

第三篇

標準篇


Standard Announcement

牛樟芝（菇）（*Antrodia cinnamomea*）子實體標準

Fruiting Body's Standards of Niu-Chang-Chih (*Antrodia cinnamomea*)

牛樟芝（菇）(*Antrodia cinnamomea*) 子實體標準之公佈實施，這是台灣全體國人與產、官、學、研、醫各界之榮耀，它是世界各大國藥用菇類第一個制定出標準並公佈實施的藥用菇菌。在全世界之天然及農特產品中（包括所有中草藥），是最嚴格的「農產品、藥材標準」。它也是由台灣土生土長之台灣精英所共同努力，唯一自創制定出的「農產品標準」、「藥材標準」，為台灣留下多項世界記錄，牛樟芝（菇）不但是台灣特有種藥用菇菌，也是世界上少有的天然抗癌藥物。本標準的公佈實施，將啟蒙並帶動世界藥用菇菌及中草藥界，「農產品、藥材標準」的制定與進步。亦為世界藥用菇菌標準留下首創典範。

聯盟召集人 粘銘昌
公元 2013 年 8 月 15 日

台灣菇菌生技協會標準	牛樟芝(菇)子實體	總號	TFBAS 0001
TFBAS		類號	N 001
Fruiting body of <i>Antrodia cinnamomea</i>			
目錄			
節次			頁次
前言			2
1. 適用範圍			3
2. 引用標準			3
3. 品質			3
3.1 一般性狀			3
3.2 規格			4
4. 衛生要求			4
5. 檢驗			4
5.1 水分含量之測定			4
5.2 核糖体 rDNA ITS 序列相似度之測定			5
5.3 乙醇抽提物含量之測定			6
5.4 指標成分之測定			6
6. 包裝及標示			8
			
(共 8 頁)			
公 布 日 期 102 年 05 月 25 日	社 團 法 人 台 灣 食 藥 用 菇 菌 類 生 技 協 會 印 行		修 訂 公 布 日 期 年 月 日

印行年月年月

本標準非經本協會同意不得翻印

※

前言

本標準第 1 點依最新 2011 年版 ICN 國際命名法規(墨爾本法規)，最新版之國際藻類、菌類、植物命名法規 [*International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants; ICN*]，規範一物種一正確學名之大方向趨勢修正。餘第 2, 3, 3.1, 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3, 3.1.4, 3.1.5, 3.2, 4, 5, 5.1, 5.2, 5.2.1, 5.2.2, 5.2.2.1, 5.2.2.2, 5.2.2.3, 5.2.2.4, 5.2.3, 5.3, 5.4, 5.4.1, 5.4.2, 5.4.3, 5.4.4, 及第 6 點，皆係依民國 102 年 2 月 5 日中華民國經濟部標準檢驗局國家標準審查委員會審定通過之台灣國家標準。本標準經社團法人台灣食藥用菇菌類生技協會於民國 102 年 5 月 25 日大會修正通過並當日公告，定為社團法人台灣食藥用菇菌類生技協會 [TAIWAN Edible/Medicinal Fungal Biotech Association]，簡稱台灣菇菌生技協會 [TFBA]，向台灣、中國及國際社會公布之台灣特有種：牛樟芝(菇)子實體之標準。

本標準採自願性方式實施。但經國際社會、政府相關部門或各該目的事業主管機關引用全部或部分內容為法規者，從其規定。

本標準並未建議所有安全事項，使用本標準前應適當建立相關維護安全與健康作業，並且遵守相關法規之規定。

本標準之部分內容，可能涉及專利權、商標權與著作權，本協會或主管機關及標準專責機關不負責任何或所有此類專利權、商標權與著作權之鑑別。

1. 適用範圍

本標準適用於以牛樟木材料生產之新鮮或乾燥之牛樟芝(菇)[*Antrodia cinnamomea*]子實體，本標準所指牛樟芝(菇)又稱樟菇或樟芝。

2. 引用標準

CNS 3192 包裝食品標示

CNS 5033 食品中水分之檢驗方法

食品器具容器包裝衛生標準

3. 品質

3.1 一般性狀

3.1.1 外觀

- (a) 子實體外型(菌蓋)為平伏狀(平板薄片、板狀)、多層狀、長形、半圓形、圓形、球形、鐘形、馬蹄形或塔形至不規則形。無柄緊貼生於木材表面。一般為平伏狀居多。木栓質至木質。
- (b) 新鮮菇體表面大多呈紅色、橘紅色、褐色並佈滿菌孔，部分變異種為白色、黃色或灰白色，菌孔圓形至三角形。
- (c) 菌肉層無或薄，為乳白色至淡肉桂色、淡紅棕色。
- (d) 50℃乾燥後，偏深橘褚褐色。

3.1.2 氣味

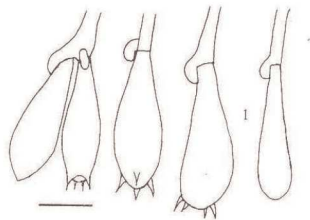
具生長在牛樟木之特有牛樟芝之氣味。

3.1.3 風味

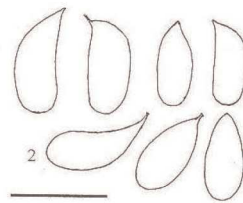
其味道為辛、苦、麻、澀。

3.1.4 切片顯微形態判斷(如圖 1)

- (a) 擔子(basidia)：棍棒狀(clavate)。
- (b) 擔孢子(basidiospores)：微彎柱形或窄橢圓形直徑 3.5 μm~5.0 μm×1.5 μm~2.0 μm，腹面凹凸、透明無色，平滑。
- (c) 生殖菌絲(generative hyphae)：具扣子體(clamp connections)。
- (d) 骨架菌絲(skeletal hyphae)。



(a) 擔子(basidia)



(b) 擔孢子(basidiospores)

TFBAS 0001, N 001

-4-

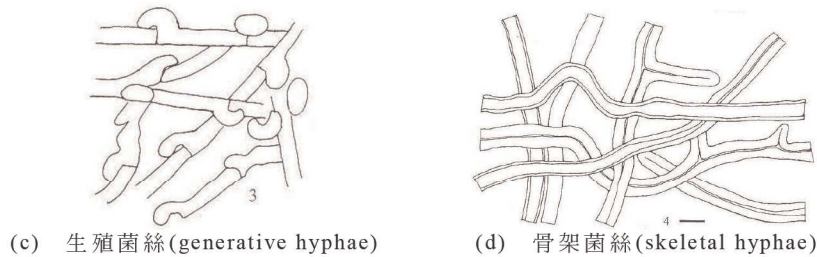


圖 1 切片顯微形態

3.1.5 不得有腐敗、變色、異味、污染、發黴或含有異物。

3.2 規格

牛樟芝子實體之規格依表 1 之規定。

表 1 規格

檢驗項目	牛樟芝子實體	
	新鮮	乾燥
水分含量(以乾基計)	80 %以下	小於 10 %
ITS 序列相似度(>650 鹼基對)(與 BCRC 35396 比較)	98 %以上	
乙醇抽提物含量 (以乾基計)	25 %以上	
指標成分	1. (R,S)Antcin A ; 2. (R,S)Antcin B(Zhankuic acid A) ; 3. (R,S)Antcin C ; 4. (R,S)Antcin K ; 5. (R,S)Antcin H(Zhankuic acid C) ; 6. 4,7-dimethoxy-5-methyl-1,3-benzodioxole ^(a) (1,4-di-methoxy-2,3-methylenedioxy-5-methylbenzene) 7. dehydrosulphurenic acid ; 8. dehydroeburicoic acid	
註 ^(a) 此成分容易人工合成，基於安全考量，建議僅作為定性參考。		

4. 衛生要求

應符合本國衛生主管機關公布之相關法令規定，包含殘留農藥、重金屬含量、黃麴毒素及微生物等衛生標準項目。

5. 檢驗

5.1 水分含量之測定

取稱量瓶於 105°C 乾燥 1 小時，置乾燥器內放冷，精確稱定。取試樣約 5 g，置於稱量瓶中，精確稱定後，經 105°C 乾燥 5 小時，置於矽膠乾燥器內冷卻，稱量之。繼續乾燥，每隔 1 小時稱量 1 次，直至先後 2 次之減重相差不超過 0.25 % 為止，

由減失重量計算試樣之乾燥減重百分率。乾燥器中所用之乾燥劑應經常更換，以保持其乾燥效率。

$$M(\%) = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100$$

式中， M ：水分含量(%)

W_1 ：稱量瓶重(g)

W_2 ：經乾燥至恆重之試樣及稱量瓶重(g)

W ：試樣重(g)

5.2 核糖体 rDNA ITS(internal transcribed spacer)序列相似度之測定

5.2.1 樣品 DNA 抽取

取適量之試樣於真菌 DNA 抽取裝置或市售套組進行總 DNA 之抽取與純化。

5.2.2 聚合酶鏈鎖反應

5.2.2.1 聚合酶鏈鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)參考使用引子

(a) 正向引子

ITS1：TCCGTAGGTGAACCTGCGG

或 ITS1F：CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA

或 ITS5：GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG

(b) 反向引子

ITS4：TCCTCCGCTTATTGATATGC

或 LR1：GGTTGGTTTCTTTTCCT

5.2.2.2 檢液之製備

每一 PCR 反應管中分別加入下列組成：純化之菌株 DNA 模板(template)250 ng、2 mM dNTP 2 μ l、2.5 μ M 引子對 2 μ l、PCR 緩衝液(10x)2 μ l、Taq DNA polymerase 2 unit 與添加無菌水至總體積為 20 μ l。

5.2.2.3 反應參考條件

以鏈聚合酶反應儀進行菌株 ITS 之 PCR 反應之參考條件如下規定。

(a) 95 $^{\circ}$ C/10 min 共一迴圈。

(b) 95 $^{\circ}$ C/30 s；50 $^{\circ}$ C~55 $^{\circ}$ C/60 s；72 $^{\circ}$ C/60 s 共 35 迴圈。

(c) 72 $^{\circ}$ C/10 min 共一迴圈。

5.2.2.4 PCR 反應完成後，以洋菜膠體 1 % (w/v) 電泳分析，確認 PCR 產物之分子量大小與純度。

電泳分析參考條件

(a) 電泳緩衝液種類：TAE (40mM tris-acetate, 1mM EDTA, pH 8.0-8.5, 25 $^{\circ}$ C)。

(b) 電泳之電壓及時間：100 V，30 分鐘。

(c) 6 \times 追蹤染料(dye)：0.25 % (w/v) bromophenol blue；0.25 % (w/v) xylene cyanol；30 % glycerol。

(d) DNA 染料：溴化乙錠(Ethidium bromide, EtBr)原液 500 μ g/mL，最終使用濃度為 0.5 μ g/mL。

(e) DNA 分子量標準品：建議使用市售 100 bp DNA ladder 標準品進行 PCR 產物之分子量比對

5.2.3 牛樟芝標準菌(BCRC 35396)之 ITS 序列

長度約 650 鹼基對，如圖 2。

```
CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGTATTTGAAA
GGGGTTGTAGCTGACCTCCTCTTGAAAAGGGGGGAGGTATGTG
CACACCTCTGTTTCATTCATATTCTCTCACACCTGTGCATGCTTTG
TAGGTTGGTTTTGAATGGTTGTCTTCTCTGATGGAGACAGCTGT
TTTGACCTTCCTATGTTTTTTAAATTGACTCCGTATCAGTTACAG
AATGTATGTTGCGTGTAACGCATATTGTATAACTTTTCAGCAACGG
ATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACACGGCGAAATGTGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACCTTGCCTCCTTGGTATTCTGAGGAGCATGCCTGTTTG
AGTGTCATGGAATTATCAACCCTTTTGACTTTTTGTTGAATGGGC
TTGGATTTGGAGGGTTAAATTGCTGGCTCTTCTTTTTGATTCAGC
TCCTCTTGAATGCATTAGCTTGAACCCTTGTGGATTGACCTTATC
GGTGTGATAGTCATCTATGCCGTGGTTGTCTGAGGTGGGATCGG
CTTCTAATGGTGCAAGTCCCTTCAGGGGGATGATTTTCTAATGAC
CTTCTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCA
TATCAATAAG
```

圖 2 牛樟芝標準菌(BCRC 35396)之 ITS 序列

5.3 乙醇抽提物含量之測定

稱取試樣 2 g，精確稱定後，加入 95 %乙醇 20 mL，以加熱迴流萃取裝置萃取 3 小時後，取萃取液離心(10,000 rpm)5 分鐘，以 No.2 濾紙過濾，取上清液，共進行 3 次萃取，合併 3 次上清濾液，以 60℃減壓濃縮至乾，取乙醇抽提物並稱重，分別計算試樣中乙醇抽提物含量(%)，並求出其平均值。

$$C(\%) = \frac{W_2}{W_1} \times 100$$

式中，C：乙醇抽提物含量(%)，乾基計

W_1 ：乾燥試樣重(g)

W_2 ：乙醇抽提物重(g)

5.4 指標成分之測定

5.4.1 檢驗方法

高效液相層析法(high performance liquid chromatograph, HPLC)

5.4.2 高效液相層析儀

所使用裝置依下列規定。

(a) 紫外光偵檢器：波長 210 nm 或 254 nm。

(b) 層析管柱：C₁₈，2.1 mm×100 mm，3 μm 或同級品。

5.4.3 測定

取乙醇萃取液(參照 5.3)10 mL，濃縮除去乙醇後添加甲醇溶解，配製成 10 mg/mL，經離心(10,000 rpm/5 min)後取上清液檢測。

5.4.4 HPLC 測定參考條件

測定參考條件如下規定。

- (a) 樣品濃度：10 mg/mL
- (b) 注射量：2 μ L
- (c) 流速：0.25 mL/min
- (d) 紫外光波長：254 nm
- (e) 層析管柱溫度：30 $^{\circ}$ C
- (f) 移動相溶液

移動相 A：0.1%甲酸(formic acid)

移動相 B：乙腈(acetonitrile；ACN)

時間(min)	A	B
0	70	30
40	50	50
60	50	50
80	0	100
120	0	100

(g) 質譜儀參數

ESI mode	ESI ⁺
Dry temp($^{\circ}$ C)	300
Nebulizer (1 psi=6894.76 Pa)	30
Dry gass (L/min)	9
Capillary (V)	4000
Compound stability (%)	100
Trap drive level (%)	100
MS/MS fragmentation amplitude (V)	0.5

(h) HPLC/MS 分析參考圖譜如圖 3。

TFBAS 0001, N 001

— 8 —

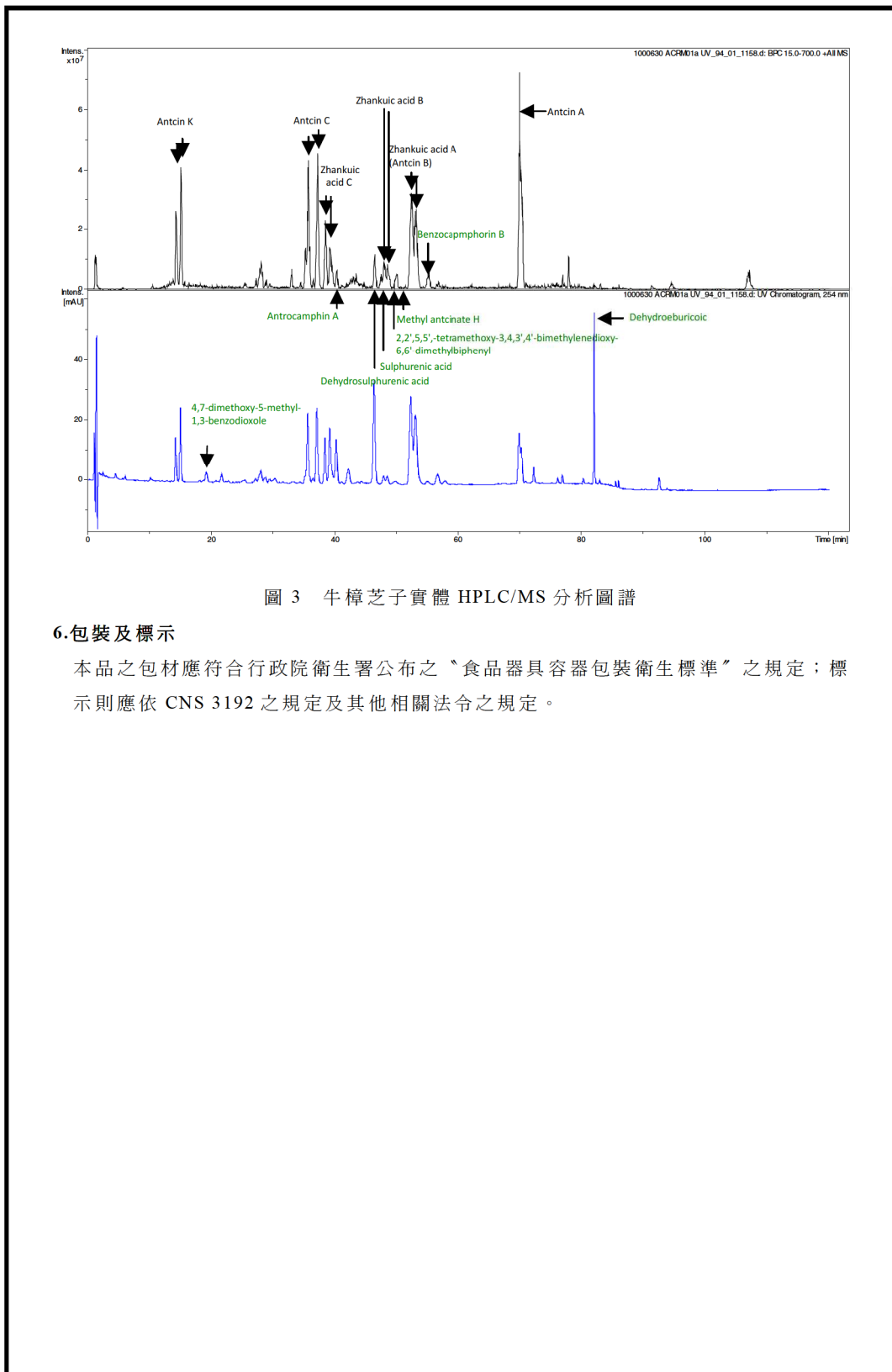


圖 3 牛樟芝子實體 HPLC/MS 分析圖譜

6. 包裝及標示

本品之包材應符合行政院衛生署公布之「食品器具容器包裝衛生標準」之規定；標示則應依 CNS 3192 之規定及其他相關法令之規定。