化學合成與天然進液培養基及培養溫度對蓮花菌（GRIFOLA FRONDOSA）菌株間發酵產程菌絲體及多醣之影響

張雅雯、徐泰浩

E-mail: 9125804@mail.dyu.edu.tw

摘 要

蓮花菌(GRIFOLA FRONDOSA)又稱舞菇、千佛菌、灰樹花，是一種藥用和高價值的真菌，具有抗腫瘤、 增加免疫力、抗糖尿病、抗愛滋病之多種生理活性，是中國及日本近年熱門之保健食品。應用醱酵技術 生產菌絲體及生物活性多醣，其醱酵菌絲體具有生長期短、品質穩定，易於控制成本較低及可調控生理 活性物質之優點。本研究使用醱酵技術培養蓮花菌，以便了解蓮花菌之發酵產程中之變化。本研究探討 之變化包括:（一）蓮花菌之形態發生 （二）使用不同之培養基對搖瓶培養菌絲體生長之影響 （三）不同複合培養基時對搖瓶培養菌絲體生長之影響 （四）使用發酵槽進行大量培養時對菌絲體生長之影響 （五）不同溫度下胞內多醣和胞外多醣的變化 （六）使用GPC 及HPLC對胞內多醣和胞外多醣進行分析。研究結果顯示: 固態培養之下，以碳源為葡萄糖、氮源為氯化氨、碳氮比為5:1、微量元素為1%時菌落 生長速率較佳，而在液態培養之下，以起始PH值為5.5、碳源為葡萄糖、氮源為硫酸氨、碳氮比為20:1 、微量元素為1%、葡萄糖濃度為2%時，菌絲體生物質量較高。選擇六種不同的複合培養基，比較對菌絲 體生物質量、發酵液還原糖及最終PH值之影響。其結果顯示10% 糙米粉對於蓮花菌生長為培養基時，可 得到最高的菌絲體生物質量。5公升發酵槽試驗中於168小時發酵產程探討菌絲體產量。研究結果顯示於 N1培養基下菌絲體生物質量最高。選用六株蓮花菌，評估於不同溫度下，其胞內多醣、胞外多醣、黏度 及菌絲體生物質量之變化。結果顯示於25℃時，可得到最大胞內多醣及胞外多醣量，而CCRC 36355 的 胞內多醣生成量最多，CCRC 36434 的胞外多醣生成量最多。以GPC及HPLC來分析多醣成份，胞內多醣及 胞外多醣分子量分別為103,900及70,200，且分析多醣成份中具有葡萄糖和木糖。

關鍵詞 : 關鍵字：蓮花菌、菌絲體、形態發生、化學合成培養基、複合培養基、多醣體

目錄

壹、前言--P1 貳、文獻回顧--P2 2.1 蓮花菌之介紹--P2 2.2蓮花菌之生態特徵--P3 2.3蓮花菌的一般成份分析--P4 2.3.1一般化學成分--P4 2.3.2游離胺基酸--P5 2.3.3脂質--P6 2.3.4可溶性糖--P10 2.3.5有機酸--P11 2.3.6酵素--P12 2.3.7核酸--P13 2.4蓮花菌的機能性成份分析--P13 2.4.1蓮花菌多糖--P13 2.4.2凝集素--P20 2.5蓮花菌之培養--P21 2.5.1蓮花菌之固態培養--P21 2.5.2蓮花菌之浸液培養--P29 2.6蓮花菌的生物活性--P35 參、材料與方法 3.1試驗菌株--P41 3.2菌種的活化--P41 3.3母種培養--P41 3.4原種培養--P42 3.5菌株形態分類--P42 3.6化學合成培養基對蓮花菌之影響--P43 3.7複合培養基對蓮花菌之影響--P45 3.8五公升小型發酵槽生長條件之探討--P46 3.9分析方法--P46 肆、結果與討論 4.1蓮花菌的形態發生--P51 4.1.1利用位相差顯微鏡觀察蓮花菌之形態發生--P51 4.1.2蓮花菌菌落的外觀與形成速率--P54 4.2化學合成培養基組成對固態培養蓮花菌菌落生長速率之影響--P59 4.2.1不同碳源對蓮花菌菌落生長速率影響--P59 4.2.2不同氮源對蓮花菌菌絲體生長影響--P60 4.2.3不同碳氮比對蓮花菌菌絲體生長影響--P61 4.2.4不同濃度礦物鹽溶液對蓮花菌菌絲體生長影響--P61 4.3化學合成培養基組成對搖瓶浸液培養蓮花菌菌絲體生物質量之影響--P69 4.3.1不同起始PH值對蓮花菌菌絲體生長之影響--P69 4.3.2不同碳源對蓮花菌菌絲體生長之影響--P71 4.3.3不同氮源對蓮花菌菌絲體生長之影響--P72 4.3.4不同碳氮比對蓮花菌菌絲體生長之影響--P73 4.3.5不同礦物鹽溶液對蓮花菌菌絲體生長之影響--P74 4.3.6不同葡萄糖含量對蓮花菌菌絲體生長之影響--P76 4.4複合培養基組成對浸液培養蓮花菌菌絲體生物質量之影響--P89 4.4.1不同複合培養基間PH值之變化--P89 4.4.2不同複合培養基間菌絲體生物質量之變化--P91 4.4.3不同複合培養基間還原糖之變化--P94 4.5五公升發酵槽中不同培養基組成對蓮花菌菌絲體生物質量之影響--P103 4.5.1培養基PH值之變化--P103 4.5.2菌絲體生物質量之變化--P104 4.5.3培養基中還原糖之變化--P106 4.6不同溫度下液態培養蓮花菌生成胞外多醣體之探討--P112 4.6.1不同蓮花菌菌絲體於20℃溫度下搖瓶培養--P112 4.6.2不同蓮花菌菌絲體於25℃溫度下搖瓶培養--P114 4.6.3不同蓮花菌菌絲體於30℃溫度下搖瓶培養--P116 4.6.4不同蓮花菌菌絲體於35℃溫度下搖瓶培養--P116 4.6.5 CCRC 36355於不同溫度下搖瓶培養--P117 4.6.6 CCRC 36356於不同溫度下搖瓶培養--P117 4.6.7 CCRC 36357於不同溫度下搖瓶培養--P118 4.6.8 CCRC 36283於不同溫度下搖瓶培養--P119 4.6.9 CCRC 36286於不同溫度下搖瓶培養--P119 4.6.10 CCRC 36434於不同溫度下搖瓶培養--P120 4.7機能性多醣體成份的分析--P130 4.7.1蓮花菌菌絲體胞內多醣體及胞外多醣體分子量分佈--P130 4.7.2不同菌株蓮花菌浸液培養生成之菌絲體水溶性乙醇澱析醣類及選擇性單糖含量之探討--P131 4.7.3不同菌株蓮花菌浸液培養生成之發酵液水溶性乙醇澱析醣類及選擇性單糖含量之探討--P132 伍、結論--P138 參考文獻--P139

參考文獻

1.于田。1995。灰樹花採摘標準。中國食用菌 14（4）:45。 2.于田。1995。灰樹花病害防治四則。中國食用菌 14（1）:22。 3.王增池、孔德平及田曉亮。1999。灰樹花的生態條件與藥用價值。中國食用菌 17（6）:39 4.王伯徹、邱世浩及黃仁彰。1998。食用菇保健食品專輯。食品工業月刊 30（5）:1-35。 5.王伯徹。1992。認識食藥用菇。食品工業 24（12）:8-15。 6.王謙、李育岳、冀宏、汪虹、汪麟及楊小仙。1999。三種大型真菌深層培養產物的開發應用及有關 檢測。河北省科學院學報 16（1）:10-14。 7.王磊及張志光。1995。草菇液體發酵搖瓶試驗初探。中國食用菌14（2）:43。 8.水野卓。1996。舞茸。菇類的化學、生化學。PP265-278。 9.白壽雄及羅道蘊。1994。生物性多糖體的應用。生物產業 5（3）:197-173。 10.石玉娥、牛麗穎、溫瑞書、王菊素及李新生。1999。不同因素對富硒靈芝菌絲體生長的影響。河北 醫學 5（6）:1-3。 11.任國梅、陳孜及朱芝藍。1997。香菇多醣提取方法探討。中成藥19（11）:3-5。 12.任桂梅及張少剛。1999。羊肚菌的研究進展。延安大學學報 18（1）:57-64。 13.江國瑛、段國仁及許垣棋。1998。利用深層發酵法生產靈芝多糖的研究。大同工學院學報 28:353 -358。 14.李兆藍。1987。裂褶菌深層培養及多醣測定。真菌學報 6（3）:170-177。 15.李震泉、牟曉晨、王岩及李玫羽。1996。灰樹花優良菌株篩選研究初報。中國食用菌 15（1）:9 -11。 16.李清福、陳啟楨、簡相堂及洪光甫。1990。食用菇類專輯。菌種保存及研究中心簡訊。PP1-8。 17.汪維云、朱金華及吳守一。1999。香菇菌絲體在氣升式生物反應器中的培養條件。中國食用菌 18 (2）:11-13。 18.汪維云及朱金華。1998。食用菌液體深層發酵技術研究進展及展望。中國食用菌 17（2）:11-12。 19.汪維云、吳守一及朱金華。1999。灰樹花液體深層培養工藝研究。生物工程學報 15（3）:378-382 。 20.吳學謙及孫培龍。1994。灰樹花保健飲料加工技術。中國食用菌 13（14）:32。 21.吳經綸及林金枝。1997。灰樹花栽培馴化。食用菌學報 4 (2) : 33-39。 22.沈玲玲、鄭一凡及董幸紓。1996。灰樹花提取物補益作用的研究。中國食用菌 15（4）:26。 23.宋愛榮、郭立忠及段方猛。1999。PH 對灰樹花液體深層發酵的影響。中國食用菌 18 (3) : 29-31。 24.宋愛榮、郭立忠、劉作亭及畢建水。1999。七個白色金珍菇菌株發酵液中四種胞外活性的測定與分 析。中國食用菌 18（4）:31-34。 25.宋細福及許玲卿。1996。舞菇（GRIFOLA FRONDOSA）之開發與研究（一）。台灣農業試驗所技術報 告 25:14-17。 26.宋細福及許玲卿。1996。舞菇（GRIFOLA FRONDOSA）之開發與研究（二）。台灣農業試驗所技術報告 26:14-17。 27.河岸洋和。1989。蕈菇類所含之凝集素。日本農化學會誌 63(4):866-868。 28.紀天保。1995。灰樹花生態環境考察。中國食用菌 （1）:37。 29.徐錦堂。1997。灰樹花。中國藥用真菌學。PP 707-716。 30.唐瑞菁及程梅萍。1992。靈芝培養基的探討-酵母抽出物的取代。國立雲林技術學院學報1:145-156。 31.涂國云、卜宗式、杜昱光。1998。法提取竹蓀深層發酵菌絲體多醣的研究。中國食用菌 17（1): 36-38。 32.陳士瑜。1998。'蕈菌' 辭源學闡釋。中國食用菌 17（3）:3-6。 33.陳國朱及陳玉先。1995。灰樹花馴化栽培研究。中國食用菌 14（4）:24。 34.陳萍、陳桂良及陳以恒。1995。比色法測定甲基茯苓多醣的含量。中國中藥雜誌 20（9）:543-544 。 35.陳啟楨。1993。食用菇類發展的近況與展望。食品工業 25（4）:23-27。 36.陳隆鐘。1997。舞菇生物學之研究(一) 舞菇菌絲生理、生態之研究。台灣洋菇雜誌。 37.陶雪娟、徐崇敬、宋鳳菊、張建敏及陳建華。1999。蕈菌液體生物發酵技術的研究現狀與進展。上 海農學院學報 17（2）:141-147。 38.梁宗琦。1999。真菌次生代謝產物多樣性及其潛在應用價值。生物多樣性 7（2）:145-150。 39.曹文岑、郭順星、徐錦堂及張集慧。1998。靈芝原生質體融合子多醣成分的研究。中國中藥雜誌 23 (7）:396-397。 40.孫希雯及朱明光。1999。灰樹花深層培養基的最優化及一種胞外粗多糖快速測定方法的建立。天津 輕工業學院學報 15（3）: 24-28。 41.黃幸紓。1994。灰樹花多糖及其抗癌作用。中國食用菌 13（1）:41-43。 42.黃仁彰。1999。從本草典籍記載和現代科學驗證的觀點探索菇類的食療價值。食品工業月刊 31（8） :48-58。 43.黃仁彰。2000。菇類多糖體製劑的研發與應用。菌種保存研究中心簡訊。PP1-10。 44.黃仕政及毛正倫。1997。洋菇菌絲體之品質評估。食品科學 24（1）:44-55。 45.黃麗娜。1996。食用菇菌絲體深層培養在食品工業上的用途。食品工業月刊。PP20-26。 46.黃莉郁。1996。台灣土生菇類栽培之過去、現在和未來。食品工業月刊。PP16-19。 47.黃莉郁、陳啟楨、洪美戀、華傑。1996。牛排菇FISTULINA HEPATICA(SCHAEFF .: FR.) 小量實驗 栽培。中國農業化學會誌 34（6）:754-760。 48.郭成金、李愛民、孟慶恒及周壁華。1997。食用菌菌絲體深層培養及產品發展研究。中國食用菌 16 （3）:37-39。 49.郭順星、徐錦堂。1991。豬苓菌核結構性質的研究。真菌學報 10(4):312~317。 50.莊苓萍。1996。食用菇的營養價值。食品工業月刊。PP30-38。 51.張紅櫻、劉洋、張今。1998。海藻糖的生物合成和相關酉每的特性。微生物學通報 25（4):236- 238。 52.張華山及許劍秋。1999。玉米粉在美味牛肝菌深層培養中的應用研究。糧食與飼料工業 9:49-50。 53.張李陌、熊曉輝、沈昌及沈愛光。1998。靈芝子實體及其深層培養產物特性的研究。中國食用菌 17 (1）:15-16。 54.張樹庭。1993。蕈菌及其應用。真菌學報 12（4）:323-326。 55.楊民和、楊新美及陳立國。2000。松茸的營養生理及培養基的篩選。菌物系統 19（1）:272-277。 56.單味曾、徐霞及陸斌。1994。香菇液體培養的基本生理研究。中國食用菌 13（1）:37-38。 57.勞準均、關三弟、藏珍娣及宋士良。1997。灰樹花多糖的抗腫瘤作用及對巨噬細胞、自然殺傷細胞 的影響。上海農業學報 13（1）:25-30。 58.賈薇及唐慶九。1999。硫酸苯酚法測定雲芝多糖含量的效果。河南農業科學 8:24。 59.劉松青及武成榮。1998。灰樹花栽培技術研究。中國食用菌 18 (1) : 16。 60.劉景文。1996。木生菇菌在商業栽培上之應用。食品工業月刊。PP8-15。 61.劉曉嵐。1988。中國野生真菌種類及生態習性。真菌學報 7(1):36～43。 62.劉美琴、李建中及孔繁炸。1998。靈芝多醣的研究進展。微生物學通報 25（3）:173-175。 63.湖琦桂。1994。真菌球狀菌絲體生長之探討。食品工業 26（9）:37-45。 64.董昌金、王衛東及李濤。1999。靈芝原生質體形成與再生的研究。中國食用菌 18（1）:8-9。 65.暴增海、劉青、孔德平及張昌兆。1996。灰樹花母種培養基的篩選試驗初報。中國食用菌 15（3） :19。 66.應建浙，劉曉嵐，馬顧明，宗毓臣，文華安。1986。中國藥用真菌圖鑑 。 67.樂超聲、邵偉、鄧春霞及李冬梅。1999。靈芝液體發酵條件的研究。生物學雜誌 16（1）:15-17。 68.戴必生、陶佳喜及張穎。1999。香菇菌絲體培養新工藝及在食品中的應用初探。食品科技 4:23-24 。 69.ADACHI,Y.,OKAZAKI,M.OHNO,N.AND YADOMAE,T.1994.ENHANCEMENT OF CYTOKINE PRODUCTION BY MAC -ROPHAGE STIMNLATED WITH (1→3)- B -D-GLUCAN, GRIFOLA (GRN), ISOLATED GRIFOLA FRONDOSA. BIOL. PHARM. BULL. 17(12) : 1554-1560. 70.ADACHI, Y., OHNO, N., OHSAWA, M., OIKAWA, M. AND YADOMAE,T .1990.MACROPGAGE ACTIVATION IN VITO BY CHEMICALLY CROSS-LINKRED (1→3)- B -D-GLUCANS. CHEM. PHARM. BULL.38(4) :988 -992. 71.ADACHI,Y.,OHNO,N.AND YADOMAE,T.1998.ACTIVATION OF MURINE KUPFFER CELL BY ADMINISTRATION WITH GEL-FORMING (1→3)-

B -D-GLUCAN FROM GRIFOLA FRONDOSA.BIOL.PHARM.BULL.21(3) :278- 283. 72.ALEXOPOULOS, C. J. AND MIMS, C. W. 1979. INTRODUCTORY MYCOLOGY. NEW YORK.632PP. 73.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 （BULL.:FR.）PERS. AND GRIFOLA FRONDOSA (DICK .:FR) S. F. GRAY (APHYLLOPHOROMYCETIDEAE). INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICINAL MUSHROOMS. 1 : 235-241. 74.CHEN, A. W. 1999. A PRACTICAL GUIDE FOR SYNTHETIC-LOG CULTIVATION OF MEDICINAL MUSHROOM GRIFOLA FRONDOSA (DICK .:FR) S.F. GRAY(MAITAKE). INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICINAL MUSHROOMS. 1 : 153-167. 75.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 (DICKS. : FR) S.F.GRAY - MAITAKE (APHYLLOPHOROMYCETIDEAE).INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICINAL MU -SHROOMS. 2 : 221-228. 76.CHEUNG, P.C.K. 1997. CHEMICAL EVALUATION OF SOME LESSER KNOWN EDIBLE MUSHROOM MYCELIA P -RODUCED IN SUBMERGED CULTURE FROM SOY MILK WASTE. FOOD CHEMISTRY. 60(1) : 61-65. 77.CHOI, H.S., CHO, H.Y., YANG, H.C., RA, K.S., AND SUH, H.J. 2001. ANGIOTENSIN I -CONVERT -ING ENZYME INHIBITOR FROM GRIFOLA FRONDOSA. FOOD RESEARCH INTERNATIONAL 34: 177-182. 78.CHOI, H.S., CHO, H.Y., YANG, H.C., RA, K.S. AND SUH, H.J. 2001. ANGIOTENSIN I-CONVERTIN -G ENZYME INHIBITOR FROM GRIFOLA FRONDOSA. FOOD RESEARCH INTERNATIONAL 34 : 177-182. 79.CUI, Y. Q., LANS, R. G. J. M. AND LUYBEN, K. C. A. M. 1998. EFFECTS OF DISSOLVED OXYGEN TENSION AND MECHANICAL FORCES ON FUNGAL MORPHOLOGY IN SUBMERGED FERMENTATION.BIOTECHNOL -OGY AND BIOENGINEERING. 57(4) : 409-419. 80.CUI, Y. Q., LANS, R. G. J. M. AND LUYBEN, K. C. A. M. 1997.EFFECT OF AFITATION INTENSIT -IES ON FUNGAL MORPHOLOGY OF FERMENTATION.BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING. 55 (5):715- 720. 81.DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A. AND SMITH, F. 1956.COLORIMETR -IC METHOD FOR DETERMINATION OF SUGARS AND RELATED SUBSTANCES. ANALYSIS BIOCHEMISTRY. 28(3) : 350-356. 82.DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A. AND SMITH,F.1951.A COLORIMETR -IC METHOD FOR THE DETERMINATION OF SUGARS. NATURE. 167. 83.FUJIHARA,S.,KASUGA,ATSUKO.,AOYAGI,YASUO. AND SUGAHARA, TATSUYUKI.1995.NITROGEN-TO-PROTE -IN CONVERSION FACTORS FOR SOME COMMON EDIBLE MUSHROOMS.JOURNAL OF FOOD SCIENCE. 60(5) : 1045-1047. 84.HATVANI, N. 2001. ANTIBACTERIAL EFFECT OF THE CULTURE FLUID OF LENTINUS EDODES MYCELIU -M GROWN IN SUBMERGED LIQUID CULTURE. INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENT. 17 : 71-74. 85.HIRATA, A., ADACHI, Y., ITOH, W., KOMODA, M., TABATA, K. AND SUGAWARA, I. 1994. MONOCLO -NAL ANTIBODY TO PROTEOGLYCAN DERIVED FROM GRIFOLA FRONDOSA (MAITAKE). BIOL. PHARM.0BUL -L. 17(4) : 539-542. 86.HISHIDA, I., NANBA, H. AND KURODA, H. 1988. ANTITUMOR ACTIVITY EXHIBITED BY ORALLY ADMI -NISTERED EXTRACT FROM FRUIT BODY OF GRIFOLA FRONDOSA (MAITAKE). CHEM. PHARM. BULL. 36(5) : 1819-1827. 87.HORIO, H. AND OHTSURU, M. 2001. MAITAKE (GRIFOLA FRONDOSA) IMPROVE GLUCAN TOLERANCE OF EXPERIMENTAL DIABETIC RATS. NUTR SCI VITAMINOL. 47 : 57-63. 88.HORIO, H. AND OHTSURU, M. 1995. EFFECT OF ADMINISTRATION OF GRIFOLA FRONDOSA ON GLUCOSE TOLERANCE AND GLUCOSURIA IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES. J. JPN. SOC.NUTR. FOOD.SCI .48(4) : 299-305. 89.ISHIZUKA, T., YAOITA, Y. AND KIKUCHI, M. 1997. STEROL CONSTITUENTS FROM THE FRUIT BODIE -S OF GRIFOLA FRONDOSA (FR.) S. F. GRAY. CHEM. PHARM. BULL. 45(11) : 1756-1760. 90.KAWAI, H., MATSUZAWA, M., TSUTAGAWA, Y. SASAKI, H., KASUGA, A. AND ADYAGI, Y. 1994.RELA -TIONSHIP BETWEEN FRUITING BODIES COMPOSITIONS AND SUBSTRATE IN HIRATAKE AND MAITAKE MU -SHROOMS CULTIVATED ON SAWDUST SUBSTRATE BEDS. NIPPON SHOKUHIN KOYGO GAKKAISHI.41(6):41 -9-424. 91.KAWAGISHI, H., NOMURA, A., MIZUNO, T., KIMURA, A. AND CHIBA,S.1990.ISOLATION AND CHARAC -TERIZATION OF A LECTIN FROM GRIFOLA FRONDOSA FRUITING BODIES. BIOCHIMICA BIOPHYSICA AC -TA. 1034 : 247-252. 92.KEREM, Z., HADAR, Y. 1993. CHEMICALLY DEFINED SOLID-STATE FERMENTATION OF PLEUROTUS OST -REATUS. ENZYME MICROB. TECHNOL. 15 : 785-790. 93.KOJIMA, M., MIURA, H., OHNISI, M. AND ITO, S. 1991. FATTY ACID DISTRIBUTION AND MOLECUL -AR SPECIES OF GLYCEROPHOSPHOLIPIDS FROM MAITAKE MYCELIUM AND FRUITING BODY. LIPIDS. 1 : 53-57. 94.KURUSHIMA, H., KODAMA, N., AND NANBA, H. 2000. ACTIVITIES OF POLYSACCHARIDES OBTAINED FROM GRIFOLA FRONDOSA ON INSULIN-DEPENDENT DIABETES MULLITUS INDUCED BY STREPTOZOTOCIN IN MICE. MYCOSCIENCE. 41 : 473-480. 95.KUBO, K. AND NANBA, H. 1998. MODIFICATION OF CELLULAR IMMUNE RESPONSES IN EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE HEPATITIS IN MICE BY MAITAKE (GRIFOLA FRONDOSA). MYCOSCIENCE. 39 : 351-360 96.KUBO, K., AOKI, H. AND NANBA, H. 1994. ANTI-DIABETIC ACTIVITY PRESENT IN THE FRUIT BODY OF GRIFOLA FRONDOSA (MAITAKE). I. BIOL. PHARM. BULL. 17(8) : 1106-1110. 97.KUBO, K. AND NANBA, H. 1997. ANTI-HYPERLIPOSIS EFFECT OF MAITAKE FRUIT BODY (GRIFOLA FR -ONDOSA). I. BIOL. PHARM. BULL. 20(7) : 781-785. 98.LEE, E. W., HE, P., KAWAGISHI, H. AND SUGIYAMA, K. 2000. SUPPRESSION OF D-GALACTOSAMIN -E-INDUCED LIVER INJURY BY MUSHROOMS IN RATS. BIOSCI BIOTECH. BIOCHEM. 64(9):2001-2004. 99.LEATHAM G. F. 1983. A CHEMICALLY DEFINED MEDIUM FOR THE FRUITING OF LENTINUS EDODES.MY -COLOGIA. 75(5) : 905-908. 100.LEUNG, M. Y. K., FUNG, K. P. AND CHOY, Y. M. 1997. THE ISOLATION AND

CHARACTERIZATION OF AN IMMUNOMODULATORY AND ANTI-TUMOR POLYSACCHARIDE PREPARATION FROM FLAMMULINA VELUT -IPES.IMMUNOPHARMACOLOGY 35 : 255-263. 101.LITCHFIELD,J.H.,OVERBECK,R.C. AND DAVIDSON,R.S.1963.MUSHROOM CULTURE.FACTORS AFFECTING THE GROWTH OF MOREL MUSHROOM MYCELIUM IN SUBMERGED CULTURE. AGRIC. FOOD CHEM. 11(2) : 158-162. 102.LOPEZ-BARAJAS, M., LOPEZ-TAMAMES, E. AND BUXADERAS, S. 1998. IMPROVED SIZE-EXCLUSION HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR THE SAMPLE ANALYSIS OF GRAPE JUICE AND WINE POLYSACCHARIDES . J. CHROMATO. A. 823 : 339-347. 103.MAYUZUMI, Y., MIZUNO,T, 1997. CULTIVATION METHOD OF MAITAKE (GRIFOLA FRONDOSA), FOOD REVIEWS INTERNATIONAL. 13(3):357-364. 104.MAYELL, M. 2001. MAITAKE EXTRACTS AND THEIR THERAPEUTIC POTENTIAL. ALTERN MED REV. 6(1) : 48-60. 105.MAU, J., LIN, H., MA, J. AND SONG, SI-FU. 2001. NON-VOLATILE TASTE COMPONENTS OF SEVER -AL SPECIALITY MUSHROOMS. FOOD CHEMISTRY. 73 : 461-466. 106.MILLER, G. L.1956. USE OF DINITROSALICYLIC ACID REAGENT FOR DETERMINATION OF REDUCING SUGAR. ANALYSIS BIOCHEMISTRY. 31(3) : 426-428. 107.MIURA, N. N., OHNO, N., AKETAGAWA, J., TAMURE, H., TANAKA, S. AND YADOMAE, T. 1996. BLOOD CLEARANCE OF (1→3)- B -D-GLUCAN IN MRL LPR/LPR MICE. FEMS IMMUNOLOGY AND MEDICAL MICROBIOLOGY. 13 : 51-57. 108.MIZUNO, T. AND ZHUANG, C. 1995. MAITAKE, GRIFOLA FRONDOSA : PHARMACOLOGICAL EFFECTS. FOOD REVIEWS INTERNATIONAL. 11(1) : 135-149. 109.MIZUNO, T. 1989. PHYSIOLOGICAL FUCTION AND FOOD HYGIENE OF MUSHROOM FUNGI. J. JPN. SOC.NUTR. FOOD.SCI. 30(3) : 258-261. 110.MIZUNO, T., OHSAWA, K., HAGIWARA, NI. AND KUBOYAMA, R. 1986. FRACTIONATION AND CHARAC -TERIZATION OF ANTITUMOR POLYSACCHARIDES FROM MAITAKE, GRIFOLA FRONDOSA. AGRIC. BIOL. CHEM. 50(7) : 1679-1688. 111.MUKERJEA, R., KIM, D. AND ROBYT J. F. 1996. SIMPLIFIED AND IMPROVED METHYLATION ANALY -SIS OF SACCHARIDES, USING A MODIFIED PROCEDURE AND THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY.CARBOHYD -RATE RESEARCH. 292 : 11-20. 112.MURASE, G. AND KENDRICK, B. 1986. THE EVALUATION OF MECHANICAL CHOPPING FUNGAL MYCELIA AS A METHOD OF INCREASING FUNGAL BIOMASS. BIOTECHNOLOGY LETTERS. 8(1) : 25-30. 113.NANBA, H., KODAMA, N., SCHAR, D. AND TURNER, D. 2000. EFFECTS OF MAITAKE (GRIFOLA FRON -DOSA). GLUCAN IN HIV-INFECTED PATIENTS. MYCOSCIENCE 41 : 293-295. 114.NANBA, H., HAMAGUCHI, A. AND KURODA, H. 1987. THE CHEMICAL STRUCTURE OF AN ANTITUMOR POLYSACCHARIDE IN FRUIT BODIES OF GRIFOLA FRONDOSA (MAITAKE). CHEM. PHARM. BULL. 35(3) : 1162-1168. 115.NAKAI, R., MASUI, H., HORIO, H. AND OHTSURU, M. 1999. EFFECT OF MAITAKE (GRIFOLA FROND -OSA) WATER EXTRACT ON INHIBITION OF ADIPOCYTE CONVERSION OF C3H10T1/2B2C1 CELLS. J NUTR SCI VITAMINOL. 45 : 385-389. 116.NAKAI, R., MASUI, H., HORIO, H. AND OHTSURU, M. 1999. EFFECT OF MAITAKE (GRIFOLA FROND -OSA) WATER EXTRECT ON INHIBITION OF ADIPOCYTE CONVERSION OF C3H10T1/2B2C1 CELLS. J -NUTR SCI VITAMINOL. 45: 385-389. 117.NAKANISHI, I., KIMURA, K., SUZUKI, T., ISHIKAWA, M., BANNO, I. AND SAKANE, T. 1976. DEMONSTRATION OF CURDLAN-TYPE POLYSACCHARIDE AND SOME OTHER B - (1→3)- D-GLUCAN IN MICROORGANISMS WITH ANILINE BLUE. J. GEN. APPL. MICROBIOL. 22 : 1-11. 118.NIELSEN, J.AND PREBEN K. 1995. HYPHAL GROWTH AND FRAGMENTATION OF PENICILLIUM CHRYSOGE -NUM IN SUBMERGED CULTURES. BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING. 46(6) : 588-598. 119.NISHIWAKI, T. AND HAYASHI, K. 2001. PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF A AMINOPEPTI -DASE FROM THE EDIBLE BASIDIOMYCETE GRIFOLA FRONDOSA. BIOSCI. BIOTECHNOL. BIOCHEM.65 (2) : 424-427. 120.NONAKA, T., HASHIMOTO, Y. AND TAKIO, K. 1998. KINETIC CHARACTERIZATION OF LYSINE-SPE -CIFIC METALLOENDOPEPTIDASES FROM GRIFOLA FRONDOSA AND PLEUROTUS OSTREATUS FRUITING BO -DIES. J. BIOCHEM. 124 : 157-162. 121.NONAKA, T., DOHMAE, N., HASHIMOTO, Y. AND TAKIO, K. 1997. AMINO ACID SEQUENCES OF META -LLOENDOPEPTIDASE SPECIFIC FOR ACYL-LYSINE BONDS FROM GRIFOLA FRONDOSA AND PLEUROTUS OSTREATUS FRUITING BODIES. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. 272(48) : 30032-30039. 122.NONAKA, T., ISHIKAWA, H., TSUMURAYA, Y., HASHIMOTO, Y., DOHMAE, N. AND TAKIO, K. 1995. CHARACTERIZATION OF A THERMOSTABLE LYSINE-SPECIFIC METALLOENDOPEPTIDASE FROM THE FRUIT -ING BODIRS OF A BASIDIOMYCETE, GRIFOLA FRONDOSA. J. BIOCHEM. 118 : 1014-1020. 123.OKHUOYA, J. A.AND ETUGO, J. E. 1993. STUDIES OF THE CULTIVATION OF PLEUROTUS TUBERREG -IUM(FR) SING. AN EDIBLE MUSHROOM. BIORESOURCE TECHNOLOGY. 44 : 1-3. 124.OHNISHI, M., MORI, K., ITO, S. AND FUJINO, Y. 1985. CHEMICAL COMPOSITION OF STERYL LIP -ID IN MAITAKE MUSHROOM. NIPPON NOGEIKAGAKU KAISHI. 59(10) : 1053-1059. 125.OHNISHI, M., MATSUBARA, N., ITO, S. AND FUJINO, Y. 1987. MOLECULAR SPECIES OF TRIACYLG -LYCEROL IN MAITAKE MUSHROOM (GRIFOLA FRONDOSA). NIPPON NOGEIKAGAKU KAISHI.61(2):221 -226. 126.OHNO, N., EGAWA, Y., HASHIMOTO, T., ADACHI, Y. AND YADOMAE, T. 1996. EFFECT OF B -GLUC -ANS ON THE NITRIC OXIDE SYNTHESIS BY PERITONEAL MACROPHAGE IN MICE. BIOL. PHARM. BULL .19(4) : 608-612. 127.OHNO, N., ADACHI, Y., SUZUKI, I., SATO, K., OIKAWA, S. AND YADOMAE, T. 1986. CHARACTER -IZATION OF ANTITUMOR GLUCAN OBTAINED FROM LIQUID-CULTURED GRIFOLA FRONDOSA. CHEM.PHAR -M. BULL. 34(4) : 1709-1715. 128.OHNO, N., HAYASHI, M., SUZUKI, I., OIKAWA, S., SATO, K., SUZUKI, Y. AND YADOMAE, T.198 -6.EFFECT OF ACTIVATION OR BLOCKADE OF THE PHAGOCYTIC SUSTEM ON THE ANTITUMOR ACTIVITY OF GRIFOLAN. CHEM. PHARM. BULL. 34(10) : 4377-4381. 129.OHNO, N., IINO, K., SUZUKI, I., OIKAWA, S., SATO, K.,

MITAZAKI, T. AND YADOMAE, T.1985 .NEUTRAL AND ACIDIC ANTITUMOR POLYSACCHARIDES EXTRACTED FROM CULTURED FRUIT BODIES OF GRIFOLA FRONDOSA. CHEM. PHARM. BULL. 33(3) : 1181-1186. 130.OHNO, N., SUZUKI, I., OIKAWA, S., SATO, K., MITAZAKI, T. AND YADOMAE, T. 1984.ANTITUMO -R ACTIVITY AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF GLUCAN EXTRACTED FROM CULTURED FRUIT BO -DIES OF GRIFOLA FRONDOSA. CHEM. PHARM. BULL. 32(3) : 1142-1151. 131.OHNO, N., ADACHI, Y., OHSAEA, M., SATO, K., OIKAWA,S.AND YADOMAE,T.1987.CONFORMATIONAL CHANGES OF THE TWO DIFFERENT CONFORMERS OF GRIFOLAN IN SODIUM HYDROXIDE, UREA OR DIMET -HYSULFOXIDE SOLUTION. CHEM. PHARM. BULL. 35(5) : 2108-2113. 132.OHNO, N., ADACHI, Y., SUZUKI, I., OIKAWA, S., SATO, K., SUZUKI, Y., OHSAEA, M., AND YA -DOMAE, T. 1986. TWO DIFFERENT CONFORMERS OF ANTITUMOR GLUCANS OBTAINED FROM GRIFOLA FRONDOSA. CHEM. PHARM. BULL. 34(6) : 2555-2560. 133.OHNO, N., INO, K., SUZUKI, I., SATO, K. AND YADOMAE, T. 1985. CARBON-12 NUCLEAR MAGNET -IC RESONANCE SPECTRAL ANALYSIS OF THE FRUIT BODIES OF GRIFOLA FRONDOSA. CHEM. PHARM. BULL. 3(4) : 1557-1562. 134.OKAZAKI, M., ADACHI, Y., OHNO, N. AND YADOMAE, T. 1995. STRUCTURE-ACETIVITY RELATIONSH -IP OF (1→3)- B -D-GLUCANS IN THE INDUCTION OF CYTOKINE PRODUCTION FROM MACROPHAGES, IN VITRO. BIOL. PHARM. BULL. 18(10) : 1320-1327. 135.PECINA, R. AND BONE, G. 1984. HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC ELUTION BEHAVIOR OF ALCOHOLS, ALDEHYDES, KETONES, ORGANIC, AND CARBOHYDRATES ON A STRONG CATIONEXCHANGE STATIONARY PHASE. JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY. 287 : 245-258. 136.RAO, P. AND PATTABIRAMAN, T. 1989. REEVALUATION OF THE PHENOL-SULFURIC ACID REACTION FOR THE ESTIMATION OF HEXOSES AND PENTOSES. ANALYSIS BIOCHEMISTRY. 181 : 18-22. 137.RILEY, G. L., TUCKER, K. G., PAUL, G. C.AND THOMAS, C. R. 2000. EFFECT OF BIOMASS CON -CENTRATION AND MYCELIAL MORPHOLOGY ON FERMENTATION BROTH RHEOLOGY. BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING. 68(2) : 160-172. 138.ROUKAS, T., AND MARIA, L. 1999. PRODUCTION OF PULLULAN FROM BEET MOLASSES BY AUREOBAS -IDIUM PULLULANS IN A STIRRED TANK FERMENTOR. JOURNAL OF FOOD ENGINERRING. 40 : 89-94 139.SAITO, K., KASE, T., TAKAHASHI, E., TAKAHASHI, E. AND HORINOUCHI, S. 1998. PURIFICATI -ON AND CHARACTERIZATION OF A TREHALOSE SYNTHASE FROM THE BASIDIOMYCETE GRIFOLA FROND -OSA. MICROBIOLOGY, NOV : 4340-4345. 140.SAITO,K., YAMAZAKI, H., OHNISHI, Y., FUJIMOTO, S., TAKAHASHI, K. AND HJORINOUCHI, S. 1998. PRODUCTION OF TREHALOSE SYNTHAES FROM A BASIDIOMYCETE, GRIFOLA FRONDOSA, IN ESC -HERICHIA COLI. MICROBIOLO BIOTECHNOLO. 50 : 193-198. 141.SETO, M., NISHIBORI, K.,MASAI, E., FUKUDA, M. AND OHDAIRA,Y. 1999. DEGRADATION OF POLY -CHLORINATED BIPHENYLA BY A 'MAITAKE'MUSHROOM, GRIFOLA FRONDOSA. BIOTECHNOLOGY LETTER .21 : 27-31. 142.SEGUCHI, M., MORIMOTO, N., ABE, M. AND YOSHINO, Y. 2001. EFFECT OF MAITAKE (GRIFOLA FRONDOSA) MUSHROOM POWDER ON BREAD PROPERTIES. JOURNAL OF FOOD SCIENCE. 66 (2) : 261 -264. 143.SHIMAOKA, I., KODAMA, J., NISHINO, K. AND ITOKAWA, Y. 1993. PURIFICATION OF A COPPER BINDING PEPTIDE FROM THE MUSHROOM GRIFOLA FRONDOSA AND ITS EFFECT ON COPPER ABSORPTION .J.NUTR. BIOCHEM. 4 : 3338. 144.SIMPSON, D. R., WIEBE, M. G., ROBSON, G. D., TRINCI, A. P. J. 1995. USE OF PH AUXOSTAT -S TO GROW FILAMENTOUS FUNGI IN CONTINUOUS FLOW CULTURE AT MAXIMUM SPECIFIC GROWTH RAT -E. FEMS MICROBIOLOGY LETTERS. 126 : 151-158. 145.SONE, Y., OKUDA, R., WADA, N., KISHIDA, E. AND MISAKI, A. 1985. STRUCTURES AND ANTITU -MOR ACTIVITIES OF THE POLYSACCHARIDES ISOLATED FROM FRUITING BODY AND THE GROWING CU -LTURE OF MYCELIUM OF GANODERMA LUCIDUM . AGRIC. BIOL. CHEM. 49(9)2641-2653. 146.SONG. C. H.AND CHO, K. Y. 1987. A SYNTHETIC MEDIUM FOR THE PRODUCTION OF SUBMERGED CUL -TURES OF LENTINUS EDODES. MYCOLOGIA. 79(6) : 866-876. 147.SUZUKI, I., HASHIMOTO, K., OIKAWA, S., SATO, K., OSAEA, M. AND YADOMAE,T. 1989.ANTITNM -OR AND IMMUNOMODULATING ACTIVITIES OF A B -GLUCAN OBTAINED FROM LIQUID-CULTURED GRIFO -LA FRONDOSA. CHEM. PHARM. BULL. 37(2) : 410-413. 148.SUGIYAMA, K., SAEKI, S.,TANAKA, A., YOSHIDA, S., SAKAMOTO, H. AND ISHIGURO, Y. 1992. HYPOCHOLESTEROLEMIC ACTIVITY OF NINGYOTAKE (POLYPORUS CONFLUENS) MUSHROOM IN RATS. J. JPN. SOC. NUTR. FOOD. SCI. 45(3) : 265-270. 149.WENGER, P., LONG, T. D., HEYDT, A., BIER, M. AND EGEN, N. B. 1988. PURIFICATION OF LEN -TIL LECTINS USING PREPARATIVE ELECTROPHORESIS. J. OF CHROMATOGRAPHY 455:225-239. 150.YOUNG, S. AND JACOBS, R. 1998. SODIUM HYDROXIDE-INDUCED CONFORMATIONAL CHANG IN SCHIZ -PHYLLAN DETECTED BY THE FLUORESCENCE DYE, ANILINE BLUE. CARBOHYDRATE RESEARCH. 310 : 91-99. 151.YOSHIDA, H., SASAKI, H., FUJIMOTO, S. AND SUGAHARA, T. 1996. THE CHEMICAL COMPONENTS OF THE VEGETATIVE MYCELIA OF BASIDIOMYCETES. NIPPON SHOKUHIN KAGAKU KOGAKU KAISHI . 43(6) : 748-755. 152.YANG, B. Y. AND MONTGOMERY, R. 2000. DEGREE OF ACETYLATION OF HETEROPOLYSACCHARIDES. CARBOHYDRATE RESEARCH. 323 : 156-162. 153.ZHANG, J. AND GREASHAM, R. 1999. CHEMICALLY DEFINED MEDIA FOR COMMERCIAL FERMENTATIONS .APPL MICROBIOL BIOTECHNOL. 51:407-421. 154.ZHUANG, C., MIZUNO, T., ITO, H., SHIMURA, K., SUMITA, T. AND KAWADE, M. 1994. FRACTION -ATION AND ANTITUMOR ACTIVITY OF POLYSACCHARIDES FROM GRIFOLA FRONDOSA MYCELIUM. BIOSC -I BIOTECH. BIOCHEM. 58(1) : 188-188. 155.ZHUANG, C., MIZUNO, T., ITO, H. AND SHIMURA, K. S. 1994.CHEMICAL MODIFICTION AND ANTIT

-UMOR ACTIVITY OF POLYSACCHARIDES FROM THE MYCELIUM OF LIQUID-CULTURED GRIFOLA FRONDO -SA. NIPPON SHOKUHIN KOGYO GAKKAISHI. VOL. 41. NO. 10 : 733-740. 156.ZHUANG, C. AND MIZUNO, T. 1999. BIOLOGICAL RESPONSES FROM GRIFOLA FRONDOSA (DISK:FR.) S. F. GRAY - MAITAKE (APHYLLOPHOROMYCETIDEAE). INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICINAL MU SHROOMS. VOL. 1 : 317-324.