



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201507600 A

(43)公開日：中華民國 104 (2015) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：102129661

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 08 月 19 日

(51)Int. Cl.：

A01G1/04 (2006.01)

C12N1/14 (2006.01)

(71)申請人：東海大學(中華民國) TUNG HAI UNIVERSITY (TW)

臺中市西屯區臺灣大道 4 段 1727 號

綠茵生技股份有限公司(中華民國) GREENYN BIOTECHNOLOGY CO., LTD

(TW)

臺中市北區青島路 3 段 136 號

(72)發明人：楊芳鏘 YANG, FAN CHIANG (TW)；吳嘉利 WU, CHIA LI (TW)；紀亞辰 CHI, YA CHEN (TW)

(74)代理人：朱世仁

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：19 項 圖式數：7 共 24 頁

(54)名稱

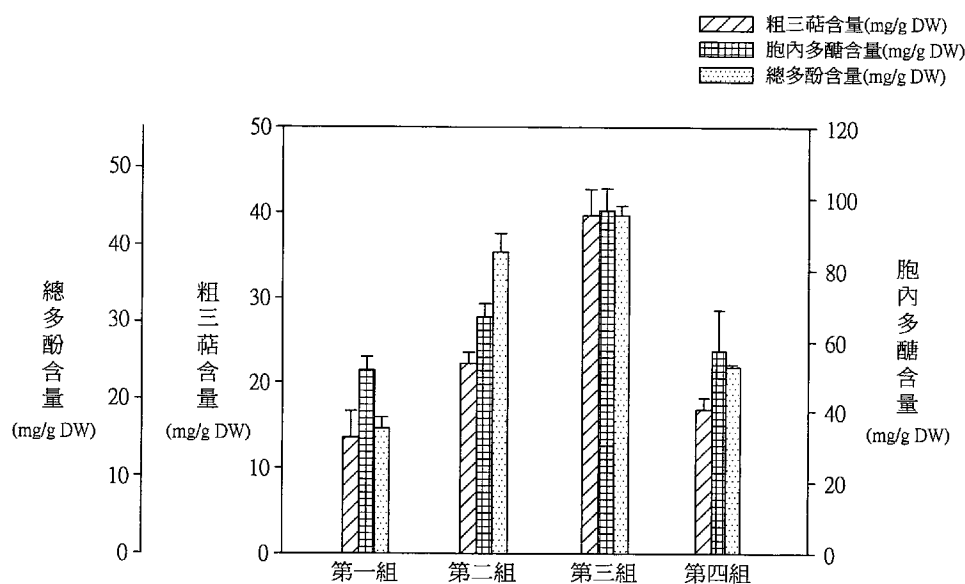
牛樟芝之培養方法

THE METHOD FOR CULTURING ANTRODIA CINNAMOMEA

(57)摘要

本發明所揭牛樟芝之培養方法，主要係透過光照波長改變，而使所培養出之牛樟芝內活性成份含量與種類量增加，並再藉由調整如培養基含水量、培養基之組成成份及其比例、培養溫度等環境因子，更得有助於提高牛樟芝內活性成份之含量與種類。

The invention discloses the method for culturing antrodia cinnamomea that can increase the contents and species of the bioactives from antrodia cinnamomea by regulating the light wave. Furthermore, by regulating the substrate compositions of culture medium or environmental conditions, it can be better to improve the contents and species of the bioactives from antrodia cinnamomea.



第一圖

201507600

發明摘要

※ 申請案號： 102129661

※ 申請日： 102. 8. 19

※IPC 分類： A01G 1/04 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

牛樟芝之培養方法

The Method for Culturing Antrodia Cinnamomea

【中文】

本發明所揭牛樟芝之培養方法，主要係透過光照波長改變，而使所培養出之牛樟芝內活性成份含量與種類量增加，並再藉由調整如培養基含水量、培養基之組成成份及其比例、培養溫度等環境因子，更得有助於提高牛樟芝內活性成份之含量與種類。

【英文】

The invention discloses the method for culturing antrodia cinnamomea that can increase the contents and species of the bioactives from antrodia cinnamomea by regulating the light wave. Furthermore, by regulating the substrate compositions of culture medium or environmental conditions, it can be better to improve the contents and species of the bioactives from antrodia cinnamomea.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 一 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

牛樟芝之培養方法

The Method for Culturing *Antrodia Cinnamomea*

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於真菌培養方法，特別係指一種牛樟芝之培養方法。

【先前技術】

【0002】 按，牛樟芝 (*Antrodia cinnamomea*) 又被稱為樟芝，係為台灣所特有種之真菌，主要生長於台灣山區海拔約450~1500公尺間之牛樟樹之腐朽心材內。近期研究指出牛樟芝營養價值極高，並具有許多生理活性，因此，牛樟芝乃成為目前十分珍貴之真菌，市場上之需求量亦日漸增加。更進一步而言，牛樟芝主要活性成份包含有多醣體、多酚類化合物及指標性產物三萜類 (triterpene)，其中，經研究發現多醣體乃可用以提昇免疫力以及具有抗腫瘤之效用；多酚類化合物被認為可作為生物體之還原劑，具有清除自由基抗氧化及抑制壞膽固醇氧化等能力，並且可阻斷癌細胞生長所需之酵素，達到抑制癌症之效果；三萜類被證明可促進癌細胞死亡、抑制肝癌細胞增值、修復肝臟、提昇肝臟機能、抗發炎、降血脂、降血壓、防止中風以及調節免疫等功能。然而，基於牛樟芝寄生之牛樟樹為保育類樹種，並且牛樟芝生長速度緩滿，故於自然環境中係無法取得大量之牛樟芝，因而如何獲得牛樟芝，及有效地提高牛樟之內活性成份含量乃係成為目前生醫產業之研究重點。

【0003】 隨著培養牛樟芝之方法及其使用之培養條件不同，所能夠獲得之活性成份亦隨之改變。目前主要生產牛樟芝培育方法係有液態培養法、固態培養法及椴木培養法，其中，液態培養法係將牛樟芝養於已調配好比例之碳源及氮源之液態培養基中，優點在於成本低，培養時間短，僅須約7~14天即可培育出牛樟芝，惟，所培養出之牛樟芝三萜含量低，且所含有之三萜係非野生牛樟芝所特有之三萜類；固態培養法係以天然穀物及水組成之固態培養基培育牛樟芝，並且藉由人工方式控制溫度、濕度，而使所培育出之牛樟芝具有較高含量之三萜類，惟，需要較長之培養時間，約3~6個月，且依據所使用之培養基不同，所培養出之牛樟芝所含有活性成份亦不相同，造成量產上品質不一，此外，亦無法涵蓋野生牛樟芝所特有之有效三萜類成份；椴木培養法乃係利用牛樟木作為培養基，具有可培養出與野生牛樟芝子實體相同成份之優點，輔以人工方式控制培養環境，得增加牛樟芝子實體品質之穩定性，惟，椴木培養法需要1~3年之培養時間，並由於牛樟樹為保育樹種而取得不易，使得培養成本增加且量產困難。

【0004】 而為兼顧牛樟芝內含活性成份之產量及生產成本，目前大多選擇以固態培養法養育牛樟芝，但目前技術仍有若干缺失，舉例來說，培養完成之牛樟芝與顆粒狀之固態培養基分離不易，後續應用則須連帶著培養基而使產品受到侷限；再者，所培養出之牛樟芝子實體較薄，內含之活性成份產量亦隨之減少。另亦有藉由改變牛樟芝液態培養時之光照波長以影響牛樟芝活性成份之含量，惟，藍光係僅能增加胞外多醣之含量，無法增加三萜含量，而紅光則對三萜含量有助益，卻無法影響胞外多醣含量。據此，目前仍無法提供一種培養牛樟芝之方法，能夠提高其活性成份之含

量，並有效控制生產成本。

【發明內容】

【0005】 本發明之主要目的係在於提供一種牛樟芝之培養方法，用以提昇牛樟芝內活性成份之含量與種類，其係將一種菌接種於一培養基中，以至少一培養條件進行培養，而該培養條件包含有一光照環境，而該光照環境乃選自由綠光及藍光所組成之群。

【0006】 其中：

【0007】 該光照環境之照光強度係介於 $1\mu\text{mol}/\text{s}\cdot\text{m}^2$ 至 $20\mu\text{mol}/\text{s}\cdot\text{m}^2$ ，而藍光強度以 $2\mu\text{mol}/\text{s}\cdot\text{m}^2$ 至 $16\mu\text{mol}/\text{s}\cdot\text{m}^2$ 為較佳；藍光強度以 $11\mu\text{mol}/\text{s}\cdot\text{m}^2$ 至 $20\mu\text{mol}/\text{s}\cdot\text{m}^2$ 為較佳。

【0008】 該培養條件係包含有一培養溫度，係為 $25^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 。

【0009】 該培養基係包含有一粉末狀基質及一水，該粉末狀基質係具有至少一五穀雜糧，如得為苦蕎麥粉、糙米粉、紅薏仁粉或至少二上述粉末以一定比例混合而成者。

【0010】 該粉末狀基質係以糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉混合而得者，其中，紅薏仁粉之含量係為最低，苦蕎麥粉之含量次之，糙米粉之含量最高；或紅薏仁粉之含量係為最低，糙米粉之含量次之，苦蕎麥粉之含量最高；具體來說，該粉末狀基質之組成比例係以紅薏仁粉為1，糙米粉為紅薏仁粉之10~2倍，苦蕎麥粉為紅薏仁粉之2~10倍者為較佳，例如糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉之組成比例組成比例為9：2：1。

【0011】 而該培養基之水含量係介於35~55%之間，又以水含量為35~50%者為較佳。

【0012】 該種菌係由打碎之牛樟芝菌塊所培養製備而成者，用以使菌球於可視狀態下均勻分配，有利於接種，以及可避免污染。

【0013】 更進一步而言，本發明所揭方法係包含有二培養條件，其中一培養條件係於一無光照環境下進行培養約15天，另一培養條件係於該光照環境下進行培養至少15天。

【0014】 其中，該培養條件之培養溫度係低於另該培養條件之培養溫度，具體來說，該培養條件之培養溫度係為25℃，另該培養條件之培養溫度係為25～35℃。

【0015】 藉由本發明所揭牛樟芝之培養方法，係得提昇牛樟芝內活性成份之含量與種類，降低栽培牛樟芝所需耗費之成本，而得大量量產及作為各種產品之原料，用以增加牛樟芝之經濟價值。

【圖式簡單說明】

【0016】 第一圖係以不同強度之綠光進行牛樟芝培養，測定各牛樟芝內之各活性成份含量之結果。

第二圖係以不同強度之藍光進行牛樟芝培養，測定各牛樟芝內之各活性成份含量之結果。

第三圖係以不同含水量之糙米粉末固態培養基進行培養，測定各牛樟芝內之各活性成份含量之結果。

第四圖係以不同含水量之苦蕎麥粉末固態培養基進行培養，測定各牛樟芝內之各活性成份含量之結果。

第五圖係以不同含水量之紅薏仁粉末固態培養基進行培養，測定各牛樟芝內之各活性成份含量之結果。

第六圖係以不同溫度變化培養牛樟芝，測定各牛樟芝內之各活性成份含量之結果。

第七圖係以不同組成比例之固態培養基進行培養，測定各牛樟芝內之各活性成份含量之結果。

【實施方式】

【0017】 本發明所揭牛樟芝之培養方法，主要係透過光照波長改變，而使所培養出之牛樟芝內活性成份含量與種類增加，並再藉由調整如培養基含水量、培養基之組成成份及其比例、培養溫度等環境因子，更得有助於提高牛樟芝內活性成份之含量與種類。

【0018】 須先說明於本發明說明書與申請專利範圍中所提及之名詞，然其僅為例示性之說明，並非用以侷限本發明說明書及申請專利範圍者。

【0019】 所謂培養基，係包含用以培養真菌類之液態培養基及固態培養基。

【0020】 所謂五穀雜糧，係指稻、黍、稷、麥、菽及堅果類，例如糙米、稻米、黃米、玉米、小麥、小米、大米、高粱、燕麥、大麥、蕎麥、大豆、綠豆、黃豆、紅豆、黑豆、核桃、薏仁、南瓜子等。

【0021】 以下，將透過若干實例並搭配圖式作更進一步說明如后。

【0022】 實例一：製備種菌

【0023】 本實例中所使用之牛樟芝菌株（BCRC 35396）係由台灣新竹食品工業發展研究之生物資料保存及研究中心所提供，於25℃下培養於斜面培養基中，直至牛樟芝菌絲長滿，其中，斜面培養基之組成係為2%葡

葡萄糖、2%麥精、0.1%蛋白分解物（Peptone）及2%膠體。

【0024】 取適量已長有牛樟芝菌絲體之斜面菌種移皆至牛樟芝平面培養皿培養基進行培養，至牛樟芝菌絲於平面培養皿中成長至半徑約3.5公分之圓形即為完成，其中，牛樟芝平面培養皿培養基之組成係如同斜面培養基。

【0025】 將上述以培養完成之平面培養皿培養基分為8等分，分別丟入已調配好之8瓶液態培養基中，其中，液態培養基之組成為2%葡萄糖、2%麥精、0.1%蛋白分解物。再將各該液態培養基之菌塊完全打碎，而後置於25℃、100rpm之培養箱中培養5天，以供下列實例之用。

【0026】 實例二：胞內多醣測定法

【0027】 將一待測樣品100毫克粉末與10毫升蒸餾水置於離心管中，進行滅菌，而後以8000rpm離心5分鐘，收集一上清液。將該上清液與95%酒精以體積比1：4之比例混合，於4℃冰箱靜置約24小時，用以使其內多醣體沈澱，再以8000rpm進行離心5分鐘，除去其上清液而獲得一沈澱物。將該沈澱物以氫氧化鈉回溶並稀釋，以酚-硫酸法（Phenol-sulfuric acid assay）測定胞內多醣濃度，其係將完成稀釋後之溶液與5%酚溶液混合，加入5毫升濃硫酸，混合10分鐘，再以25℃恆溫水浴槽反應15分鐘，以分光光度計測定於490nm波長下之吸光值，對照葡萄糖標準品濃度與其吸光值標準曲線即可得知該待測樣品之多醣濃度。

【0028】 實例三：總多酚含量測定

【0029】 取一代測樣品之菌絲體以固定倍數（1：20）之甲醇於50℃、130rpm之水槽內進行萃取反應約12小時，而後以8000rpm進行離心5分

鐘，得到一上清液。將該上清液加入6毫升2%之碳酸鈉均勻混合，再加入酚試劑（Folin-Clocalteu's phenol reagent）進行反應約30分鐘，而後以波長730nm測定其吸光值，比對已知濃度之標準沒食子酸（Gallic acid）檢量線，用以計算出該待測樣品之總多酚含量。

【0030】 實例四：三萜類含量測定

【0031】 取一代測樣品100毫克與50%乙醇3毫升於離心管中混合，以超音波震盪萃取30分鐘，再以8000rpm離心5分鐘。自離心管中取出上清液3毫升放入一樣品瓶中，再於離心管重複上述加入乙醇、萃取及離心等步驟，而後取出上清液3毫升加入該樣品瓶中。烘乾該樣品瓶中之上清液而成爲乾糙物，加入3毫升水回溶及3毫升氯仿，以超音波震盪萃取30分鐘，而取出其下層液體，並加入3毫升5%碳酸氫鈉，再以超音波震盪萃取30分鐘，進行酸鹼值調整至約2~3，取其下層液進行烘乾，加入2毫升飽和乙醇，以波長245nm測定吸光值，則可得之該待測樣品之三萜類含量。

【0032】 實例五：培養光照波長及強度分析

【0033】 先將糙米以磨粉機磨成粉末狀，取25公克糙米粉置於一玻璃平板上而與15公克水均勻混合，經滅菌後作爲用以培養牛樟芝之固態粉末培養基。將實例一中所培養完成之牛樟芝種菌，以5%接菌量均勻接至該固態粉末培養基中，封口後於25℃恆溫培養箱進行培養15天後，再進行照射光線。本實例中係依據照射光線波長不同而分爲四實驗設計組，其中，第一實驗設計組係照射綠光，第二實驗設計組係照射藍光；又各該實驗設計組係分別依具光線強度而分爲五組，其中，各該第一組係爲空白組，各該第二組之照光強度爲1~2 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ ，各該第三組之照光強度爲15~16

$\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ ，各該第四組之照光強度為19~20 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 。各組經照光培養15天後，分別收集各組所生長之牛樟芝，經過24小時烘乾，予以磨粉並且以實施二至四所揭方法測定各組牛樟芝中三萜類、總多酚以及胞內多醣之含量。各組重複上述流程三次，將各組牛樟芝各活性成份之含量經統計後之結果乃如第一圖至第二圖所示，其中，第一圖及第二圖依序分別為第一實驗設計組及第二實驗設計組所測得之結果。

【0034】 由第一圖之結果可知於第一實驗設計組中第二組至第四組之胞內多醣之含量分別為66.38 mg/g、96.55 mg/g及60.19 mg/g，總多酚含量分別為38.86 mg/g、43.71 mg/g及25.46 mg/g，粗三萜含量分別為22.28 mg/g、39.64 mg/g及17.81 mg/g；而由第二圖之結果可知第二實驗設計組中第二組至第四組之胞內多醣之含量分別79.78 mg/g、73.83 mg/g及41.61 mg/g，總多酚含量分別為27.46 mg/g、41.90 mg/g及29.09 mg/g，粗三萜含量分別為22.59 mg/g、22.39 mg/g、13.15 mg/g。更進一步來說，當以綠光強度為15~16 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 進行照射培養後，所得之總多酚含量係為未照光組之2.69倍，且粗三萜含量係為未照光組之2.92倍；當以藍光強度為15~16 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 進行照射培養後，所得之總多酚含量係為未照光組之2.53倍，且粗三萜含量係為未照光組之2.70倍。

【0035】 因此，整體來說，由第一圖及第二圖之結果顯示不論照射綠光或藍光，皆能提昇牛樟芝內活性成份之含量或種類，而照射藍光時，係以強度為2~16 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ ，所得之各活性成份含量最高；照射綠光時，係以強度為11~20 $\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ ，所得之各活性成份含量最高

【0036】 實例六：固態培養基含水量分析

【0037】 將分別以適量糙米粉末與相對比例之水於一培養容器中進行混合，製備而成一含水量為55%之糙米粉末固態培養基及一含水量為45%糙米粉末固態培養基，分別用以作為第一組及第二組。再分別於各組之固態培養基上接種5%種菌，進行培養3個月，並於培養至第3個月時將所生長之牛樟芝與其固態培養基分離，而藉由實例二至四所揭方法測定於各組所培養出牛樟芝內活性成份之含量，結果如第三圖所示。

【0038】 如同上述步驟分別製備不同含水量之苦蕎麥粉末固態培養基及以不同含水量之紅薏仁粉末固態培養基之牛樟芝培養，並且分別如同上述糙米粉末固態培養基依據其含水量分為第一組及第二組，而後進行於各組固態培養基進行牛樟芝培養，並測定各組於培養3個月所得牛樟芝內之活性成份含量，結果如第四圖及第五圖所示，其中，第四圖係為以不同含水量之苦蕎麥粉末固態培養基進行培養之結果，第五圖係為以不同含水量之紅薏仁粉末固態培養基進行培養之結果。

【0039】 由第三圖之結果可知，以含水量55%之糙米粉末固態培養基所培養出牛樟芝，其胞內多醣含量為2.42 mg/g，總多酚含量為46.38 mg/g，粗三萜含量為51.84 mg/g，而相較於此，以含水量45%之糙米粉末固態培養基所培養出牛樟芝，其內活性成份含量皆增加，胞內多醣、總多酚及粗三萜之含量分別為33.55 mg/g、41.60 mg/g及51.84 mg/g。

【0040】 由第四圖之結果可知，以含水量55%之苦蕎麥粉末固態培養基所培養出牛樟芝，其胞內多醣含量為5.01 mg/g，總多酚含量為33.90 mg/g，粗三萜含量為23.95 mg/g，而以含水量45%之苦蕎麥粉末固態培養基所培養而得之胞內多醣係為43.02 mg/g，總多酚為36.27 mg/g，粗三萜

之含量為44.82 mg/g，換言之，以含水量45%之苦蕎麥粉末固態培養基培養而得之各活性成份含量皆高於以含水量55%之苦蕎麥粉末固態培養基所培養而得者。

【0041】 由第五圖之結果可知，以含水量55%之紅薏仁粉末固態培養基所培養出牛樟芝，其胞內多醣含量為2.84 mg/g，總多酚含量為26.53 mg/g，粗三萜含量為8.41 mg/g，而相較於此，以含水量45%之紅薏仁粉末固態培養基所培養出牛樟芝內活性成份含量皆增加，胞內多醣、總多酚及粗三萜之含量分別為18.70 mg/g、28.20 mg/g及20.06 mg/g。

【0042】 由第三圖至第五圖之結果顯示於以含水量為45%之固態培養基進行牛樟芝培養所得之各活性成份含量係高於以含水量為55%之固態培養基進行牛樟芝培養所得者。

【0043】 實例七：培養溫度分析

【0044】 本實例中係共有三組實驗組，各組係先分別將糙米以磨粉機磨成粉末狀，取25公克糙米粉置於玻璃平板上，並以水調整其含水量為45%而形成一固態培養基，經滅菌後，再將實例一之種菌以5%接菌量接至各組固態培養基，而後各組依據不同培養溫度進行牛樟芝培養，其中，第一組係為以25℃恆溫培養室固態培養牛樟芝30天，第二組係先以25℃恆溫培養室固態培養牛樟芝15天，再以培養溫度30℃培養15天，第三組係先以25℃恆溫培養室固態培養牛樟芝15天，再以培養溫度35℃培養15天。收集完成培養之各組牛樟芝，以實例二至四所述方法測定各組牛樟芝內活性成份之含量，結果如第六圖所示。

【0045】 由第六圖之結果可知相較於第一組所得之各活性成份含

量，第二組及第三組所得之各活性成份含量皆較為增加。更進一步而言，第二組所得獲得之總多酚及粗三萜含量分別為23.27 mg/g及23.51 mg/g，係大幅高於第一組所得者；而第三組之胞內多醣含量（121.26 mg/g）乃較第一組所得之胞內多醣增加。因此，由第六圖之結果顯示於牛樟芝培養15天後將溫度升高至30~35℃得有助於提高其內活性成份之含量，又倘若要提昇總多酚及粗三萜之含量係將溫度調整為30℃進行培養較佳；倘若欲使胞內多醣之含量大幅增加則將溫度調整為35℃進行培養較佳。

【0046】 實例八：固態培養基組成分析

【0047】 首先，分別將糙米、苦蕎麥及紅薏仁予以磨製成粉末狀，而依據不同比例混合製備成為含水量為45%之固態培養基，共4組，其中，各組培養基所使用之各成份比例如下，第一組係僅使用糙米粉，第二組之糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉組成比例為5：2：1，第三組之糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉組成比例為7：2：1，第四組之糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉組成比例為9：2：1。將各組固態培養基滅菌後，將實例一之種菌以5%接菌量接至各組固態培養基中，進行牛樟芝培養3個月，以實例二至四所揭方法測定各組牛樟芝內活性成份之含量，結果如第七圖所示。

【0048】 由第七圖之結果可知第四組所測得之各活性成份含量皆高於其他三組，顯示第四組所使用之固態培養基之組成比例（糙米粉：苦蕎麥粉：紅薏仁粉=9：2：1）係有助提昇於牛樟芝內活性成份之含量。更進一步而言，由第七圖之結果可知以糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉混合製成之固態培養基中，紅薏仁粉所佔比例越低時，係越有助於提昇牛樟芝內粗三萜之含量。

【0049】 由上述各該實施例與實例之說明可知本發明所揭牛樟芝之培養方法係可透過光照來源及強度之控制，提昇所培養之牛樟芝內活性成份含量，而輔以其他培養條件之控制，如以二階段培養溫度之控制、培養基組成之調配、培養基之含水量等，更可加成牛樟芝內活性成份之含量。是以，藉由本發明所揭牛樟芝之培養方法係可使牛樟芝子實體厚度增加，有效提高其內活性成份之產量，且所培養完成之牛樟芝可與培養基完全分離，增加未來商業利用之價值與變化性。

【0050】 以上僅是藉由各該實施例詳細說明本發明，熟知該技術領域者於不脫離本發明精神下，而對於說明書中之實施例所做的任何簡單修改或是變化，均應為本案申請專利範圍所得涵攝者。

【符號說明】

【0051】 無

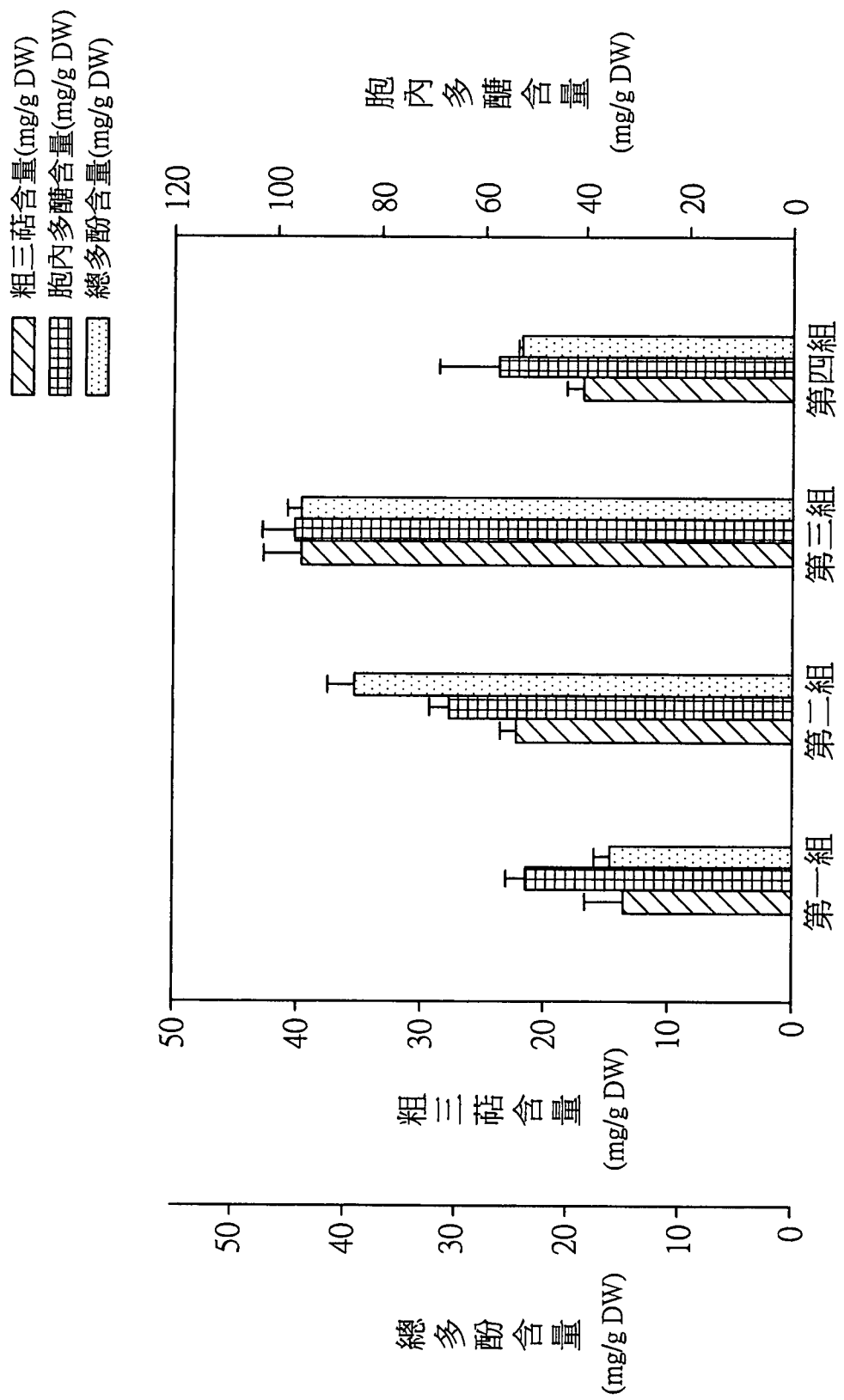
申請專利範圍

1. 一種牛樟芝之培養方法，其係將一種菌接種於一培養基中，以至少一培養條件進行培養，而該培養條件包含有一光照環境，而該光照環境乃選自由綠光及藍光所組成之群。
2. 依據申請專利範圍第 1 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該光照環境之照光強度係為 $1\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 至 $20\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 。
3. 依據申請專利範圍第 2 項所述牛樟芝之培養方法，其中，當光照環境為藍光時，該光照環境之照光強度係為 $2\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 至 $16\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 。
4. 依據申請專利範圍第 2 項所述牛樟芝之培養方法，其中，當光照環境為綠光時，該光照環境之照光強度係為 $11\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 至 $20\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 。
5. 依據申請專利範圍第 1 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養條件更包含有一培養溫度，係為 $25^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 。
6. 依據申請專利範圍第 1 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養基係包含一粉末狀基質及一水。
7. 依據申請專利範圍第 6 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該粉末狀基質係具有至少一五穀雜糧。
8. 依據申請專利範圍第 7 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該粉末狀基質係選自於由苦蕎麥粉、糙米粉及紅薏仁粉所組成之群。
9. 依據申請專利範圍第 8 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該粉末狀基質係由苦蕎麥粉、糙米粉及紅薏仁粉以一預定比例所組成。
10. 依據申請專利範圍第 9 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該粉末狀

基質中紅薏仁粉之含量係為最低，苦蕎麥粉之含量次之，糙米粉之含量最高。

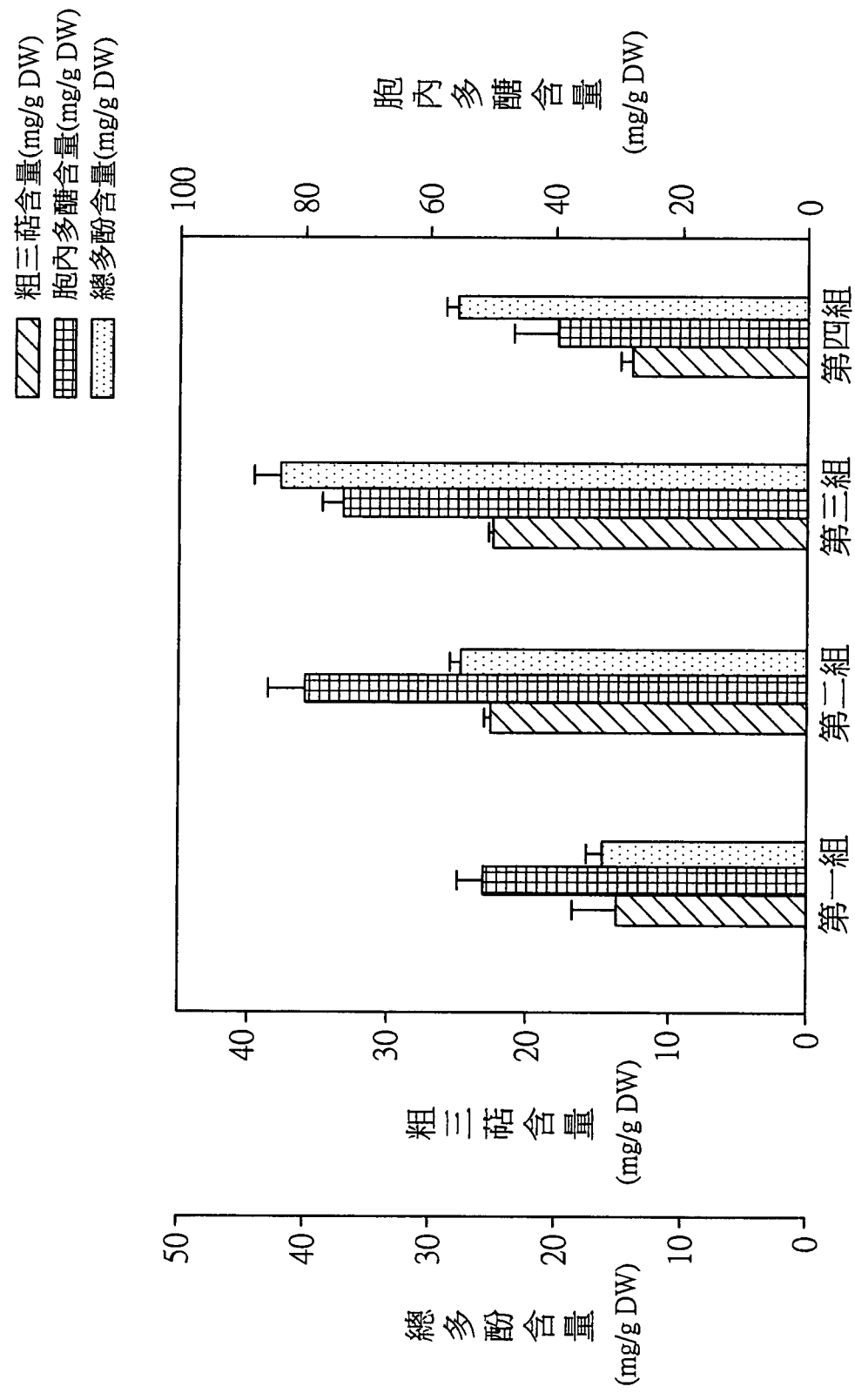
11. 依據申請專利範圍第 9 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該粉末狀基質中紅薏仁粉之含量係為最低，糙米粉之含量次之，苦蕎麥粉之含量最高。
12. 依據申請專利範圍第 9 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該粉末狀基質之組成比例係以紅薏仁粉為 1，糙米粉為紅薏仁粉之 10~2 倍，苦蕎麥粉為紅薏仁粉之 2~10 倍者為較佳。
13. 依據申請專利範圍第 12 項所述牛樟芝之培養方法，其中，糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉之組成比例為 9：2：1。
14. 依據申請專利範圍第 6 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養基之水含量係為 35~55%。
15. 依據申請專利範圍第 14 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養基之水含量係為 35~50%。
16. 依據申請專利範圍第 1 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該種菌係由打碎之牛樟芝菌塊所培養而得。
17. 依據申請專利範圍第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 項所述牛樟芝之培養方法，其係包含二培養條件，而其中一培養條件係於一無光照環境下進行培養 15 天，另一培養條件係於該光照環境下進行培養至少 15 天。
18. 依據申請專利範圍第 14 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養條件之培養溫度係低於另該培養條件之培養溫度。

19. 依據申請專利範圍第 15 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養條件之培養溫度係為 25℃，另該培養條件之培養溫度係為 25～35℃。

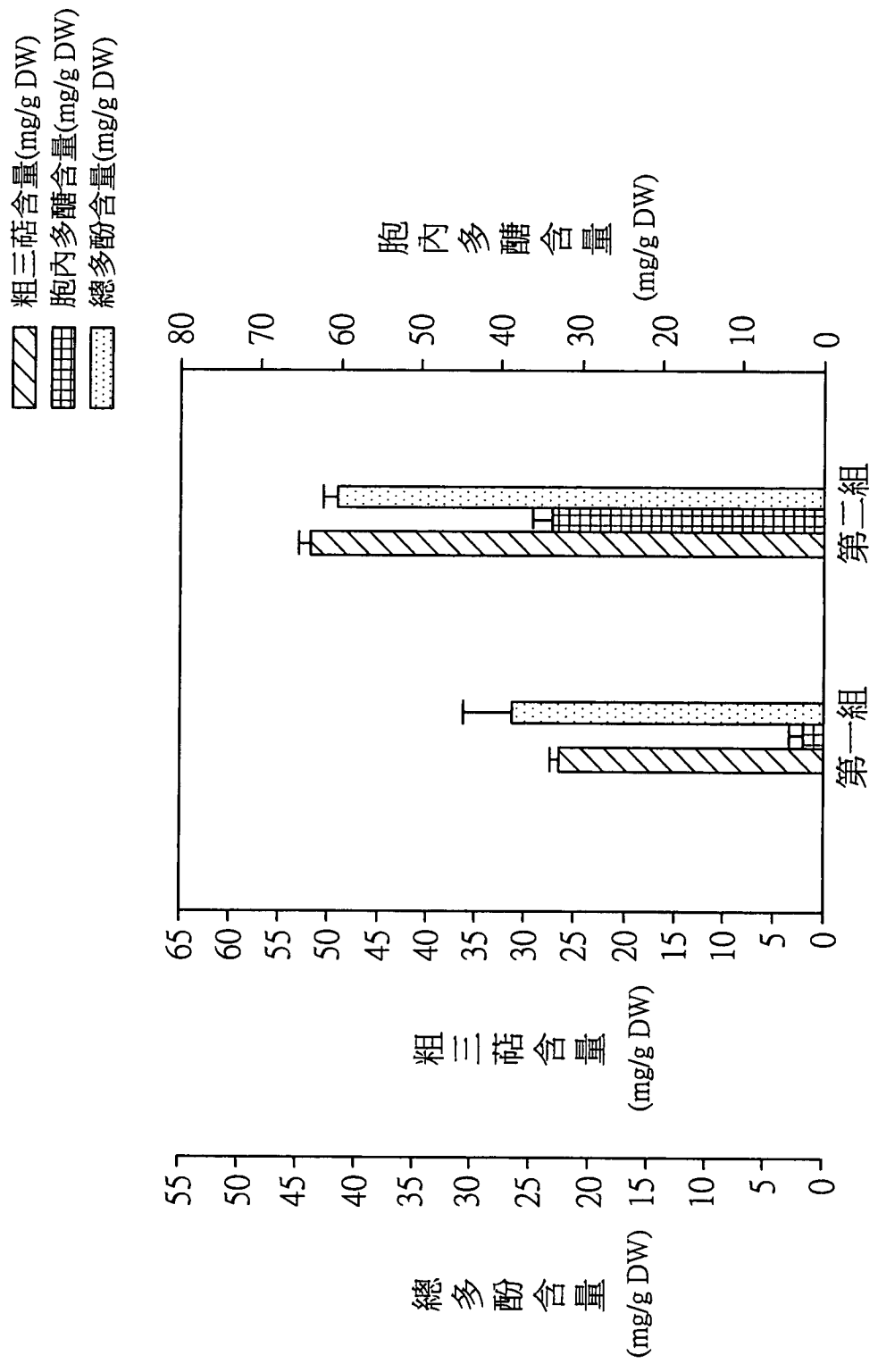


圖式

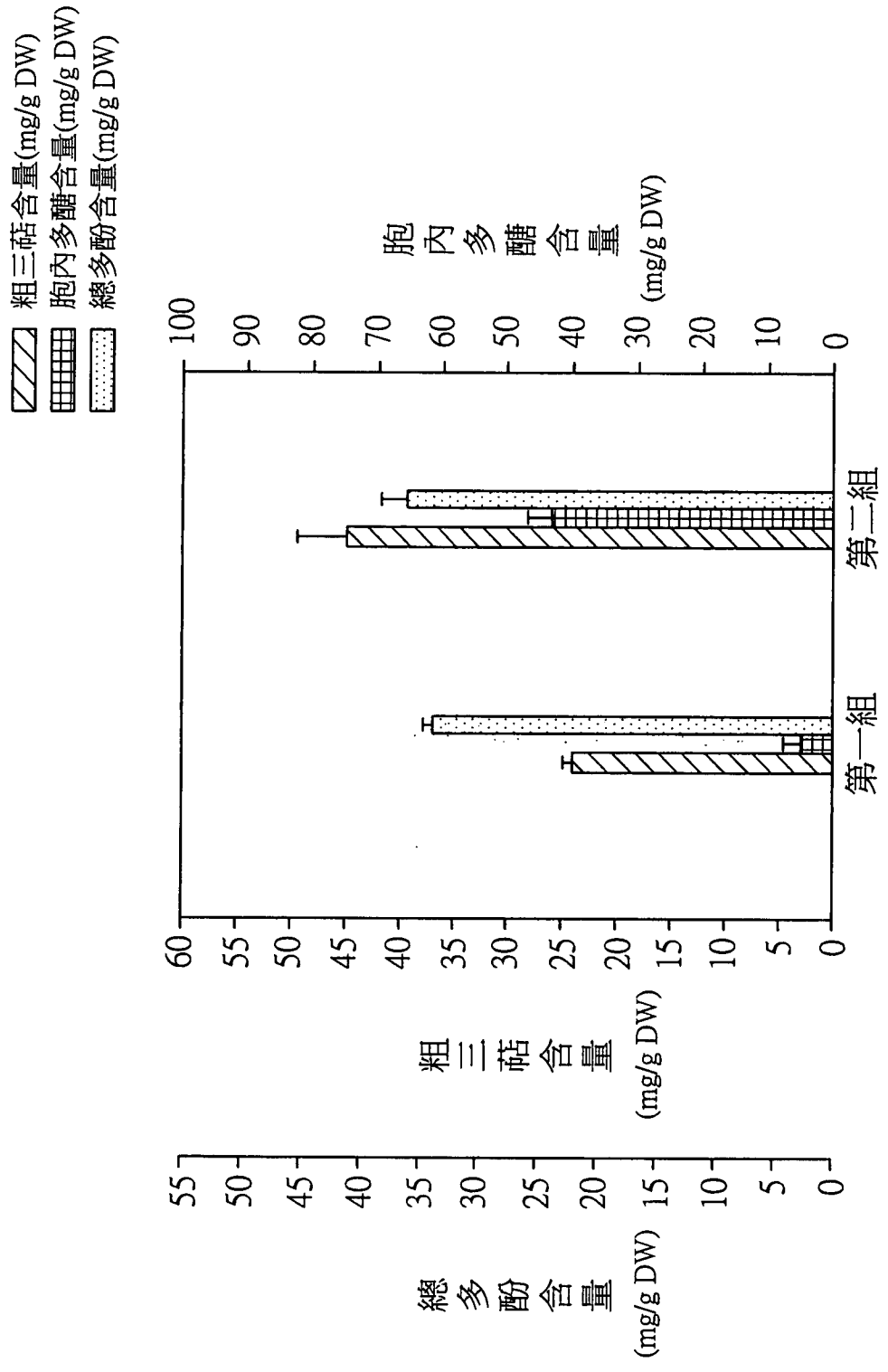
第一圖



第二圖



第三圖

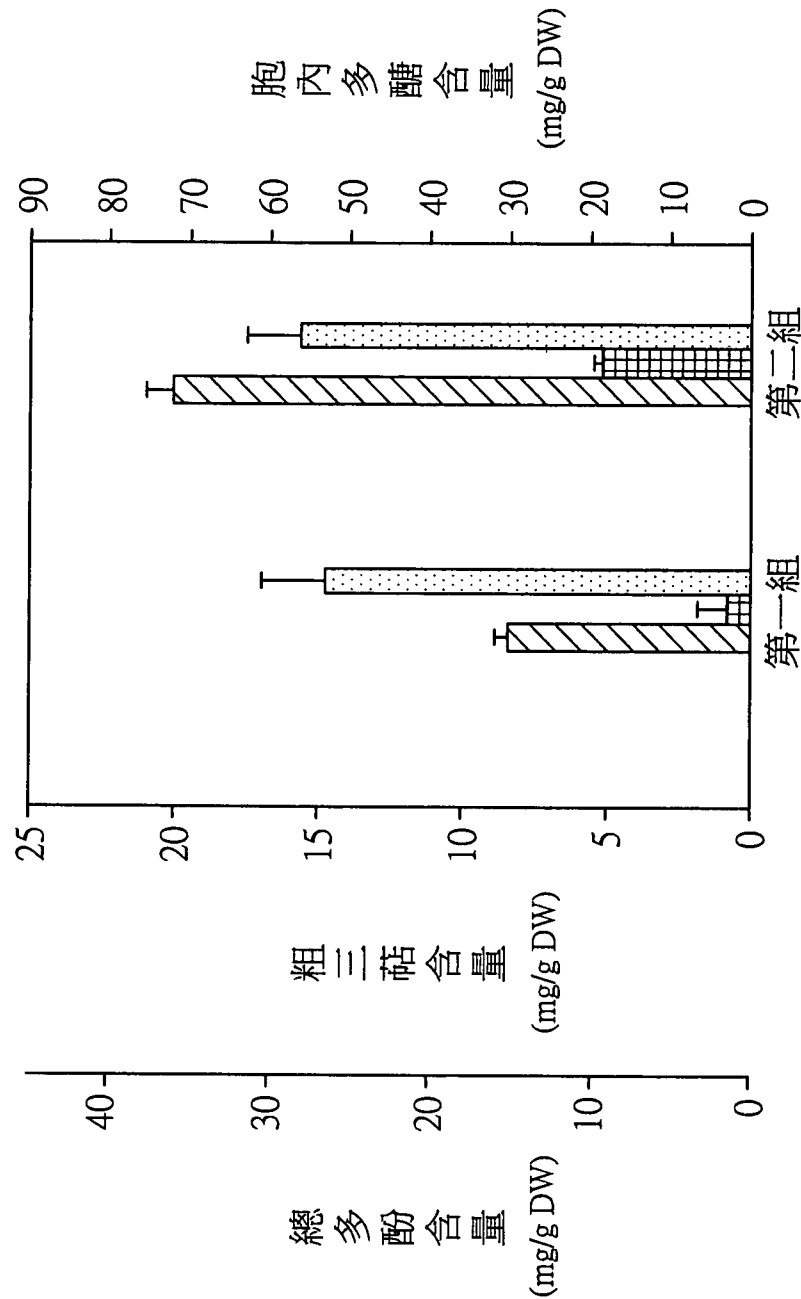


第四圖

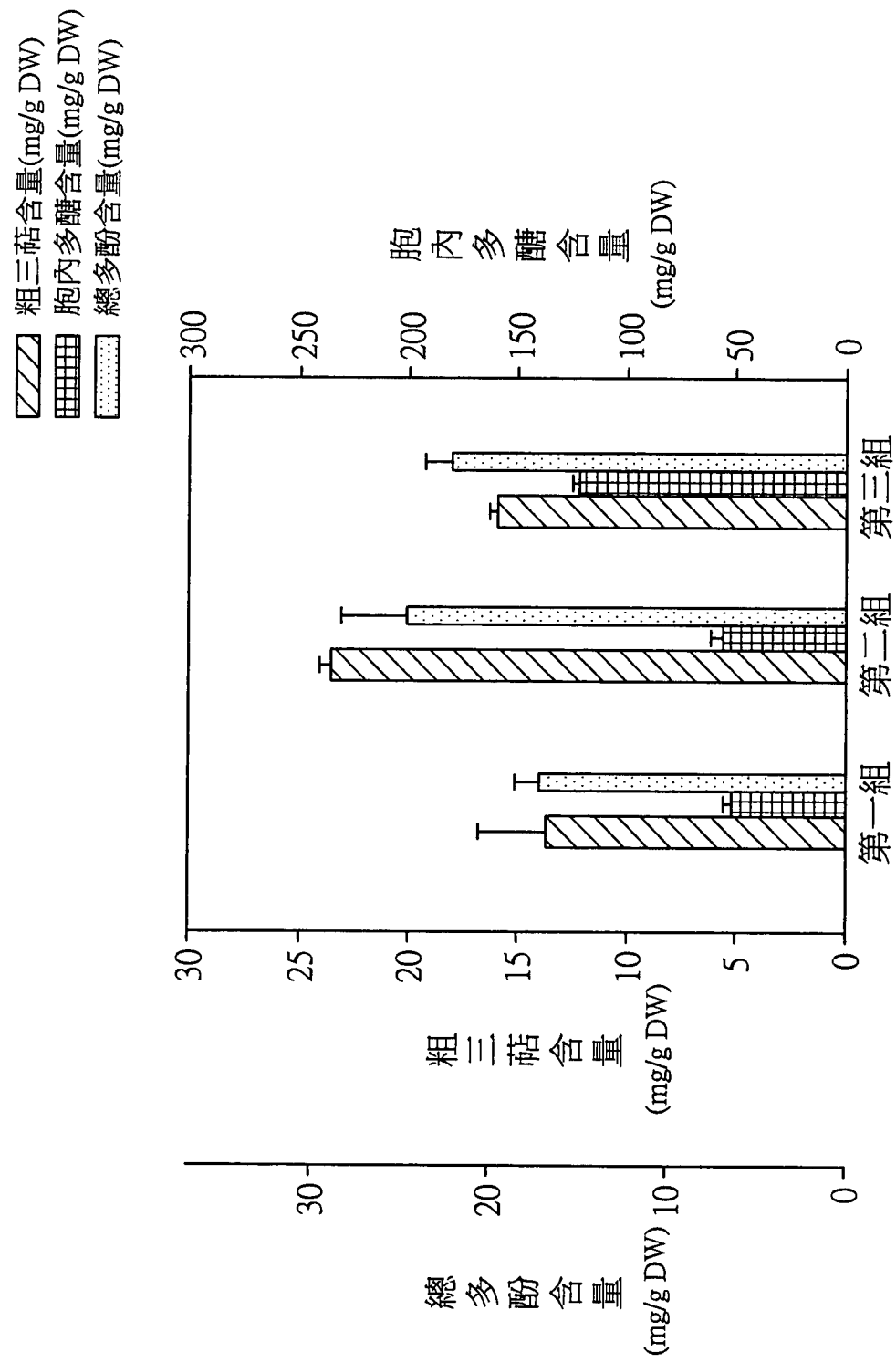
•

•

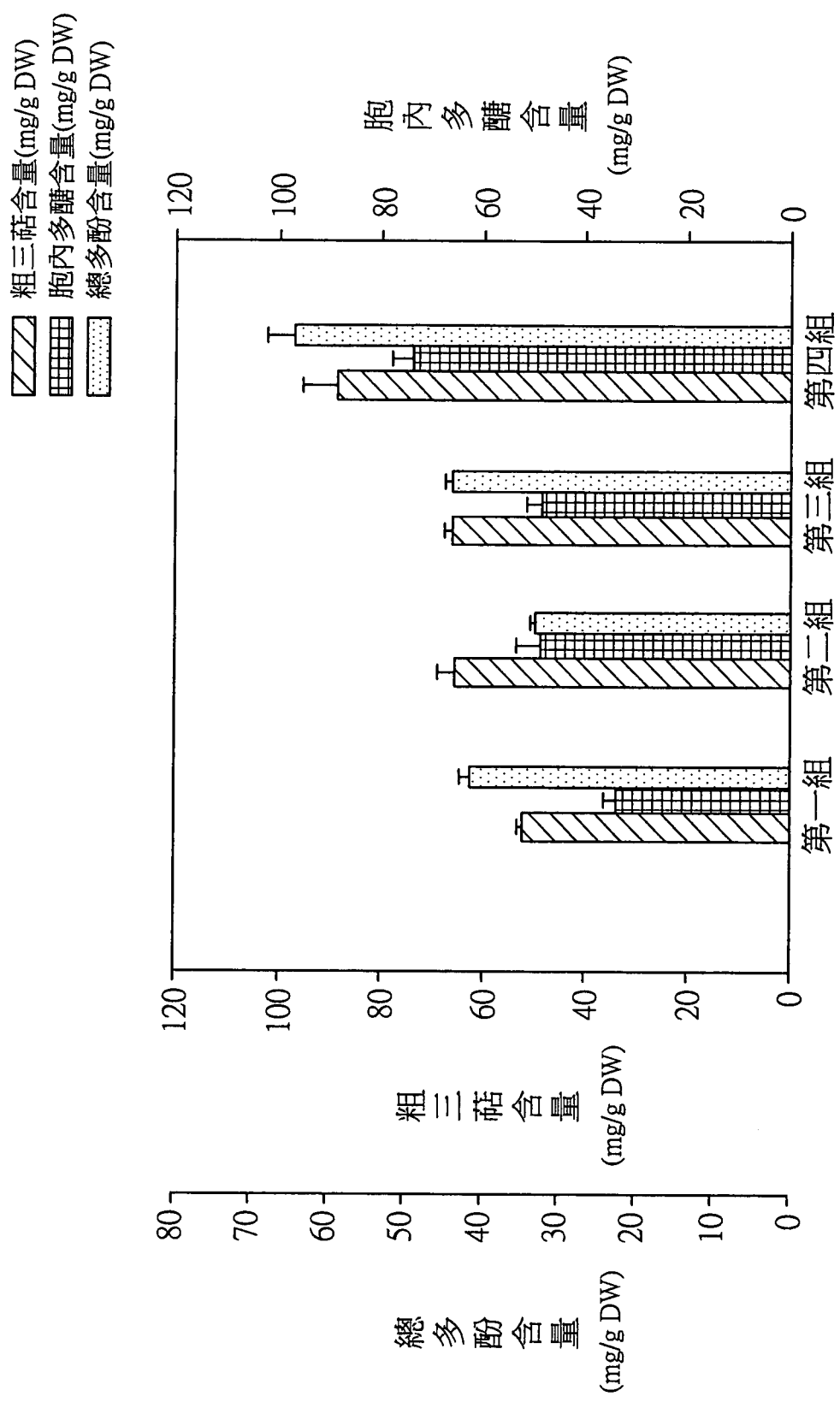
粗三萜含量(mg/g DW)
胞內多醣含量(mg/g DW)
總多酚含量(mg/g DW)



第五圖



第六圖



第七圖

量，並有效控制生產成本。

【發明內容】

【0005】 本發明之主要目的係在於提供一種牛樟芝之培養方法，用以提昇牛樟芝內活性成份之含量與種類，其係將一種菌接種於一培養基中，以至少一培養條件進行培養，而該培養條件包含有一光照環境，而該光照環境乃選自由綠光及藍光所組成之群。

【0006】 其中：

● 【0007】 該光照環境之照光強度係介於 $1\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 至 $20\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ ，而藍光強度以 $2\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 至 $16\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 為較佳；綠光強度以 $11\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 至 $20\mu\text{mol/s}\cdot\text{m}^2$ 為較佳。

【0008】 該培養條件係包含有一培養溫度，係為 $25^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ 。

【0009】 該培養基係包含有一粉末狀基質及一水，該粉末狀基質係具有至少一五穀雜糧，如得為苦蕎麥粉、糙米粉、紅薏仁粉或至少二上述粉末以一定比例混合而成者。

● 【0010】 該粉末狀基質係以糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉混合而得者，其中，紅薏仁粉之含量係為最低，苦蕎麥粉之含量次之，糙米粉之含量最高；或紅薏仁粉之含量係為最低，糙米粉之含量次之，苦蕎麥粉之含量最高；具體來說，該粉末狀基質之組成比例係以紅薏仁粉為1，糙米粉為紅薏仁粉之10~2倍，苦蕎麥粉為紅薏仁粉之2~10倍者為較佳，例如糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉之組成比例組成比例為9：2：1。

【0011】 而該培養基之水含量係介於35~55%之間，又以水含量為35~50%者為較佳。

鐘，得到一上清液。將該上清液加入6毫升2%之碳酸鈉均勻混合，再加入酚試劑（Folin-Clocalteu's phenol reagent）進行反應約30分鐘，而後以波長730nm測定其吸光值，比對已知濃度之標準沒食子酸（Gallic acid）檢量線，用以計算出該待測樣品之總多酚含量。

【0030】 實例四：三萜類含量測定

【0031】 取一代測樣品100毫克與50%乙醇3毫升於離心管中混合，以超音波震盪萃取30分鐘，再以8000rpm離心5分鐘。自離心管中取出上清液3毫升放入一樣品瓶中，再於離心管重複上述加入乙醇、萃取及離心等步驟，而後取出上清液3毫升加入該樣品瓶中。烘乾該樣品瓶中之上清液而成為乾糙物，加入3毫升水回溶及3毫升氯仿，以超音波震盪萃取30分鐘，而取出其下層液體，並加入3毫升5%碳酸氫鈉，再以超音波震盪萃取30分鐘，進行酸鹼值調整至約2~3，取其下層液進行烘乾，加入2毫升飽和乙醇，以波長245nm測定吸光值，則可得之該待測樣品之三萜類含量。

【0032】 實例五：培養光照波長及強度分析

【0033】 先將糙米以磨粉機磨成粉末狀，取25公克糙米粉置於一玻璃平板上而與15公克水均勻混合，經滅菌後作為用以培養牛樟芝之固態粉末培養基。將實例一中所培養完成之牛樟芝種菌，以5%接菌量均勻接至該固態粉末培養基中，封口後於25℃恆溫培養箱進行培養15天後，再進行照射光線。本實例中係依據照射光線波長不同而分為二實驗設計組，其中，第一實驗設計組係照射綠光，第二實驗設計組係照射藍光；又各該實驗設計組係分別依具光線強度而分為四組，其中，各該第一組係為空白組，各該第二組之照光強度為1~2 $\mu\text{mol}/\text{s}\cdot\text{m}^2$ ，各該第三組之照光強度為15~16

基質中紅薏仁粉之含量係為最低，苦蕎麥粉之含量次之，糙米粉之含量最高。

11. 依據申請專利範圍第 9 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該粉末狀基質中紅薏仁粉之含量係為最低，糙米粉之含量次之，苦蕎麥粉之含量最高。
12. 依據申請專利範圍第 9 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該粉末狀基質之組成比例係以紅薏仁粉為 1，糙米粉為紅薏仁粉之 10~2 倍，苦蕎麥粉為紅薏仁粉之 2~10 倍者為較佳。
13. 依據申請專利範圍第 12 項所述牛樟芝之培養方法，其中，糙米粉、苦蕎麥粉及紅薏仁粉之組成比例為 9：2：1。
14. 依據申請專利範圍第 6 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養基之水含量係為 35~55%。
15. 依據申請專利範圍第 14 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養基之水含量係為 35~50%。
16. 依據申請專利範圍第 1 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該種菌係由打碎之牛樟芝菌塊所培養而得。
17. 依據申請專利範圍第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 項所述牛樟芝之培養方法，其係包含二培養條件，而其中一培養條件係於一無光照環境下進行培養 15 天，另一培養條件係於該光照環境下進行培養至少 15 天。
18. 依據申請專利範圍第 17 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養條件之培養溫度係低於另該培養條件之培養溫度。

19. 依據申請專利範圍第 18 項所述牛樟芝之培養方法，其中，該培養條件之培養溫度係為 25°C，另該培養條件之培養溫度係為 25~35°C。