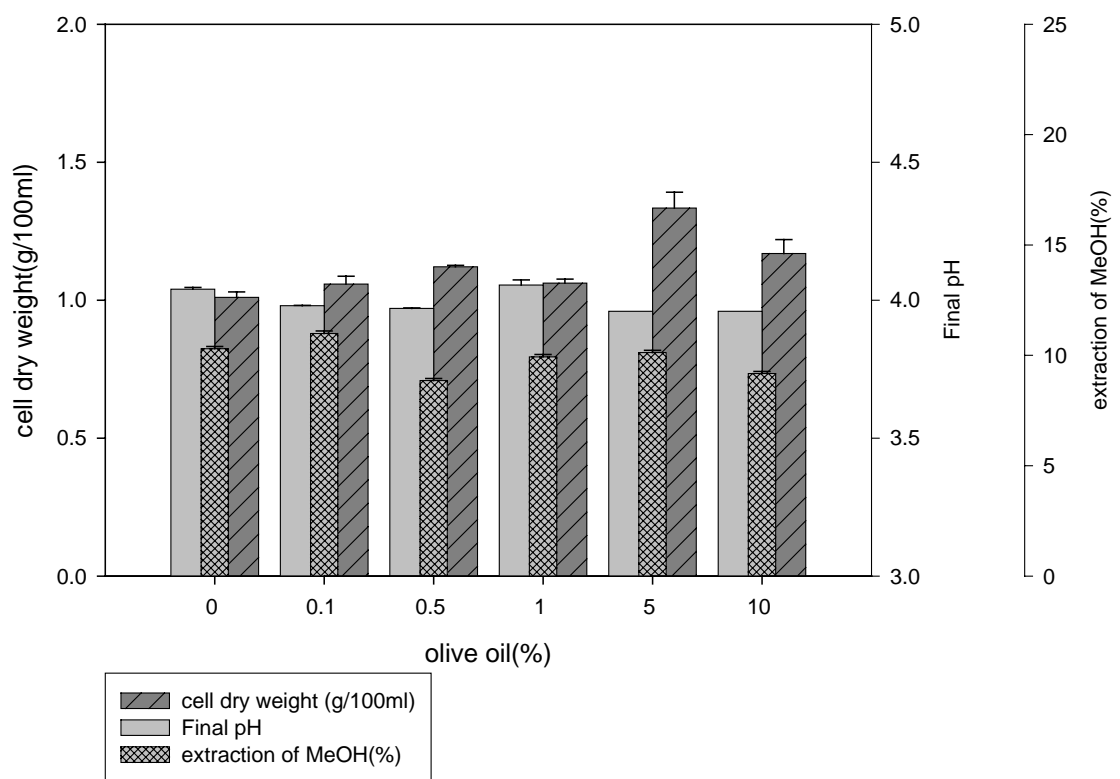
**Fig 4.1** 添加橄欖油菌絲生長情況

除了添加 0.5% 外，添加橄欖油均增加掃除自由基活性，其中以添加橄

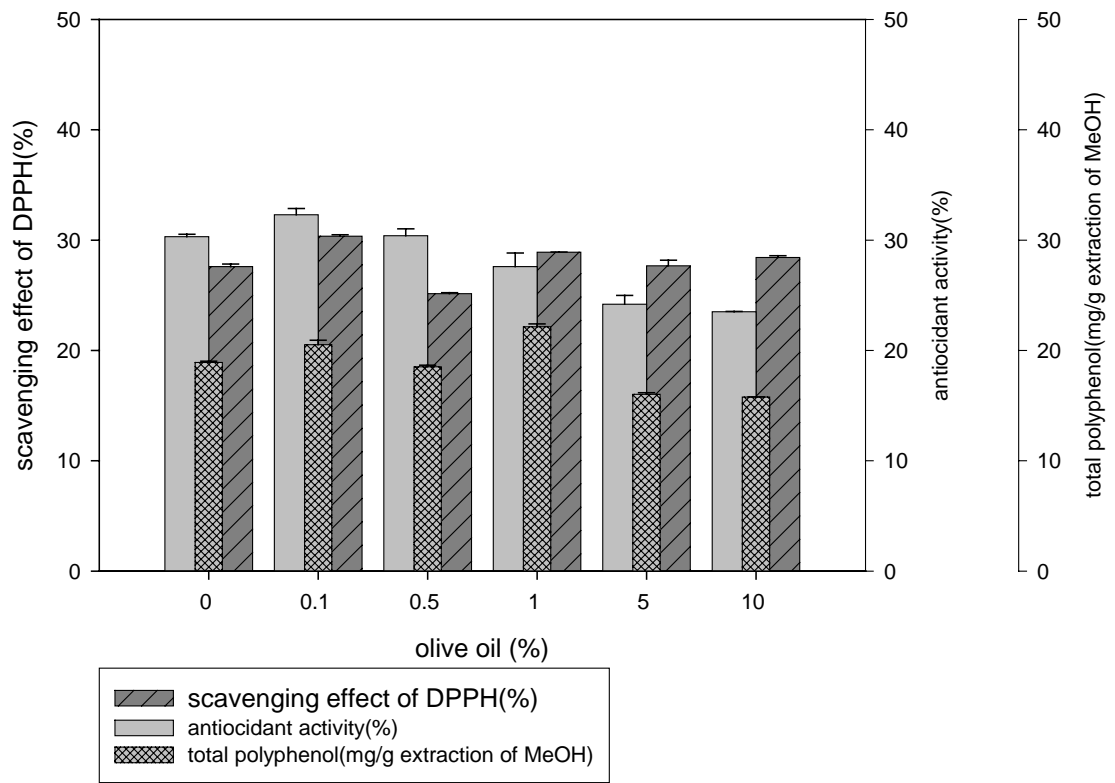
攪油 0.1%時，掃除 DPPH 自由基活性達 30.34 %，抗氧化活性達 32.3 % (Fig 4.3)。

添加橄欖油 1% 總多酚含量達 20.50 mg/g extraction of MeOH，而總多酚含量提高，則掃除 DPPH 自由基活性亦提升。

另外，甲醇萃出率愈高，其掃除 DPPH 自由基活性亦愈高，在添加橄欖油的條件下，樟芝菌絲之甲醇萃出物抗氧化活性與掃除 DPPH 自由基有相關。



**Fig 4.2** 添加橄欖油對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值及菌絲體甲醇萃出率之影響



**Fig 4.3** 添加橄欖油對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響

#### 4.1.2 添加葡萄籽油對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

添加葡萄籽油 0.5%，菌絲乾重達 1.39g/100ml(Fig 4.5)，菌絲顏色偏白，加 1%、5% 葡萄籽油培養後顏色轉紅(Fig 4.5)。

而在掃除 DPPH 自由基活性方面，除了添加 10% 之外，皆較未添加高，其中添加 5% 達 30.48%，而添加 0.1% 抗氧化活性達 32.5%(Fig 4.6)。總多酚含量於添加 5% 達 27.90 (mg/ g extraction of MeOH)，

除此之外，甲醇萃出率均高於控制組，除了添加 5% 之外，其餘萃出率均隨著改變，顯示在添加葡萄籽油的條件下，樟芝甲醇萃出物質當中，具有掃除 DPPH 自由基活性者，隨著萃出率而增加。

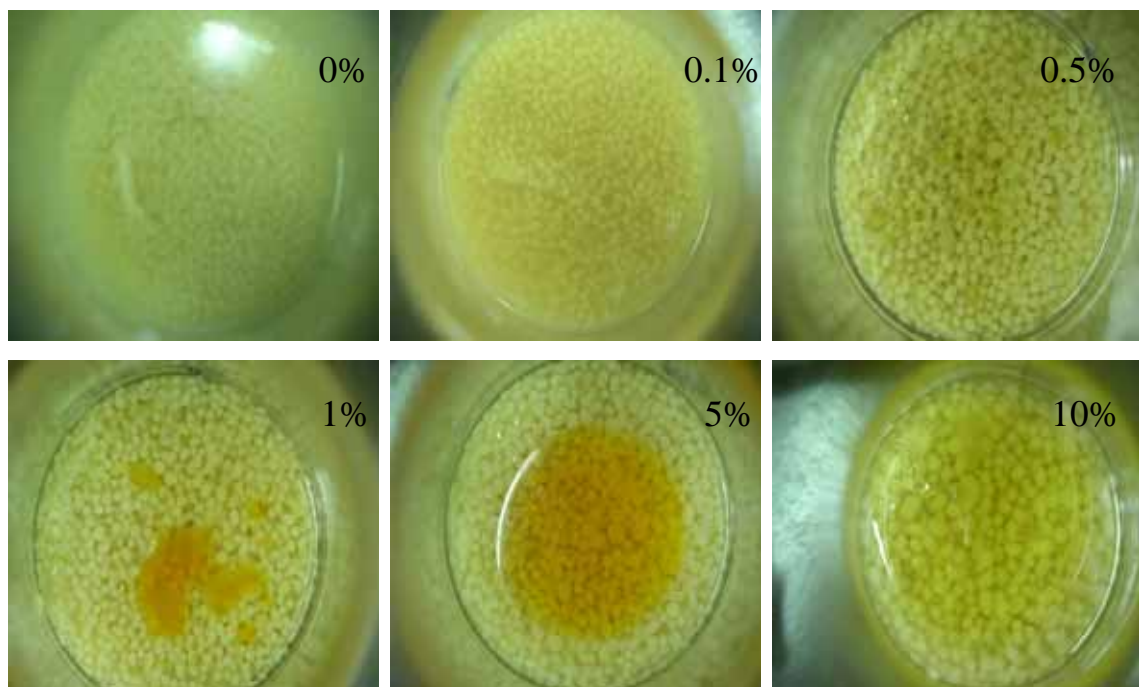
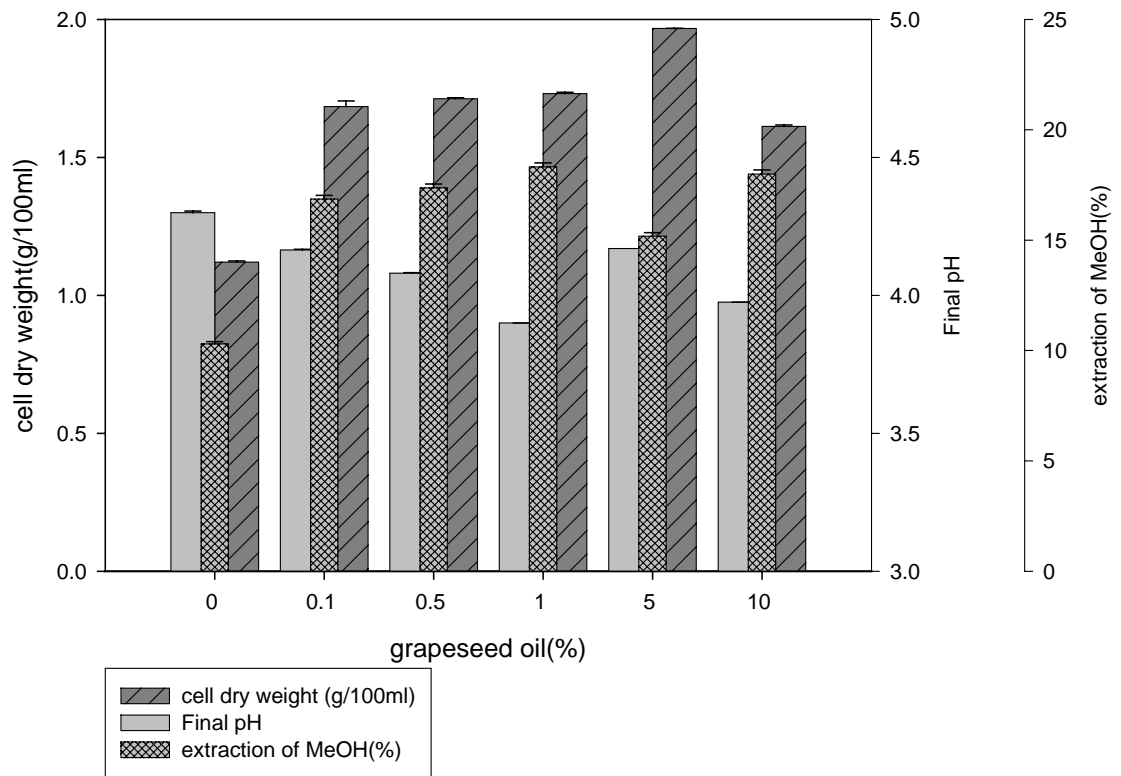
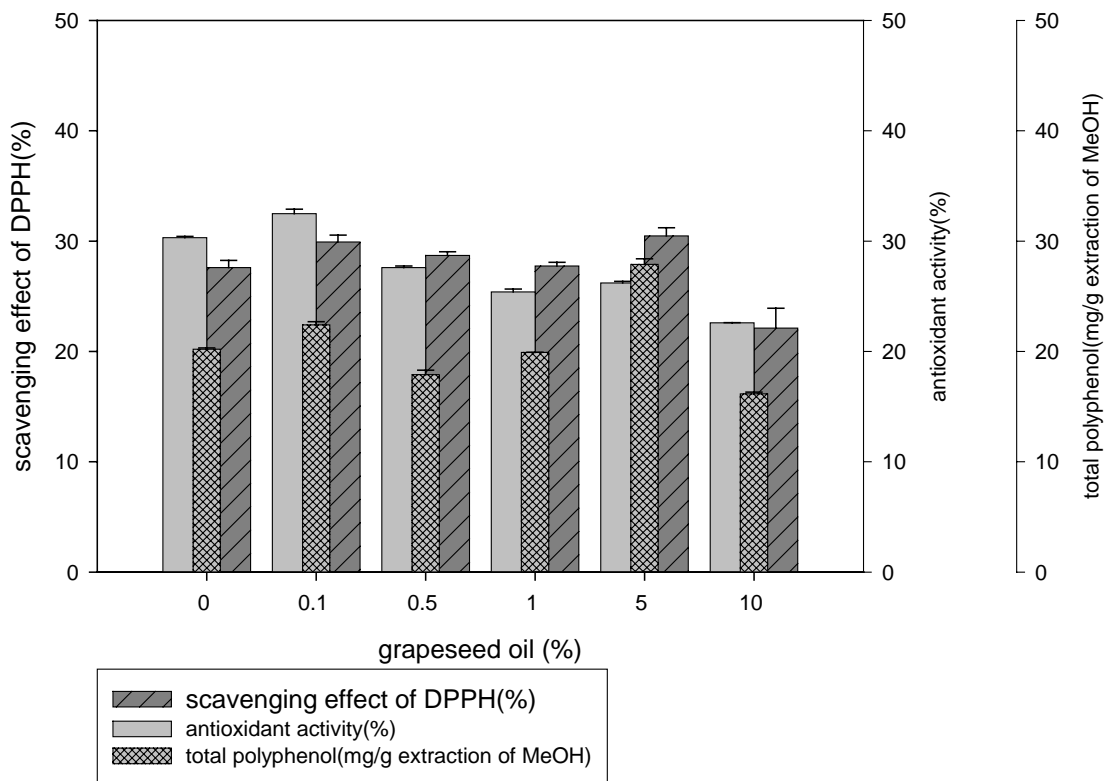


Fig 4.4 添加葡萄籽油菌絲生長情況



**Fig 4.5** 添加葡萄籽油對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響  
及菌絲體甲醇萃出率之影響



**Fig 4.6** 添加葡萄籽油對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響

#### 4.2.3 添加花生油對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

添加花生油可使樟芝菌絲產量增加，但添加 10% 時，油脂覆蓋培養液表面，影響培養之通氣，使菌絲生長情況不佳。

其中以添加 0.5% 菌絲乾重最高達 1.98g /100ml，添加 5% 可達 1.90g/100 ml (Fig 4.8)，菌絲顏色為黃白色，隨著添加百分比增加，花生油顏色轉深黃(Fig 4.7)。

添加 0.1% 掃除 DPPH 活性可達 29.11%，抗氧化活性達 31.60%(Fig 4.9)，此外，總多酚含量在添加 0.1% 達 27.15(mg/g extraction of MeOH)。甲醇萃出物及總多酚含量較高時，其掃除 DPPH 自由基活性與抗氧化活性亦較高。

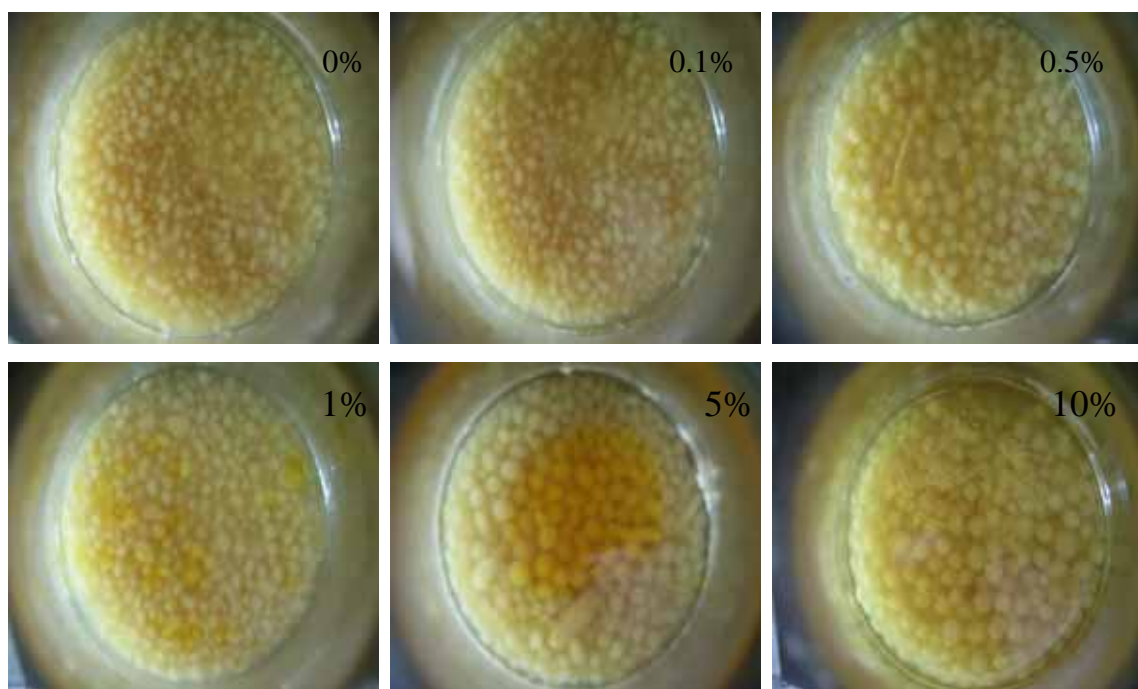
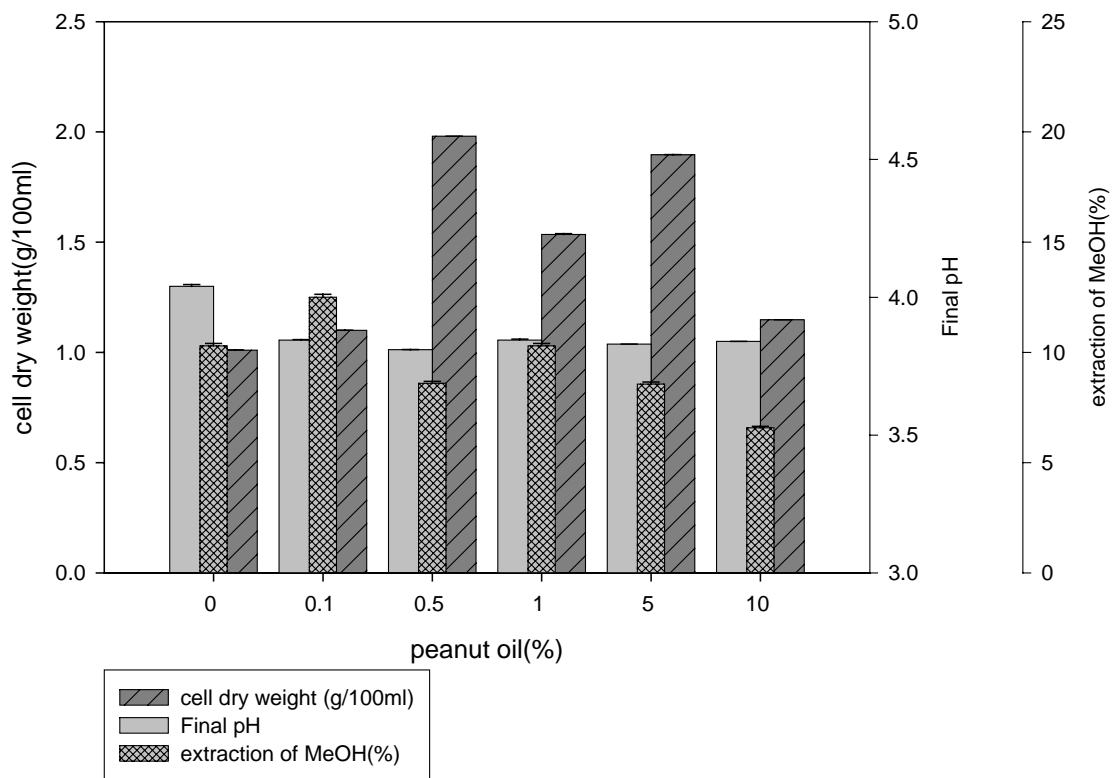
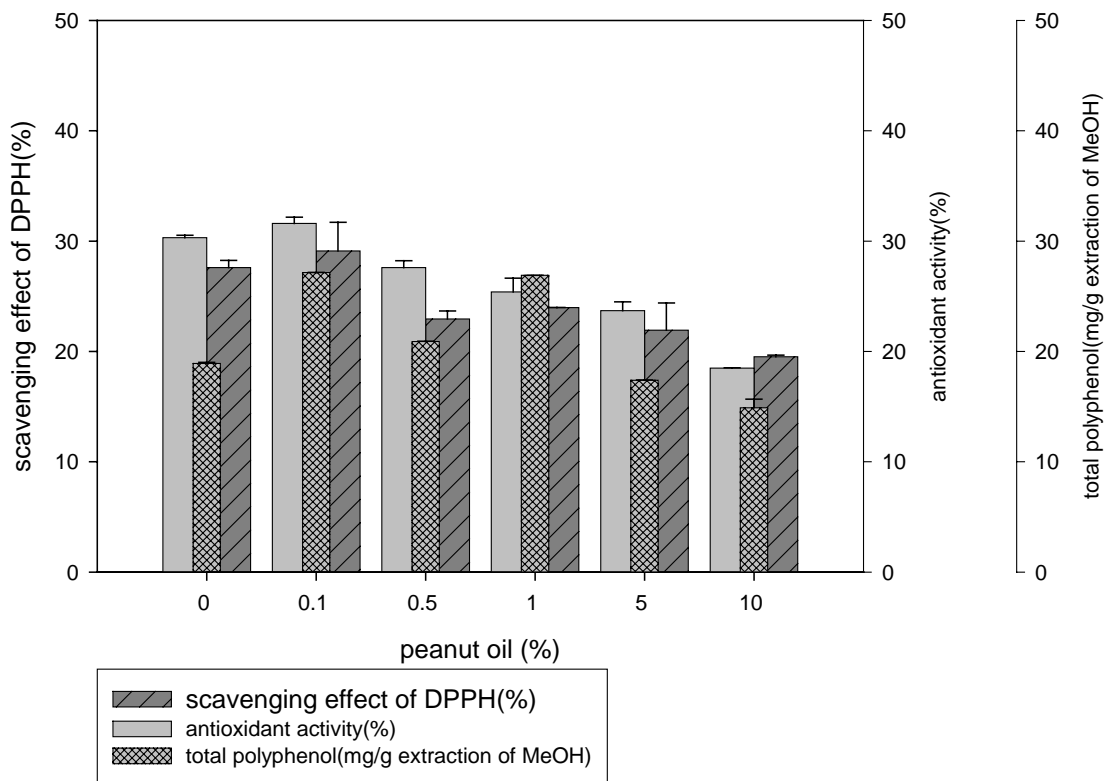


Fig 4.7 添加花生油菌絲生長情況



**Fig 4.8** 添加花生油對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響  
及菌絲體甲醇萃出率之影響



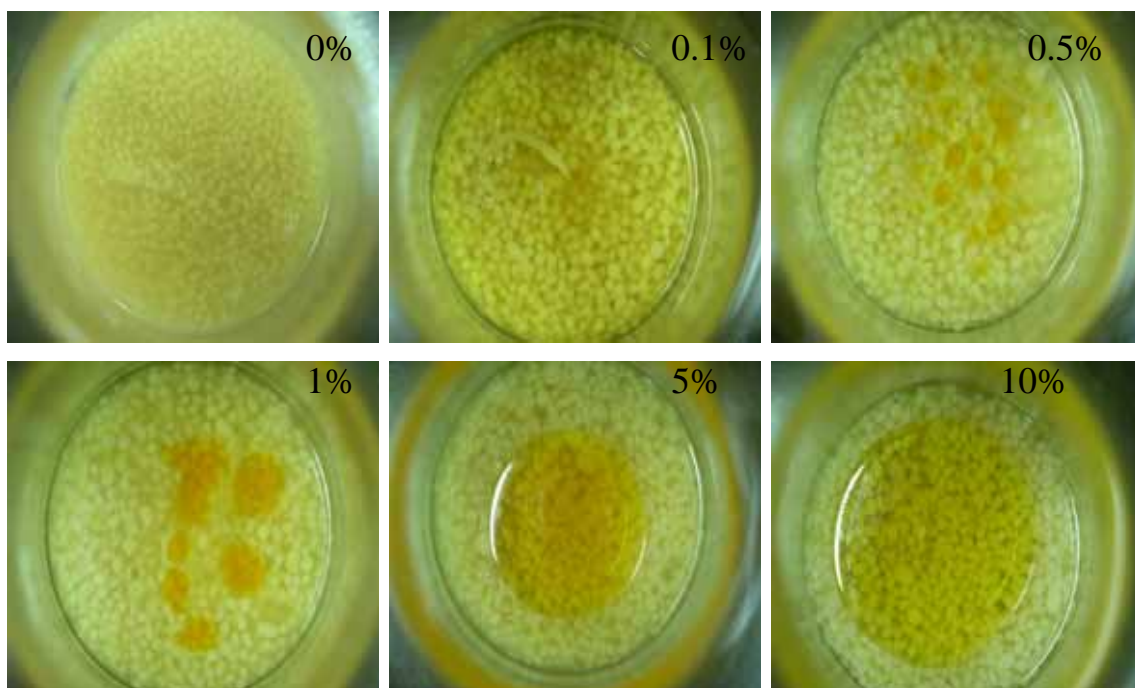


**Fig 4.9** 添加花生油對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響

#### 4.2.4 添加沙拉油對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

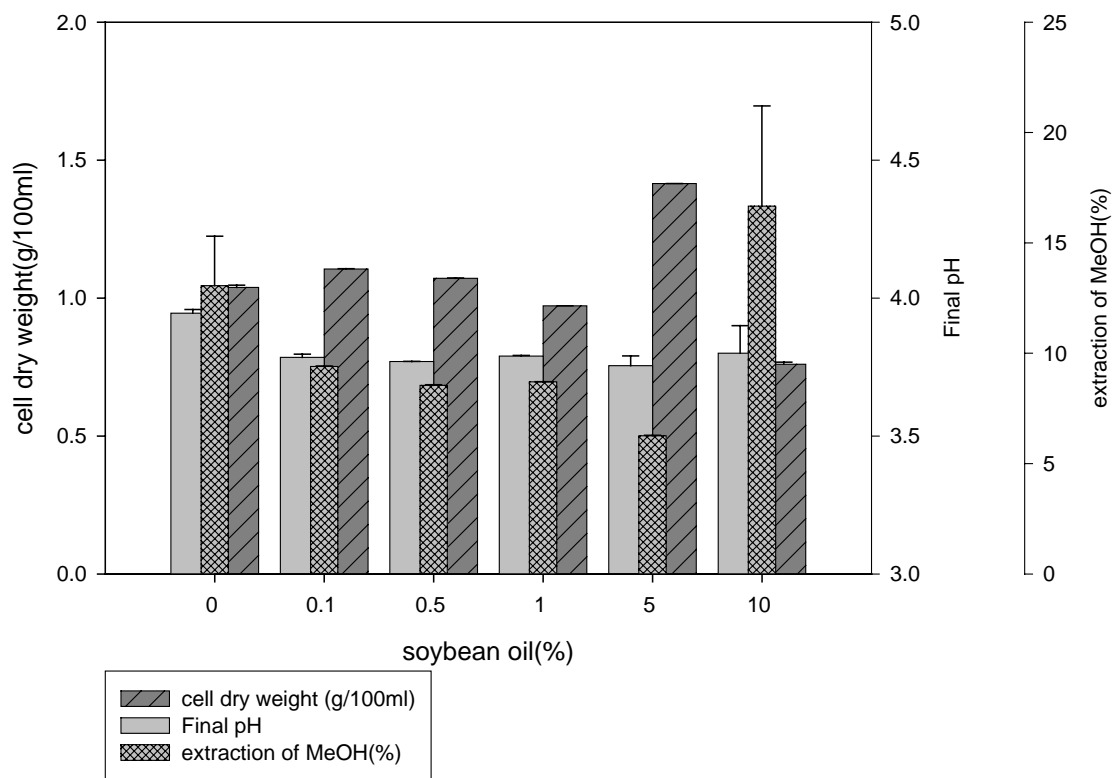
添加沙拉油除了 1% 及 10% 之外，均可使菌絲產量增加，其中以添加沙拉油 5% 菌絲乾重最高達 1.41g /100ml (Fig 4.11)，菌絲顏色較白，菌絲球結構緊密，培養後沙拉油顏色轉為橘黃色(Fig 4.10)。

添加 5% 掃除 DPPH 自由基活性達 32.4%，抗氧化活性達 34.5%，(Fig 4.12)，除了添加 10% 之外，其餘掃除 DPPH 自由基活性皆高於對照組。此外，總多酚含量在添加 0.1% 達 20.5 (mg/g extraction of MeOH)。

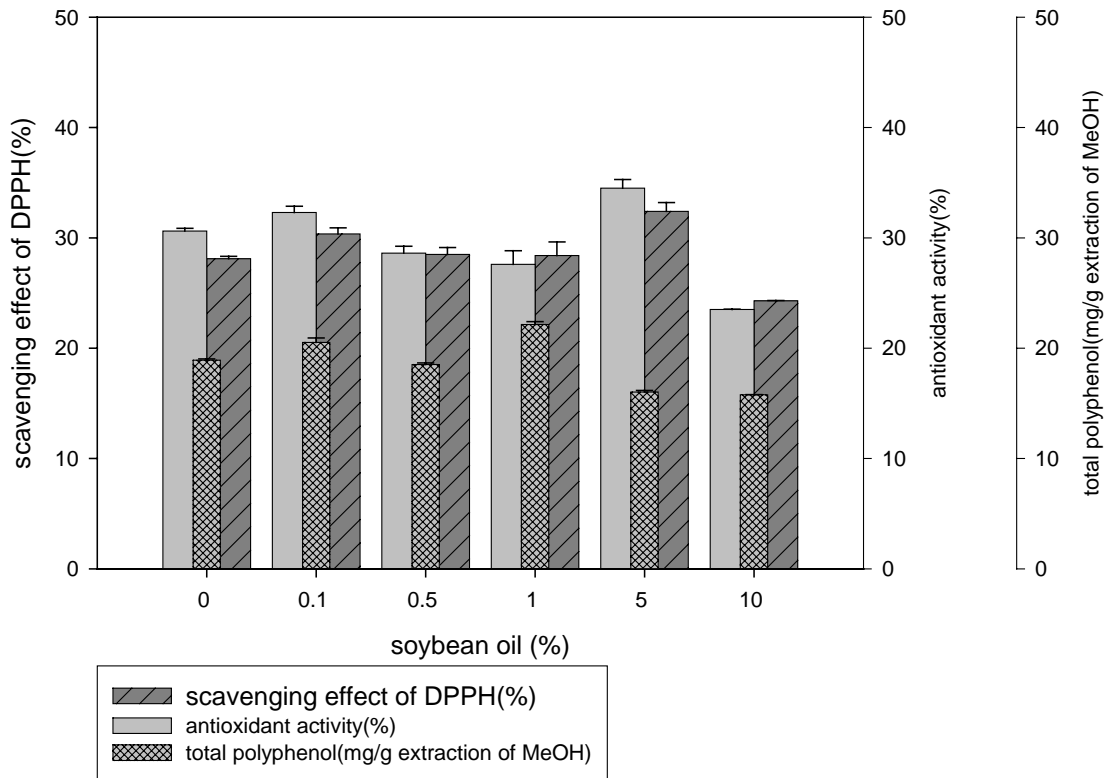


**Fig 4.10** 添加沙拉油菌絲生長情況

有文獻<sup>(40)</sup>提出酚類化合物及其衍生物掃除 DPPH 自由基活性能力較強是因為：(1) 苯環鄰位上有取代基可以提供第二個氫給 DPPH·。(2) Phenoxy radicals 可以形成二聚物(dimerization)，繼續供氫給 DPPH·。(3) Phenoxy radical 可與 DPPH· 形成複合物。此外，若苯環釋放電子基之結構，則掃除 DPPH 自由基活性較高，但若苯環上有拉電子基，則會降低其掃除活性，因此，酚類結構亦影響其掃除 DPPH 自由基活性之能力。



**Fig 4.11** 添加沙拉油對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響  
及菌絲體甲醇萃出率之影響



**Fig 4.12** 添加沙拉油對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響

#### 4.2.5 添加乳化劑 Tween20 對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

添加 Tween20 培養，樟芝菌絲顏色偏橘黃色，且菌絲形態為較小顆粒，而培養液混濁與菌絲顏色相同(Fig 4.13)。

添加 Tween20 小於 5% 之菌絲乾重皆大於控制組，其中添加 0.1%，菌絲乾重達 1.90g/100ml (Fig 4.14)。添加超過 5% 則開始亦制菌絲生長。

添加濃度小於 5% 掃除 DPPH 自由基活性均大於控制組，其中添加 0.1% 時，掃除 DPPH 自由基活性為 37.65%，抗氧化活性為 34.6%，添加 Tween20 總多酚含量均高於對照組，且添加 0.1% 時，總多酚含量達 42.1(mg/g extraction of MeOH ) (Fig 4.15)，其抗氧化及掃除 DPPH 活性亦最好，顯示其甲醇萃出物所含具有抗氧化之物質最多。

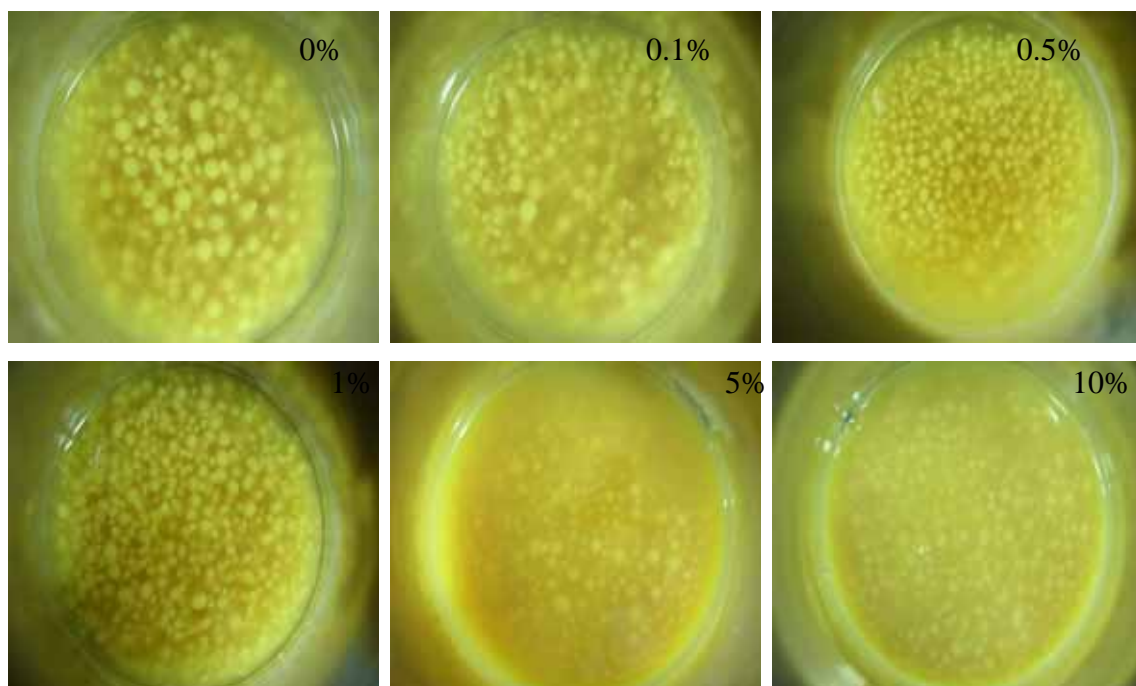
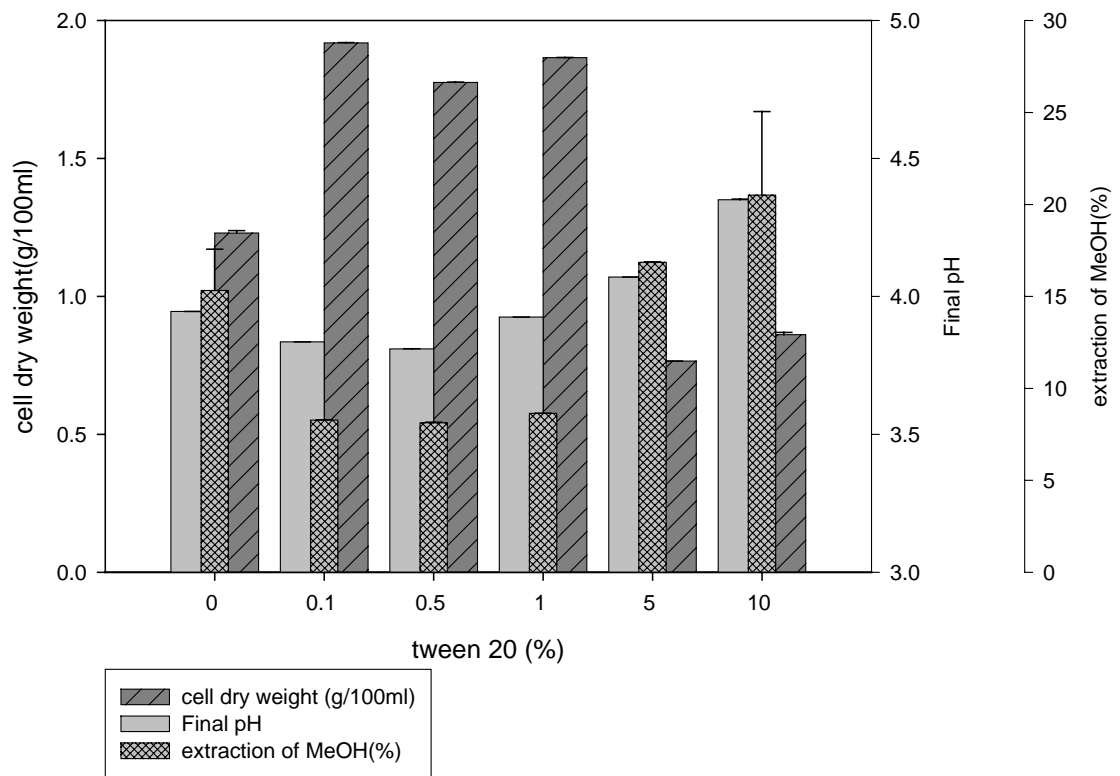
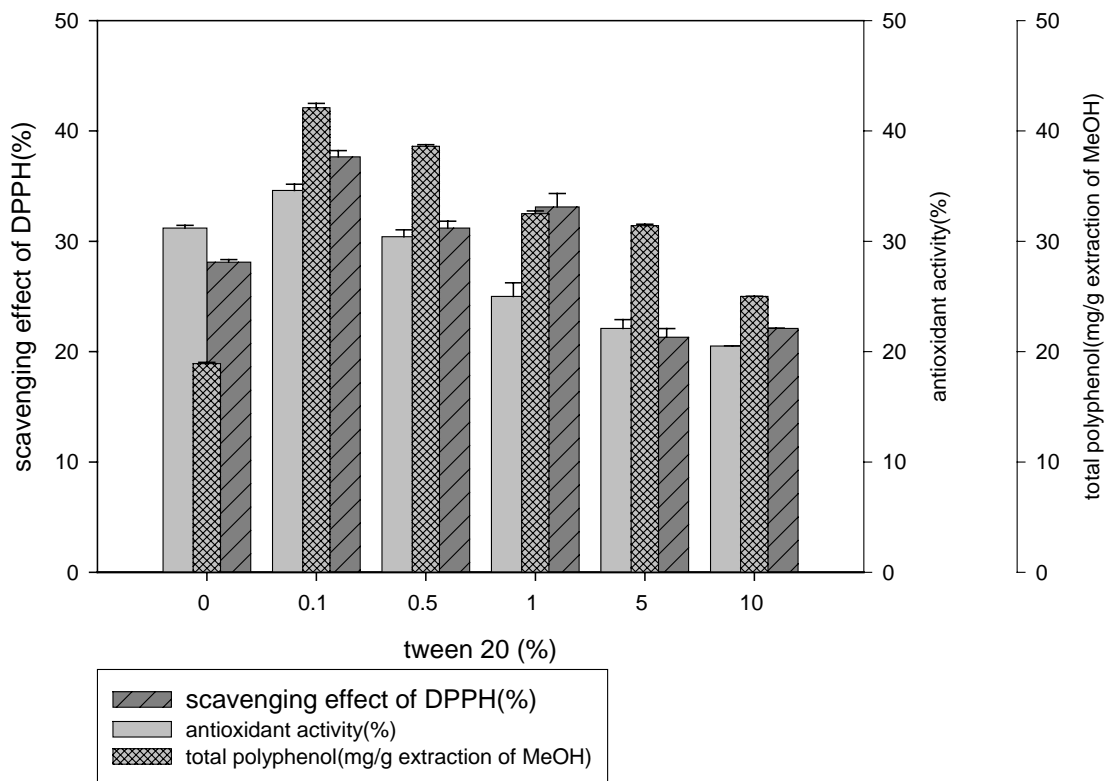


Fig 4.13 添加 Tween20 菌絲生長情況



**Fig 4.14** 添加 tween20 對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響  
及菌絲體甲醇萃出率之影響



**Fig 4.15** 添加 tween20 對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響

#### 4.2.6 添加乳化劑 Tween85 對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

添加 Tween85 之菌絲乾重皆較未添加高，其中以添加 10%，菌體乾重達 2.39 (g/100ml)(Fig4.17)，菌絲球為黃白色，培養液混濁與菌絲顏色相同，菌絲球隨添加比例增加而形成較小的顆粒(Fig4.16)，添加 Tween85 對菌絲生長形態造成影響。

少量添加乳化劑(<1%)，可增加樟芝菌絲之抗氧化活性，添加 0.1% 掃除 DPPH 自由基活性達 38.97%，抗氧化活性達 31.63%。(Fig4.12)

總多酚含量在添加 0.1% 時達 45.4(mg/g extraction of MeOH)，且總多酚含量曲線與掃除自由基活性曲線趨勢相近。顯示添加 Tween85 所產生之抗氧化物質，與總多酚含量有關。

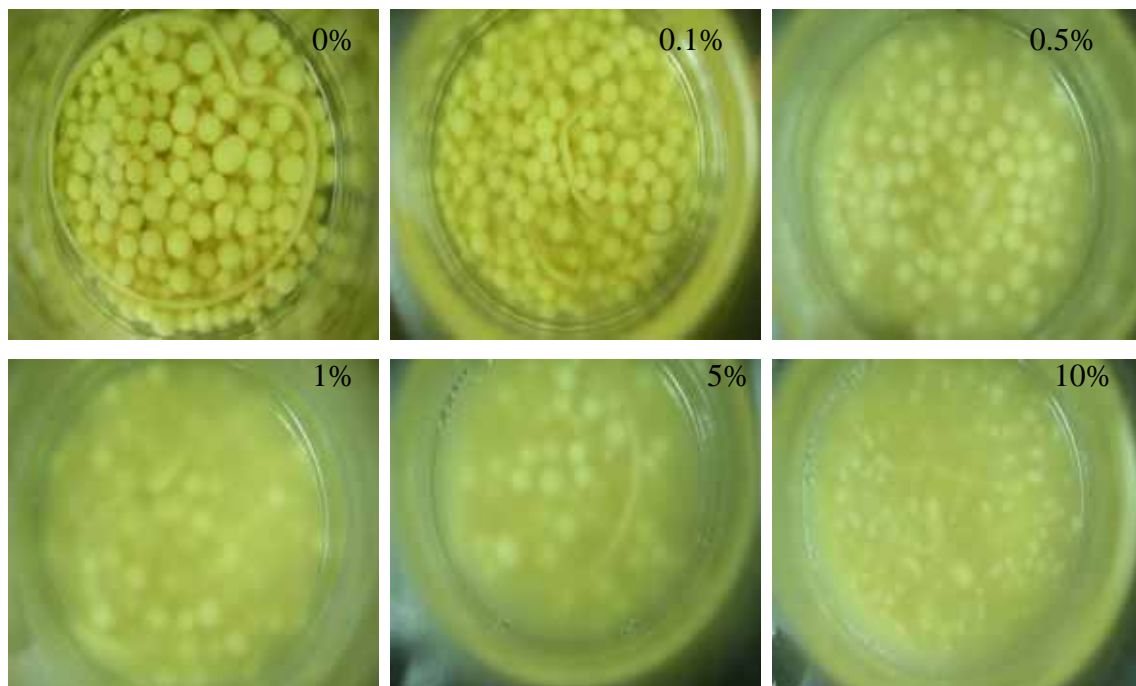
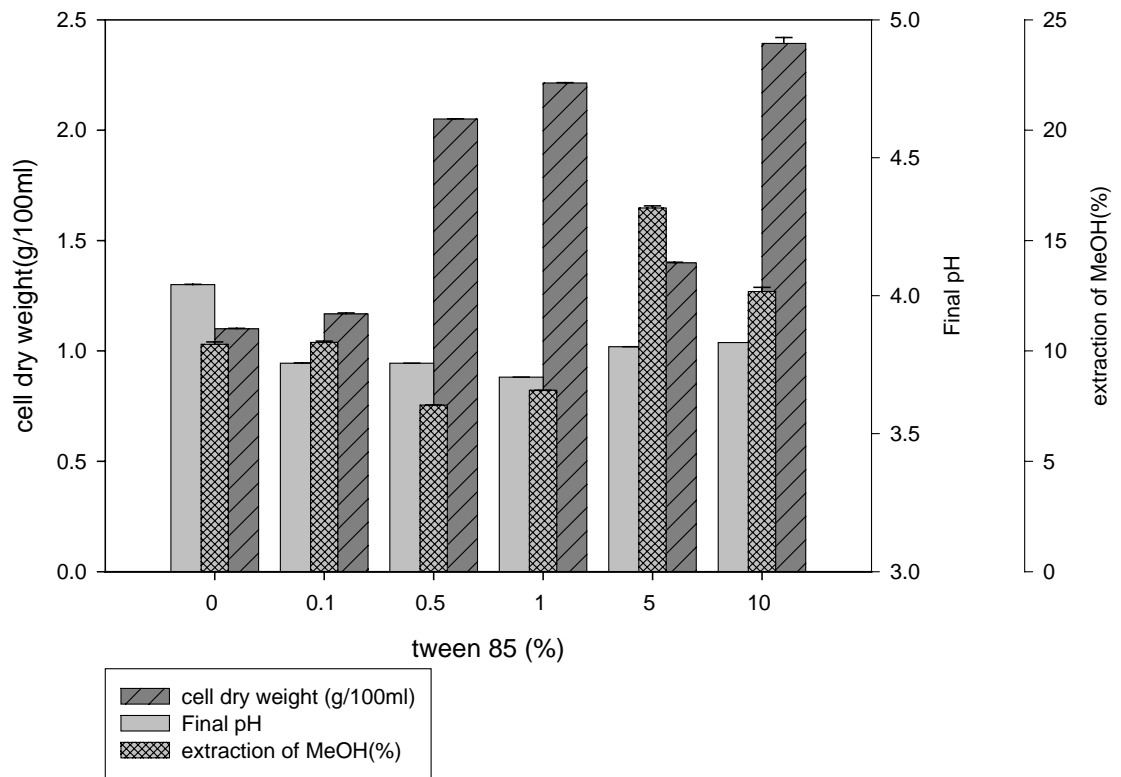
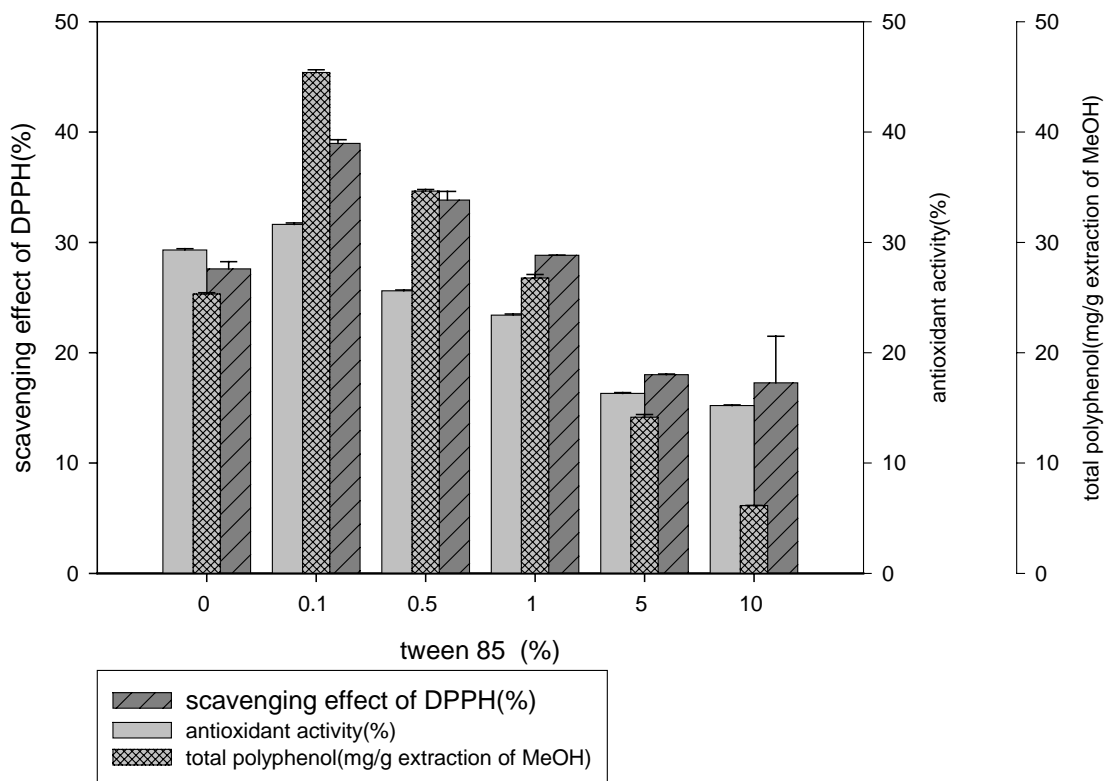


Fig 4.16 添加 Tween85 菌絲生長情況





**Fig 4.17** 添加 tween85 樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響  
及菌絲體甲醇萃出率之影響



**Fig 4.18** 添加 tween85 對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響

#### 4.2.7 添加消泡劑(Polypropylene Glycol, ppg) 對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

添加消泡劑有抑制菌體生長的傾向(Fig 4.20)，且菌絲體結構亦較鬆散，菌絲及培養液顏色為橘黃色(Fig 4.19)。

少量添加消泡劑(<1%)掃除 DPPH 自由基活性較未添加高，其中以添加 0.1%可達 39.93%，而抗氧化活性則達 31.45%(Fig 4.21)。

其總多酚含量在添加 0.1%達 68.9(mg/g extraction of MeOH)，是所有添加物中最高的。

故少量添加 ppg 可刺激樟芝菌絲生成酚類化合物。

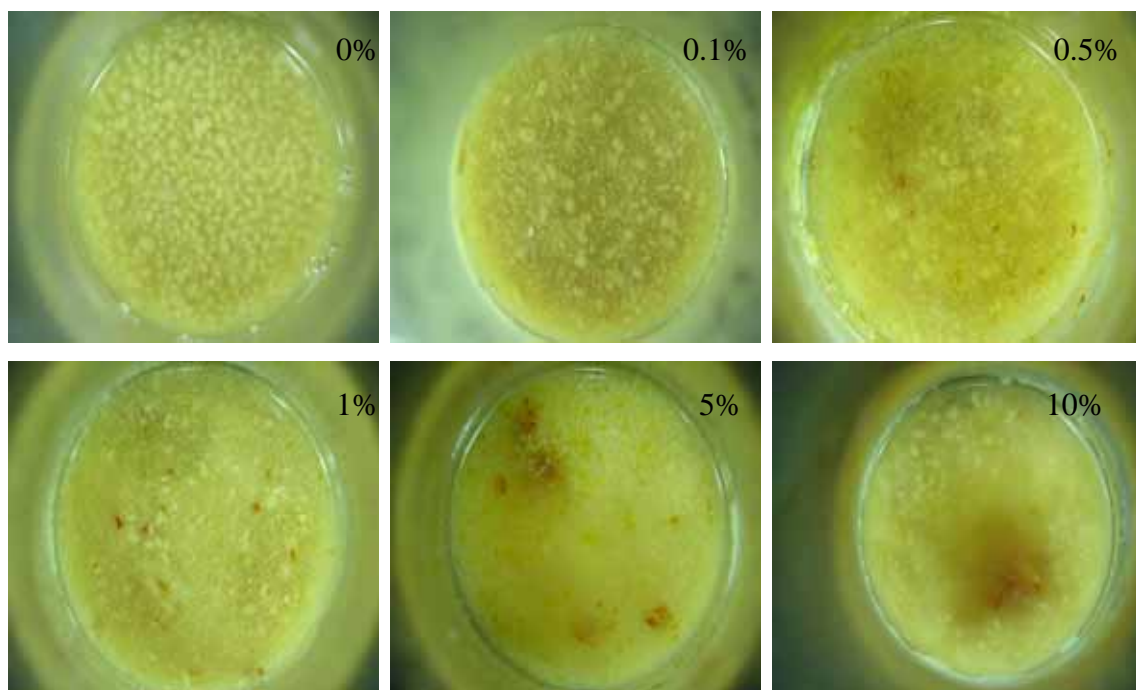
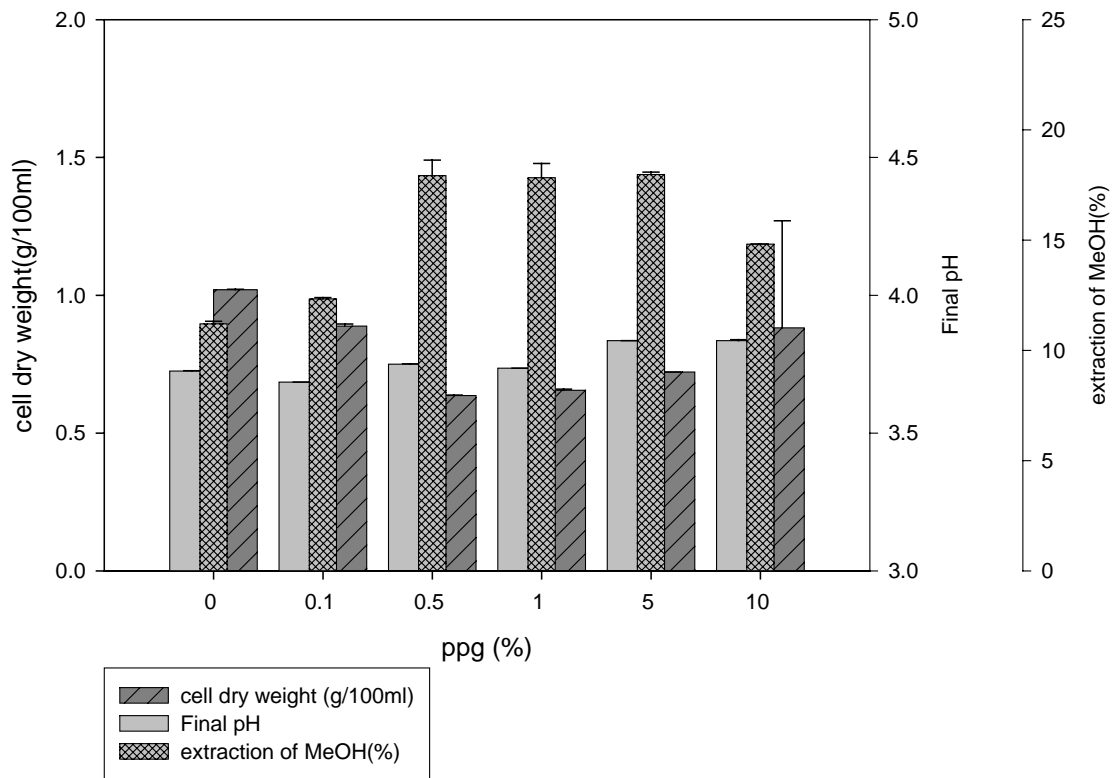
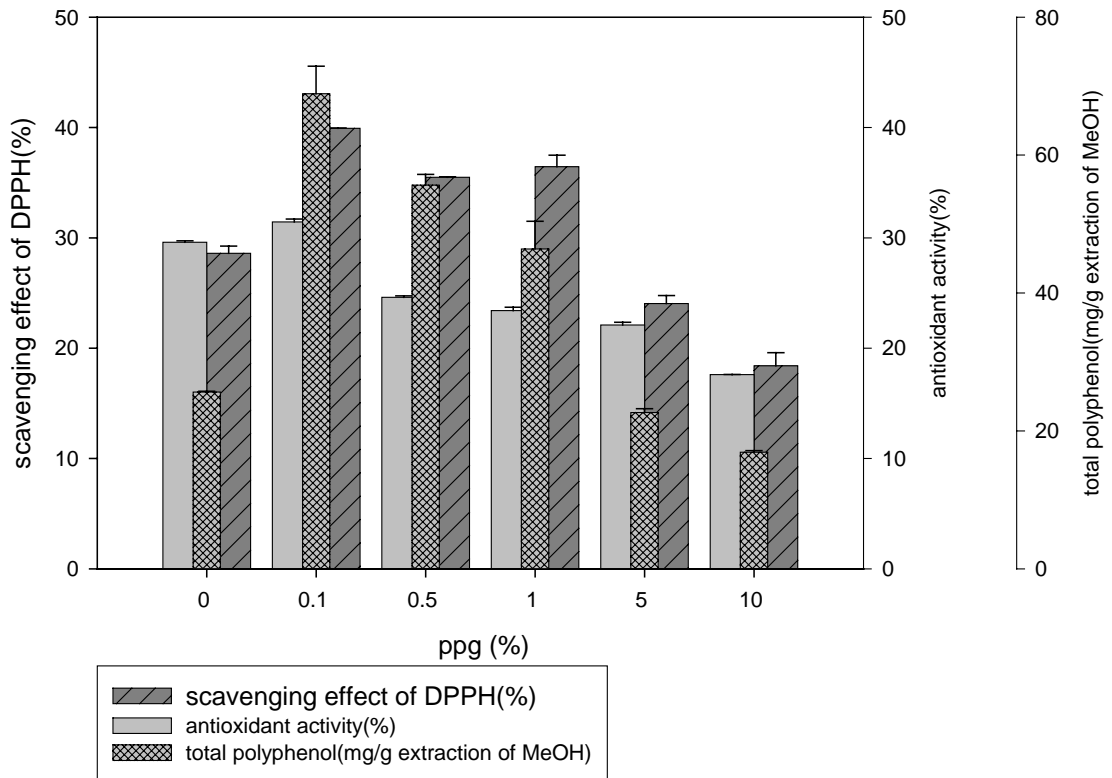


Fig 4.19 添加 ppg 菌絲生長情況



**Fig 4.20** 添加 ppg 對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響  
及菌絲體甲醇萃出率之影響



**Fig 4.21** 添加 ppg 對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量及菌絲體甲醇萃出率之影響

### 4.3 探討靜置及不同振盪培養方式之表面通氣效應對樟芝菌絲生長及抗氧化活性生成之影響

實驗條件分為兩組：

(I)

a.250ml 三角瓶+50ml 培養液靜置培養

b.250ml 有凹槽三角瓶+50ml 培養液於水浴往復式培養箱培養

c.250ml 無凹槽三角瓶+50ml 培養液於水浴往復式培養箱培養

d.250ml 有凹槽三角瓶+50ml 培養液於迴轉式振盪培養箱中培養

e.250ml 無凹槽三角瓶+50ml 培養液於迴轉式振盪培養箱中培養

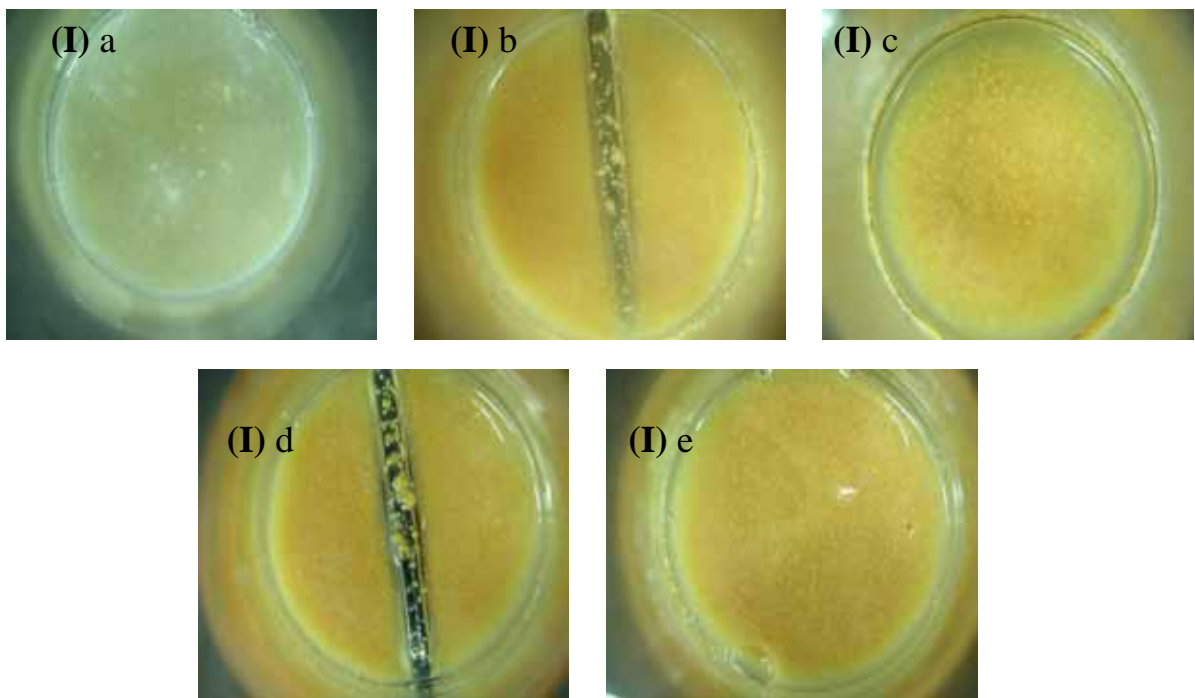
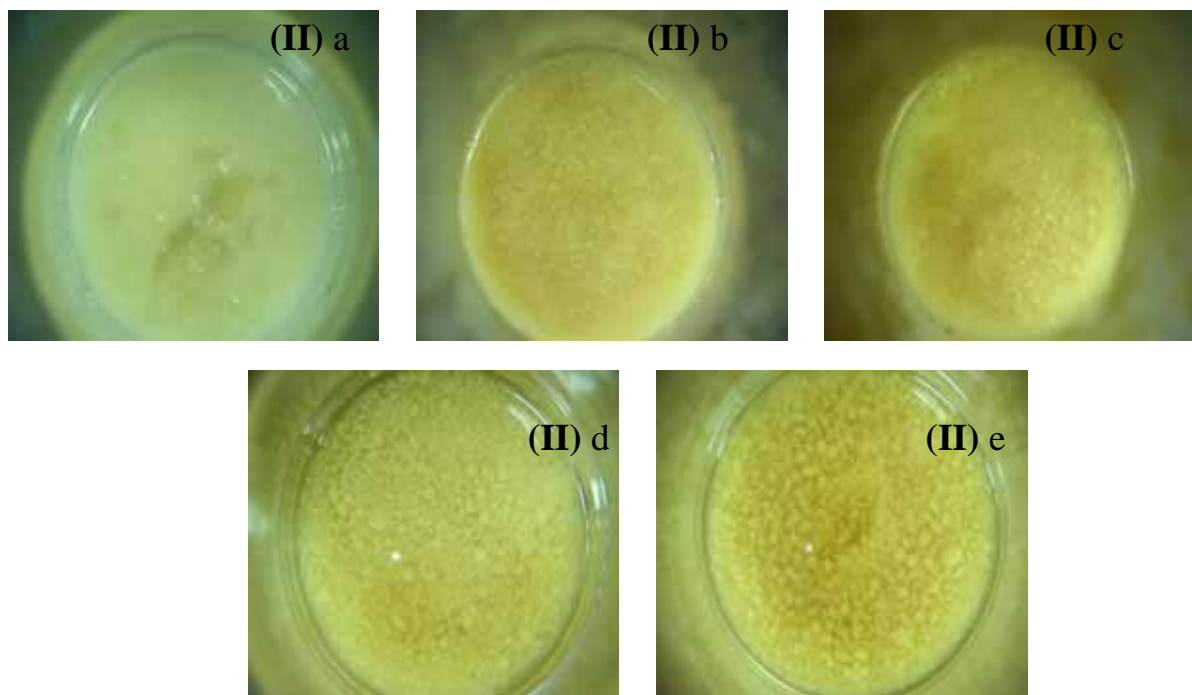


Fig 4.22 不同表面通氣效應樟芝菌絲生長情況(I)

- (II) a.250ml 三角瓶+100ml 培養液靜置培養  
b.250ml 有凹槽三角瓶+100ml 培養液於水浴往復式培養箱培養  
c.250ml 無凹槽三角瓶+100ml 培養液於水浴往復式培養箱培養  
d.250ml 有凹槽三角瓶+100ml 培養液於迴轉式振盪培養箱中培養  
e.250ml 無凹槽三角瓶+100ml 培養液於迴轉式振盪培養箱中培養

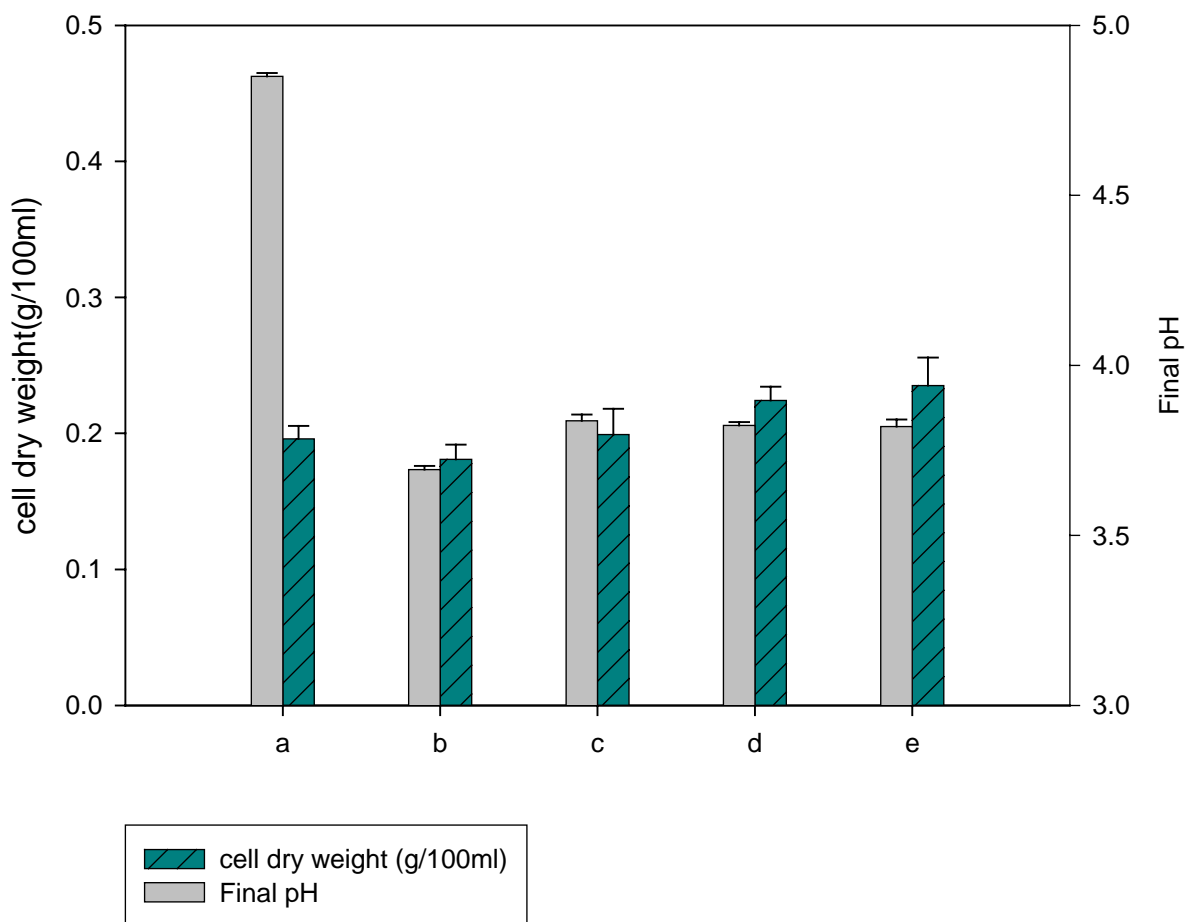


**Fig 4.23** 不同表面通氣效應樟芝菌絲生長情況(II)

其液態培養基皆相同 (Corn Starch 4.78%、YM Broth 3.19 %)，調整 pH 值為 5.54。接液態種菌 10%，於 25°C 下培養 14 天後收菌，並測其菌絲乾重、掃除 DPPH 自由基活性、抗氧化能力及總多酚含量。

其中以(II)e.條件下培養，菌絲生長較佳菌絲乾重達 1.01g/100ml，另外 (I)d.條件下，其掃除 DPPH 自由基活性可達 48.58%，另外，裝 50ml 培養液之培養條件，雖然菌絲生成較少，但菌絲顏色偏橘紅，且抗氧化活性及掃除 DPPH 自由基活性較 100ml 高，顯示在 50ml 的表面通氣，能夠使樟芝菌

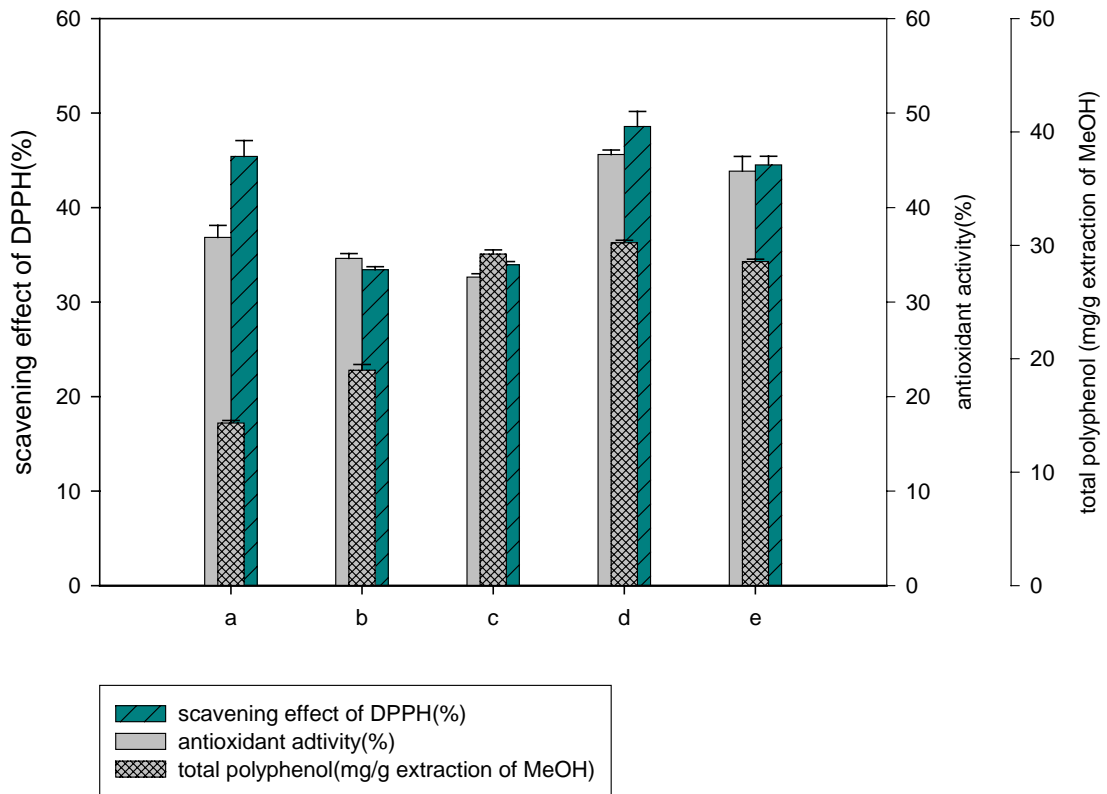
絲生成較高的生理活性物質，水浴往復式振盪較恆溫箱振盪培養培養在 100ml 培養液下，其掃除自由基活性皆高 5% 以上，但若裝 50ml 培養液其結果則相反。



**Fig 4.24** 表面通氣試驗對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響(I)

- a. 250ml 三角瓶+50ml 培養液靜置培養
- b. 250ml 有凹槽三角瓶+50ml 培養液於水浴往復式培養箱培養
- c. 250ml 無凹槽三角瓶+50ml 培養液於水浴往復式培養箱培養
- d. 250ml 有凹槽三角瓶+50ml 培養液於振盪培養箱中培養
- e. 250ml 無凹槽三角瓶+50ml 培養液於振盪培養箱中培養





**Fig 4.25** 表面通氣試驗對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含及菌絲體甲醇萃出率之影響(I)

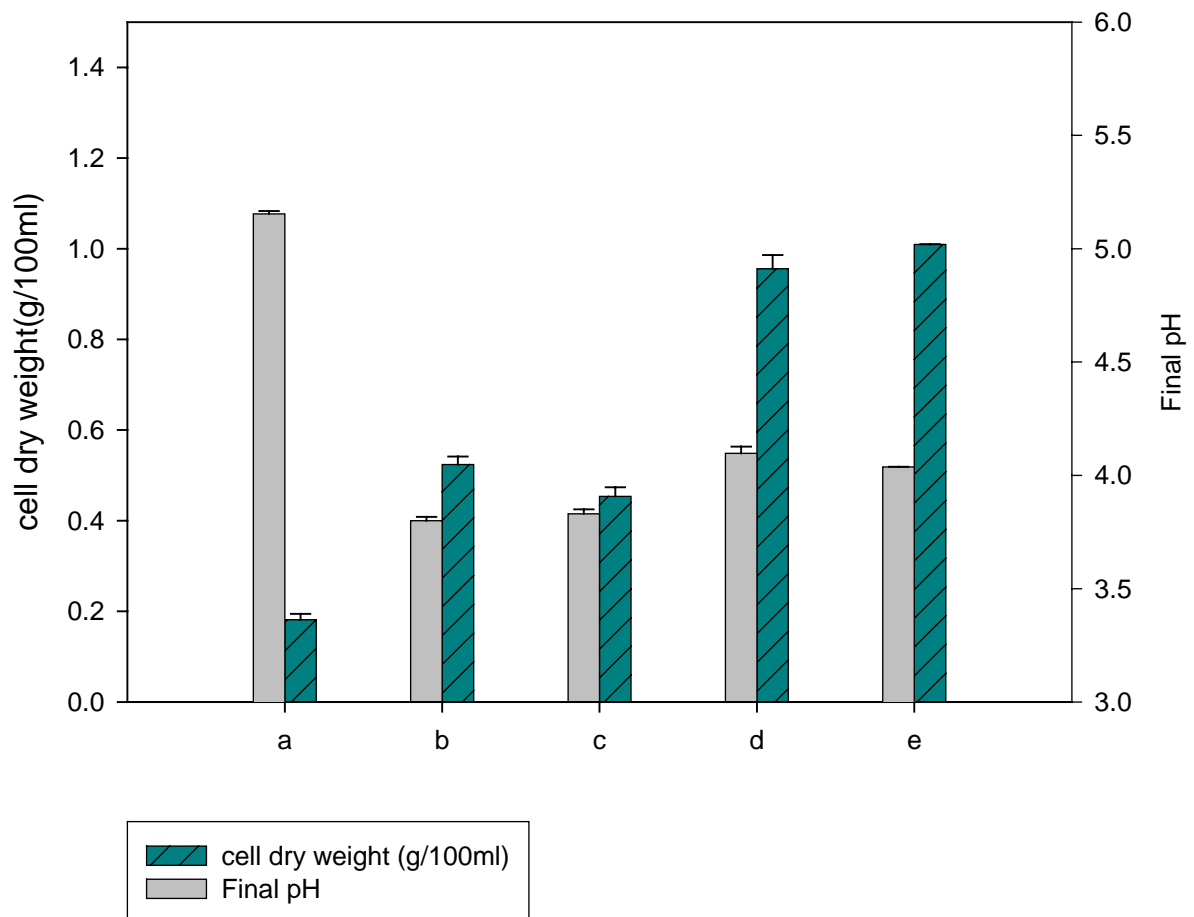
a.250ml 三角瓶+50ml 培養液靜置培養

b.250ml 有凹槽三角瓶+50ml 培養液於水浴往復式培養箱培養

c.250ml 無凹槽三角瓶+50ml 培養液於水浴往復式培養箱培養

d.250ml 有凹槽三角瓶+50ml 培養液於振盪培養箱中培養

e.250ml 無凹槽三角瓶+50ml 培養液於振盪培養箱中培養



**Fig 4.26** 表面通氣試驗對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響(II)

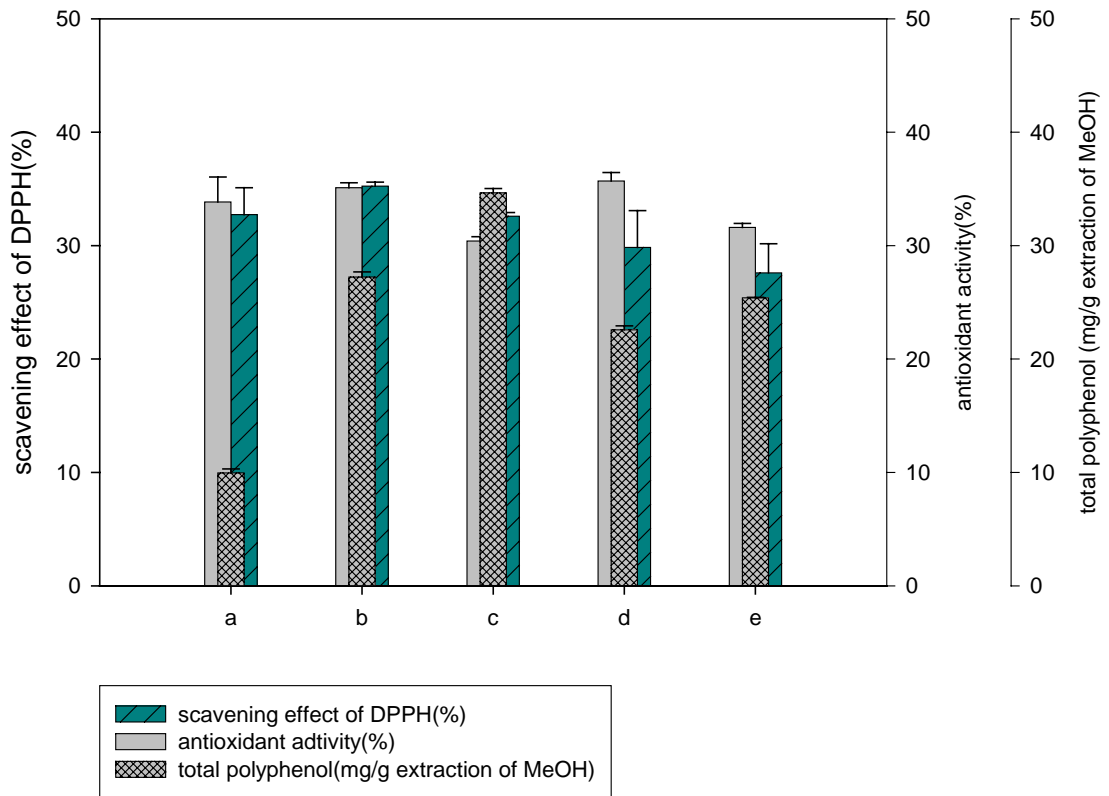
a.250ml 三角瓶+50ml 培養液靜置培養

b.250ml 有凹槽三角瓶+100ml 培養液於水浴往復式培養箱培養

c.250ml 無凹槽三角瓶+100ml 培養液於水浴往復式培養箱培養

d.250ml 有凹槽三角瓶+100ml 培養液於振盪培養箱中培養

e.250ml 無凹槽三角瓶+100ml 培養液於振盪培養箱中培養



**Fig 4.27** 表面通氣試驗對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含及菌絲體甲醇萃出率之影響(II)

a.250ml 三角瓶+100ml 培養液靜置培養

b.250ml 有凹槽三角瓶+100ml 培養液於水浴往復式培養箱培養

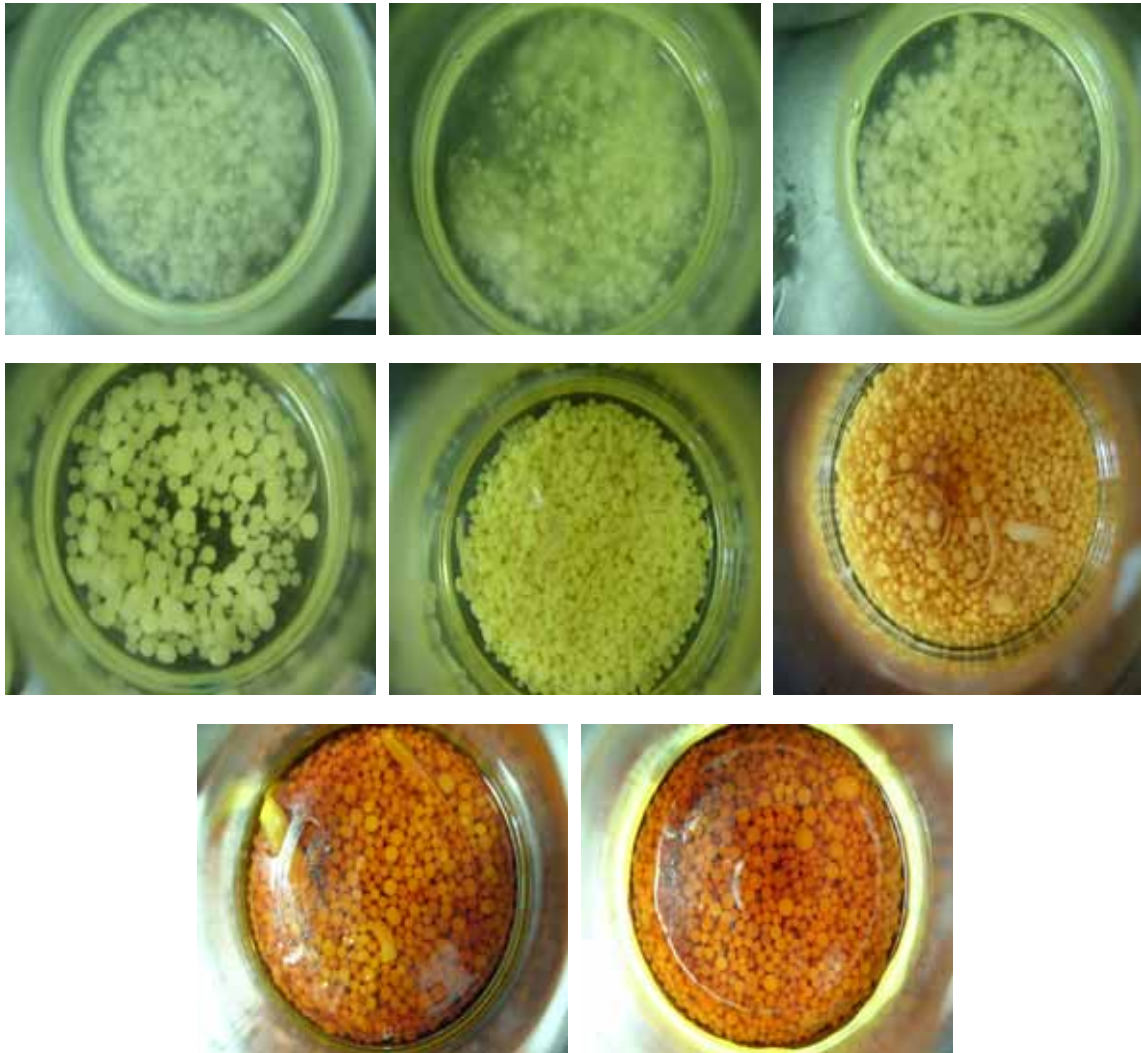
c.250ml 無凹槽三角瓶+100ml 培養液於水浴往復式培養箱培養

d.250ml 有凹槽三角瓶+100ml 培養液於振盪培養箱中培養

f. 250ml 無凹槽三角瓶+100ml 培養液於振盪培養箱中培養

### 4.3 探討不同碳氮比對樟芝菌絲生長及抗氧化活性生成之影響

樟芝菌絲培養後，普遍 pH 值會下降，但改變碳氮比之後發現，培養後之 pH 隨著碳氮比增加而下降，又實驗是以固定之碳源濃度進行菌絲培養，所以推測 pH 值不隨菌絲乾重增加而下降，是由於氮源濃度提高所造成之影響。



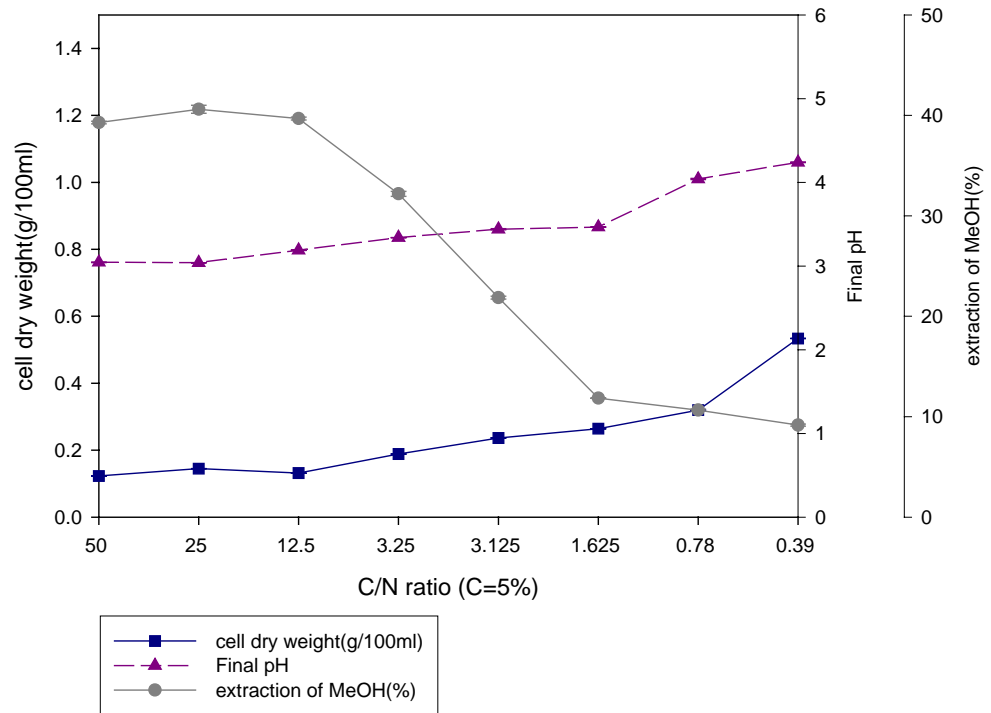
**Fig 4.28** 不同碳氮比(C=1%)之樟芝菌絲生長情況

實驗結果得知不管是何種碳源濃度，菌絲生長趨勢都一樣，隨著 C/N

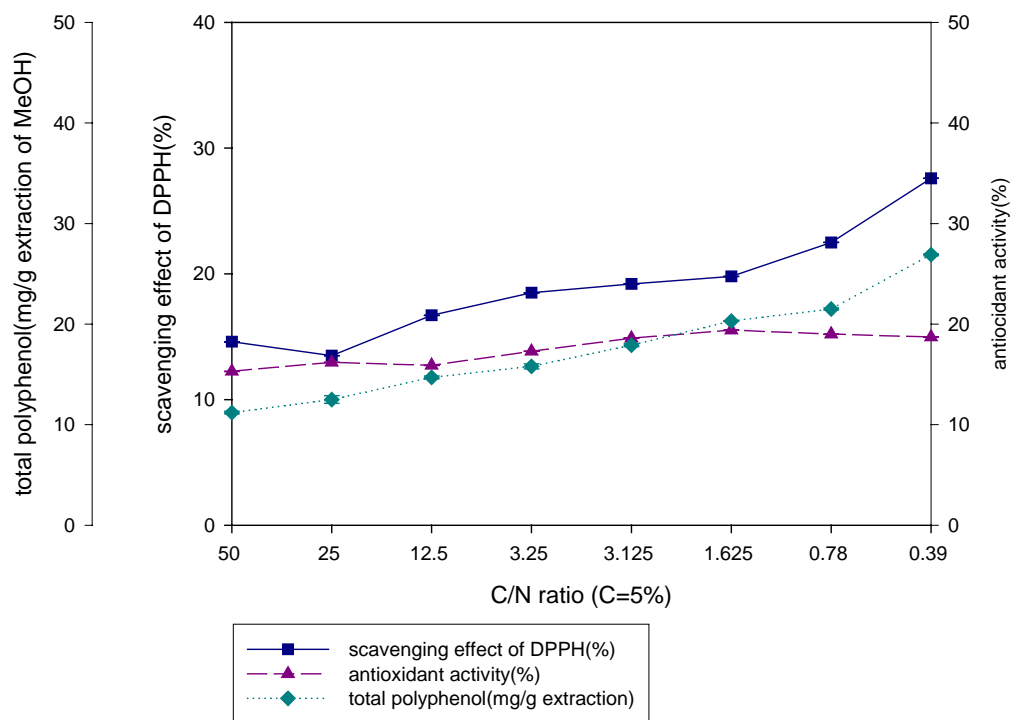
比的下降而增加(Fig 4.29、 Fig 4.31、 Fig 4.33)，其中以碳源濃度為 5%時，其菌絲生長情況較為良好，一方面是營養源較高，二方面是在三種不同碳源濃度下，菌絲生長情況最好在碳源濃度 5%，C/N 比為 0.78 時，可得到菌絲體為 1.52g/100ml，而甲醇萃出率的部分，隨者菌體量的增加而下降(Fig 4.29、 Fig 4.31、 Fig 4.33)，可能是樟芝菌絲並沒有隨著菌絲的生長，而產生更多能夠溶於甲醇的活性物質，因為其掃除自由基活性與抗氧化活性的增加很緩慢，並不隨著菌絲的生長而快速增加。

另外，掃除自由基活性仍然隨著總酚含量增加而上升，與總酚類物質含量多寡有相關。

### 4.3.1 碳源濃度 5% 之 C/N ratio 對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

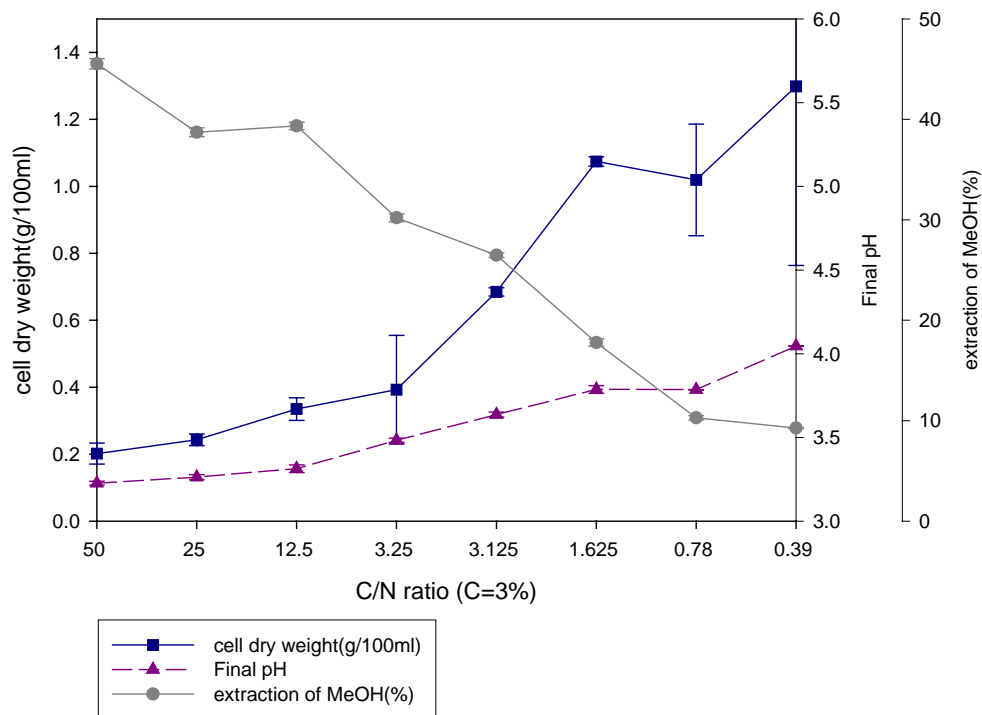


**Fig 4.29** 碳源濃度 5% 之 C/N ratio 對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值及甲醇萃出率之影響



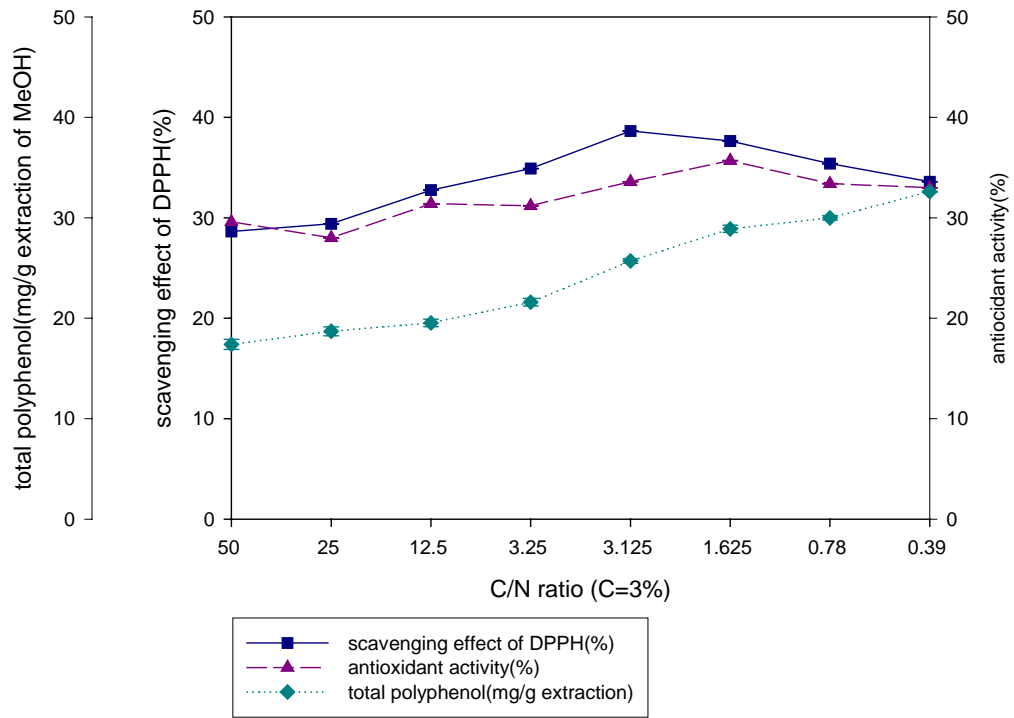
**Fig 4.30** 碳源濃度 5% 之 C/N ratio 對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響

### 4.3.2 碳源濃度 3% 之 C/N ratio 對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響



**Fig 4.31** 碳源濃度 3% 之 C/N ratio 對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值與甲醇萃出液之影響





**Fig 4.32** 碳源濃度 3% 之 C/N ratio 對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響

### 4.3.3 碳源濃度 1% 之 C/N ratio 對樟芝液態培養菌絲生長及抗氧化能力之影響

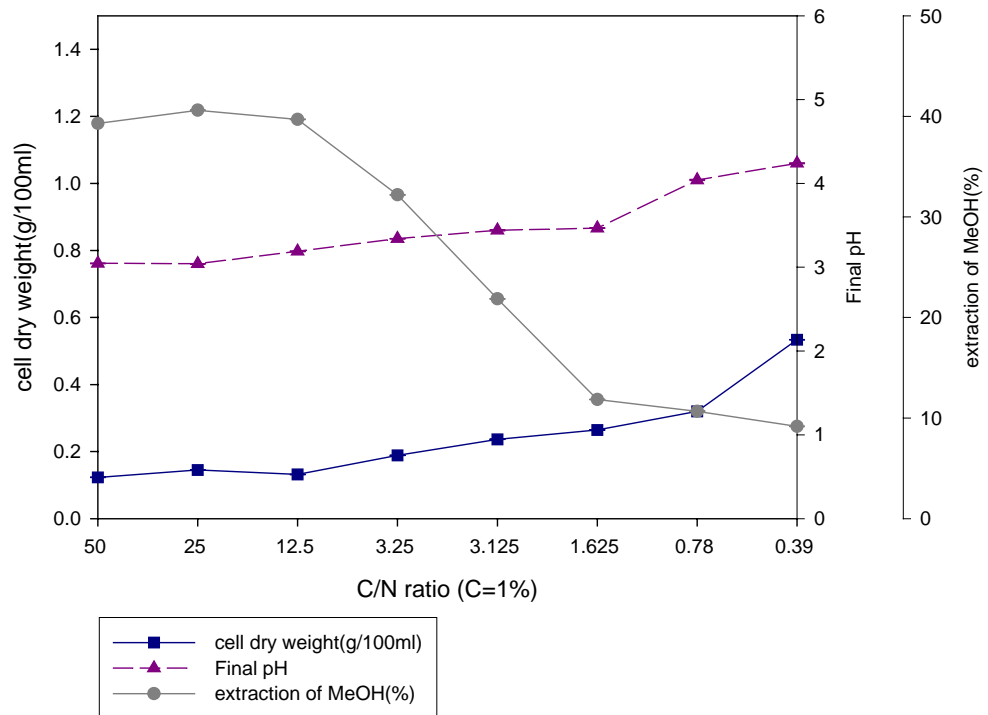
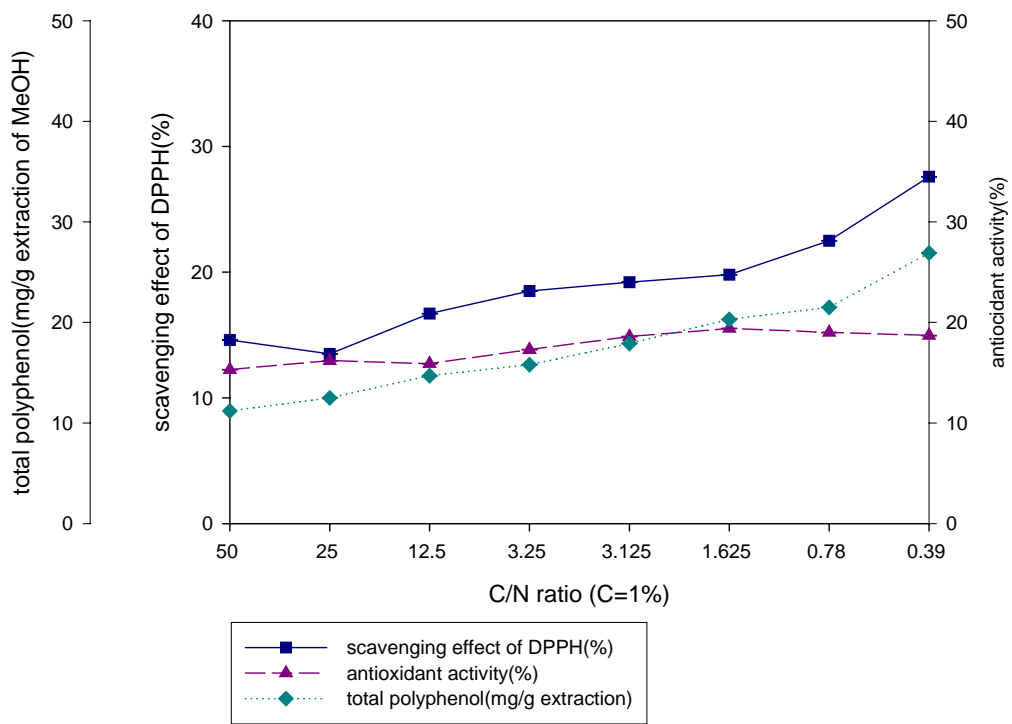


Fig 4.33 碳源濃度 1% 之 C/N ratio 對樟芝菌絲生長及發酵液 pH 值之影響



**Fig 4.34** 碳源濃度 1% 之 C/N ratio 對樟芝抗氧化、掃除 DPPH 活性、總多酚含量之影響