

浸液醱酵培養基與培養條件對藥用真菌茯苓(wolfiporia cocos)菌絲體及胞外多醣體生成之影響

林家如、徐泰浩

E-mail: 9125200@mail.dyu.edu.tw

摘要

茯苓 (Wolfiporia cocos) 係一藥用真菌，其菌核在中醫上具有滲濕、利水、健脾、安神功能，被譽為中藥“八珍”之一，為多種方劑配伍之要藥及中成藥之重要原料，常被用於藥膳與保健食品中。藥理研究証實其具有如抗發炎、抗氧化、免疫調節、抗腫瘤、鎮靜、利尿、止吐等作用。主要生物活性份為三萜類及茯苓多醣體 (pachymaran)。利用發酵技術來培養菌絲體做為可在短時間內得到大量菌絲體產量。使用化學合成培養基進行發酵培養，可以在萃取出有效成分時避免被干擾，更可進一步的控制茯苓菌的生長與有效成分的使用。利用化學合成培養基於25 恆溫振盪培養茯苓菌，以了解培養基中啟始pH值、不同碳氮比、葡萄糖濃度、氮源濃度及接種量對菌絲體生物質量，發酵液還原糖含量及菌絲體胞外多醣生成之影響，並分析發酵菌絲體及茯苓菌核中粗蛋白、粗脂肪、總糖、灰分及含水量。結果顯示於3.0啟始pH值，碳氮比30:1，氮源濃度為1%及5%葡萄糖濃度得到最高的菌絲體生物質量。啟始pH4.0值，氮源濃度為1%及5%葡萄糖濃度得到最高的菌絲體胞外多醣生成量，以化學合成培養基培養，以5 L 發酵槽，探討理化因子包括不同攪拌速率於168小時發酵產程中，菌絲體生物質量，發酵液還原糖，及pH值及胞外多醣之產程變化。結果於攪拌速率200 rpm及30 培養得到最高菌絲體生物質量及胞外多醣生成量。

關鍵詞：藥用真菌；茯苓；浸液培養；菌絲體；胞外多醣體

目錄

封面內頁	頁次
簽名頁	授權書
iii	中文摘要
iv	英文摘要
v	誌謝
vii	目錄
viii	圖目錄
x	表目錄
xiv	壹、前言
1	貳、文獻回顧
一、	茯苓介紹
3	二、多醣體之功用
4	三、茯苓菌之深層醱酵
5	四、培養條件對茯苓菌之影響
6	五、培養基組成與多醣生成關係
9	六、茯苓之機能性成分
11	七、茯苓的主要化學組成
13	八、茯苓的藥理療效
14	參、材料與方法
一、	試驗菌株
18	二、菌種保存與更新
18	三、種培養
18	四、振盪培養試驗
18	五、化學合成培養基
20	六、五公升醱酵槽生產條件之探討
21	七、醱酵產程分析
21	八、一般化學成分分析
22	肆、結果與討論
一、	茯苓菌絲體於化學合成培養基生長之因素探討
(一)	不同起始pH值對於茯苓菌絲體生長之影響
26	(二) 不同葡萄糖濃度對於茯苓菌絲體生長之影響
30	(三) 不同氮源濃度對於茯苓菌絲體生長之影響
31	(四) 不同碳氮比對於茯苓菌絲體生長之影響
32	(五) 不同接種量對於茯苓菌絲體生長之影響
33	二、茯苓菌核與於化學合成培養基培養之茯苓菌絲體之一般化學成份組成
43	三、茯苓菌絲體與多醣體醱酵產程之探討
(一)	不同培養溫度率對茯苓菌生長之影響
45	(二) 不同攪拌速率對於茯苓菌生長之影響
51	四、化學合成培養基中茯苓多醣生成量之試驗
(一)	不同啟始pH值對茯苓多醣生成之影響
57	(二) 不同葡萄糖濃度對茯苓多醣生成之影響
58	(三) 不同氯化銨濃度對茯苓多醣生成之影響
59	(四) 不同碳氮比濃度對茯苓多醣生成之影響
60	伍、結論
69	參考文獻
70	圖目錄
頁次	圖一、茯苓多糖結構
17	圖二、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36022) 於不同啟始 pH值化學合成培養基培養其菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及醱酵液中還原糖含量之影響
28	圖三、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36023) 於不同啟始 pH值化學合成培養基培養菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及醱酵液中還原糖含量之影響
29	圖四、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36022) 於不同葡萄糖濃度培養菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及醱酵液中還原糖含量之影響
35	圖五、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36023) 於不同葡萄糖濃度培養菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及醱酵液中還原糖含量之影響
36	圖六、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36022) 於不同氯化銨濃度下培養菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及醱酵液中還原糖含量之影響
37	圖七、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36023) 於不同氯化銨濃度下培養其菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及醱酵液中還原糖含量之影響
38	圖八、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36022) 於不同碳氮比培養菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及醱酵液中還原糖含量之影響
39	圖九、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36023) 於不同碳氮比培養其菌絲體生物質量、及醱酵液終止pH值醱酵液中還原糖含量之影響
40	圖十、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36022) 於不同接種量培養其菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及培養液中還原糖的含量之影響
41	圖十一、茯苓菌 (Wolfiporia cocos CCRC 36023) 於不同接種量培養其菌絲體生物質量、醱酵液終止pH值及培養液中還原糖的含量之影響
42	圖十二、茯苓菌Wolfiporia cocos 36023於25 培養期間 菌絲體菌絲體生物質量菌絲醱酵液之pH值變化情形
48	圖十三、茯苓菌Wolfiporia cocos 36023於30 培養期間 菌絲體菌絲體生物質量菌絲醱酵液之pH值變化情形
49	圖十四、茯苓菌Wolfiporia cocos 36023於35 培養期間 菌絲體菌絲體生物質量菌絲醱酵液之pH值變化情形
50	圖十五、茯苓菌Wolfiporia cocos 36023於150 rpm

培養期間其醱酵產程之變化 54 頁次 圖十六、茯苓菌 *Wolfiporia cocos* 36023 於 200 rpm 培養 期間其醱酵產程之變化 55 圖十七、茯苓菌 *Wolfiporia cocos* 36023 於 250 rpm 培養 期間其醱酵產程之變化 56 圖十八、以不同起始 pH 值探討茯苓菌 *Wolfiporia cocos* CCRC 36022 之茯苓多醣生成量之影響 61 圖十九、以不同起始 pH 值探討茯苓菌 *Wolfiporia cocos* CCRC 36023 之茯苓多醣生成量之影響 62 圖二十、以不同葡萄糖濃度探討茯苓菌 *Wolfiporia cocos* CCRC 36022 之茯苓多醣生成量之影響及菌絲體 生成量變化 63 圖二十一、以不同葡萄糖濃度探討茯苓菌 *Wolfiporia cocos* CCRC 36023 之茯苓多醣生成量之影響及菌絲體 生成量變化 64 圖二十二、不同氯化銨濃度探討茯苓菌 *Wolfiporia cocos* CCRC 36022 之茯苓多醣生成量之影響及菌絲體 生成量變化 65 圖二十三、不同氯化銨濃度探討茯苓菌 *Wolfiporia cocos* CCRC 36023 之茯苓多醣生成量之影響及菌絲體 生成量變化 66 圖二十四、不同碳氮比探討茯苓菌 *Wolfiporia cocos* CCRC 36022 之茯苓多醣生成量之影響及菌絲體 生成量變化 67 圖二十五、不同碳氮比探討茯苓菌 *Wolfiporia cocos* CCRC 36023 之茯苓多醣生成量之影響及菌絲體 生成量變化 68 表目錄 表一、化學合成培養基 20 表二、茯苓菌核與於化學合成培養基之茯苓菌絲體 之一般化學成份組成 44

參考文獻

1. 尤新編著。2001。機能性醱酵製品。p119-1670。
2. 王伯徹。1990。藥用真菌系列報導(四)。茯苓。食品工業。22(5):32~38。
3. 王伯徹。1990。藥用真菌系列報導(一)靈芝。食品工業。22(5):23-30。
4. 王利業、方惠杰、陳逢喜、張紅敏及喻宗源。1993。茯苓中三萜?系化學成分之研究。現代應用藥學 10:8-11。
5. 王秋穎及徐錦堂。1993。蜜環菌醱酵液在豬苓菌醱酵過程中的應用。中國藥學雜誌 28(8):466-468。
6. 王進琦、李聰明及賴敬男。1998。猴頭菇以液態浸漬培養製水溶性多醣之探討。食品科學 25(6):714-726。
7. 卯曉嵐。1988。中國野生真菌種類及生態習性。真菌學報 7:36-43。
8. 田雅嵐。2001。培養基與培養條件對冬蟲夏草菌菌絲體生物質量、化學組成及水溶性胞內多醣體生成之影響。大葉大學食品工程研究所碩士論文。
9. 宋愛榮、郭立忠、段方猛及劉作亭。1999。pH 對灰樹花液體深層醱酵的影響。中國食用菌。18(3):29-31。
10. 李兆蘭。1987。裂褶菌深層培養及多糖測定。真菌學報。6(3):170-177。
11. 李俊賢、高寶璧、詹美華及蘇慶華。1992。真菌性中藥材水溶性多糖成分之分析。北醫學報 21(1):25-33。
12. 李曉明、戴如琴及朱勤。1989。冬蟲夏草醱酵液多醣的組成成分分析。中國中藥雜誌 14(2):31-33。
13. 杜自疆。1980。食用菇栽培技術。豐年社 p219。
14. 周立、張璋、蘭惠顏及許津。1994。茯苓素誘生腫瘤壞死因子(TNF)的作用。中國抗生素雜誌。19(5):376-380。
15. 柯麗霞及楊曉彤。1998。金針菇菌絲體糖蛋白(FMGP)的提取及其理化特性。中國食用菌 17(4):40-42。
16. 柳勇。1994。茯苓純菌種速生高產栽培技術。生物學通報 29:41-42。
17. 胡琦桂。1994。真菌球狀菌絲體生長之探討。食品工業。26(9):37-45。
18. 徐錦堂。1997。中國藥用真菌學。聯合出版社。p547-573。
19. 張士善、張丹參、朱桐君及陳醒言。1992。冬蟲夏草胺基酸成分的藥理分析。藥學學報 26(5):326-330。
20. 張建軍。1995。藥用真菌多醣體成分的分離方法之研究。交通大學生物科技研究所碩士論文。
21. 許益民、李學農及陳建偉。1992。中成藥。14(4):37。
22. 陳春霞。1985。茯苓多醣體的藥理藥化研究及臨床應用初探。中草藥。16(4):40-44。
23. 陳偉盈、馮觀泉、許堯興、弗迪波、許少春及袁亞。1992。冬蟲夏草工藝深層醱酵研究。中草藥 23(8):409-411, 416。
24. 陳萍、陳桂良及陳並恆。1995。比色法測定甲基茯苓多醣之含量。中國中藥雜誌 20:543-544。
25. 陶雪娟、徐崇敬、宋鳳菊、張建敏及陳建華。1999。蕈菌液體生物醱酵技術的研究現狀與進展。上海農學院學報 17:141-147。
26. 閔三弟。1996。真菌的藥用價值。食用菌學報 3(4):55-64。
27. 黃仁彰。2000。菇類多醣體製劑的研發與應用。食品工業 32(10):45-58。
28. 黃賜源。1996。靈芝液體培養及氣舉式生化反應槽之研究。東海大學化工所碩士論文。
29. 黃麗娜。1996。食用菇菌絲體深層培養在食品工業上的應用。食品工業。28(9):20-26。
30. 楊新美。1988。中國食用菌栽培學。農業出版社 2584 頁。
31. 雷敬敷、張玲及李與義。1993。香菇醱酵工藝及香菇多醣的提取。中國食用菌 12(3):31-35。
32. 趙吉福、廖雅娟、陳英杰、徐綏緒及姚新生。1996。磺醯化新茯苓多醣的製備及抗腫瘤作用。瀋陽藥科大學學報 13(2):125-128。
33. 劉明哲。1988。茯苓。藥用植物栽培 9:347-354。
34. 劉松青及武成榮。1999。灰樹花栽培技術研究。中國食用菌 18(1):16。
35. 劉波。1984。中國藥用真菌。山西人民出版社。p53-60。
36. 劉勝宇。2001。探討培養溫度對巴西蘑菇液態醱酵之影響。國立中央大學化學工程研究所碩士論文。新竹, 台灣。
37. 潘琦及何蘭茜。1998。茯苓多醣的結構改造及分析測定。雲南中醫學院學報 21(4):20-21。
38. 蔣先明及石清東。1996。茯苓多醣與羧甲基茯苓多醣的結構表現。廣西師範大學學報 11(3):40-46。
39. 蔡淑娟。1997。茯苓與豬苓核醣體基因 18 s-28 s 間隔區域核甘酸序列之探討。東吳大學微生物學系碩士論文。
40. 鄧剛民及許津。1992。茯苓素:一種潛在的醛固酮拮抗劑 17(1):34-37。
41. 蕭麗華。1997。冬蟲夏草藥材真偽品與醱酵培養製備物之結構特徵及成份分析比較。大葉大學食工所碩士論文。
42. 賴慶亮譯。水野卓及川合正允編。1997。菇類的化學、生化學。國立編譯館。
43. 戴郁軌及朱凱俊。1982。真菌名詞辭典。名山出版社 2467 頁。
44. 顏新泰。1992。茯苓有性繁殖研究報告。中藥材 15:6-7。
45. 魏玎玲、吳榮燦、張由美、葉小帆。1990。藥用真菌茯苓對癌細胞之分化誘導作用研究。行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告。
46. Ainsworth, G. C., Sparrow, F. K., and Sussman, A. S. 1973a. The fungi. A taxonomic review with keys: Ascomycetes and fungi imperfecti, Academic press, Inc. New York.
47. Catley. 1980. The extracellular polysaccharide, pullulan, produced by *Aureobasidium pullulans*-A relationship between elaboration rate and morphology. J. Gen. M. 120:265-268.
48. Cheung, P. C-K. 1997. Dietary fiber content and composition of some edible fungi determined by two methods of analysis. J. Sci. Food. Agric. 73:255-260.
49. Chihara, G., Hamuro, J., Makda, Y., Arat, Y. and Fukuoka, F. 1970. Antitumour polysaccharide derived chemically from natural glucan (pachyman). Nat. 225:943-944.
50. Cochrane, V. W. 1958. Physiology of fungi. John. Willey, New York. p524.
51. Cuellar, M. J., Giner, R. M., Recio, M. C., Just, M. J., Manez, S. and Rios, J. L. 1996. Effect of the Basidiomycete *Poria cocos* on experimental dermatitis and other inflammatory conditions. Chem. Pharm. Bull. 45(3):492-494.
52. Cuellar, M.J., Giner, R.M., Recio, M. C. Just, M.J., Manez, S., Rios, J. L. 1997. Two fungal lanostane derivatives as phospholipase A2 inhibitors. J. Natl. Products. 59: 977-979.
53. Desmond-T, Lalor-FJ, Osullivan-B Ferguson-G. Synthesis. 1990. Structure and properties of stereochemically non-rigid molybdenum pyrazolylborato complexes containing a

Dihapto-Thiocarboxyamido ligan. *J. Org. Metallic Chem.* 381:33-37. 54. Ding, Q., Jiang, S., Zhang, L. and Wu, C. 1998. Laser light-scattering studies of pachyman. *Carbohydrate Res.* 308: 339-343. 55. Doboys, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28(3): 350-356. 56. Eyal, J. 1991. Mushroom mycelium grown in submerged culture-potential food applications. (Goldberg, I. And Williams, R., eds) p31-64. Van Nostrand Reinhold, New York.

57. Franz, G. 1989. Polysaccharides in pharmacy: Current applications and future concepts. *Plant Med.* 55:493-497. 58. Giner-Larza, E. M., Manez, S., Giner-Pons, R. M., Recio, M. C. and Rios, J. L. 2000. On the anti-inflammatory and anti-phospholipase A2 activity of extracts from lanostane-rich species. *J. Ethnopharmacology.* 73: 61-69. 59. Hamuro, J., Yamashita, Y., Ohsaka, Y., Maeda, Y. Y. and Chihara, G. 1971. Carboxymethylpachyman, a new water soluble polysaccharide with marked antitumor activity. *Nat.* 233: 486-488. 60. Hattori, T., Hayashi, K., Nagao, T., Furuta, K., Ito, M. and Suzuki, Y. 1992. Studies of antinephritic effects of plant components (3) . Effects of pachyman, a main component of *Poria cocos* Wolf on original —type anti-GBM nephritis in rats and its mechanisms. *Jpn. J. Pharmacol.* 59: 89-96. 61. Hatvani, N. 2001. Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinus edodes* mycelium *International J. Antimicrobial Agents.* 17:71-74. 62. Hayes, W. A. 1978. Biological nature. p191-237. In: *The biology and cultivation of edible mushroom.* Eds., S. T. Chang and W. A. Hayes. Academic Press. New York.

63. Hikino, H. 1985. Recent research on oriental medicinal plants. In: Wanger, H., Hikino, H., Farnsworth, N.R. (Eds) , *Economic and medicinal plant research.* 1. Academic Press, London. p64-65. 64. Hsu, H.Y., Chen, Y. P., Shen, S. J., Hsu, C. S., Chen, C. C. and Chang, H. C. 1986. *Oriental material medica, A concise guide.* Oriental healing arts institute, Long beach. p 305-306. 65. Humfeld, H. 1948. The production of mushroom mycelium *Agaricus campestris* in submerged culture. *Sci.* 107:133. 66. Jong, S. C., Birmingham. J. M., and Pai, S. H. 1991. Immunomodulatory substances of fungal origin *J. Immunol. Immunopharmacol.* 11:115-122. 67. Jong, S. C. and Birmingham, J. M. 1993. Medicinal and therapeutic value of the Shitake mushroom. *Adv. Appl. Microbiol.* 39:153-184. 68. Jong, S. C. and Donovan, R. 1989. Antitumor and antiviral substances from fungi. *Adv. Appl. Microbiol.* 34: 183-262. 69. Jong, S. C., Birmingham, J. M. and Pai, S. H. 1991. Immunomodulatory substances of fungal origin. *EOS Rev. Immunol. Immunopharmacol.* 11: 115-122. 70. Kanayama, H., Adachi, N. and Togami, M. 1983. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. *Chem. Pharm. Bull.* 31(3):1115-1118. 71. Kosaric, N., LeDuy, A. and Zajic, J. E. 1973. Submerged culture growth of edible mushroom on waste sulphite liquors. *Can. J. Chem. Eng.* 51:186-190. 72. Kurtzmann, R. H. and Y. Chang-Ho. 1982. Physiological consideration for cultivation of *Volvariella* mushrooms. p 139-161. In: *Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods.* Eds., S. T. Chang and T. H. Quimio. The Chinese Univ. Press. Hong Kong. 73. Litchfield, J. H. 1967. Submerged culture of mushroom mycelium. In: *Microbial Technology.* (Pepler, H. J. ed) p107-144. Reinhold, New York. 74. Litchfield, J. H. 1979. Production of single cell protein for use in food and feed. In: *Microbial Technology.* 2nd ed (Pepler, H. J. and Perlman, D., eds) p93-145. Academic press. New York.

75. Litchfield, J. H. and Overbeek, R. C. 1965. Submerged culture growth of *Morchella* species in food processing waste substances. *Proceedings of the 1st Inter. Congress on Food Sci and Technol.* London vol.2. p 511-520. 76. Margaritis, A. and Pace, G. W. 1985. Microbial polysaccharides. In: *Comprehensive biotechnology.* Vol.3 eds. M-Y, Murry, H. W. Blanch., S. Drew. And D. I. C. Wang. Pergamon Press, Oxford. p1004-1005. 77. McNeil, B. and Kristiansen, B. 1989. Influence of impeller speed upon the pullulan fermentation. *Biotechnol. Lett.* 9:101. 78. Milagres, A. M.F. and Sales, R. M. 2001. Evaluating the basidiomycetes *Poria medulla-panis* and *Wolfiporia cocos* for xylanase production. *Enzyme and Microbial Technology.* 28: 522-526. 79. Mizuno, T. 1999. The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan (Review) . *Inter. J. Medicinal mushroom.* 1:9-29. 80. Mizuno, T., Kinoshita, T., Zhuang, C., Ito, H. and Mayuzumi, Y. 1995b. Antitumor-active substances from mushrooms. *Food Rev. Int.* 11: 23-61. 81. Narui, T., Takahashi, K., Kobayashi, M. and Shibata, S. 1980. A polysaccharide produced by laboratory cultivation of *Poria cocos* Wolf. *Carbohydrate Res.* 87:161-163. 82. Ono, K., Yasuda, N. and Ueda, S. 1997. Effect of pH on pupulan elaboration by *Aureobasidium pullulans* S-1. *Aga. Biol. Chem.* 41(11): 2113. 83. Park, J. P. Kim, S. W. Hwang, H. J. and Yun, J.W. 2001. Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*. *Letters Appl. Microbiol.* 33: 76-81. 84. Resser, F. J., Spencer, F. T. and Sallans, H. R. 1958b. Protein and fat content of some mushroom growth in submerged cultured . *Appl. Microbiol.* 6: 5-8. 85. Saito, H., Misaki, A. and Harada, T. 1968. A comparison of the structure of curdlan and pachyman. *Agr. Biol. Chem.* 32 (10) : 1261-1269. 86. Schugerl, K., Wittler, R. and Lorenz, T. 1983. The use of molds in pellet from Trends . *Biotechnol.* 1: 120-122. 87. Seviour, R. J., Stasinopoulos, S. J., Auer, D. P. F. and Gibbs, P. A. 1992. Production of pullulan and other exopolysaccharides by filamentous fungi. *Crit. Rev. Biotechnol.* 13:279-298. 88. Sone, Y., Okuda, R., Wada, N., Kishida, E. and Misaki, A. 1985. Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidum*. *Agric. Biol. Chem.* 49 (9) :2641-2653. 89. Song, C. H. and Cho, K. Y. 1987. A synthetic medium of the production of submerged culture of *Lentinus edodes*. *Mycologia.* 79: 866-876. 90. Tai, T., Akahori, A. and Shingu, T. 1993. Triterpenes of *Poria cocos* . *Phytochemistry.* 32:1239-1244. 91. Tai, T., Akita, Y., Kinoshita, K., Koyama, K., Takashi, K. and Watanabe, K. 1995. Anti-emetic principles of *Poria cocos*. *Plant Med.* 61(6): 527-530. 92. Tseng, J. and Chang, J. G. 1992. Suppression of tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , interleukin-6 and granulocytmonocyte by an extract of *Poria cocos*. *Chinese J. Microbiol. Immunol.* 25: 1-11. 93. Wu, B., Liang, M., Tong, L., Huang, T., Liang, N. and Li, J. 1994. *Zhongguo Yaolixue Tongbao.* 10: 300-304. 94. Yamada, H., Kiyohara, H., Takemoto, N., Zhao, J. F., Kawamura, H., Komatsu, Y., Cyong, J. C., Aburada, M. and Hosoya, E. 1992. *Plant Med.* 58: 166-170. 95. Yang, F. C. and Liau, C. B. 1998. Effect of cultivating conditions on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* in submerged flask cultures. *Bioprocess Engineering.* 19: 233-236. 96. Yang, F. C. and Liau, C. B. 1998. The influence of environmental conditions on polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in submerged cultures. *Process Biochem.* 33(5): 547-553. 97. Yang, F. C., Ke, Y. F. and Kuo, S. S. 2000. Effect of fatty acids on the mycelial growth and polysaccharides formation by

Ganoderma lucidum in shake flask cultures. *Enzyme and Microbial Technol.* 27:295-301. 98. Yasukawa, K., Kaminaga, T., Kitanaka, S., Tai, T., Nunoura, Y., Natori, S. and Takido, M. 1998. 3-*p*-Hyftocynrnzoyldehydrotumulosic acid from *Poria cocos*, and its anti-inflammatory effect. *Phytochemistry*. 48: 1357-1360. 99. Yu, S. J. and Tseng, J. 1996. Fu-Ling, a Chinese herbal drug, modulates cytokine secretion by human peripheral blood monocytes. *Int. J. Immuno. Pharmacol.* 18: 37-44. 100. Zadrazi, F. 1978. Cultivation of *Pleurotus*. p521-557. In: *The biology and cultivation of edible mushroom*. Eds., S. T. Chang and W. A. Hayes. Academic Press. New York.