

Study on the Antibacterial Activities of *Antrodia cinnamomea* from Culture Broth and Extract of Fermented Grains

潘建州、梁志欽

E-mail: 364888@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

The aim of this research was to investigate the antibacterial activities of the culture broth and the extract of fermented grains (wheat, coix and pearl barley) from three stains of *A. cinnamomea* (BCRC 35396, BCRC 35398 and Lu) under different fermentation types and incubation time. Under different incubation time of submerged culture, the culture broth of BCRC 35396 and Lu which incubated at 14th day and BCRC 35398 which incubated at 21th day was shown the strongest antibacterial activities, respectively. Among the three strains of *A. cinnamomea*, the culture broth of Lu was shown the strongest antibacterial activities, followed by BCRC 35396 and BCRC 35398 in order. Particularly, The culture broth from Lu which incubated at 14th day could inhibit nine pathogenic bacterial strains. They inhibited *Enterococcus faecalis* BCRC 10066 with the biggest inhibitory zone(13.75 mm), 0.63 mg/mL of minimum inhibitory concentrations and 2.50 mg/mL of minimal bactericidal concentration. During the incubation time of solid state culture, for the BCRC 35396, the extract of fermented coix which incubated at 45th day, and the extracts of wheat and pearl barley which incubated at 60th day were shown the strongest antibacterial activities, respectively. For the BCRC 35398, the extracts of fermented wheat, coix and pearl barley which incubated at 60th day were shown the strongest antibacterial activities, respectively. For the Lu strain, the extract of fermented wheat which incubated at 45th day, and the extracts of coix and pearl barley which incubated at 60th day were shown the strongest antibacterial activities, respectively. The order of the antibacterial activities of these three extracts of fermented grains was pearl barley, followed by coix and wheat. Among the three strains of *A. cinnamomea*, the extract of Lu was shown the strongest antibacterial activities, followed by BCRC 35396 and BCRC 35398 in order. Particularly, the extract of fermented pearl barley from Lu which incubated at 60th day could inhibit thirteen pathogenic bacterial strains. They inhibited *E. faecalis* BCRC 10066 with the biggest inhibitory zone (17.25 mm), 0.16 mg/mL of minimum inhibitory concentrations and 0.16 mg/mL of minimal bactericidal concentration.

Keywords : *Antrodia cinnamomea*, submerged culture, solid state culture, antibacterial activities

Table of Contents

目錄 封面內頁 簽名頁 中文摘要...iii 英文摘要...v 誌謝...vii 目錄...viii 圖目錄...xiii 表目錄...xviii 第一章 前言...1 第二章 文獻回顧...5 第一節 致病菌...5 一、革蘭氏陽性菌...7 二、革蘭氏陰性菌...9 第二節 檳芝概述...13 一、樟芝之分類與命名...13 二、樟芝之分佈與型態...15 三、樟芝之生理活性功能...18 第三節 檳芝之培養方式...21 一、影響液態培養之環境因子...23 二、影響固態培養之環境因子...24 三、培養產物...27 第四節 抗生物質...28 一、抗生物質之定義...29 二、抗生物質之作用機制...30 三、抗生物質之合成...33 四、抗生物質之種類...33 五、抗生物質之評估試驗...34 六、菇類特有之抑菌物質...36 七、菇類相關之抑菌文獻...37 第三章 材料與方法...43 第一節 實驗材料...43 一、菌株...43 二、儀器...45 三、藥品...47 四、培養基...50 五、還原糖測定試劑配製試劑配製...50 第二節 檳芝培養...51 一、菌種保存與活化...51 二、樟芝液態培養...51 三、樟芝穀物固態培養...52 第三節 抑菌試驗...55 一、抑菌試驗樣品製備...55 二、細菌保存與活化...55 三、抑菌圈試驗...56 四、最小抑制濃度試驗...56 五、最小殺菌濃度試驗...56 第四節 透析處理...57 一、透析不同分子量區間...57 二、統計分析...59 第四章 結果與討論...60 第一節 檳芝液態培養...60 一、不同樟芝菌株液態培養之生長情況...60 二、不同樟芝菌株其發酵液之抑菌活性...66 三、*A. cinnamomea* Lu 培養第 14 天其發酵液之最小抑制濃度及最小殺菌濃度...77 四、樟芝液態培養其發酵液之抑菌活性討論...80 第二節 檳芝穀物固態培養...82 一、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於不同穀物固態培養之生長情況...82 二、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於不同穀物固態培養其萃取液之抑菌活性...88 三、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液之最小抑制濃度及最小殺菌濃度...99 四、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於穀物固態培養其萃取液之抑菌活性小結...102 五、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於不同穀物固態培養之生長情況...104 六、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於不同穀物固態培養其萃取液之抑菌活性...110 七、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於穀物固態培養其萃取液之抑菌活性小結...124 八、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於穀物固態培養其萃取液之抑菌活性小結...124 九、*A. cinnamomea* Lu 於不同穀物固態培養之生長情況...126 十、*A. cinnamomea* Lu 於不同穀物固態培養其萃取液之抑菌活性...132 十一、*A. cinnamomea* Lu 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液之最小抑制濃度及最小殺菌濃度...143 十二、*A. cinnamomea* Lu 於穀物固態培養其萃取液之抑菌活性小結...146 十三、樟芝穀物固態培養其萃取液之抑菌活性討論...148 第三節 透析處理...149 一、*A. cinnamomea* Lu 培養至第 14 天其

發酵液於不同分子量區間之抑菌活性...149 二、*A. cinnamomea* Lu 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液於不同分子量區間之抑菌活性...152 三、*A. cinnamomea* Lu 液態培養至第 14 天其發酵液及裸麥固態培養至第 60 天其萃取液於不同分子量區間之抑菌活性討論...155 第五章 結論...156 圖目錄 圖 1、樟芝抑制雜菌生長之情況。...2 圖 2、民國 70 年至 99 年台灣地區食品中毒案件病因物質總計。...7 圖 3、樟芝之子實體。...14 圖 4、樟芝之菌絲型態（全生型）。...16 圖 5、樟芝液態培養之孢子。...17 圖 6、青黴菌抑制葡萄球菌生長之情況。...29 圖 7、抗生物質之作用機制。...32 圖 8、實驗架構圖。...42 圖 9、固態培養所使用之穀物（薏仁、裸麥及小麥）。...49 圖 10、透析流程圖。...57 圖 11、不同樟芝菌株於液態培養期間之 pH 值、還原糖及菌絲體乾重變化。...62 圖 12、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於液態培養期間其菌絲體之生長情況。...63 圖 13、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於液態培養期間其菌絲體之生長情況。...64 圖 14、*A. cinnamomea* Lu 於液態培養期間其菌絲體之生長情況。...65 圖 15、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 其發酵液在 2 mg/disc 下之抑菌圈情況。...68 圖 16、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 其發酵液在 2 mg/disc 下之抑菌圈情況。...71 圖 17、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 其發酵液在 2 mg/disc 下之抑菌圈情況。...74 圖 18、不同生長期及不同樟芝菌株其發酵液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陽性菌）。...75 圖 19、不同生長期及不同樟芝菌株其發酵液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陰性菌）。...76 圖 20、*A. cinnamomea* Lu 其第 14 天發酵液之最小殺菌濃度。...79 圖 21、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於不同穀物固態培養期間之 pH 值及生物質量變化。...83 圖 22、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於小麥固態培養期間其菌絲體之生長情況。...85 圖 23、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於薏仁固態培養期間其菌絲體之生長情況。...86 圖 24、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於裸麥固態培養期間其菌絲體之生長情況。...87 圖 25、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 於小麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈。...90 圖 26、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 於薏仁固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈。...93 圖 27、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 於裸麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陽性菌）。...96 圖 28、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 於不同穀物固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陰性菌）。...97 圖 29、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 於不同穀物固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陽性菌）。...98 圖 30、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液之最小殺菌濃度。...101 圖 31、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於不同穀物固態培養期間之 pH 值及生物質量變化。...105 圖 32、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於小麥固態培養期間其菌絲體之生長情況。...107 圖 33、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於薏仁固態培養期間其菌絲體之生長情況。...108 圖 34、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於裸麥固態培養期間其菌絲體之生長情況。...109 圖 35、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 於小麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈。...112 圖 36、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 於薏仁固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈。...115 圖 37、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 於裸麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈。...118 圖 38、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 於不同穀物固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陽性菌）。...119 圖 39、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 於不同穀物固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陰性菌）。...120 圖 40、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液之最小殺菌濃度。...123 圖 41、*A. cinnamomea* Lu 於不同穀物固態培養期間之 pH 值及生物質量變化。...127 圖 42、*A. cinnamomea* Lu 於小麥固態培養期間其菌絲體之生長情況。...129 圖 43、*A. cinnamomea* Lu 於薏仁固態培養期間其菌絲體之生長情況。...130 圖 44、*A. cinnamomea* Lu 於裸麥固態培養期間其菌絲體之生長情況。...131 圖 45、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 於小麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈。...134 圖 46、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 於薏仁固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈。...137 圖 47、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 於裸麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈。...140 圖 48、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 於不同穀物固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陽性菌）。...141 圖 49、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 於不同穀物固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈（革蘭氏陰性菌）。...142 圖 50、*A. cinnamomea* Lu 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液之最小殺菌濃度。...145 圖 51、*A. cinnamomea* Lu 其第 14 天發酵液在 2 mg/disc 下於不同分子量區間之抑菌圈。...151 圖 52、*A. cinnamomea* Lu 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液在 2 mg/disc 下於不同分子量區間之抑菌圈。...154 表目錄 表一、民國 70 年至 99 年台灣地區食品中毒案件各月別案件數統計...6 表二、不同樟芝培養方式之比較...22 表三、抗生物質之種類...33 表四、試驗細菌染色類別、名稱、編號及其來源...44 表五、試驗用儀器、型號、生產公司及其來源...45 表六、試驗材料或藥品其名稱、縮寫、化學式、販售公司及來源...47 表七、液態培養基配方...50 表八、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 其發酵液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...67 表九、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 其發酵液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...70 表十、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 其發酵液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...73 表十一、*A. cinnamomea* Lu 其第 14 天發酵液之最小抑制濃度及最小殺菌濃度...78 表十二、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 於小麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...89 表十三、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 於薏仁固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...92 表十四、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35396 於裸麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...95 表十五、*A. cinnamomea* BCRC 35396 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液之最小抑制濃度及最小殺菌濃度...100 表十六、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 於小麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...111 表十七、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 於薏仁固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...114 表十八、不同生長期 *A. cinnamomea* BCRC 35398 於裸麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...117 表十九、*A. cinnamomea* BCRC 35398 於裸麥固態培養至第 60 天其萃取液之最小抑制濃度及最小殺菌濃度...122 表二十、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 於小麥固態培養其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...133 表二十一、不同生長期 *A. cinnamomea* Lu 於薏仁固態培養其萃取液

在 2 mg/disc 下之抑菌圈...136 表二十二、不同生长期 *A. cinnamomea* Lu 於裸麦固态培养其萃取液在 2 mg/disc 下之抑菌圈...139 表二十三、*A. cinnamomea* Lu 於裸麦固态培养至第 60 天其萃取液之最小抑制浓度及最小杀菌浓度...144 表二十四、*A. cinnamomea* Lu 其第 14 天发酵液在 2 mg/disc 下於不同分子量区间之抑菌圈...150 表二十五、*A. cinnamomea* Lu 於裸麦固态培养至第 60 天其萃取液在 2 mg/disc 下於不同分子量区间之抑菌圈...153

REFERENCES

1. 方繼、李根永、李清福、林建谷、陳惠英、林順富、虞積凱、范晉嘉、蔡國珍，2003。現代食品微生物/James M. Jay 原著。偉明圖書有限公司。
2. 水野卓、川合正允，1997。菇類的化學，生化學。國立編譯館。
3. 王有忠，1993。食品安全。華香園出版社。
4. 王伯徹、黃仁彰，2002。靈芝與樟芝之研發與市場面面觀。食品工業 35:3-17。
5. 王柏森，2008。樟芝 (*Antrodia cinnamomea*) 固態發酵培養產物之成分分析與抗氧化活性之研究。國立屏東科技大學生物技術研究所碩士論文。
6. 王雅欣，2009。樟芝抗發炎活性成分及其研究。國立中興大學農藝學系碩士論文。
7. 王麗?，2011。香杉芝菌絲體萃取物之組成、呈味性質及生物活性。中興大學食品暨應用生物科技學系碩士論文。
8. 丘志威、吳定峰，2005。食品微生物學精要/John Garbutt 原著。藝軒出版社。
9. 朱海文，2005。牛樟之椴木培養之研究探討。朝陽科技大學應用化學系碩士論文。
10. 朱祐頡，2008。人工培養基之樟芝的分子定性。國立東華大學科技研究所碩士論文。
11. 吳昇原，2002。牛樟抽出物對樟芝生長影響。台灣大學森林學研究所碩士論文。
12. 吳秋暉、梁志欽，2005。*Antrodia camphorata* 洋薏仁固態發酵萃取物之抑菌作用。台灣農業化學與食品科學 43:295-303。
13. 吳彩平，2006。以固態發酵製備樟芝米及其品質與抗氧化性質。國立中興大學食品暨應用生物科技學系碩士論文。台中，台灣。
14. 吳華真，2004。台灣中部醫院奇異變形桿菌抗藥性的盛行率。中國醫藥大學醫學研究所碩士論文。
15. 吳聲華、周文能、王也珍，2002。台灣高等真菌－子囊菌與擔子菌的認識。國立自然科學博物館。
16. 呂政澤，2009。牛樟芝純化成分抑制幽門螺旋桿菌誘導人類胃上皮細胞的發炎作用。中國醫藥大學基礎醫學研究所碩士論文。
17. 李佳安，2006。桑黃固體栽培及其生物活性之探討。南台科技大學生物技術系碩士論文。
18. 李順來，2009。台灣國寶牛樟芝。世茂出版有限公司。
19. 岳楓，2010。台灣紅寶石牛樟芝。商訊文化事業股份有限公司。
20. 林永浩，2004。樟芝之牛樟樹宿主專一性。食品工業 36:57-71。
21. 林忠昇，2006。雞肉絲菇其菌種分離及菌種活性之探討。南台科技大學生物技術系碩士論文。
22. 林苡芬，2004。不同發酵碳源之牛樟芝菌絲體發酵過濾液對人類肝癌細胞株之影響。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。
23. 林桂英，2000。不同冬蟲夏草菌株發酵產程中機能性指標成分之探討。大葉大學食品工業研究所碩士論文。
24. 姜家鳳，2002。食品衛生與安全。考用出版社。
25. 施玉蘭，2008。不同栽培方法對牛樟芝菌絲生長之影響。國立屏東科技大學熱帶農業暨國際合作系碩士論文。
26. 徐宏興，2007。餽料批次應用於枯草桿菌生產表面素之探討。元智大學生物科技暨生物資訊研究所碩士論文。
27. 徐胤桓，2011。不同來源蛹蟲草菌株親源分析、生物活性成分含量及抗氧化特性探討。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
28. 徐婉涵，2009。*Pseudomonas* spp. 細菌發酵烏賊軟骨生產生物活性物質及其應用。淡江大學生命科學研究所碩士班碩士論文。
29. 徐敬恆、文榮輝、賴秋梅、翁偉恆，2000。利用深層發酵生產樟芝菌絲體及其抗菌研究。第十五屆全國技術及職業教育研討會論文集（農業類:環境組）p.23-32。
30. 高念華，2011。探討不同誘發因子對穀物培養樟芝生物活性成分之影響。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。
31. 張文菀，2003。不同的液態培養條件對樟芝菌絲生長及多醣形成的影響。東海大學食品科學研究所碩士論文。
32. 張東柱、邱文慧、華傑，1997。台灣木生性無褶菌培養彩色圖鑑（第二輯）。食品工業發展研究所。
33. 張鈺林，2007。利用雙光子螢光及二倍頻顯微術觀察綠膿桿菌對角膜的感染作用。國立台灣大學理學院物理學研究所碩士論文。
34. 許英欽，2000。探討麴胺酸的添加和供氧量對液態發酵生產裂褶菌多醣體之研究。國立中央化學工程與材料工程研究所碩士論文。
35. 連耘愷，2005。黑龍菇菌種發酵液生物活性探討。南台科技大學生物技術系碩士論文。
36. 郭淑卿，2003。樟芝發酵液對大鼠肝臟纖維化及胃腸功能之改善作用。中國醫藥學院中國藥學研究所碩士論文。
37. 陳秀鳳，1995。食品微生物學精華。合記圖書出版社。
38. 陳欣郁，2008。石蓮與刺蔥萃取物之抗菌能力分析。靜宜大學食品營養研究所碩士論文。
39. 陳勁初、林文鑫、陳清農、許勝傑、黃仕政、陳炎鍊，2001。台灣特有真菌－樟芝菌絲體之開發。中華真菌學會學刊 16:7-77。
40. 陳思璋，2003。不同培養時間生產之樟芝發酵液對癌細胞生長之影響。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。
41. 陳盈芳，2005。樟芝免疫調節蛋白活化巨噬細胞分子機制之探討。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
42. 陳振陽、揚定一、蘇慶華、商惠芳、閻啟泰，1996。最新微生物學。匯華出版。
43. 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。國立中央大學化學工程與材料工程研究所碩士論文。
44. 陳健祺，2000。食用菇在醫學上的應用。食品工業 32:54-67。
45. 陳啟楨、蘇慶華、藍明煌，2001。樟芝固體栽培及其生物活性之研究。Fung. Sci. 16:65-72。
46. 陳慶源、陳美惠、袁國芳，2001。真菌幾丁聚醣。Fung. Sci. 16(1, 2)39-52。
47. 陳錦桐，2011。應用紫丁香蘚的二次代謝物及其栽培廢棄基質防治作物病害。中興大學植物病理學研究所博士論文。
48. 陳頤之、劉蕙蓉、黃文忠、蔡明暉、劉倩君，2002。微生物學。華騰文化。
49. 陳藝文，2003。培養條件對樟芝菌絲生長與抗氧化成分生成之影響。東海大學化學工程研究所碩士論文。
50. 賀士紅，2000。水分對靈芝菌絲體和子實體的影響。中國食用菌 19:16。
51. 黃玲娟，2000。樟芝與姬松茸之抗氧化性質及其多醣組成分析。國立中興大學食品科學系碩士論文。
52. 黃惠琴，2001。樟芝菌絲體深層培養之研究。東海大學化學工程學系碩士論文。
53. 楊雅怡，2009。CX 加強抗生素對革蘭氏陰性菌的殺菌效果之機制探討。國立台灣大學生命科學院微生物與化學研究所碩士論文。
54. 楊耀銘，2009。牛樟芝讓生命更豐富。巨煇股份有限公司。
55. 葉展均，2009。以固態發酵製備白樺茸胚芽米及其呈味性質與生理活性。中興大學食品暨應用生物科技學系碩士論文。
56. 詹淑淳，2006。分離自豬隻腸道糞腸球菌所產生腸球素之特性分析。國立中興大學獸醫微生物學研究所碩士論文。
57. 路秀玲、趙樹欣，2000。固態發酵中生物量的測定方法。天津輕工業學院學報 4:57-61。
58. 廖英明，1998。菇類中的許不了－樟芝。農業世界雜誌 176:76-79。
59. 廖淑貞，2001。奇異變形桿菌 (*Proteus mirabilis*) 表面移行及致病因子表現之研究。國立台灣大學醫學院為生物學研究所博士論文。
60. 減穆、蘇慶華，1990。我國台灣產靈芝屬新種－樟芝（型態、定名）。雲南植物研究 12:395-396。
61. 劉景仁，2007。探討誘發劑及兩階段培養對樟

芝深層發酵三?類及抗癌作用之影響。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。62.韓北忠、王家槐，2001。固態發酵中生物量的評估和測定。中國釀造 3:6-10。63.簡秋源、姜宏哲、陳淑貞，1997。牛樟菇培養性狀及其三?類成分分析之研究。林業叢刊第72號。牛樟生物與育林技術研討會論文集 133-137。64.Berkow, R., 1999. The merck manual of medical information-home edition. Merck Sharp & Dohme Corp. 65.Carrizalez, V., Rodriguez, H. and Sarrdina, I., 1981. Determination of specific grow rate of molds as semi-solid cultures. Biotechnology and Bioengineering 23:321-333. 66.Chang, T. T. and Chou, W. N. 1995., *Antrodia cinnamomea* sp. nov. on *Cinnamomea kanehirai* in Taiwan. Mycological Reserch 99:756-758. 67.Chang, T. T. and Chou, W. N., 2004. *Antrodia cinnamomea* reconsidered and *A. salmonea* sp. nov. on Cunninghamia konishii in Taiwan. Botanical Bulletin of Academia Sinica 45:347-352. 68.Chisti, Y., 1999. Solid substrate fermentation, enzyme production, food enrichment. Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation 5:2446-2462. 69.Choo, Q. L., Kuo, G., Weiner, A. J., Overby, L. R., Bradley, D. W. and Houghton, M., 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-bome non-A, non-B viral hepatitis genome. Science 244:359-362. 70.Christian, J. S., 1996. The quinolone antibiotics. Infections Disease Update 3:87-93. 71.Cocito, S., Sgorbini, S., Bianchi, C. N., Hawkins, L. E. and Hutchinson, S., (eds.), 1997. The response of marine organisms to their environments. Proceedings of the European Marine Biology Symposium pp.183-192. 72.Cooperman, B. S., 1977. Identification of binding sites on the *E. coli* ribosome by affinity labeling. Advances in Experimental Medicine and Biology 86:595-809. 73.Copp, B. R., 2003. Antimicrobial natural products. Natural Product Report 6:535-557. 74.Crossley, K. B. and Peterson, P. K., 1996. Infections in the elderly. Clinical Infections Diseases 22:209-215. 75.Francoise, V. B., 2004. Glycopeptides in clinical development: pharmacological profile and clinical perspectives. Current Opinion in Pharmacology 4:471-478. 76.Ghose, T. K., 1987. Measurement of cellulose activities. International Union of Pure and Applied Chemistry 59:257-268. 77.Goodchild, L., 2008. Microbes as climate engineers. Eurekalert. 78.Greenwood, D., 1996. Modes of action. Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy (O ' Grady, F.) pp.10-22 Churchill Livingstone. 79.Guo, Y., Wang, H. and Ng, T. B., 2005. Isolation of trichogin, an antifungal protein from fresh fruiting bodies of the edible mushroom *Tricholoma giganteum*. Peptides 26:575-580. 80.Hammond, S. M. and Lambert, P. A., 1978. Antimicrobial actions. Edward Arnold Ltd. 81.Han, P., Chen, C.Q., Zhang, C. L., Song, K. K., Zhou, H. T. and Chen, Q. X., 2008. Inhibitory effect of 4-chlorosalicylic acid on mushroom tyrosinase and its antimicrobial activities. Food Control 107:797-803. 82.Hatvani, N., 2001. Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinus edodes* mycelium grown in submerged liquid culture. International Journal of Antimicrobial Agent 17:71-74. 83.Hearst, R., Nelson, D., McCollum G., Millar B. C., Maeda Y., Goldsmith C. E., Rooney P. J., Loughrey, A., Rao, J. R. and Moore, J. E., 2009. An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of Shiitake (*Lentinula edodes*) and Oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms. Complementary Therapies in Clinical Practice. 15:5-7. 84.Hsieh, P. C., Mau J. L. and Huang, S. S., 2001. Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts. Food Microbiology 18:35-43. 85.Hur, J. M., Yang, C. H., Han S. H., Lee S. H., You Y. O., Park J. C. and Kim K. J., 2004. Antibacterial effect of *Phellinus linteus* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Fitoterapia 75:603-605. 86.Kitzberger, C. S. G., Artur S. Jr., Pedrosa, R. C. and Ferreira, S. R. S., 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. Journal of Food Engineering 80:631-638. 87.Knorr, D., 1984. Use of chitinous polymers in food a challenge for food research and development. Food Technology 38:85-97. 88.Lancini, G., Parenti, F. and Gallo, G., 1995. Antibiotics: a multidisciplinary approach. Plenum. 89.Liu, D., Hu, Z., Liu, Z., Yang, B., Tu, W. and Li, L., 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from the cultured mycelia of *Ganoderma japonicum*. Journal of Nanjing Medical University 23:168-172. 90.Mahlo, S. M., McGaw, L. J. and Eloff, J. N., 2010. Antifungal activity of leaf extracts form South African trees against plant pathogens. Crop Protection 29:1529-1533. 91.Matcham, S. E., Jordan, B. R. and Wood, D. A., 1984. Methods for assessment of fungal growth on solid substrates. Society for Applied Bacteriology Technical Series 19:6-18. 92.Michielsen, W., Vandevondre, D., Verschraegen, G., Claeys, G. and Afschrift, G., 1993. Bacterial surveillance cultures in a geriatric ward. Age Ageing 22:221-226. 93.Ofodile, L. N., Uma, N. U., Kokubun, T., Grayer, R. J., Ogundipe, O. T., Simmonds, M. S. J., 2005. Antimicrobial activity of some *Ganoderma* species from Nigeria. Phytotherapy Research 19:310-313. 94.Okazaki, N., Sugama, S. and Tanaka, T., 1980. Mathematical model of surface culture of Koji mold. Journal of Fermentation Techenology 58:471-476. 95.Ooijkaas, L. P., Tramper, J. and Buitelaar, R. M., 1998. Biomass estimation of *Coniothyrium minitans* in solid-state fermentation. Enzyme Microbiology and Technology 22:480-486. 96.Patrick, H. K., Ngai and Ng, T. B., 2004. A ribonuclease with antimicrobial, antimitogenic and antiproliferative activities from edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. Peptides 25:11-17. 97.Patrick, H. K., Zhao N. Z. and Ng, T. B., 2005. Agrocybin, an antifungal peptide from the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. Peptides 26:191-196. 98.Qzturk, M., Duru, M. E., Kivrak, S., Nazime M. D., Turkoglu, A. and Ozler, M. A., 2011. In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. Food and Chemical Toxicology 49:1353-1360. 99.Roberts, J. R., 2001. Fish pathology. 3rd ed. W. B. Saunders. 100.Robinson, N. J., Whitehall, S. K., Cavel, J. S., 2001. Microbial metallothioneines. Advanced Microbial Physiology 44:183-213. 101.Sato, K. and Sudo, S., 1999. Small-scale solid-state fermentations. Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology 2:61-63. 102.Seydel, J. K., 1968. Structureal problems of the antibacterial action of 4-aminobenzoic acid (PABA) antagonists. Journal of Pharmaceutical Sciences 57:1455-1478. 103.Sokmen, A., Gulluce, M. Akpulat, G. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M. and Sahin, F., 2004. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Control 15:627-634. 104.Shu, C. H. and Lung, M. Y., 2008. Effect of culture pH on the antioxidant properties of *Antrodia camphorata* in submerged culture. Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers. 39:1-8. 105.Shuler, M. L. and Kargi, F., 1992. Operating considerations for bioreactors for suspension and immobilized cultures. Bioprocess Engineering Basic Concepts 2nd ed. 262-265. 106.Teke, G. N., Kuiate, J. R., Ngouateau, O. B.

and Gatsing, D., 2007. Antidiarrhoeal and antimicrobial activities of *Emilia coccinea* (Sims) G. Don extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 112:278-283. 107.Thieman, W. J. and Palladino, M. A., 2006. Introduction to biotechnology. Pearson Education, Inc. 108.Tomaselli, S. C., Vergoignan, C., Feron, G. and Durand, A., 2001. Glucosamine measurement as indirect method for biomass estimation of *Cunninghamella elegans* grown in solid state cultivation conditions. *Biochemical Engineering Journal* 7:1-5. 109.Turkoglu, A., Duru, M. E. and Mercan, N., 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of *Russula delica* Fr: an edible wild mushroom. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry* Vol 2, No1. 110.Turkoglu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kivrak, I. and Gezer, K., 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry* 101:267-273. 111.Tyler, J. A., Hamelin R. C. and Belanger R. R., 1999. Approaches to molecular characterization of fungal biocontrol agents: some case studies. *Canadian Journal of Plant Pathology* 23:8-12. 112.Wang, H. and Ng, T. B., 2006. Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Peptides* 27:27-30. 113.Wood, D. A. 1979. A method for estimating biomass of *Agaricus bisporus* in a solid substrate, composted wheat straw. *Biotechnology Letters* 1:255-260. 114.Wu, S. H., Ryvarden, L. and Chang, T. T., 1997 *Antrodia camphorata* (" niu-chang-chih ") new combination of a medical fungus in Taiwan. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 38:273-275. 115.Yaltirak, T., Aslim, B., Ozturk S. and Alli, H., 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of *Russula delica* Fr. *Food and Chemical Toxicology* 47:2052-2056. 116.Yang, F. C., Huang, H. C. and Yang, M. J., 2003. The influence of environmental conditions on the mycelial growth of *Antrodia cinnamomea* in submerged cultures. *Enzyme and Microbial Technology* 33:395-402. 117.Yen, M. T. and Mau, J. L., 2006. Preparation of fungal chitin and chitosan from shiitake stripes. *Fungal Science* 21:1-11. 118.Zhanel, G. G., Homenuick, K., Noveddin, A., Nichol, K. and Vercaigne, L., 2004. The glycyclines: A comparative review with the tetracyclines. *Drugs* 64:63-68.