

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫  成果報告

食藥用菇糖幾聚糖生理活性及保健食品開發研究

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：NSC 98-2313-B-041-003-MY2

執行期間：98 年 8 月 1 日至 100 年 7 月 31 日

執行機構及系所：嘉南藥理科技大學 生活應用與保健系

計畫主持人：顏名聰

計畫參與人員：李姿玟、楊惠婷

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告  完整報告

本計畫除繳交成果報告外，另須繳交以下出國心得報告：

赴國外出差或研習心得報告

赴大陸地區出差或研習心得報告

出席國際學術會議心得報告

國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年  二年後可公開查詢

中 華 民 國 100 年 10 月 30 日

## 中文摘要

食藥用菇食藥用菇具有美味、營養、豐富的生理活性物質及功能性，是目前國內外開發保健食品非常重要的材料來源。食藥用菇類常因為經由熱水萃取出水萃物後會產生大量的殘渣，目前仍無任何經濟價值與開發，這些殘渣的細胞壁中含有豐富的幾丁質，且幾丁質含量在子實體中較菌絲體中豐富。利用這些食藥用菇殘渣萃取真菌糖幾丁聚糖，增加其有效成分存在的價值，對機能性食品及傳統食品的開發有相當大的幫助，因此對於食藥用菇殘渣萃取真菌糖幾丁聚糖所造成的安全性、呈味特性、生理活性物質、抗氧化性質及理化特性的影響必須加以評估。近年來受到矚目的食藥用真菌已顯示出其珍貴價值，包括抗氧化能力、抗肝毒性、抗腫瘤活性、抗癌作用、抗血管增生及抗發炎等生理活性，尤其是抗腫瘤方面。因此本研究針對真菌糖幾丁聚糖之生理活性進行研究，並將之運用添加於點心製品製作。本研究針對較具代表性的巴西磨菇 (*Agaricus blazei*)、香菇 (*Lentinula edodes*) 及靈芝 (*Ganoderma lucidum*) 等食藥用菇的殘渣，萃取製備真菌糖幾丁聚糖應用於生理活性分析及健康點心製作，發現不論是巴西磨菇、香菇及靈芝殘渣所製備之糖幾丁聚糖在理化性質分析中以巴西磨菇之糖幾聚糖去乙醯度較高，抑菌效果較佳。在抗氧化性質部分以靈芝糖幾聚糖>巴西磨菇糖幾聚糖>香菇糖幾聚糖;抗致突變部分則以靈芝糖幾聚糖>香菇糖幾聚糖>巴西磨菇糖幾聚糖;利用食藥用菇糖幾丁聚糖粉末製成之點心接受度則以香菇糖幾聚糖>巴西磨菇糖幾聚糖>靈芝糖幾聚糖。

關鍵字:糖幾丁聚糖、抑菌活性、抗氧化質、抗致突變性

## Abstract

Edible and medicinal mushrooms that are palatable, nutritious, functionally effective and rich in physiologically active substances currently are the quite important source of materials for the development of health foods. After hot water extraction, large quantity of edible and medicinal health mushrooms residue was left, has no economical value and exploitation, which was rich in chitin, far abundant from mycelia. Using the fungal glucochitosan to enhance the value of edible and medicinal mushrooms residue, the research and development of functional and conventional foods is greatly facilitated. Therefore, the influences on the safety, taste characteristics, the presence of physiologically active substances, antioxidant properties and physicochemical properties of edible and medicinal mushrooms residue as result of the application of fungal glucochitosan form edible and medicinal mushrooms residue are areas of investigation. The precious values of this Edible and medicinal mushrooms are its antioxidant, anti-hepatotoxic, anti-tumor, anti-cancer, anti-angiogenic and anti-inflammatory activities. Accordingly, the research proposed herein for the designed to study further the physiologically active and pastry and rice snack products for fungal glucochitosan. The information obtained can be used for the development of new health foods. The research proposed herein focuses on the three representative edible and medicinal mushrooms residue such as *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum*. The was studied in order to evaluate the possibility of application of physiologically active and pastry and rice snack products on fungal glucochitosan form edible and medicinal mushrooms residue. The degrees of N-deacetylation of chitosans the DD increased with prolonged reaction times for 3 and 5 hars, respectively. The DD were 79.46-88.25% of glucochitosan for *Lentinula edodes*, 68.11-82.18% for *Ganoderma lucidum* and 80.32-90.26% for *Agaricus blazei*. The antibacterial activities of glucochitosan were in the order of *Agaricus blazei* > *Lentinula edodes* > *Ganoderma lucidum*. Using the conjugated diene method, fungal glucochitosan were good in antioxidant properties. Regardless of chitosans were good in antioxidant properties. No toxicity or mutagenicity was found in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 was observed at 0.05-5 mg/plate of glucochitosans for *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum*. The difference of glucochitosans the DD were good in antimutagenic effect against NQNO.

Keywords: glucochitosan, antibacterial activity, antioxidant properties, antimutagenic properties

## 一、前言

食藥用菇因其營養豐富、味道鮮美及高保健功效等特點而逐漸被國內外研究單位及市場所重視，而被譽為21世紀的天然保健食品和21世紀的主要食品之一。近年來，全球食藥用菇生產量以每年12%的速度增加，食藥用菇產品已成為國際市場的大宗貿易商品。食藥用菇不僅具有增強免疫、調節血脂等功效，且具有味美可口、營養豐富等營養、嗜好特性，是良好的天然保健食品。在營養性方面，食藥用菇食品本身含有豐富的蛋白質、較低的脂肪、人體必需胺基酸、豐富的礦物質、多醣體、三萜類及真菌溶菌酶等成分，多數食藥用菇是天然的美味食品，同時食藥用菇中的蛋白質將成為二十一世紀蛋白質的主要來源之一。

功能性方面，食藥用菇食品具有的特殊營養成分決定了其保健功能。多醣體具有調節免疫功能、抗衰老、抗疲勞、降血糖及降血脂等生理功能。皂苷、多酚和黃酮類等微量元素活性成分對降血脂效果明顯。自由基清除劑，具有清除自由基的作用。有機硒、鋇等豐富的微量元素，有機硒具有阻止疾病發展、延緩細胞衰老從而延長人類壽命的奇特效應，有機鋇具有明顯的促進新陳代謝和血液通暢、增強吸收氧能力、抵抗腫瘤活性的作用。固醇類的功能相當多包括：ergosterol 在人體中可轉化為維生素D<sub>2</sub>，預防骨質疏鬆的發生； $\beta$ -sitosterol 可降低人體膽固醇的含量、防止前列腺疾病、抗癌、類激素功能、抗發炎、免疫及可能具有防止胃潰瘍、抗細菌、抗霉菌等作用。目前較具代表性的食藥用菇包括國內正流行的巴西磨菇 (*Agaricus blazei*)，具有抗腫瘤效果、抗癌作用、預防癌症效果、降血糖作用、降血壓、降膽固醇及動脈硬化的改善等功能，近年來已成國內外走紅的保健食品；最常食用的香菇 (*Lentinula edodes*)，具有特殊呈味物質、抗腫瘤效果、抗病毒活性、抗血栓活性及降膽固醇等活性，是傳統的食藥用菇，其香菇柄大多只作為素食材料；食用歷史做久的靈芝 (*Ganoderma lucidum*)，具有抗腫瘤效果、抗癌作用、預防癌症效果、降血糖作用、穩定血壓、抗血栓活性、降膽固醇及動脈硬化的改善等功能，但其加工後所剩的靈芝渣，卻鮮少被利用。因此廢棄物的再利用就是現今資源開發重要的課題。

## 二、研究目的

1. 探討真菌殘渣製備之糖幾丁聚糖安全性評估。
2. 探討真菌殘渣製備糖幾丁聚糖之理化特性的改變之分析。
3. 探討真菌殘渣製備糖幾丁聚糖抑菌的可能性之評估。
4. 探討完成殘渣製備糖幾丁聚糖添加食品中呈味特性影響之評估。
5. 探討真菌殘渣製備糖幾丁聚糖添加食品中抗氧化性質的之評估。
6. 探討真菌殘渣製備糖幾丁聚糖添加食品中生理活性物質之分析。

### 三、文獻探討

幾丁質廣存於自然界中，為天然且無毒之物質，一般市售幾丁質與幾丁聚醣大部分是由蝦蟹殼所萃取的物質，蝦蟹殼是屬於廢棄物，近年來生物技術的發展，可將這類廢棄物再生利用，不但可解決地球生態問題，更可將幾丁質產品應用在醫藥、化工、環保、食品、農業等領域（徐，2001）。幾丁聚醣之抑菌作用：微生物之增加及其生理性質，易受周遭環境因子之影響。微生物與其他生物一樣，有其生活適合與否的環境。這與微生物之種類有關，掌握這些環境因子人們可以控制微生物。幾丁聚醣具有明顯抑菌作用，其抗菌力受到黏度及去乙醯度所影響，黏度越低，去乙醯度越高者抗菌力越大。此外抗菌效果與pH 值有關，酸性時所含胺基成陽離子狀故抗菌力強，在中性及鹼性環境時抗菌力減弱，因此幾丁聚醣為陽離子型的高分子且具有抗菌效果。

由於幾丁聚醣具有抑制微生物的作用，同時幾丁聚醣本身可形成半透明膜，可以控制氣體進出的速率，而鈣離子的添加還可以改變幾丁聚醣膜的通透性，針對相同去乙醯度幾丁聚醣而言，鈣離子添加愈多，幾丁聚醣溶液黏度愈低，同樣地鈣離子的添加也使幾丁聚醣膜的抗張強度下降，但延伸率增加。由幾丁質衍生物所製出之天然保鮮劑無毒、成本低且操作容易等特性，而化學保鮮劑消費者對其有毒性的疑慮，相較之下，幾丁質應用在蔬果保鮮上是一個不錯的選擇。

Tsai and Su (1999) 研究，單純只利用幾丁質的形態對常見病原菌、腐敗菌與真菌並無抑制的功效，若將幾丁聚醣比較去乙醯度之抑菌作用，50%、75%與95%，則隨去乙醯度之增加而幾丁聚醣抑菌作用增大，去乙醯度達95%者對常見食品病原菌如 *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* 及致病性酵母菌 *Candida albicans* 之 minimal lethal concentrations 抑菌最低濃度在 50~200 ppm。

食藥用菇菌類之生理活性物質中，常被學者研究的為靈芝之多醣體與三萜類（如靈芝酸等物質）（陳等，1996）及香菇子實體所含之香菇嘌呤（eritadenine）與巴西磨菇等具有抗腫瘤、降血膽固醇等成分（Kabir et al., 1988; Breene, 1989），而藥用植物中已有許多具有降血糖功能，且其主要成分為多醣體（Tomoda et al., 1990），因此，開發食藥用菇類作為機能性食品保健成分來源之研究，日益受到重視。

近年來亦有許多文獻指出香菇 (*Lentinula edodes*)、靈芝 (*Ganoderma tsugae*)、舞菇 (*Grifola frondosa*)、木耳 (*Auricularia auricular-judae*)、巴西磨菇等菇類具有生物活性。從菇類子實體或菌絲體的萃取液中，可得到的藥效成分包括多醣類 (polysaccharides)、三萜 (triterpenoids)、蛋白質 (proteins)、核酸 (nucleic acids)、固醇類 (steroids)、幾丁質 (chitin) 及不消化性多醣 (食用纖維) 等，如多醣類其藥效即是抗腫瘤活性 (Miyazaki and Nishijima, 1981; Ukai, 1982)，能增強免疫機能的一種生物反應修飾劑 (biological response modifier, BRM)。菇類多醣依來源不同，分成子實體、菌絲體及發酵濾液。

另外，食藥用菇類或其代謝產物在醫療上的生理活性表現，主要有下列功能（徐，1997）：

1. 抗癌作用，如豬苓多醣抑制肺癌轉移；猴頭菇多醣在治療胃癌及食道癌方面有其一定的功效。
2. 對心血管系統作用，如靈芝可以降低小鼠整體的耗氧量，提高缺氧能力。
3. 對肝臟作用，香菇多醣對慢性病毒性肝炎有一定的治療效果；靈芝能促進肝細胞蛋白質的核酸合成。
4. 對神經系統的作用，小刺猴頭菇對中樞抑制劑有協同作用，對中樞興奮劑有對抗的功能。
5. 抗炎作用，如銀耳有抗炎作用。

## 四、研究方法

### (一)、全性分析

#### 1. 毒性試驗

取0.1 ml 萃提取物及0.1 ml 磷酸緩衝液和0.1 ml 經隔夜培養於oxid nutrient broth No.2 之*Salmonella typhimurium* TA97、TA98、TA100 及TA102 菌種於試管中，加入0.5 ml S9 混合物或代替的磷酸緩衝液，於37°C 下預培養20 分鐘後，取混合液稀釋至 $2-3 \times 10^3$  個菌/ml，再取，1 ml 稀釋液於plate 中，加入nutrient agar 搖勻，凝固後將plate 於37°C 培養箱培養48 小時後計算其菌落數。

#### 2. 致突變性分析

致突變性分析採用Maron 和Ames(1983)所提出的方法進行。取適當濃度的萃提取物0.1 ml 及0.1 ml 磷酸緩衝液以及0.1 ml 經隔夜培養於oxid nutrient broth No.2 之*typhimurium*TA97、TA98、TA100 及TA102 菌種於試管中，加入0.5 ml S9 混合物或代替的磷酸緩衝液，於37°C 下預培養20 分鐘後，再加入2 ml 45°C 的molten top agar (含0.05 mM L-histidine、0.05 mM biotin及0.09 M NaCl)，混勻後倒入glucose minimal agar plate，將plate 於37°C 培養箱培養48 小時後計算其菌落數。另外再以不加萃提取物改以磷酸緩衝液 (pH 7.4) 代替做一對照組。

#### 3. 抗致突變性試驗

##### (1)、標準致突變劑溶液之製備

本試驗使用之三種，致突變劑中，IQ 及B[a]P 皆需經肝臟酵素系統代謝活化後才具有致突變性；而NQNO 則不需活化即具有致突變性。各種標準致突變劑分別溶於dimethyl sulfoxide (DMSO)，並稀釋至適當濃度。其濃度分別如下：IQ 為；1 g/ml；B[a]P 為500 g/ml；NQNO 為1 g/ml。

##### (2)、抗致突變試驗方法

本試驗方法主要依照Ames test 之方法進行，選用偵測因鹽基替換 (base-pair) 變異之TA100菌株，及偵測架構轉移 (frameshift) 變異之TA98 菌株進行抗致突變試驗 (Maron and Ames, 1983)。

### (二)、真菌糖幾丁聚醣之食品病原菌抑菌分析

配製Nutrient broth (NB)溶液(含有0.5 % NaCl, 1.0 % histidine-HCl, 0.0005 % pyridoxal-HCl)，加入各種不同濃度的樣品，並調整pH 為5.9 後於121°C, 15 min 進行滅菌(Tsai *et al.*, 2002)。將*Bacillus cereus*、*Bacillus subtilis*、*Escherichia coli*、*Listeria monocytogenes*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Salmonella typhimurium*、*Staphylococcus aureus*之菌株接種於含不同濃度樣品之NB中(使菌數達 $10^6$  CFU/mL)，分別在35 °C，以120 rpm 震盪培養，設定時間24、48 和96小時，取樣並測定細菌數。並於設定時間內各取不同濃度之樣品之NB，以0.1 % peptone water 進行一連串稀釋，取0.1 mL 在含有0.5 % NaCl 的PCA agar 上塗抹，並於35 °C 培養48小時後再計數其細菌量。

### (三)、機能性點心製品製備

將利用麵粉及米穀粉，分別加入不同比例之不同去乙醯度之真菌糖幾丁聚醣，製成不同的點心，並將製品分別儲存於室溫、冷藏與冷凍，儲存時間分為0、1、3、7、14天，經復熱後，即得不同儲藏溫度及時間之點心製品，測其抑菌活性、生理機能性、品質及質地的改變，另一則經冷凍乾燥後，即得不同儲藏溫度及時間之乾燥米食製品並進行理化性質分析。

### (四)、抗氧化特性分析

1、抗氧化力之測定(共軛雙烯法) (Lingnert *et al.*, 1979)

2、還原力測定 (Oyaizu, 1986)：

3、捕捉1,1-二苯基-2-苦味肼基團 (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl, DPPH) 能力之測定 (Shimada *et al.*, 1992) :

4、螯合亞鐵離子之測定 (Dinis *et al.*, 1994) :

(五)、機能性點心製品之質地與品質分析

1. 食品質地之輪廓分析 (texture profile analysis) (TPA) (Kadan *et al.*, 2001)

2. 感官品評(姚, 1993; 1994)

(六)、統計分析

本研究之實驗數值均為三重複，以統計分析系統Statistical Analysis System (SAS) 軟體進行統計分析，以ANOVA 程序作變異分析，並且以Duncan's Multiple Range tests作顯著性差異的比較 ( $P < 0.05$ )。

## 五、結果與討論

本計畫為兩年期計畫，於計畫中依照每年預期之進度完成結果如下:

第一年、完成之工作。

- (1) 完成食藥用菇之真菌糖幾丁聚糖的最佳萃取條件。
- (2) 完成真菌糖幾丁聚糖安全性評估。
- (3) 完成真菌糖幾丁聚糖之理化特性的改變之分析。
- (4) 完成真菌糖幾丁聚糖可能造成的氧化破壞之探討。
- (5) 完成真菌糖幾丁聚糖於抑菌的可能性之評估。

第二年、完成之工作項目。

- (1) 完成真菌糖幾丁聚糖於添加食品中抗氧化性質的之評估。
- (2) 完成真菌糖幾丁聚糖於添加食品中生理活性物質之分析。

第一年之結果已於期中報告中撰寫完成，因此本報告針對第二年之研究結果加以討論。

一、糖幾丁聚醣及添加於食品之抗氧化性質分析

(一) 抗氧化力

利用共軛雙烯法測定真菌糖幾丁聚醣之抗氧化能力，在巴西蘑菇糖幾丁聚醣具有高抗氧化能力，當濃度在 1 mg/ml，巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣其抗氧化力為 70.4-81.4%，當濃度增加到 10 mg/ml 時，抗氧化能力隨之增加，結果如表 1 所示。

(二) 還原力

在 10 mg/ml 濃度時，巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣表現效果不佳 (表 2)。然而，隨著濃度增加還原力亦有上升之趨勢，整體而言還原力的效果並不佳，但是在加熱處理時間長，去乙醯度高的糖幾丁聚醣在還原力表現而言，具有較好的表現。

(三) 清除 1,1-二苯基-2-苦味肼基能力

在 1.0 mg/ml 濃度時，巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣之清除 DPPH 自由基能力分別為 80.44、76.75 及 77.98% (表 3)，在 10 mg/ml 濃度時清除 DPPH 自由基能力則不會隨之增強。

(四) 螯合亞鐵離子能力

在濃度 1.0 mg/ml 下，巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣對亞鐵離子之螯合能力高達 85.72~100.43%，而巴西蘑菇螯合亞鐵離子能力最佳，可能是因為去乙醯度高的原因。當濃度 10 mg/ml 時，螯合能力皆可高達 100%以上，隨著濃度增加而螯合能力亦增強 (表 4)。

## 二、糖幾丁聚醣及添加於食品之生理活性物質性質分析

### (一)、抗致突變性試驗

巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣由實驗已證實針對 *S. typhimurium* TA98 及 TA100 菌株不具毒性及致突變性，故進行巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣針對突變劑引起 *S. typhimurium* TA98 及 TA100 菌株致突變之影響研究。本研究使用二種致突變劑作測試，其中 4-nitro-quinoline-N-oxide (NQNO) 為直接致突變劑，其為親電子物質 (electrophiles) 可直接作用於蛋白質或核酸上，不需活化即具有致突變性；而 Benzo[a]pyrene (B[a]P) 為間接致突變劑，需要經肝臟酵素系統代謝活化後才會產生親電子物質，進而作用於蛋白質或核酸上導致突變發生或引發癌症，故實驗中須添加 S9 混合物以模擬動物肝臟酵素系統代謝。

巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣於濃度 0.05~5 mg/plate 下對 NQNO 在 *S. typhimurium* TA98 及 TA100 致突變性之抑制率隨著添加巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣濃度的上升，抑制率有逐漸上升的趨勢 (圖 1 及圖 2)，且乙醯度高則抑制率越高。

巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣對 B[a]P 引起 *S. typhimurium* TA98 致突變性中，所使用之 Benzo[a]pyrene (B[a]P) 本身結構不具毒性，但經人體或動物體內的酵素活化後，會衍生成致癌物質，故為間接致突變劑。由實驗結果知巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣對 B[a]P 引起 *S. typhimurium* TA98 致突變性具極佳之抑制效果，在低濃度 0.05 mg/plate 下，巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣抑制 B[a]P 致突變效果分別達 86.76、77.38 及 76.41%，當濃度 5 mg/plate，抑制率皆高達 100% 以上 (圖 3)。而在 *S. typhimurium* TA100 菌株系統，巴西蘑菇、靈芝及香菇柄糖幾丁聚醣更發揮強大抑制效果，其抑制 B[a]P 致突變效果在測試低濃度 0.05 mg/plate 下皆已達 88.48~115.26%；當濃度 5 mg/plate，抑制率皆高達 120% 以上 (圖 4)。

### (二)、糖幾丁聚醣應用於保健食品開發

1. 健鈣麵包(如圖 5)
2. 保骨糕(如圖 5)
3. 忘憂餅(如圖 5)



## 參考文獻

- 方紹威。1990。幾丁質與幾丁聚醣在廢水處理、生化、食品和醫藥上之研究發展現況。藥物食品檢驗局調查研究年報8: 20-30。
- 江晃榮。1996。新生技產品：幾丁質、幾丁聚醣（甲殼類）產業展望與現況。經濟部IT IS 叢書。台北，台灣。
- 江晃榮。1998。生體高分子（幾丁質、膠原蛋白）在食品工業上的應用。原料應用，150（6）：19-25。
- 林文源。1995。幾丁聚醣抗菌作用之研究。國立台灣大學食品科技研究所博士論文。台北，台灣。
- 食品分析方法手冊。1990。食品工業發展研究所。新竹，台灣。
- 姚念周。1993。感官科學的應用。食品工業。Vol. 25. p.66-69。
- 郭文怡。2001。烘焙產品的天然防腐劑幾丁聚糖。烘焙工業，p. 55-57。
- 陳彥霖。2000。幾丁質與幾丁聚醣在紡織工業上應用。食品工業32: 66-73。
- 曾裕琇。2004。自不同栽培方法所得松杉靈芝產物之生理活性評估。國立中興大學食品科學系博士論文。台中，台灣。
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. Assoc. Offic. Anal. Chemists, Washington, D. C.
- Baxter, A., Dillon, M., Taylor, K. D. A., & Roberts, G. A. f. 1992. Improved method for i.r. determination of the degree of N-acetylation of chitosan. *Inter. J. Biolo. Macrom.*, 14(6), 166-169.
- Davis, D. H. and Hayes, E. R. 1988. Determination of the degree of acylation of chitin and chitosan. *Meth. in Enzym.* 161:442-466.
- Hikino, H. and Mizuno, T. 1989. Hypo-glycemic actions of some heteroglycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Med.* 55: 385.
- Hirano, S., 1997. Application of chitin and chitosan. Ed. Goosen, M. F. A. Technomic Publishers. Tottori. P. 31-54.
- Hizukuri, S., Takeda, Y. and Maruta, N.( 1989) Molecular structures of rice starch. *Carbohydr. Res.* 189:227-235.
- Houston, D.F., (1967) High-protein flour can be made from all types of milled rice. *Rice J.*, 70:12.
- Howling, D. (1980). The influence of the structure of starch on its rheological properties. *Food Chem.* 6:51
- James, C. S. 1995. *Analytical Chemistry of Foods*. Chapman & Hall, London. 124-125.
- Kadan, R. S., Robinson, M. G., Thibodeaux, D. P. and Pepperman Jr, A. B. 2001. Texture and other physicochemical properties of whole rice bread. *J. Food Sci.* 66: 940-944.
- Kawagishi, H., Katsumi, R., Sazawa, T., Mizuno, T., Hagiwara, T. and Nakamura, T. 1989. Cytotoxic steroid from the mushroom *Agaricus blazei*. *Phytochem.* 27: 2777-2779.
- Kim, J., Marshall, M. R. and Wei, C. I. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 43: 2839-2845.
- Knorr, D., Wampler, J. P. and Teutonico, R. A. 1985. Formation of pyrazine by chitin pyrolysis.

- Kurita, K., Tomita, K., Tada, T., Nishimura, S. I. and Ishii, S. 1993. Reactivity characteristics of a new form of chitosan. *Polym. Bull.* 30: 429-433.
- Lei, L. S. and Lin, Z. B. 1993. Effects of Ganoderma polysaccharides on the activity of DNA polymerase alpha of splenocytes and immune function in aged mice. *Yao Hsueh Hsueh Pao (Acta Pharmaceutica Sinica)* 28: 557-582.
- Leung, M. Y. K., Fung, K. P. and Choy, Y. M. 1997. The isolation and characterization of immunomodulatory and antitumor polysaccharide preparation from *Flammulina Velutipes*. *Immunopharmacology* 35: 255-263.
- Muzzarelli, R. A. A. and Rocchetti, R. 1985. Determination of the degree of acetylation of chitosan by first derivative ultraviolet spectrophotometry. *Carbohydrate polymer.* 5: 461-472.
- Oyaizu, M. 1986. Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 35: 771-775.
- Park, E. J., Ko, G., Kim, J. and Sohn, D. H. 1997. Antifibrotic effects of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum*, glycyrrhizin, and pentoxifyline in rats with cirrhosis induced by biliary obstruction. *Biol. Pharm. Bull.* 20: 417-420.
- Shahidi, F., Vidana Arachchi, J. K. and Jeon, Y. J. 1999. Food applications of chitin and chitosan. *Trends in Food Sci. Technol.* 10: 37-51.
- Shi, X. and Dalal, N. S. 1991. Antioxidant behaviour of caffeine: efficient scavenging of hydroxyl radicals. *Food Chem. Toxic.* 29: 1-6.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agric Food Chem.* 40: 945-948.
- Su, C. H., Sun, C. S. Wei, J. S. Ho, H. O. Hu, C. H. and Sheu, M. T. 1999. Development of fungal mycelia as skin substitutes: Effects on wound healing and fibroblast. *Biomater.* 20: 61-68.
- Tomoda, M., Gonda, R., Kasahaara, Y. and Hikishi, H. 1986. Glycan structures of ganoderans B and C, hypoglycemic glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Phytochemistry* 25: 2817-1820.
- Tomoda, M., Shimizu, N., Gonda, R., Kanari, M., Yamada, H. and Hikino, H. 1990. Anti-complementary and hypoglycemic activities of the glycans from the seeds of *Malva verticillata*. *Planta Medica* 56: 168-170.
- Wang, G., Zhang, J., Mizuno, T., Zhuang, C., Ito, H., Mayuzumi, H., Okamoto, H. and Li, J. 1993. Antitumor active polysaccharides from the Chinese mushroom Songshan lingzhi, the fruiting body of *Ganoderma tsugae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 57: 894-900.
- Yang, T., and Zall, R. R. 1984. Chitosan membranes for reverse osmosis application. *J. Food Sci.* 49: 91-96.
- Zentz, F., Verchere, J. F. and Muller, G. 1992. Thermal Denaturation and Degradation of *Schizophyllan*. *Carbohydr. Polym.* 17: 289-297.

## 圖表

Table 1. Antioxidant activity of glucochitosans from *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum*.

Antioxidant activity (%)					
Amount (mg/ml)					
Sample	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0
<b>Glucochitosans</b>					
<i>A.blazei</i>	43.61±1.22C <sup>a</sup>	56.28±0.89C	81.41±0.41B	85.98±1.65B	88.38±1.12C
<i>L.edodes</i>	41.23±1.02D	46.64±0.76E	77.24±1.75CD	83.48±1.18BC	87.22±1.21C
<i>G.lucidum</i>	45.48±0.31B	55.37±1.22C	79.35±0.86C	86.56±1.37B	88.19±0.39C
Ascorbic acid	31.99±1.01E	51.32±1.11D	74.08±0.85D	77.00±0.96D	94.53±1.24B
BHA	89.21±1.01A	97.78±0.92A	100.05±0.89A	103.12±2.11A	107.31±1.89A
α-Tocopherol	88.91±2.01A	94.29±0.49B	98.58±1.85A	102.21±1.56A	108.20±0.89A

<sup>a</sup> Each value is expressed as mean ± SE (n = 3). Means with different capital letters within a column are significantly different (p < 0.05).

Table 2. Reducing power of glucochitosans from *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum*

Reducing power (Absorbance at 700 nm)					
Sample	Amount (mg/ml)				
	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0
Glucochitosans					
<i>A.blazei</i>	0.00±0.00D <sup>a</sup>	0.00±0.00F	0.33±0.01D	0.33±0.01D	0.49±0.02D
<i>L.edodes</i>	0.00±0.00D	0.11±0.01E	0.22±0.01E	0.34±0.01D	0.46±0.02E
<i>G.lucidum</i>	0.00±0.00D	0.28±0.01D	0.33±0.02D	0.43±0.01C	0.46±0.01E
Ascorbic acid	0.68±0.01B	0.86±0.02C	0.90±0.03C	0.99±0.02B	0.98±0.02C
BHA	0.96±0.01A	1.12±0.02A	1.14±0.02A	1.13±0.01A	1.15±0.02A
α-Tocopherol	0.45±0.01C	0.93±0.03B	1.02±0.01B	1.03±0.03B	1.09±0.02B

<sup>a</sup> Each value is expressed as mean ± SE (n = 3). Means with different capital letters within a column are significantly different (p < 0.05).

Table 3. Scavenging effect of glucochitosans from *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum* on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals

Sample	Scavenging effect (%) <sup>a</sup>				
	Amount (mg/ml)				
	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0
Glucochitosans					
<i>A. blazei</i>	0.50±0.01F <sup>a</sup>	18.23±0.13F	80.44±0.32A	81.63±0.25A	84.22±0.49A
<i>L. edodes</i>	0.76±0.04E	24.33±0.21E	76.75±0.59B	76.11±0.34C	80.15±0.56C
<i>G. lucidum</i>	1.73±0.18D	28.39±0.39D	77.98±0.92B	79.55±0.27B	83.42±0.37B
Ascorbic acid	35.41±0.21C	35.34±0.45C	36.17±1.21D	39.45±1.10F	44.26±0.45F
BHA	65.14±2.45B	66.28±1.19B	70.16±0.55C	73.88±0.67D	71.80±0.41E
α-Tocopherol	69.40±0.47A	69.78±0.62A	70.49±0.85C	70.71±2.01E	74.64±1.25D

<sup>a</sup> Scavenging effect (%) = [ ( A<sub>517 nm</sub> of control ) – ( A<sub>517 nm</sub> of sample ) / ( A<sub>517 nm</sub> of control ) ] × 100

<sup>b</sup> Each value is expressed as mean ± SE (n = 3). Means with different capital letters within a column are significantly different (p < 0.05).

Table 4. Chelating effect of glucochitosans from *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum* on ferrous ions

Sample	Chelating effect (%)				
	Amount (mg/ml)				
	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0
Glucochitosans					
<i>A. blazei</i>	27.36±0.03D <sup>a</sup>	48.36±0.43B	100.22±0.67A	105.36±0.43A	118.24±0.83A
<i>L. edodes</i>	34.17±0.13C	40.06±0.23C	85.32±0.28D	99.23±0.37B	108.73±0.43C
<i>G. lucidum</i>	37.36±0.13B	47.69±0.27B	95.41±0.27C	105.37±0.21A	116.65±0.44B
Citric acid	2.26±0.09E	2.75±0.22D	3.34±0.28E	4.60±0.17C	6.77±0.10E
EDTA	90.05±0.11A	97.64±0.21A	97.89±0.89B	99.48±0.09B	99.78±0.75D

<sup>a</sup> Each value is expressed as mean ± SE (n = 3). Means with different letters within a column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

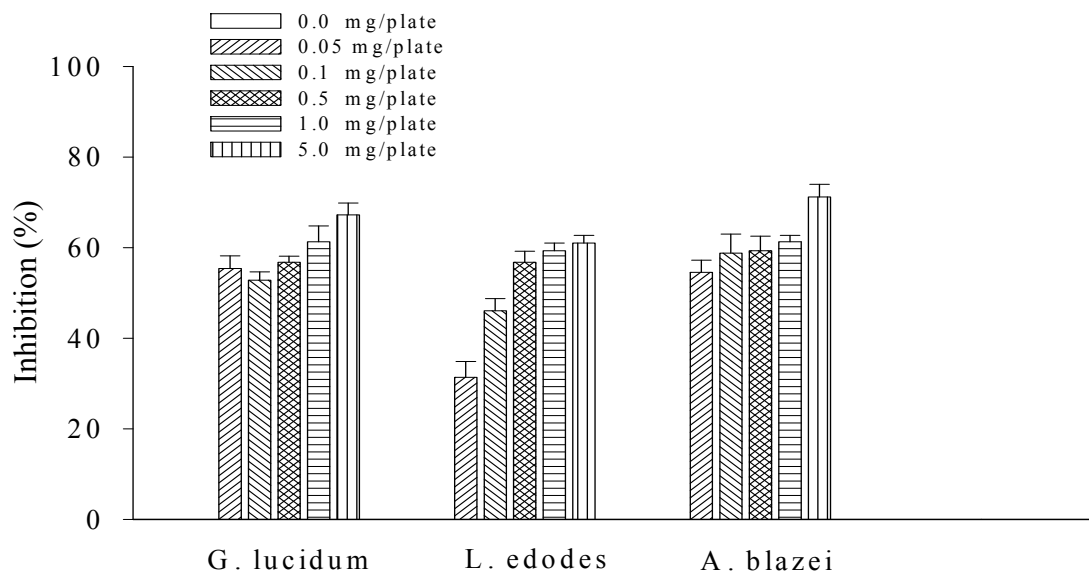


Figure 1. Effect of glucochitosans from *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum* on the mutagenicity of 4-nitro-quinoline -N-oxide (NQNO) to *Salmonella typhimurium* TA98. Each value is expressed as mean  $\pm$  SE (n = 3).

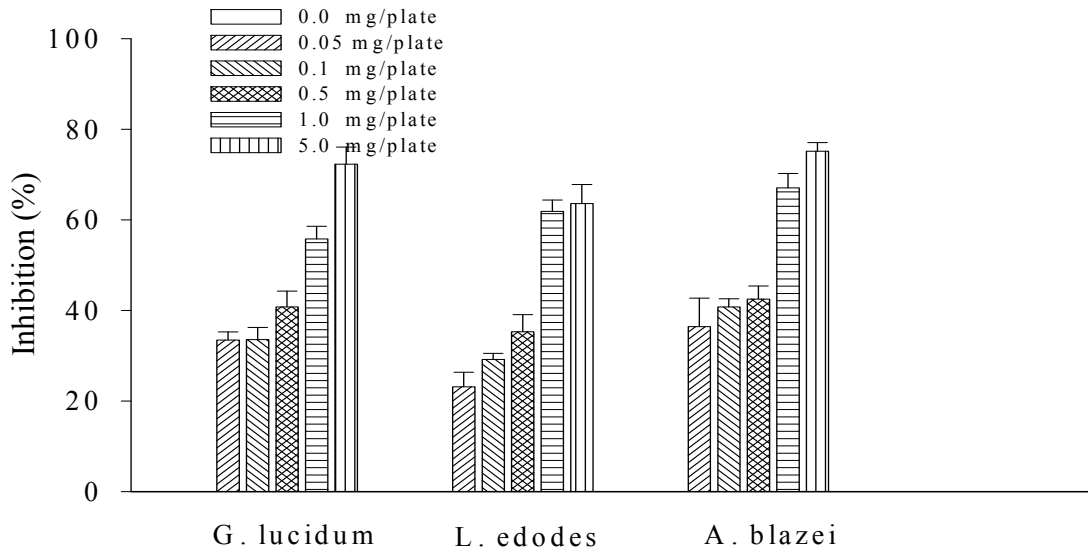


Figure 2. Effect of glucochitosans from *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum* on the mutagenicity of 4-nitro-quinoline -N-oxide (NQNO) to *Salmonella typhimurium* TA100. Each value is expressed as mean  $\pm$  SE (n = 3).



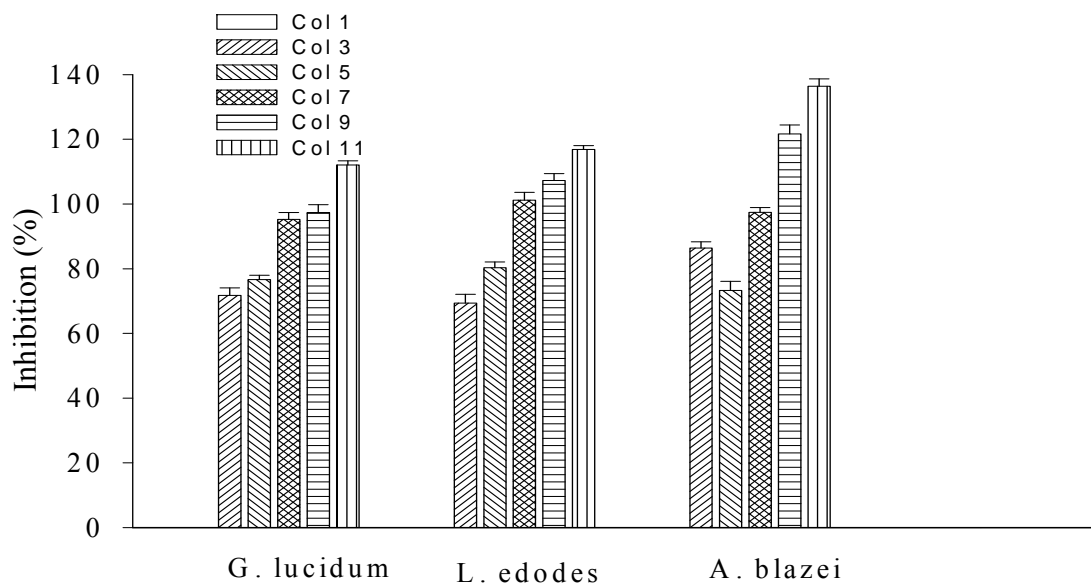


Figure 3. Effect of glucochitosans from *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum* on the mutagenicity of Benzo[a]pyrene to *Salmonella typhimurium* TA98. Each value is expressed as mean  $\pm$  SE (n = 3).

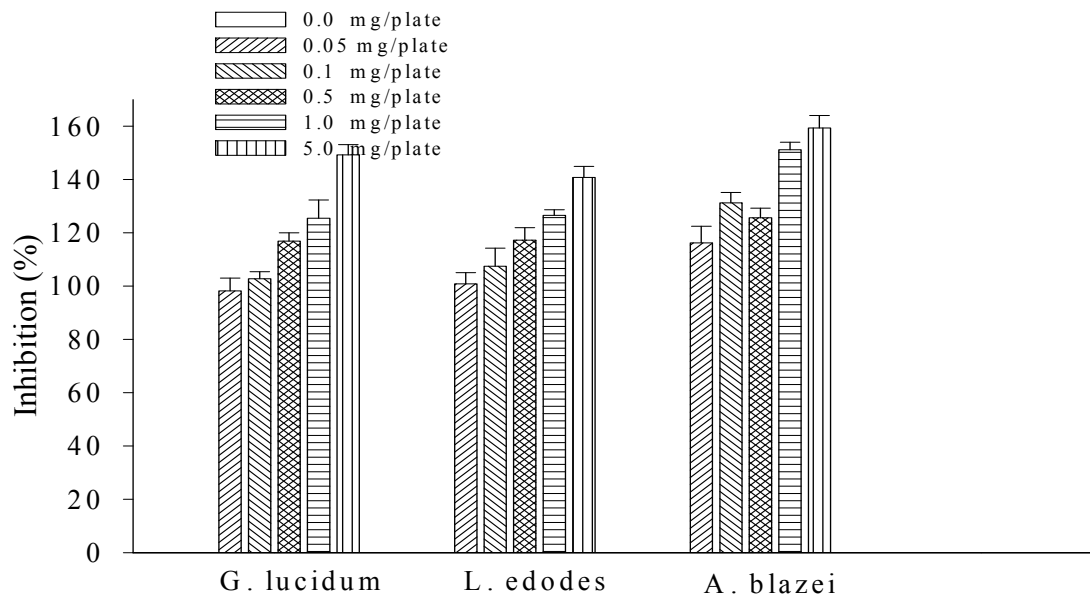


Figure. 4. Effect of glucochitosans from *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum* on the mutagenicity of Benzo[a]pyrene to *Salmonella typhimurium* TA100. Each value is expressed as mean  $\pm$  SE (n = 3).



Figure 5. 糖幾丁聚醣應用點心保健食品開發

## 國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

<p>1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 達成目標</p> <p><input type="checkbox"/> 未達成目標（請說明，以 100 字為限）</p> <p><input type="checkbox"/> 實驗失敗</p> <p><input type="checkbox"/> 因故實驗中斷</p> <p><input type="checkbox"/> 其他原因</p> <p>說明：</p>
<p>2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：</p> <p>論文：<input type="checkbox"/> 已發表 <input type="checkbox"/> 未發表之文稿 <input checked="" type="checkbox"/> 撰寫中 <input type="checkbox"/> 無</p> <p>專利：<input type="checkbox"/> 已獲得 <input type="checkbox"/> 申請中 <input checked="" type="checkbox"/> 無</p> <p>技轉：<input type="checkbox"/> 已技轉 <input checked="" type="checkbox"/> 洽談中 <input type="checkbox"/> 無</p> <p>其他：（以 100 字為限）</p>
<p>3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）</p> <p>1、對於學術研究、國家發展及其他應用方面預期之貢獻。</p> <p>研究結果可作為學術界及產業界之參考，以期能快速找到真菌糖幾丁聚糖的最佳萃取條件，並對真菌糖幾丁聚糖能有更深的瞭解，以便在開發時能事先作詳細規劃。在真菌糖幾丁聚糖及其應用於保健食品之安全性、理化特性的改變和應用於抑菌於研界結果中呈現是可行。</p> <p>2、所得之結果可做開發食藥用菇真菌糖幾丁聚糖於保健食品之參考，以期能在開發之前即能評估出可能造成的改變，事先預防或做改善措施。</p>