

中華民國第四十五屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

最佳(鄉土)教材獎

040704

裂褶菌辛秘

國立宜蘭高級中學

作者姓名：

高二 呂學承 高二 鄭匡博 高二 吳佳駿

指導老師：

馮淑卿

中華民國第 45 屆中小學科學作品展覽會

作品說明書

組別：生物

作品名稱：裂褶菌辛秘

關鍵詞：白化，抑菌區，產氣量

編號：

壹. 摘要

裂褶菌為一種食藥用菇類，近年來之所以能受到大家的注目，是因為其可提煉出滋養強壯藥，含有特殊之抗癌作用物質-裂褶菌多醣。此多醣體已被諸多實驗證明可降低血脂肪，治療心臟病、高血壓，抑制癌症細胞的生長等。目前市面上已出售含有裂褶菌多醣體的養生食品。

而乳酸桿菌是人體腸道活益菌中最普遍的菌種群。且也已被報導可提高人體免疫力，但是目前國內尚未發現任何有關探討有關裂褶菌與乳酸桿菌相互關係的研究。因此，本研究第一部份即在固態培養基上，探討具有不同型態及大小裂褶菌子實體對乳桿菌產生的抑菌效果。結果發現中型且扇形子實體對乳桿菌的抑菌面積（裂褶菌型態以恰可覆蓋裂褶菌的那個圓之直徑來表示）略大於中型而菌傘邊緣曲折型的子實體對乳桿菌的抑菌面積，而子實體為大型或小型時，其對乳桿菌的抑菌面積則較小。顯示裂褶菌子實體的型態與大小與其對乳桿菌的抑制效果有一定程度的關係！

本研究的第二部分，探討久為人類食用的香菇和裂褶菌在密封針筒中，經綜合酵素作用後產氣量的比較。結果發現，裂褶菌不論在產氣量及速度上皆遠高於香菇。顯示裂褶菌比香菇更易與綜合酵素作用。

另外，在培養裂褶菌過程中，發現腎形及邊緣曲折型的子實體，在無光照、極少量通氣的條件下，較易產生白化現象。白化部分發生於子實體上半部，當將白化子實體接種於含有食用色素之培養基上時，發現大部分白化菌傘有染色現象，但白化菌傘之邊緣依然維持白色，推測此部分可能含有疏水性物質或其他可阻斷水溶性物質通過之物質。(因食用色素為親水性)此部分，仍有後續實驗待探討。

貳. 研究動機

我們居住的環境潮濕多雨，適合菇類生長。其實，自然界的真菌很多，在古老的東漢「神農本草經」裏，已記述了靈芝為上品藥材。顯示菇類被人類利用的歷史可說由來已久，發展至今，很多菇類已被科學進展證實為具有免疫調節的能力，而且被推崇為健康又自然的保健食品。然而，我們對真菌的瞭解十分有限，因此，我們鎖定它為研究的目標。希望藉此過程，帶我們一窺奇妙又繽紛的真菌世界，期望能對他有更深的認識。

於是，我們前往某大學實驗林場採集野菇，探索未知的奧秘是令人雀躍的。在我們採集的十幾種野菇中，我們發現以裂褶菌的繁殖、增長情形最好。因此鎖定它為研究對象，在調查了其他相關研究後發現，裂褶菌算是菇類被研究中的後起之秀，有抗癌的效力是其

最受矚目之處。而專門針對它的研究其實不多，因此尚有很大的開發潛力，這更激起了我們想研究它的強烈動機！

因為市面上已出售含有裂褶菌多醣體的養生液，標榜可被細胞完全吸收，在其他文獻中，也看見菇類是營養價值頗高的食品。因此，我們選定最常見的菇類食物-香菇，來和裂褶菌做比較。測試在綜合酵素催化下，二者產氣的差別。另外，在培養裂褶菌過程中，我們發現在黑暗、少光照情形下，子實體呈腎形或邊緣曲折型的菌群中，有兩棵出現白化現象。(即在菌傘邊緣呈現白色)由於其在水中撈起稍微乾燥後，呈現白色絨毛狀，十分可愛。而健康的扇形子實體則無此現象，因此我們想探討白化部份的性質。

參. 研究目的

- 一. 探討不同形態大小的裂褶菌子實體對 *Lactobacillus casei* variety *rhamnosus* 產生的抑制生長效果。
- 二. 探討裂褶菌和香菇在密封情形下，與綜合酵素作用產氣的速度與量的比較。
- 三. 探討在不同通氣量、不同供水情況下，光照和子實體產生白化現象的關係。並且與健康菌株比較其吸收食用色素的差異，以作為其性質特性的探討。

肆. 研究設備及器材

一實驗(一):裂褶菌菌體形態對抑制 *Lactobacillus casei* variety *rhamnosus* 之影響:

1. 培養皿. 紫外光燈. 牛奶. 酒精. 種菌環(自製). 培養箱. 量尺. 無菌操作台.
2. 乳酸菌冷凍乾燥菌粉

二實驗(二):裂褶菌與香菇在酵素分解下之產氣量比較

1. 綜合酵素劑 56g
20c. c. 針筒 七隻
裂褶菌 8g
香菇(乾) 8g
鮮乳 8g
肉燥脂肪 8g
橄欖油 8g
蛋白 8g
麵粉 8g
水 35 cc

2. 少量的膠(封口密合用)

器材:天平秤、量杯

3. 材料說明:綜合酵素內含有成份如下:

Biodiastase	分解澱粉. 醣類
LipaseAP6	脂肪性物質之分解
Newlase	分解蛋白質

三實驗(三):光照及浸水. 通氣有無和菌體形態對裂褶菌菌褶白化之

影

1. 葡萄糖. (D+)-GLUCOSE) 15g(per L)
帶七個結晶水之硫酸鎂. 0.25g(per L)
磷酸鉀. 0.5g(per L)
2. 培養皿. 保鮮膜. 食用色素(紫色、橘色)、agar(固定子實體用).

伍. 研究過程或方法

一實驗(一):裂褶菌菌體形態對抑制 *Lactobacillus casei* variety *rhamnosus* 之影響:

1. 實驗用之菌屬採用 *Lactobacillus casei* variety *rhamnosus* 之冷凍乾燥活菌培養物做活菌培養。
2. 培養方法：
將 *Lactobacillus casei* variety *rhamnosus* 之活菌培養物及罐裝之高溫殺菌過的鮮乳(國農鮮乳)於無菌操作台中混合，並裝入滅菌後之塑膠罐中密封培養。
3. 將 agar 與牛奶以 3:1 之比例，混和製成固態培養基
將野外採回之裂褶菌依菌體比例及形態分為以下 a~d 四組：
a: 較大之子實體(菌體直徑約 6~7 公分)☆直徑以能剛好覆蓋裂褶菌之那個圓形直徑計算
b: 中形之扇形子實體(菌體直徑約 3~4 公分)
c: 中形之菌傘邊緣曲折型子實體(菌體直徑約 3~4 公分)
d: 小形之子實體(菌體直徑約 0.5~1 公分)
4. 將以上四組之裂褶菌於紫外光燈下，分別接種於四個含有牛奶之固態培養基上，並用種菌環將前述之 *Lactobacillus casei* variety *rhamnosus* 乳酸桿菌群均勻塗布在四個培養基上，完成後，置於酒精滅菌後之培養箱中，靜置。
5. 每 6 小時觀察一次。(整個實驗過程皆於無菌操作台中操作，以盡量避免並減小其它微生物之影響。)

二實驗(二):裂褶菌與香菇在酵素分解下之產氣量比較

1. 酵素各取 8 公克於每一針筒內
2. 水加五 c. c. 於每一針筒內
3. 在 A. B. C. D. E. F. G 內各加入七種測試物
4. 各抽入五格(5c. c. 空氣)
5. 送入針筒抽送棒，密閉針頭與外界隔開(用膠密封)

PS:A 裂褶菌
B 香菇
C 鮮乳
D 肉燥油
E 橄欖油
F 蛋白
G 麵粉

實驗三:光照及浸水.通氣有無和菌體形態對裂褶菌菌褶白化之影響

(一)實驗組:

1. 將扇形. 腎形及邊緣曲折形之裂褶菌各取三棵、分三組，分別裝於含(葡萄糖. (D(+)-GLUCOSE)、帶七個結晶水之硫酸鎂，磷酸鉀)之液態培養液(提供其生理活動所需之養份)中，並於其上封上保鮮膜，再於保鮮膜上，用針打上少

- 許小孔，置於無光源之生長箱中。
2. 用以上之方法，再製另三個組別，置於日光燈照下。(少量通氣)
 3. 將扇形、腎形及邊緣曲折形之裂褶菌，各取三棵，置於液態培養液中，也用保鮮膜覆蓋並戳小孔，控制其水量在其基部即可，放於無光之環境中。
 4. 將扇形、腎形及邊緣曲折形之裂褶菌，各取三棵，置於液態培養液中，並用少量 agar 固定於燒杯底部，控制其液面在其基部即可，並置於側面開口之紙箱中(通氣)，放置於陰暗處。
 5. 將扇形、腎形及邊緣曲折形之裂褶菌各取三棵，用少量 agar 固定於燒杯底部，加入液態培養液，放置於透光處，其上用保鮮膜覆蓋並戳小孔，控制其水量在其基部即可。
- (二)對照組：
將扇形、腎形及邊緣曲折形之裂褶菌，各取三棵，用少量 agar 固定於燒杯底部，放置於透光又通氣處。

陸. 研究結果

一. 實驗(一): 裂褶菌對 *Lactobacillus casei* variety *rhamnosus*

菌種之抑菌實驗.

- (一). 小孢子實體之實驗組於 12 小時後，率先出現菌落(乳桿菌菌落群呈片狀突起)，且菌落呈半月對稱形，半月形之菌落之端點尚未接成圓形圈環，乳桿菌菌落至裂褶菌群落之距離約 3 公分。
- (二). 18 小時後，全部組別皆出現群落，但以中型裂褶菌之兩個組別之抑菌效果最佳(抑菌範圍最廣)。兩者之中，又以不規則型菌種抑菌面積最廣，唯其中間穿插小群乳桿菌落。而扇形之中型裂褶菌，則和不規則型菌種之抑菌面積旗鼓相當。但稍小於不規則型。不過抑菌之環帶較為完整、無缺口。

1. 抑菌區域形態及大小描述:

(1)扇形: 抑菌區域不規則放射狀, 邊緣較為尖銳

最長距(max) : 5cm

最短距(min) : 0.3cm



(2)不規則形: 抑菌區域不規則放射狀邊緣較圓滑之放射狀

max : 4cm

min : 0.5cm



(3)大型：大片塊狀乳桿菌菌落出現於培養基上接近裂褶菌者非常接近，遠離者則非常遠。有將近一半的培養基被乳桿菌群佔據了，並且乳桿菌菌落相當接近裂褶菌體，幾乎沒有距離。但奇怪的是，另一邊的培養基上，幾乎很難觀察到乳桿菌菌落(還是有非常少的一點點)。此一沒有乳桿菌菌落之面積，最遠甚至達到培養皿之邊緣。

max : 5cm

min : 0cm

(4)小型：不規則塊狀之乳桿菌菌落各別分部於其周圍。

max : 2cm

min : 0.2cm

2. 抑菌面積大小之比較:(12h~36h)

中形之菌傘邊緣曲折型子實體：c

中形之扇形子實體(菌體直徑約 3~4 公分)：b

小形之子實體(菌體直徑約 0.5~1 公分):d

較大之子實體(菌體直徑約 6~7 公分):a

結果：c>(=)b>d>a

3. 抑菌面積之描述 (36h~72h)

(1)36 小時後至 48 小時之情況大同小異，唯乳桿菌群落均向培養皿外擴張。

(2)60 小時後，裂褶菌中形之菌傘邊緣曲折型子實體及小形之子實體的抑菌面積，有些許增大跡象，而較大之子實體及中形之扇形子實體無明顯增大跡象。此時，除了中形之菌傘邊緣曲折型之組別外，乳桿菌群向外擴張以趨飽和，但向內之生長，則維持在一定的範圍內。

(3)72 小時後，接近裂褶菌基部之 agar 上突然出現金黃色不平整且帶有泡沫狀之情形(疑似為著生於裂褶菌上之菌種或是裂褶菌分泌物被分解所造成)，且其出現之地方，由裂褶菌基部開始向外發展，並分布於前述乳桿菌無法生長之區塊上(原瓊脂光滑處)。※此現象(金黃發泡)發生於較大之子實體(a)之組別最廣。多分布於培養基之半面(前述乳桿菌無菌落著生處);扇形次之。中形之扇形子實體下之金黃色不平整且帶有泡沫狀之情形呈帶狀分布至培養皿邊緣。再來是中形之菌傘邊緣曲折型，最後是小形之子實體。以上四種，以後兩者生長情形最佳，各約為原來的 1.5 倍，而扇形的，只微微增大(約 0.2 公分)，較大之子實體(a)則無增長情形，並於 72 小時後，觀察發現其已產生衰敗現象。(如下頁之表 1 所示)

4. 抑菌面積大小之比較(36h~72h) 請見下頁 ↓

小形之子實體(菌體直徑約 0.5~1 公分):d

中形之扇形子實體(菌體直徑約 3~4 公分) :b

中形之菌傘邊緣曲折型子實體(菌體直徑約 3~4 公分):c

較大之子實體(菌體直徑約 6~7 公分):a

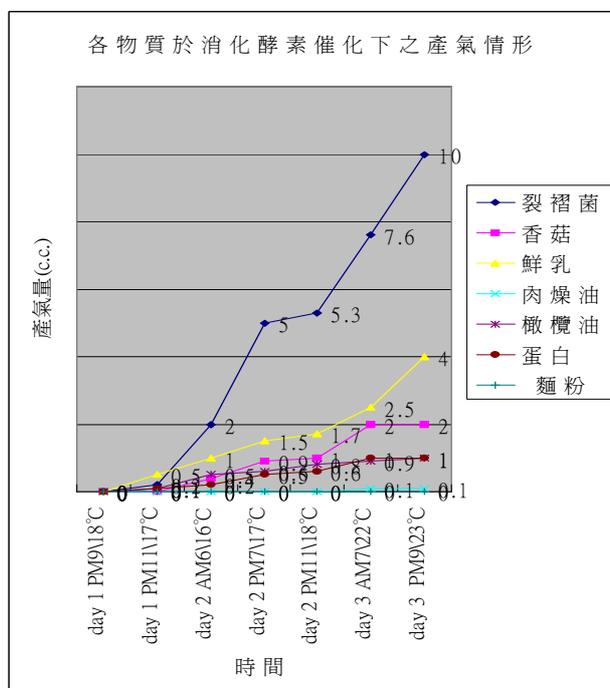
結果:d>b>c>a

表 1 抑菌面積之縱深大小(最長距&最短距)之比較:

時間 形態	12h	18h	36h	48h	72h	之狀態	備注
b. 中形之扇形子實體	Max 0	5	5	5	0.2	本體上所著生之細菌或是其分泌物所造成的 ◎僅表列出有明顯變化時	*七十二小時後以出現金黃色起泡現象於培養基上 不知是否為裂褶菌
	Min 0	0.3	0.3	0.2	0.2		
c. 中形之菌傘邊緣曲折型子實體	Max 0	4	4	4	0.1		
	Min 0	0.5	0.5	0.4	0.1		
d. 小形之子實體	Max 2	2	2	2	0.4		
	Min 0.2	0.2	0.2	0.2	0.1		
a. 較大之子實體	Max 0	5	5	5	0		
	Min 0	0	0	0	0		

二實驗(二):裂褶菌與香菇在酵素分解下之產氣量比較

◎實驗結果: 詳細資料請見附表一(數據為三組平均後之結果)



註: c.d.e.f.g 為測試酵素對其作用之程度.(所以泡麵肉燥之油脂少吃一點...因為不好分解)^.-^

A(裂褶菌)組之產氣量特多.表示若有酵素作用.則裂褶菌能於短時間中提供能量.並且因其產氣量特多.是否有特殊之用途則有待探究.

三實驗(三):光照及浸水.通氣有無和菌體形態對裂褶菌菌褶白化之影響

有光	少氣(微量通氣)	少水	X	備註: 1 標示無光者於觀察時仍有短時間接觸光線. 2. X 表無白化之現象 0 則表有.
有光	通氣	少水	X	
有光	通氣	多水	X	
無光	少氣	多水	0	
無光	少氣	少水	0	
無光	通氣	少水	X	

(一). 另外, 將白化之子實體接種於染有食用色素之 AGAR 上, 與沒有白化的做一比較, 發現沒有白化的整株皆有染色現象, 而白化之子實體白化部份, 大部份被染色, 但其邊緣依然維持白色, 懷疑此部份可能為油脂或其他疏水性物質。(食用色素為親水性)

柒. 討論

- 一. 本研究的第一部分, 發現中型子實體的裂褶菌對乳桿菌的抑制生長效果最佳。可能裂褶菌本身可分泌某種物質抑制乳桿菌生長, 此部分仍待後續研究探討之。
- 二. 而上述實驗進行至 72 小時之後, 發現培養基上出現金黃色不平整且帶泡沫狀的情形, 可能為另一細菌作用所致, 而其來源可能是原本附於裂褶菌上, 或自野外採集時, 由其生長之基質上所攜回。而其究竟為何菌種? 我們將送交菌種檢測單位鑑定、繼續探討之。
- 三. 在裂褶菌和香菇產氣實驗方面可知, 裂褶菌比香菇更易與綜合酵素作用, 其意義顯示似乎裂褶菌比香菇有更高的營養利用價值, 但其產生的氣體究竟為

何物?我們將繼續分析之。

- 四. 若裂褶菌比香菇更具營養價值此假設成立的話，本實驗只是進行活體外試驗，實際在人體內是否也如此？其實尚有很多待探討的因素，例如:綜合酵素不全然和小腸內酵素種類相同。再者，在小腸特殊的酸鹼值條件下，不見得和本實驗的結果會符合。而本實驗僅提供一個研究的方向，希望能開啟裂褶菌研究的另一扇窗！
- 五. 目前尚未發現有關探討裂褶菌白化的文獻，究竟白化是代表體內某些酵素降解，或是為了適應不良環境而產生的過度形態，或者它根本是一種突變！這些問題仍待釐清。
- 六. 在我們有關白化的實驗結果中，顯示白化的邊緣部份，始終不能吸收食用色素，推測其性質已改變。可能含有油脂或其他疏水性物質。這部分我們將繼續探討之。

Ps: 關於討論中的幾個問題我們接續做了以下的實驗討論:

1. 關於產氣量方面.我們使用之前產氣實驗用之產氣裝置.以原比例放大三倍並放置一個禮拜後(依原實驗結果應已超過活塞可承受範圍<三天>.故用鐵絲線綁緊以免其爆裂衝出).送交宜大環工所用 GC 測試.經 sample 比對(甲烷).經 GC 檢測後發現尚無甲烷的存在.又以 P_H 值檢測計測其 P_H 值為 4.06 因此推測其尚停留在有機物分解狀態(厭氣分解.詳細說明請見附頁)第一.二產氣階段間.(可能氨含量頗高).於是用光度計測其發酵液 OD 值(因氨極易溶於水中.由其是高壓環境下.)由於第一次以光度計測試時氨濃度過高.(僅用少量 Nessler 試劑即使待測物(發酵液)呈深褐色).故將 0.5ml 發酵液+1L 水(即稀釋 200 倍).測試後數值為 1.58nm 亦即氨(NH_3)含量為 316mg/per L.至於尚有何種氣體尚未分析.將有待日後用集氣袋收集到更多量的氣體再行測試.

◎實驗用器材條列如下

1. 光度計
2. GC(甲烷探測器)
3. 裂褶菌發酵樣本
4. 抽氣針
5. Nessler 試劑

Ps:裂褶菌發酵所產氣體有濃濃的果香味.此濃濃的果香味似乎為酯類所造成的.至於是否為酯類所造成的.及為何種酯類則有待後續考證!

2. 之前於報告中提及在抑菌實驗之後期有出現不明之細菌干擾(前期乳桿菌尚屬優勢群落).後來在我們將裂褶菌平放在含牛奶之培養基上.重覆做了三組後三組的培養基表面皆產生如之前所述之金黃色現象.而將其(呈金黃色現象之菌落)挑起以革蘭氏染色法於顯微鏡下鏡檢.發現其呈現革蘭氏陽性反應.可能

為葡萄球菌屬.至於是否為金黃色葡萄球菌.及是否有致病性則有待觀察其於微量結晶紫環境下之生長情型以及對木蜜醇之反應後再做討論.

捌. 結論

一實驗(一):裂褶菌對 *Lactobacillus casei* variety *rhamnosus* 菌種之抑菌實驗.

(由於實驗中發現有共生於子實體之細菌出現干擾.故分為兩部分探討)

1. 第一部份:使 agar 變成金黃色且起泡狀之細菌(疑似與子實體共生之細菌)菌落出現前.子實體與乳桿菌群之平均間隔面積:中形之菌傘邊緣曲折型子實體:c (用代號 c 表示).中形之扇形子實體(菌體直徑約 3~4 公分): b. 小形之子實體(菌體直徑約 0.5~1 公分): d. 較大之子實體(菌體直徑約 6~7 公分): a. 我們發現 $c > (=) b > d > a$
2. 第二部份:使 agar 變成金黃色且起泡狀之細菌(疑似與子實體共生之細菌)菌落出現後.子實體與乳桿菌群之平均間隔面積:小形之子實體(菌體直徑約 0.5~1 公分): d. 中形之扇形子實體(菌體直徑約 3~4 公分): b. 中形之菌傘邊緣曲折型子實體(菌體直徑約 3~4 公分): c. 較大之子實體(菌體直徑約 6~7 公分): a. 我們發現 $d > b > c > a$
3. 結論:中型的子實體抑菌效果皆大於大型子實體的抑菌效果,顯示裂褶菌體內抗生素的產生和其型態大小有關.

二實驗(二):裂褶菌與香菇在酵素分解下之產氣量比較

1. 加入分解蛋白質.醣類.脂肪之綜合酵素於 25c. c. 針筒中,做密封發酵產氣量比較,發現裂褶菌該組之產氣速度及量皆高於其它包含香菇在內之組別.顯示裂褶菌能在消化酵素之催化下,快速分解其營養成份。

三實驗(三):光照及浸水.通氣有無和菌體形態對裂褶菌菌褶白化之影響

1. 結果發現腎形及邊緣曲折形於無光照及極少量通氣之條件下,較易產生白化之菌體延伸物.並且將白化之菌株接種於含有食用色素之培養基上時,發現其大部份白化部份有染色現象,但白化之邊緣依然維持白色,懷疑此部份可能為油脂。(或其它可阻止水溶性物質的東西,因為食用色素為親水性)

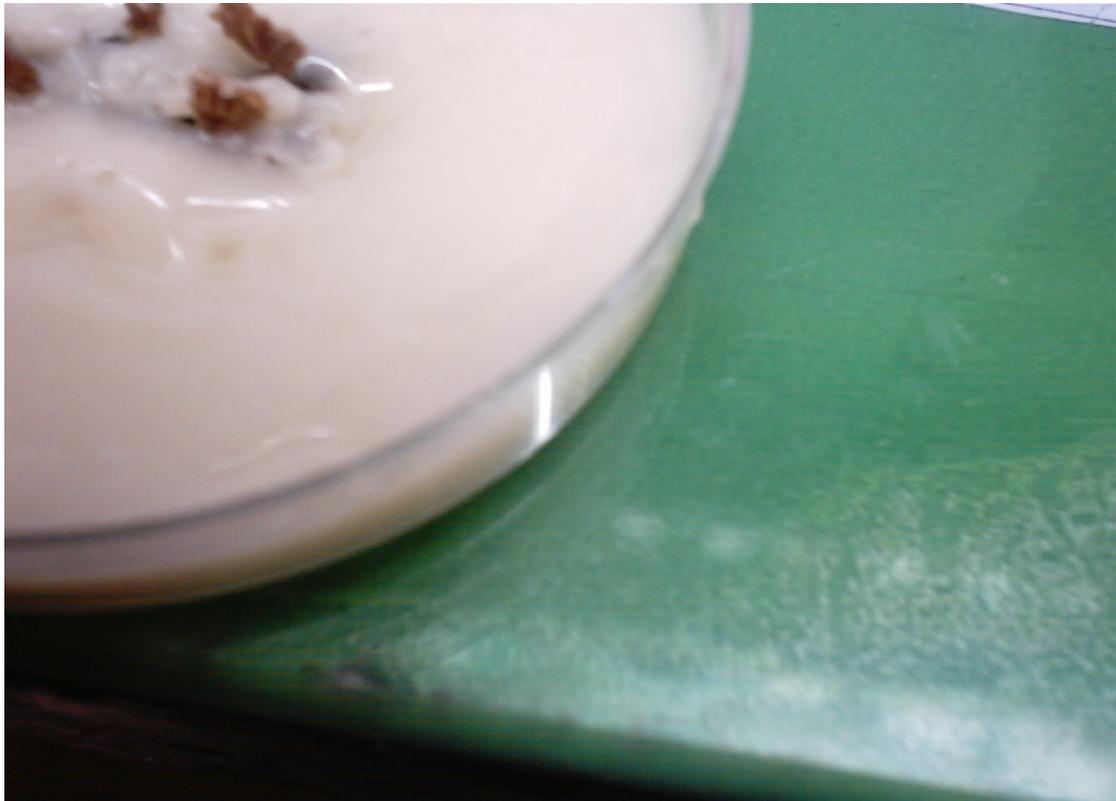
玖. 參考資料及其他

- 一. 吳聲華、周文能、王也珍合著. 台灣高等真菌--子囊菌與擔子菌的認識. 台灣. 國立自然科學博物館出版. 第 135 頁. 1996 年。
- 二. 周伯甫. 2001 年探討菌體形態對於裂褶菌多醣體生產之影響. 國立中央大學化學工程研究所碩士論文. 第一章第 1 頁, 第二章第 4, 25 頁。
- 三. 陳裕鏞、張碧民 2004 年菇類食品的免疫調節能力. 科學發展 12 月 384 期第 31 頁。
- 四. 湯瑪斯·萊梭. 蕈類圖鑑. 台灣. 貓頭鷹出版社. 第 181 頁. 2003 年。
- 五. Vesilind Peirce Weiner 原著. 劉東山、黃政賢譯. 環境工程學. 台灣. 曉園出版社. 第 286 頁. 1990 年。

附表一

時間. 溫度	增加之格數(CC 數)	說明
第一天 PM9:00\18 °C	A.....0 B.....0 C.....0 D.....0 E.....0 F.....0 G.....0	
第一天 PM11:00\17 °C	A 0.2 B 0 C 0.5 D 0 E 0.1 F 0.1 G 0	A 有一點氣泡. 淺黃
第二天 AM6:00\16 °C	A 2.0 B 0.4 C 1.0 D 0 E 0.5 F 0.2 G 0	B 白棕
第二天 PM7:00\17 °C	A 5 B 0.9 C 1.5 D 0 E 0.6 F 0.5 G 0	C 有灰白及透明液呈兩層 D 淺綠

第二天 PM11\18°C	A B C D E F G	5.3 1.0 1.7 0 0.8 0.6 0	E 有雙層現象
第三天 AM7:00\22°C	A B C D E F G	7.6 2.0 2.5 0.1 0.9 1 0	F 米白黃
第三天 PM9:00\23°C	A B C D E F G	10 2.0 4 0.1 1 1 0	G 淺棕



◎12 小時後之小形子實體抑菌區



©18 小時後之扇形抑菌環



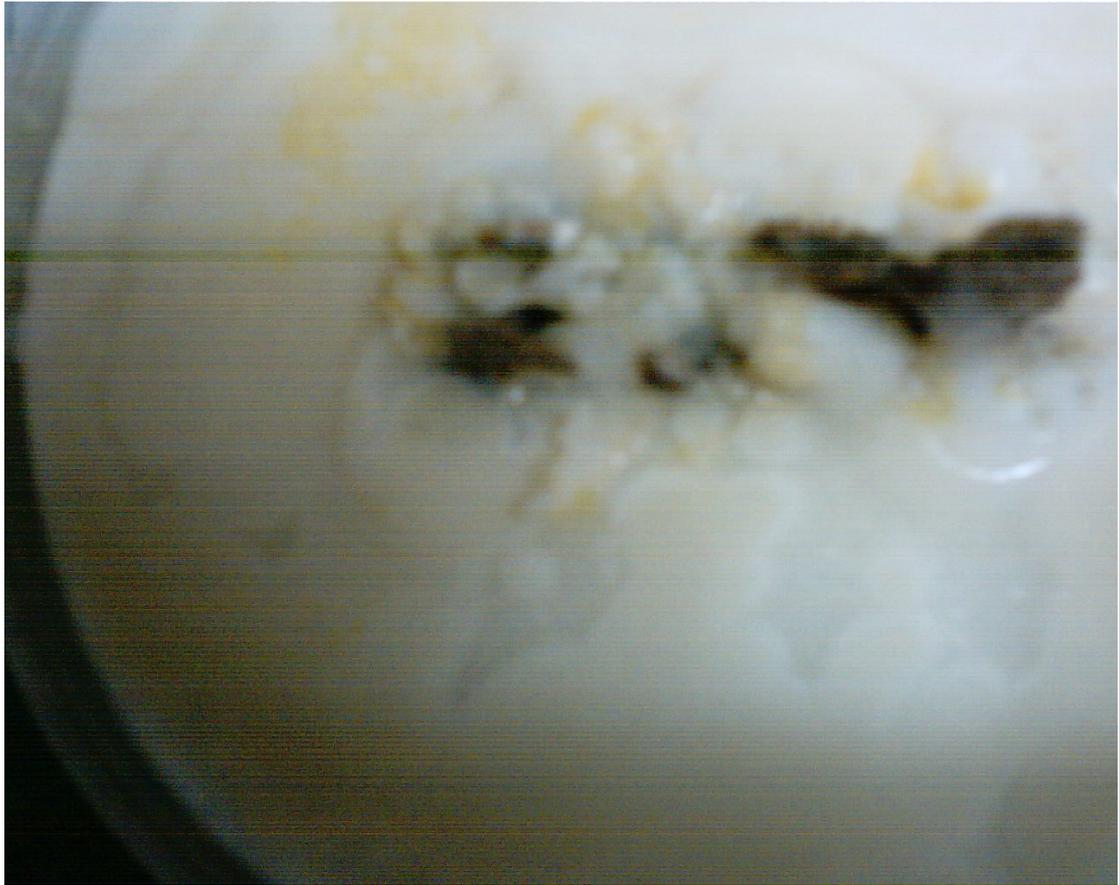
©18 小時後之邊緣曲折形抑菌環



◎18 小時後之大型抑菌環



◎72 小時之邊緣曲折形



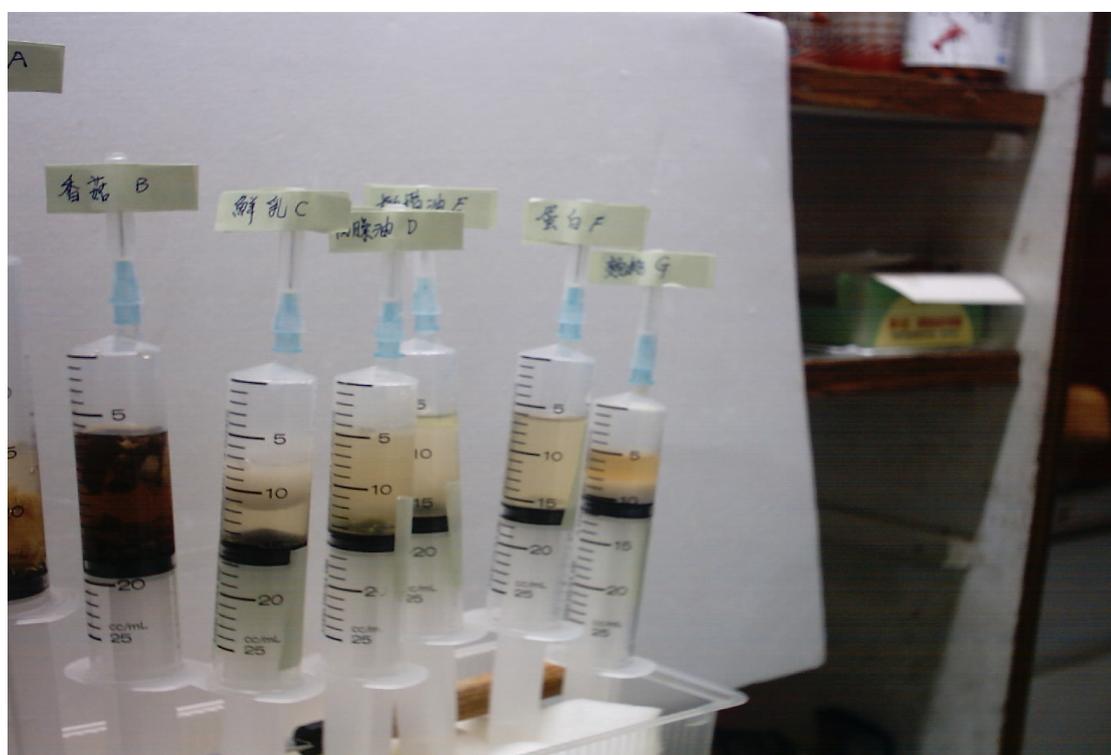
©72 小時之小型



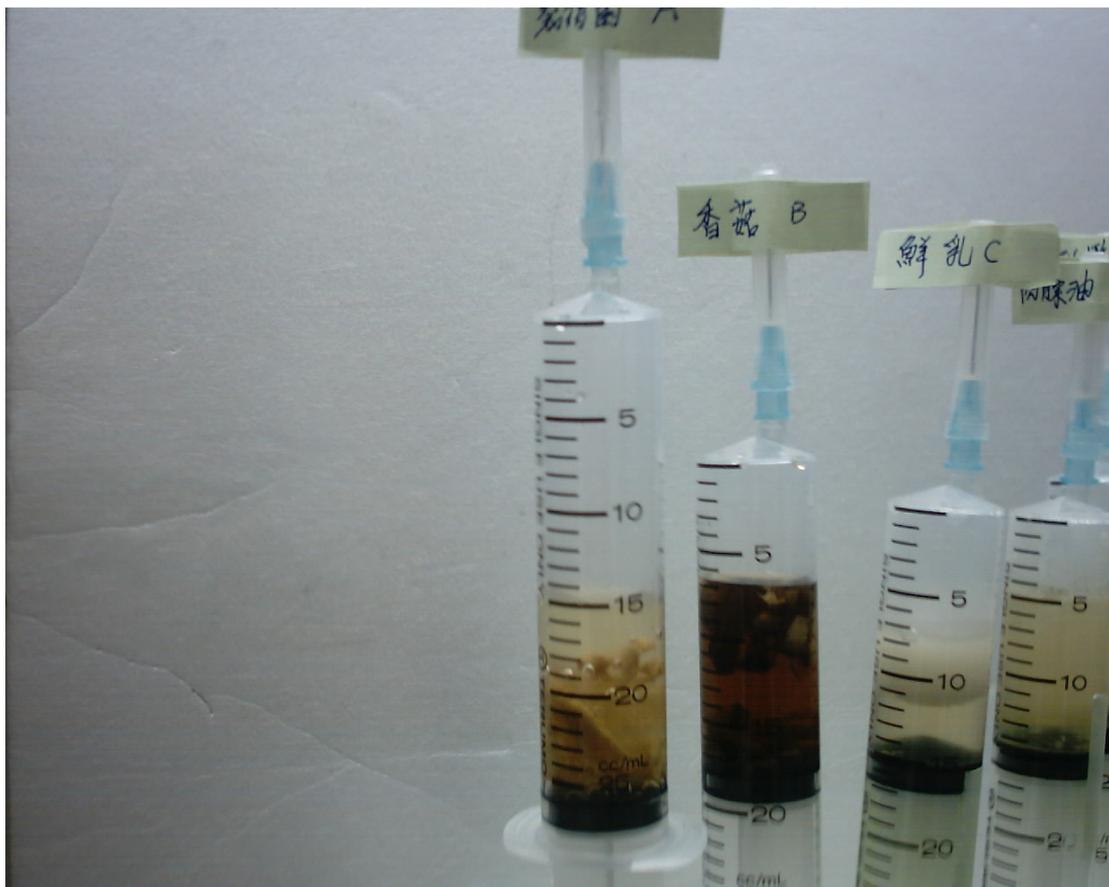
©72 小時之扇型



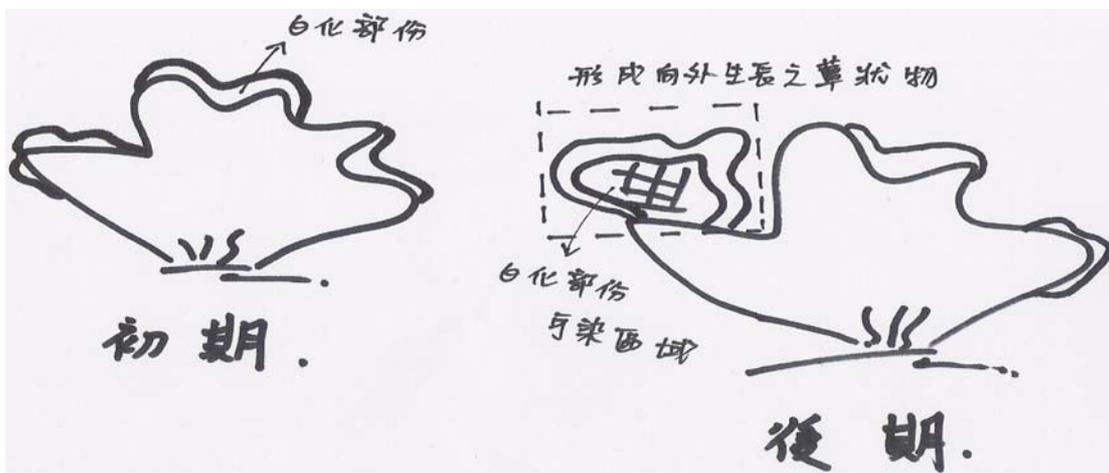
◎72 小時之大型



◎酵素分解下之產氣量比較



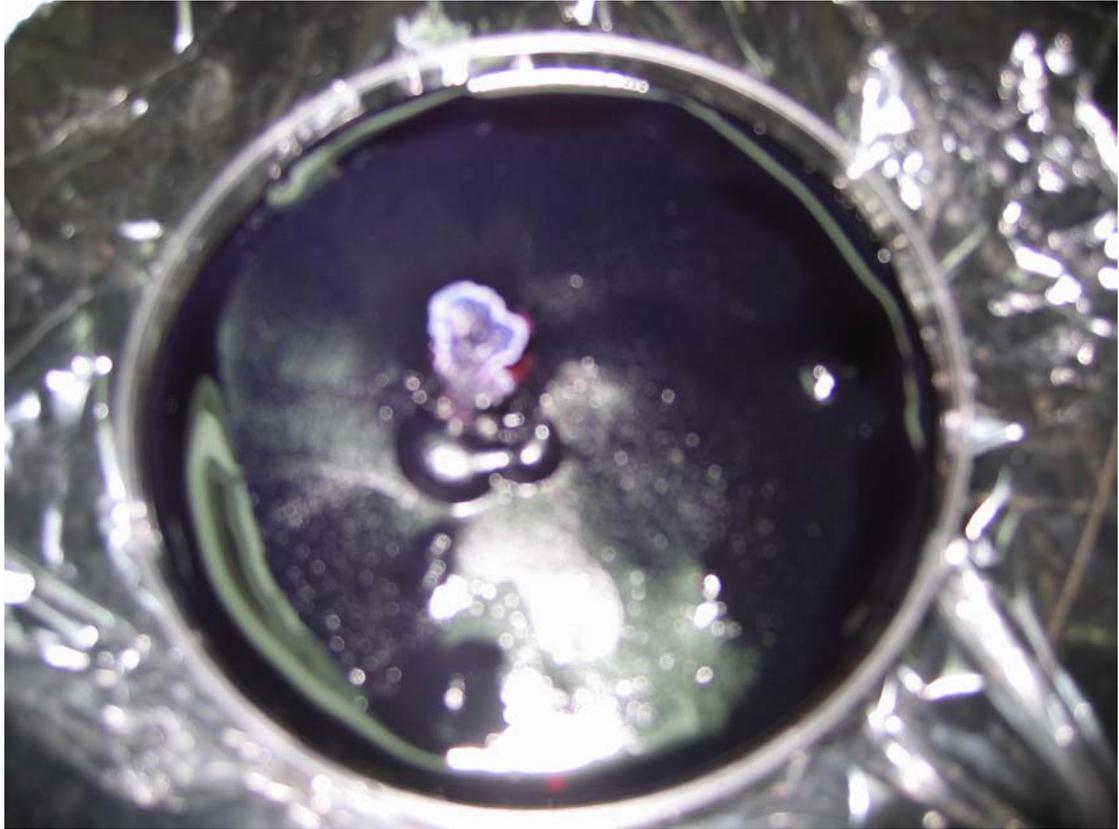
◎ * 裂褶菌與香菇在酵素分解下之產氣量比較



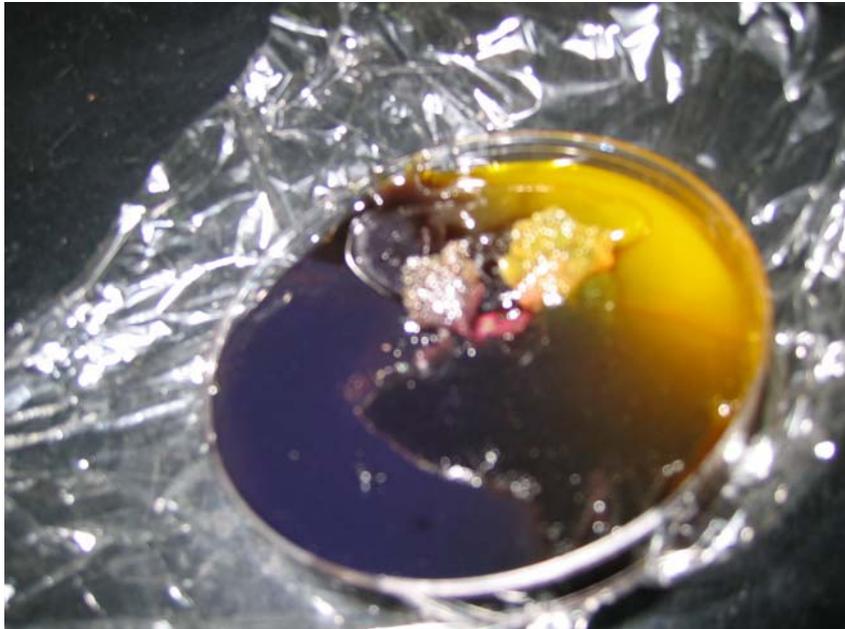
* 白化示意圖



* 最長距.最短距示意圖



*請注意子實體周圍白色部份.此為無法染色區域.



●未白化子實體之染色情形



*子實體白化情形.(上及下).請注意其最外部之白色狀物.此為初期之現象



中華民國第四十五屆中小學科學展覽會
評 語

高中組 生物(生命科學)科

最佳(鄉土)教材獎

040704

裂褶菌辛秘

國立宜蘭高級中學

評語：

1. 取材具鄉土性
2. 能自製設備進行研究
3. 建議尋求專家協助指導行更詳細的數據分析