

不同藥用真菌以玉米軸芯基質液態發酵對木寡糖生成之影響

方凱慶、徐泰浩、林芳儀

E-mail: 364826@mail.dyu.edu.tw

摘要

大多藥用真菌具有豐富的多醣體，可利於抗腫瘤及抑制癌細胞生長，有增強免疫系統或調節身體平衡、抗發炎、降血脂等功能。除此外學者曾指出藥用真菌具有多種酵素，其中有些木聚糖?可利用半纖維素物質生產木寡糖，使用於藥劑、化妝品和食品工業上。玉米軸芯含有大量之纖維素，因此為生產木寡糖之良好的原料來源。本實驗以雲芝、樟芝、舞茸、桑黃進行振盪培養方式於不同培養基(以玉米軸芯作為碳源，加入R.O水；以紅砂糖做為碳源，加入花生粉萃取液作為氮源；以玉米軸芯及紅砂糖作為碳源，加入花生粉萃取液作為氮源)、溫度(22、25、28)與振盪速率(50rpm、100rpm、150rpm)下探討木寡糖生成之影響。結果顯示在25、150rpm振盪培養下，雲芝能得到最佳的生物質量、胞外粗多醣和木聚糖?產量分別為2.59mg/mL、0.99mg/mL和32.57U/100mL；以不同溫度培養，雲芝在25可獲得生物質量、胞外粗多醣和木聚糖?能達較佳的結果，其分別為3.63mg/mL、2.96mg/mL和43.08U/100mL；然而以不同轉速培養，舞茸150rpm可獲較高的生物質量與胞外粗多醣產量，但在100rpm下可獲較高的木聚糖?活性其分別為2.53mg/mL、0.89mg/mL和31.30U/100mL；在不同培養基培養條件，以玉米軸芯及紅砂糖作為碳源，加入花生粉萃取液作為氮源條件培養下，以樟芝可獲得較高的生物質量與胞外粗多醣和木聚糖?活性分別為3.46mg/mL、1.17mg/mL及41.65U/100mL；添加玉米軸芯為碳源，雲芝可獲得較高之生物質量及木寡糖產量其分別為4.82mg/mL、54.32mg/mL，桑黃則得到較佳胞外粗多醣為1.48mg/mL，至於樟芝在添加玉米軸芯後獲得較高木聚糖?活性為35.83U/100mL。

關鍵詞：藥用真菌、玉米軸芯、木聚糖?、木寡糖

目錄

目錄 封面內頁 簽名頁 中文摘要 iii 英文摘要 v 致謝 vii 目錄 viii 圖目錄 xii 表目錄 xvi 1.前言 1 2.文獻回顧 2 2.1雲芝簡介 2
2.1.1雲芝之分類 3 2.1.2雲芝之形態分布 4 2.2牛樟芝簡介 4 2.2.1牛樟芝之命名緣由 5 2.2.2牛樟芝之型態特徵 6 2.3舞茸簡介 8
2.3.1舞茸之分佈及生長環境 8 2.3.2舞茸之型態特徵 8 2.3.3舞茸之分類地位 9 2.4桑黃簡介 11 2.4.1桑黃之緣由 11 2.4.2桑黃之分類、命名及分佈 11 2.4.3桑黃生態習性 13 2.5影響發酵產物之環境因子 14 2.5.1碳源(Carbon source) 14 2.5.2氮源(Nitrogen source) 14 2.5.3溫度 15 2.5.4轉速 16 2.5.5振盪培養 16 2.6農業纖維性廢棄物 16 2.7木聚糖? 17 2.7.1木聚糖?之種類與反應機制 17 2.7.2木聚糖?之來源 19 2.7.3木聚糖?之應用 22 2.8木寡糖 24 2.8.1木寡糖之理化特性 24 2.8.2木寡糖之生理機能 26 2.9胞外多醣 29 3.材料與方法 30 3.1實驗設計與架構 30 3.2實驗材料 32 3.2.1實驗菌株 32 3.2.2實驗藥品 32 3.2.3實驗儀器 32 3.3搖瓶培養試驗 36 3.3.1菌種培養 36 3.3.2農產品培養基 36 3.3.3四種不同藥用真菌株搖瓶試驗培養基 36 3.4菌種保存與更新 38 3.5液態培養 38 3.6液態培養基最適培養條件之探討 38 3.6.1不同溫度對藥用真菌之影響 38 3.6.2不同轉速對藥用真菌之影響 38 3.6.3不同培養基對藥用真菌之影響 39 3.7分析方法 39 3.7.1菌體之生物質量 39 3.7.2胞外多醣(總醣)分析測定方法 40 3.7.2.1酚-硫酸分析方法 40 3.7.2.2標準曲線製作 40 3.7.2.3胞外多醣之萃取 40 3.7.3還原糖與木聚糖?分析測定方法 41 3.7.3.1酸水解分析方法 41 3.7.3.2 DNS試劑配製方法 41 3.7.3.3還原糖量分析方法 41 3.7.3.4木聚糖?酵素活性分析 42 3.7.4木寡糖含量檢測 44 3.7.4.1醱酵液製備 44 3.7.4.2高效液相層析儀(HPLC)操作條件 44 4.結果與討論 46 4.1玉米軸芯培養藥用真菌形態之差異 46 4.2以搖瓶振盪培養下對四種藥用真菌之生物活性物質之影響 49 4.2.1以搖瓶振盪培養下生物質量與胞外多醣之影響 50 4.2.2以搖瓶振盪培養下還原糖與木聚糖?之影響 57 4.3不同溫度對四種藥用真菌之生物活性物質之影響 64 4.3.1不同溫度對生物質量及胞外多醣之影響 64 4.3.2不同溫度對還原糖與木聚糖?活性之產量 70 4.4不同轉速對四種藥用真菌之生物活性物質之影響 76 4.4.1不同轉速對生物質量及胞外多醣之影響 76 4.4.2不同轉速對還原糖與木聚糖?活性之影響 82 4.5不同培養基對四種藥用真菌之生物活性物質之影響 88 4.5.1不同培養基對生物質量及胞外多醣之影響 88 4.5.2不同培養基對還原糖與木聚糖?活性之產量 94 4.6添加玉米軸芯對四種藥用真菌之生物活性物質之影響 100 4.6.1添加玉米軸芯對生物質量及胞外多醣之影響 100 4.6.2添加玉米軸芯對木聚糖?活性及木寡糖產量之影響 105 5.結論 111 參考文獻 113 圖目錄 圖 2.1a-b 雲芝子實體 3 圖 2.2雲芝在真菌門之分類地位 5 圖 2.3樟芝子實體 7 圖 2.4a舞茸子實體外觀 10 圖 2.4b舞茸菌絲 10 圖 2.5a-b 桑黃之外觀形態(a)phellinus igniarius(b)phellinus linteus 13 圖 2.6聚木糖及降解聚木糖協同酵素之假設模式 19 圖 2.7cryptococcus albidus之聚木糖降解系統 21 圖 3.1實驗流程圖 31 圖 4.1a-d四種藥用真菌於搖瓶振盪培養7天之生長型態 47 圖 4.2a-c以不同轉速探討於搖瓶振盪培養下菌絲體之生長型態 48 圖 4.3a雲芝以振盪培養下生物質量、最終pH與胞外多醣之變化 51 圖 4.3b樟芝以振盪培養下生物質量、最終pH與胞外多醣之變化 52 圖 4.3c舞茸以振盪培養下生物質量、最終pH與胞外多醣之變化 53 圖 4.3d桑黃以振盪培養下生物質量、最終pH與胞外多醣之變化 54 圖 4.3e四種藥用真菌以振盪培養下生物質量之變化 55 圖 4.3f 四種藥用真菌以振盪培養下胞外多醣之變化 56 圖 4.4a雲芝以振盪培養下還原糖與木聚糖?之變

化 58 圖 4.4b 樟芝以振盪培養下還原糖與木聚糖?之變化 59 圖 4.4c 舞茸以振盪培養下還原糖與木聚糖?之變化 60 圖 4.4d 桑黃以振盪培養下還原糖與木聚糖?之變化 61 圖 4.4e 四種藥用真菌以振盪培養下還原糖之變化 62 圖 4.4f 四種藥用真菌以振盪培養下木聚糖?之變化 63 圖 4.5a 雲芝以 22 振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之變化 65 圖 4.5b 雲芝以 25 振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之變化 66 圖 4.5c 雲芝以 28 振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之變化 67 圖 4.5d 雲芝以不同溫度振盪培養下之生物質量的變化 68 圖 4.5e 雲芝以不同溫度振盪培養下胞外多醣之變化 69 圖 4.6a 雲芝以 22 振盪培養下還原糖與木聚糖?之變化 71 圖 4.6b 雲芝以 25 振盪培養下還原糖與木聚糖?之變化 72 圖 4.6c 雲芝以 28 振盪培養下還原糖與木聚糖?之變化 73 圖 4.6d 雲芝以不同溫度振盪培養下還原糖之變化 74 圖 4.6e 雲芝以不同溫度振盪培養下木聚糖?之變化 75 圖 4.7a 舞茸以 50rpm 振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之變化 77 圖 4.7b 舞茸以 100rpm 振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之變化 78 圖 4.7c 舞茸以 150rpm 振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之變化 79 圖 4.7d 舞茸以不同轉速振盪培養下生物質量之變化 80 圖 4.7e 舞茸以不同轉速振盪培養下胞外多醣之變化 81 圖 4.8a 舞茸以 50rpm 振盪培養下還原糖與木聚糖?活性之產量 83 圖 4.8b 舞茸以 100rpm 振盪培養下還原糖與木聚糖?活性之產量 84 圖 4.8c 舞茸以 150rpm 振盪培養下還原糖與木聚糖?活性之產量 85 圖 4.8d 舞茸以不同轉速振盪培養下還原糖之產量 86 圖 4.8e 舞茸以不同轉速振盪培養下木聚糖?活性之產量 87 圖 4.9a 樟芝以玉米軸芯作為碳源，加入 R.O 水條件在振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之產量 89 圖 4.9b 樟芝以紅砂糖作為碳源，加入花生粉萃取液作為氮源條件在振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之產量 90 圖 4.9c 樟芝以玉米軸芯、紅砂糖作為碳源，加入花生粉萃取液作為氮源條件在振盪培養下生物質量、最終 pH 與胞外多醣之產量 91 圖 4.9d 樟芝以不同培養基在振盪培養下生物質量之產量 92 圖 4.9e 樟芝以不同培養基在振盪培養下胞外多醣之產量 93 圖 4.10a 樟芝以玉米軸芯作為碳源，加入 R.O 水條件在振盪培養下還原糖與木聚糖?活性之產量 95 圖 4.10b 樟芝以紅砂糖做為碳源，加入花生粉萃取液作為氮源條件在振盪培養下還原糖與木聚糖?活性之產量 96 圖 4.10c 樟芝以玉米軸芯、紅砂糖作為碳源，加入花生粉萃取液作為氮源條件在振盪培養下還原糖與木聚糖?活性之產量 97 圖 4.10d 樟芝以不同培養基在振盪培養下還原糖之產量 98 圖 4.10e 樟芝以不同培養基在振盪培養下木聚糖?活性之產量 99 圖 4.11a 以四種藥用真菌無添加玉米軸芯在振盪培養下生物質量之產量 101 圖 4.11b 以四種藥用真菌添加玉米軸芯在振盪培養下生物質量之產量 102 圖 4.11c 以四種藥用真菌無添加玉米軸芯在振盪培養下胞外多醣之產量 103 圖 4.11d 以四種藥用真菌添加玉米軸芯在振盪培養下胞外多醣之產量 104 圖 4.12a 以四種藥用真菌無添加玉米軸芯在振盪培養下木聚糖?活性之產量 107 圖 4.12b 以四種藥用真菌添加玉米軸芯在振盪培養下木聚糖?活性之產量 108 圖 4.12c 以四種藥用真菌無添加玉米軸芯在振盪培養下木寡醣產量之影響 109 圖 4.12d 以四種藥用真菌添加玉米軸芯在振盪培養下木寡醣產量之影響 110 表目錄 表 2.1 半纖維素分解?之種類 20 表 3.1 四種不同藥用真菌名稱、編號、來源地與型態 33 表 3.2 本試驗所使用的實驗藥品 34 表 3.3 本試驗使用之儀器 35 表 3.4 農產品培養基組成 37 表 3.5 DNS 試劑組成 43 表 4.1 不同藥用真菌在搖瓶振盪培養下菌絲生長情形 49

參考文獻

- 參考文獻 1.水野卓 川合正允。1999。菇類的化學、生化學。國立編譯館。 2.王伯徹。1990。藥用真菌系列報導(八)雲芝。食品工業。22(10):59-62。 3.王伯徹、陳啟楨、華傑。1998。食藥用菇類的培養與應用。財團法人食品工業發展研究所。 4.卯曉嵐。1999。中國大型真菌。河南科學技術出版社。477-479。 5.石波、李里特。2001。玉米芯?法制取低聚木醣的研究。中國農業大學學報。6(2):92~95。 6.池玉杰、潘學仁。2001。7種木層孔菌屬真菌的培養特性。菌物系統。20:378-380。 7.江正強。2005。微生物木聚糖?的生產及其在食品工業中應用的研究進展。中國食品學報。5(1):1-9。 8.朱壽榮、溫魯、吳梅豔、董春歌。2007。蛹蟲草液體菌種培養和使用研究。安徽農業科學。35(36):11908-11909。 9.宋力、孫培龍、郭彬彬、魏紅福、陳靈杰。2004。桑黃的研究進展。中國食用菌。24:7-10。 10.李秀婷。2008。微生物木聚糖?及在食品工業中的應用。農業機械學報。39(2):175-179。 11.李彩霞。2002。木聚糖??活測定方法的探討。西北輕工業學院學報。6(20):95-96。 12.林怡君。2006。探討添加氧化鈉和供氧量對桑黃生產多醣體之影響。國立中央大學碩士論文。 13.郭美娟。1999。菌類之王-舞菇。24:75-76。 14.孫淑靜、江玉姬、朱虎、謝寶貴。2005。藥用真菌桑黃的研究現狀。藥物生物技術。12:138-140。 15.胡琦桂。1994。真菌球狀菌絲體生長之探討。食品工業。26(9):37-45。 16.高木繁。2004。桑黃。青春出版社。 17.真野俊樹。2003。天然桑黃抗癌 增強免疫力。安立出版社。 18.陳怡倩。2001。利用批示液態培養來探討檸檬酸對裂褶菌生長及其多醣體生成影響之研究。中央大學碩士論文。 19.陳書豪。2006。探討樟芝的溫度變化對液態發酵與固態發酵生產三?類與多醣體之影響。國立中央大學碩士論文。 20.崔思穎、朱明軍、鄧毛程、梁世中。2010。不同培養方式製備的細菌纖維素性質的比較。造紙科學與技術。29(1):67-70。 21.張淑芬。2001。食藥用菇類搖瓶液態培養條件之探討。食品工業。33:37-46。 22.梁志弘。2009。桑黃之液態培養及其生理活性。中興大學博士論文。 23.黃小龍、黃東益、周雙清、吳繁花、陶思宇。2009。粘質沙雷氏菌產靈芝紅素培養基的篩選。生物技術 19(5):65-67。 24.黃思齊。2011。發酵產程擴大化及不同培養基對雲芝胞外醣?化學特性之影響。大葉大學碩士論文。 25.黃家驥、許正宏、陶文沂。2004。以 *Bacillus pumilis* 木聚糖?水解玉米芯製備木寡醣。30(5):5-9。 26.楊士賢。2006。影響雲芝菌絲體與多醣體批式饋料發酵產程式控制餐樹因數之探討。大葉大學碩士論文。 27.楊平。2008。紅汁乳菇菌絲體深層培養的研究。貴州大學碩士論文。 28.楊紹榮。1995。農業廢棄物之利用。台南農業試驗所。 29.鄭立軍、王清、季俊?、沈業壽。2005。藥用真菌-桑黃的研究進展。現代中藥研究與實踐。19:61-64。 30.劉正南、鄭淑芳。1997。中國藥用真菌的現狀和種質資源。中國食用菌。6:30。 31.劉波。1984。中國藥用真菌。山西人民出版社。 32.慕娟、問清江、党永、李葉昕、張燦、李文柯、李慧惠。2012。木聚糖?的開發與應用。陝西農業科學。58(1):111-115。 33.齊藤隆、楊耀銘。2004。我們的抗癌完全勝利宣言-20種蘑菇複合菌絲體超水溶性、超抗癌作用、超強免疫調節。

亞洲商務管理出版社。34.臧穆、蘇慶華。1990。我國台灣產靈芝屬新種牛樟芝。雲南植物研究。12:395-396。35.戴玉成。2003。藥用擔子菌-鮑氏層孔菌(桑黃)的新認識。中草藥。34:94。36.戴郁軌、朱凱俊。1982。真菌名詞辭典。名山出版社。2467 37.蕭淞云。2006。自稻稈與蔗渣生產木寡糖之研究。國立台灣大學碩士論文。38.蘇正德。1995。寡糖之生理機能性。食品資訊。6:14-22。39.蘇遠志。1991。機能性糖質甜味料的研究發展。生物產業。2:135-152。40.蘇遠志。1999。以生物技術開發機能性糖質甜味料之研究。中華民國食品科技研討會。41.Ainsworth, G. C., Sparrow, F. K., and Sussman, A. S. 1973. A Taxonomic Review with Keys: Ascomycetes and Fungi Imperfecti. Academic Press. 621. 42.Ajlouni, S. O., Beelman, R. B., Thompson, D. B. and Mau, J. L. 1995. Change in soluble sugars in various tissues of cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus* during postharvest storage. In G. Charalambous (Ed.), Food flavors p. 1865 – 1880. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier. 43.Bastawde, K. B. 1992. Xylan structure, microbial xylanases, and their mode of action. *Biotechnol.* 8:353-368. 44.Berggren, A. M., Bjorck, I. M. E., Margareta, E., Nyman, G.L., and Eggum, B. O. 1993. Short-chain fatty acid content and pH in caecum of rats given various sources of carbohydrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 63:397-406. 45.Biely, P. 1985. Microbial lanolytic systems. *Trends Biotechnol.* 3:286-290. 46.Biely, P. 1993. Biochemical aspects of the production of microbial hemicellulases, in hemicellulose and hemicellulases. Portland Press. 29-52. 47.Buchalo, A. S., Wasser, S. P., Reshetnikov, S. V., and Grigansky, A. P. 1999. Studies on microstructures of vegetative mycelium in the medicinal mushrooms *Hericium erinaceus* pers *Grifola frondosa*. *International Journal for Medicinal Mushrooms.* 1:235-241. 48.Carlos, R. J., Girio, F. M., Kara, A., and Amaral, C. M. T. 1993. Kinetic and metabolic effects of nitrogen, magnesium and sulphur restriction in *Xanthomonas campestris* batch cultures. *Journal of Applied Microbiology.* 75(4): 381-386. 49.Chang, T. T., and Chou, W. N. 2003. Five polypores (Basidiomycota) new to Taiwan and their cultural characteristics. *Bot Bull Acad sin.* 44:245-251. 50.Chen, A. W., Stamets, P., Cooper, R. B., Huang, N., and Han, S. 2000. Ecology, morphology, and morphogenesis in nature of edible and medicinal mushroom *Grifola frondosa*. *International Journal for Medicinal Mushrooms.* 2:221-228. 51.Christov, L. P., and Prior, B. A. 1993. Esterases of xylan-degrading microorganisms: production, properties, and significance. *Enzyme Microb.* 15:460-475. 52.Collins, T., Meuwis, M.A., Stals, I., Claeysens, M., Feller, G. and Gerday, C. 2002. A novel family 8 xylanase, functional and physicochemical characterization. *Journal of Biological Chemistry.* 277(38): 35133-9. 53.Cosgrove, D. J. 1998. Cell Walls: Structures, Biogenesis, and Expansion. Sinauer Associates. 409-443. 54.Coughlan, M. P., and Hazlewood, G. P. 1993. s-1,4-D-xylan-degrading enzyme systems: biochemistry, molecular biology and application. *Biotech. Appl. Biochem.* 17:259-289. 55.Dekker, R. F. H., and Richards, G. N. 1976. Hemicellulases: their occurrence, purification, properties and mode of action. *Carbohydr. Chem. Biochem.* 32:277-352. 56.Desmond, T., Fergus, J. L., and Brian, O. S. 1990. Synthesis, structure and properties of stereochemically non-rigid molybdenum pyrazolylborato complexes containing a dihapto-thiocarboxamido ligand. *Journal of organo metalic chemistry.* 381:33-37. 57.Draser, B. S., and Hill, M. J. 1974. human intestinal flora. Academic Press. 216-217. 58.Eduard, B., Paqui, B., Montserrat, S., Gloria, C., and Teresa, V. 2008. *Trametes versicolor* pellets production: Low-cost medium and scale-up. *Biochemical Engineering Journal.* 42:61-66. 59.Esteban, A., Gomez-Acebo, E., and Cal, M. A. 1982. Pulsus paradoxus in acute myocardial infarction. *Chest.* 81:47-50. 60.Forage, R. G., Harrison, D. E. F., and Pitt, D. E. 1985. Effect of environment on microbial activity. *Comprehensive Biotechnology.* 1:253-279. 61.Gibbs, M. D., Reeves, R. A., and Bergquist, P. L. 1995. Cloning, sequencing, and expression of a xylanase gene from the extreme thermophile *Dctyoglossus thermophilum* Rt46B. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:4403-4408. 62.Hsu, T. H., Shiao, L. H., Hsieh, C. and Chang, D. M. 2002. A comparison of the chemical composition and bioactive ingredient of the Chinese medicinal mushroom Dong Chong Xia CAO, its counterfeit and mimic, and fermented mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Food Chemistry.* 78(4): 463-469. 63.Hughes, J. B., and Hoover, D. G. 1991. Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. *Food Technol.* 45(4): 74-83. 64.Jain, A., Garg, S. K., and Johri, B. N. 1998. Properties of a thermostable xylanase produced by *Melanocarpus albomyces* IIS-68 in solid state fermentation. *Bioresource Technology.* 64:225-228. 65.Jong, Pil. Park., Sang-Woo, Kim., Hye-Jin, Hwang., Youn, Jeung, Cho., and Jong-Won, Yun. 2002. Stimulatory effect of plant oils and fatty acids the exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology.* 31: 250-255. 66.Kang, X., Wang, Y., Harvey, L. M. and McNeil, B. 2000. Effect of air flow rate on scleroglucan synthesis by *Sclerotium gluconicum* in an airlift bioreactor with an internal loop. *Bioprocess and Biosystems Engineering.* 23(1): 69-74. 67.Madlala, A. M., Biossoon, S., Singh, S., and Christove, L. 2001. Xylanase induced reduction of chlorine dioxide consumption during elemental chlorine-free bleaching of different pulp types. *Biotechnol.* 23:345. 68.Masai, T., Wada, K., Hayakawa, K., Yoshihara, I., and Mitsuoka, T. 1987. Effect Of soybean oligosaccharides on human intestinal flora and metabolic activities. *Japan J Bacteriol.* 42(1):313-315. 69.McCrae, S. I., Leith, K. M., Gordon, A. H., and Wood, T. M. 1994. Xylan degrading enzyme system produced by the fungus *Aspergillus awamori*: isolation and characterization of a feruloyl esterase and r-coumaroyl esterase. *Enzyme Microb.* 16:826-834. 70.Mcdermid, K.P., Forsberg, C. W., and Mackenzie, C. R. 1990. Purification and properties of an acetyl xylan esterase from *Fibrobacter succinogenes* S 85. *Appl Environ Microbiol.* 56: 3805-3810. 71.Mitsuoka, T. 1982. Recent trends in the research on intestinal flora. *Bifidoba Microflo.* 6: 263-267. 72.Mohn, W. W., Westerberg, K., Cullen, W. R., and Reimer, K. J. 1997. Aerobic biodegradation of biphenyl and polychlorinated biphenyls by Arctic soil microorganisms. *Appl Environ Microbiol.* 63 : 3378-3384. 73.Morales, P., Madarro, A., Flors, A., Sendra, J. M., and Perez-Gonzalez, J. A. 1995. Purification and characterization of a xylanase and an arabinofuranosidase from *Bacillus polymyxa*. *Enzyme Microb.* 17:424-429. 74.Ohku, T. 1992. Written comprehensive evaluation on xylooligosaccharide by Japan Health Food and Nutrition Food Association. Suntory report. 75.Okazaki, M., Fujikawa, S., and Matsumoto, N. 1990. Effect of xylooligosaccharide on the growth of Bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora.* 9: 77-86. 76.Palaniswamy, M., Paradeep, B.V., Sathya, R. and Angayarkanni, J. 2008. Isolation, identification and screening of potential xylanolytic enzyme from litter degrading fungi. *African Journal of Biotechnology.* 7(11):1978-1982. 77.Park, J. P., Kim, S. W., Hwang, H. J., Cho, Y. J. and Yun, J. W. 2002. Stimulatory effect of plant oils and fatty acid on the exo-biopolymer production in *Cordyceps*

militaris. *Enzyme and Microbial Technology*, 31:250-255. 78. Prama, K. E., and Aidoo, R. F. 2002. Sugar profile of extracellular polysaccharides from different *Tremella* species. *International Journal of Food Microbiology*. 79:121-129. 79. Purkarthofer, H., Sinner, M., and Steiner, W. 1993. Cellulase-free xylanase from *Thermomyces lanuginosus*: Optimization of production in submerged and solid-state culture. *Enzyme Microb.* 15:677-682. 80. Subramaniyan, S., and Prema, P. 2000. Cellulase-free xylanases from *Bacillus* and other microorganisms. *FEMS Microbiology*. 183:1-7. 81. Sutherland, I. W. 1998. Polysaccharases for microbial exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 38:319 – 328. 82. Techapun, C., Poosaran, N., Watanabe, M. and Sasaki, K. 2003, Optimization of aeration and agitation rates to improve cellulase-free xylanase production by thermotolerant *Streptomyces* sp. Ab106 and repeated fed-batch cultivation using agricultural waste. *Journal of Bioscience and Engineering*. 95(3): 298-301. 83. Tomomatsu, H. 1994. Health effects of oligosaccharides. *Food Technol.* 148: 61-65. 84. Wada, k., Watabe, J., Mizutani, J., Suzuki, H., Kiri, N., Hayakawa, K., and Yamaguchi, C. 1991. Effects of soybean oligosaccharides intake on fecal microflora, enzyme activity, ammonia and frequency of evacuation in elderly persons. *Bifidus*. 4: 135-140. 85. Wong, K. K. Y., Tan, L. U. L., and Saddler, J. N. 1988. Multiplicity of s-1,4-xylanase in microorganisms: functions and applications. *Microbiol.* 52:305-317. 86. Wong, K. K. Y., Tan, L. U. L., Saddler, J. N., and Yaguchi, M. 1986. Purification of a third distinct xylanase from the xylanolytic system of *Trichoderma harzianum*. *J. Microbiol.* 32:570-574. 87. Yang, F. C., and Liao, C. B. 1998. The influence of environmental conditions on polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in submerged cultures. *Process Biochemistry*. 33:547-553.