

Study on functional ingredient of Cordyceps militaris by submerged and solid state fermentation

蔡銘璉、謝建元；張德明

E-mail: 9318498@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

Pupa-Cordyceps is a famous traditional Chinese medicine, also known as “ North Cordyceps ” in folk in Chinese. It originates from infected larva or pupa with fruiting body by fungus Cordyceps militaris in nature. Natural Pupa-Cordyceps contains numerous functional ingredients, and possessing to nourish a body, repairing a lung, benefiting the kidney. Therefore it is called “ National Treasures ”. Due to the occurrence of natural Pupa-Cordyceps is limited by the factors of environment and the climate, it is potential in viewing of the development of the mycelium and the bioactive ingredients of C. militaris using submerged fermentation. In the study, we investigated the effects of growth factors by using submerged and solid state fermentation on the production of the functional ingredients which including polysaccharide, cordycepin and adenosine. The results that was advantageous to use sucrose as a stimulator for polysaccharide production during submerged culture of C.militaris. Using 1 % corn steep powder can assist in liquid ferment. We found that cotton plug (using 4.5 g cotton as the plug in flask bottle neck with R.D 16 mm) had better cell concentration and polysaccharide production than flask with others. Using cotton plug transferring rubber plug had better the productions of extracellular cordycepin and adenosine. However, when plant oils and different surfactant was added into the medium, the mycelial concentration increased. Among that, the maximum of extracellular cordycepin content was obtained from 1 % peanut oil in medium. The maximum of intracellular adenosine content appeared 1 % olive oil adding into medium. The maximum of extracellular adenosine and intracellular cordycepin was obtained from 1 % Tween 20 in medium. In the solid state fermentation, it was advantageous to use cotton plug and maltose as a stimulator for cell growth. Solid state enhanced the biomass accumulation by using 1 % Tween 80.

Keywords : Cordyceps militaris ; Extracellular polysaccharide ; Cordycepin ; Adenosine

Table of Contents

目錄	頁次	封面內頁	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
			xiii	第一章 前言	1	第二章 文獻回顧
				2.2.1 蛹蟲草的簡介	2	2.2 蛹蟲草的成分
				3.2.2.1 一般化學成分	3	2.2.2 蟲草素 (cordycepin)
				3.2.2.3 腺? (adenosine)	4	2.2.4 多醣組成
				3.2.2.5 甘露醇 (mannitol)	5	2.2.6 胺基酸組成
				5.2.2.6 胺基酸組成	6	2.2.7 脂肪酸組成
				7.2.3 蛹蟲草藥理療效	7	2.3.1 抗腫瘤作用
				7.2.3.2 抗氧化自由基作用	8	2.3.3 鎮靜作用
				8.2.3.4 抗病原微生物作用	8	2.4 液態發酵
				9.2.4.2 液態培養的優點	9	2.4.3 人工培養蟲草屬之發展
				10.2.5 固態發酵	10	2.5.1 固態發酵的特點
				11.2.5.2 固態培養的優缺點	11	2.6 天然冬蟲夏草藥材與發酵蟲草菌絲體之藥理比較
				12.2.7 影響蛹蟲草菌培養的因子	12	2.7.1 碳源
				13.2.7.2 氮源	13	2.7.3 無機鹽類
				15.2.7.5 通氣量	14	2.7.4 溫度
				15.2.7.7 其他添加物	15	2.7.6 pH值
				15.2.8 二次代謝物	15	2.7.7 其他添加物
				16 第三章 材料與方法	16	3.1 實驗材料
				19.3.1.1 試驗菌株 (strain)	19	3.1.2 試驗藥品
				19.3.1.2 分析藥品	20	3.1.3 實驗儀器
				20.3.2 基礎培養	21	3.2.1 平板培養
				21.3.3 實驗方法	22	3.2.2 液態菌源培養
					22	3.3.1 液態搖瓶培養

.....22	3.3.1.1不同碳源對蛹蟲草的影響.....	22	3.3.1.2不同氮源對蛹蟲草的影響.....	23
.....22	3.3.1.3不同通氣量對蛹蟲草的影響.....	22	3.3.1.4添加不同油脂對蛹蟲草的影響.....	23
3.3.1.5	添加不同界面活性劑對蛹蟲草的影響.....	23	3.3.2固態培養.....	24
3.3.2.1	不同碳源對蛹蟲草的影響.....	24	3.3.2.2不同通氣量對蛹蟲草的影響.....	24
3.3.2.3	添加不同油脂對蛹蟲草的影響.....	24	3.3.2.4添加不同界面活性劑對蛹蟲草的影響.....	25
3.4	分析方法.....	25	3.4.1發酵液pH值測定.....	25
3.4.2	菌絲體濃度測定.....	26	3.4.2.1液態培養菌體乾重測定.....	26
3.4.2.2	固態培養菌絲體濃度測定.....	26	3.4.2.3菌體濃度測定 葡萄糖胺比色法.....	26
3.4.3	蛹蟲草醣液殘醣量測定.....	27	3.4.4蛹蟲草多醣體測定.....	28
3.4.4.1	蛹蟲草胞外多醣分析.....	28	3.4.4.2蛹蟲草胞內多醣分析.....	28
3.4.4.3	酚硫酸法.....	28	3.4.4.4標準曲線製作步驟.....	29
3.4.5	HPLC分析腺?、蟲草素.....	29	3.4.5.1菌絲體胞內蟲草素及腺?含量分析.....	30
3.4.5.2	醱酵液胞外蟲草素及腺?含量.....	30	3.4.5.3蟲草素及腺?標準品之配製.....	30
第四章	結果與討論.....	32	4.1不同碳源對蛹蟲草液態培養之影響.....	32
4.2	不同氮源對蛹蟲草液態培養之影響.....	32	4.3不同通氣量對蛹蟲草液態培養的影響.....	39
4.3.1	不同通氣量對蛹蟲草菌體生長及多醣生成的影響.....	39	4.3.2不同通氣量對蛹蟲草蟲草素及腺?含量之影響.....	39
4.4	不同通氣量對蛹蟲草液態培養的影響.....	49	4.4.1不同通氣量對蛹蟲草菌體生長及多醣生成的影響.....	49
4.4.2	不同通氣量對蛹蟲草蟲草素及腺?含量之影響.....	50	4.5不同通氣量對蛹蟲草液態培養的影響.....	59
4.5.1	不同通氣量對蛹蟲草菌體生長及多醣生成的影響.....	59	4.5.2不同通氣量對蛹蟲草蟲草素及腺?含量之影響.....	60
4.6	不同碳源對蛹蟲草固態培養菌絲體生成的影響.....	69	4.7不同通氣量對蛹蟲草固態培養菌絲體生成的影響.....	69
4.8	不同通氣量對蛹蟲草固態培養菌絲體生成的影響.....	70	4.9不同通氣量對蛹蟲草固態培養菌絲體生成的影響.....	70
第五章	結論.....	75	參考文獻.....	75
附錄一	C.S.P.主要成分一覽表.....	78	附錄二 蟲草素之HPLC層析圖.....	86
附錄三	腺?之HPLC層析圖.....	87	附錄三 腺?之HPLC層析圖.....	88
附錄四	多醣濃度標準檢量線.....	89	附錄五 蟲草素標準品校正曲線.....	90
附錄六	腺?標準品校正曲線.....	91	附錄七 葡萄糖胺在液態培養時的時間變化圖.....	92
附錄八	論文口試會議記錄.....	93	圖目錄	
圖2.1	蟲草素(Cordycepin)結構式.....	17	圖2.2	腺?(Adenosine)結構式.....
圖4.1	不同碳源對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	34	圖4.2	不同碳源對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.3	不同氮源對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	35	圖4.3	不同氮源對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.4	不同氮源對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	37	圖4.4	不同氮源對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.5	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	38	圖4.5	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.6	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	41	圖4.6	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.7	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....	42	圖4.7	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.8	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....	43	圖4.8	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.9	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....	44	圖4.9	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.10	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天胞外蟲草素及腺?之HPLC層析圖.....	45	圖4.10	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天胞外蟲草素及腺?之HPLC層析圖.....
圖4.11	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天胞內蟲草素及腺?之HPLC層析圖.....	46	圖4.11	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天胞內蟲草素及腺?之HPLC層析圖.....
圖4.12	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	47	圖4.12	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.13	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	48	圖4.13	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.14	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....	51	圖4.14	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.15	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....	52	圖4.15	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.16	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....	53	圖4.16	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.17	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....	54	圖4.17	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.18	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天胞外蟲草素及腺?之HPLC層析圖.....	55	圖4.18	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天胞外蟲草素及腺?之HPLC層析圖.....
圖4.19	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天胞內蟲草素及腺?之HPLC層析圖.....	56	圖4.19	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天胞內蟲草素及腺?之HPLC層析圖.....
圖4.20	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	57	圖4.20	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.21	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌體生長之影響.....	58	圖4.21	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌體生長之影響.....
圖4.22	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....	61	圖4.22	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.23	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....	62	圖4.23	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天發酵液中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.24	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....	63	圖4.24	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.25	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....	64	圖4.25	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....
圖4.26	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第七天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....	65	圖4.26	不同通氣量對蛹蟲草C. militaris培養第九天菌絲體中蟲草素及腺?的影響.....

...66 圖4.27 不同界面活性劑對蛹蟲草 <i>C. militaris</i> 培養第七天胞外蟲草素及腺之HPLC層析圖.....	
...67 圖4.28 不同界面活性劑對蛹蟲草 <i>C. militaris</i> 培養第七天胞內蟲草素及腺之HPLC層析圖.....	
...68 圖4.29 不同碳源對蛹蟲草 <i>C. militaris</i> 固態培養菌絲體生成的影響.....	71
圖4.30 不同通氣量對蛹蟲草 <i>C. militaris</i> 固態培養菌絲體生成的影響.....	72
圖4.31 不同油脂對蛹蟲草 <i>C. militaris</i> 固態培養菌絲體生成的影響.....	73
圖4.32 不同界面活性劑對蛹蟲草 <i>C. militaris</i> 固態培養菌絲體生成的影響.....	74

REFERENCES

- 參考文獻 1. 王伯徹。2000a。具開發潛力食藥用菇介紹。食品工業。32(5):1-17。 2. 王文憲 編著。1995。藥理學精義。合記圖書出版社。台北。台灣。280。 3. 王化遠、唐心曜。1996。四川產冬蟲夏草不同生長期子座、蟲體中甘露醇含量比較。華西藥學雜誌。11(1):58-59。 4. 冉翠香、王莉及許智宏。2001。人工培養蛹蟲草子實體原基的誘發形成。食用菌4:9-10。 5. 田雅嵐。2001。培養基與培養條件對冬蟲夏草菌絲體生物質量、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。台灣，彰化。 6. 包天桐、楊甲祿及王桂芬。1988。冬蟲夏草與醱酵蟲草菌的藥理作用比較。中西醫結合雜誌8(6):352-354。 7. 何志煌。1998。植物二次代謝物的生產。生物技術的應用。九州圖書。台北。pp151-163。 8. 李曉明、戴如琴及朱勤。1989。冬蟲夏草醱酵液多醣的成分分析。中國中醫雜誌。14(2):31-33。 9. 李宛臻、楊芳鏘。2003。不同培養基質對樟芝固態培養菌絲體生成之影響。2003第八屆生化工程研討會論文摘要集。pp46-48。 10. 李楠、龔長虹及張宏。2001。北冬蟲夏草人工栽培技術研究。食用菌。4:34-35。 11. 李雲準、李修遠。1991。用高效液相色譜法測定冬蟲夏草及蟲草烏雞膠丸中麥角固醇的含量。藥學學報。26(10):768-771。 12. 宋振玉。1995。中草藥現代研究(第一卷)。北京醫科大學、中國協和醫科大學聯合出版社。北京。pp100-101。 13. 杜雙田。2002。蛹蟲草灰樹花天麻高栽培新技術。中國農業出版社。北京。 14. 沈曉云、李兆蘭、田軍。1998。冬蟲夏草與蟲草菌絲有效成份分析比較。山西大學學報(自然科學版)。21(1):80-85。 15. 吳國璋。2002。以饋料批次式發酵進行蟲草菌(CCRC36421)多醣生產之研究。大葉大學食品工程研究所碩士論文。台灣。彰化。 16. 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。大葉大學食品工程研究所碩士論文。台灣。彰化。 17. 姜麗霞、劉放。1993。冬蟲夏草醱酵菌絲體中主要核甘鹼基的HPLC測定。中成藥。15(5):33-34。 18. 胡廣玉、胡菽英。1993。蟬花及其人工培養藥理作用初探。中國蟲生真菌研究與應用(第三卷)。中國農業科技出版社。北京。pp99-102。 19. 胡琦桂。1994。真菌球狀菌絲體生長之探討。食品工業。26(9):37-45。 20. 馬玲、劉春光、姚小曼。1995。蟲草多醣對小鼠免疫功能之影響。衛生毒理學雜誌。9(3):162-167。 21. 孫雲漢。1985。冬蟲夏草及人工蟲草菌絲研究概況。中藥通報。10(12):531-533。 22. 郭錫勇、郭莉莉、陳芳。1995。代氏蟲草與冬蟲夏草化學成分的比較。中藥材。18(8):403-405。 23. 陳長安。1998。常用藥物治療手冊。全國藥品年鑑雜誌社。台北。台灣。pp534、592、706。 24. 陳召南。1992。細腳擬青黴(固培物)與冬蟲夏草化學成分的初步比較。中成藥。14(2):35-37。 25. 陳健棋。2000。食藥用菇類在醫藥上的應用。食品工業。32(5):54-69。 26. 陳嫻伊。2002。蛹蟲草醱酵液之機能性成分分析及其區分物對大白鼠初代肝細胞之影響。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。 27. 陳宗融。1995。冬蟲夏草的抗癌療效研究。明通醫藥。P.34-35。 28. 黃賜源。1996。靈芝液體培養及氣舉式生化反應器應用之研究。東海大學化工所碩士論文。 29. 黃起鵬、李德河、梁吉春、療森泰、梁淑娃。1991。冬蟲夏草弱極性部份的化學成分研究。中藥材。14(11):35-37。 30. 彭國平、李紅陽及袁永泰。1996。冬蟲夏草與人工蛹蟲草的成分比較。南京中醫藥大學學報。12(5):26-27。 31. 張東柱。1983。台灣數種靈芝生物學上之研究。國立台灣大學植病所碩士論文。 32. 張淑芬。2001。食藥用菇類搖瓶液體培養條件之探討。食品工業。33(7):39-46。 33. 許瑞祥。1984。人工培養冬蟲夏草屬之性質及其代謝物之探討。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文。 34. 梁宗琦。1999。真菌次代謝產物多樣性及其潛在應用價值。生物多樣性7(2):145-150。 35. 馮玉環、高鳳儀。1994。冬蟲夏草的藥理及臨床研究近況。實用醫學雜誌。15(10):35-37。 36. 葉淑幸。2003。培養基中碳氮源與培養方式對蛹蟲草菌(*Cordyceps militaris*)醱酵產程中生質、菌絲球及生物活性成分之影響。大葉大學食品工程研究所碩士論文。台灣，彰化。 37. 楊雅琄。2001。蟲草屬菌種之深層培養及其區分物之抗氧化性評估。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文。 38. 楊大榮、沈榮發、尤勇誠、楊串雄、俞潤清。1987。蟲草蠅蠅幼蟲和冬蟲夏草胺基酸的研究。昆蟲知識。24(4):239-240。 39. 解軍、郭欣、李培毅、徐衛東。1994。冬蟲夏草及人工菌絲體中蟲草菌素的定性定量研究。山西中醫。10(4):36-38。 40. 褚西寧、白玉明、江如琴、羅建穎、程巧梅。1997。蟲生真菌超氧化物歧化酶同功酶的研究。中國蟲生真菌研究與應用。中國農業科技出版社。北京。pp82-86。 41. 詹松、李凡。1990。冬蟲夏草與蔗蛾蟲草化學成分的比較。中國中藥雜誌。10:413-415。 42. 劉靜明、鍾裕容、楊智、崔淑蓮及王伏華。1989。蛹蟲草之化學成分研究。中國中藥雜誌14(10):32-33。 43. 劉潔、楊旭、陳正、梁曼義及李景洛。1994。蠶蛹蟲草鎮靜及性激素樣作用的研究。白恩求醫科大學學報20(1):14-16。 44. 劉訖坤。1991。冬蟲夏草及菌絲體藥理研究近況。山東中醫雜誌。10(5):42-44。 45. 樊美珍、陳民、郭超、鄭有鵬。1990。蛹蟲草菌絲體和冬蟲夏草化學成分的比較。中國蟲生真菌研究與應用(第二卷)。中國農業科技出版社。北京。pp81-85。 46. 鄧計廷、吳林、燕婉如、吳國傳、謝以俊。1995。可博利(冬蟲夏草多醣脂質體)治療乙型肝炎97例療效分析。現代診斷與治療。6(3):178-179。 47. 應建浙、卯曉嵐、馬啟明、宗毓臣、文華安。1987。中國藥用真菌圖鑑。21(4):37-41。 48. 謝建元、高穗生。2002。生物性農藥固態醱酵量產開發。化工技術。10(4):166-175。 49. 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與成分分析比較。大葉大學食品工程研究所碩士論文。彰化，台灣。 50. 蘇慶華。1994。冬蟲夏草及蟲草。農藥世界。136:32-36。 51. 蘇慶華。1993。利用分子篩高效液態層析儀(SE-HPLC)分析真菌中藥材之1-3-BETA多醣體。行政院衛生署中醫藥年報。10(2):477-499。 52. Choi, M. A., Lee, W. K. and Kim, M. S. 2001 Identification and antibacterial activity of volatile flavor components of *Cordyceps militaris*. J. Food. Sci. Nutr. 4(1):18-22. 53. Cunningham, K. G., Manson, W., Spring, F. S. and Hutchinson, S. S. 1950. Cordycepin, a metabolic product isolated from cultures

of *Cordyceps militaris* Link. *Nature*. 166:949-54. Deitch, A. D. and Sawicki, S. G. 1979. Effects of cordycepin on microtubules of cultures mammalian cells. *Exp. Cell. Res.* 118:1-13. 55. Fang, Q. H., and Zhong, J. J. 2002. Effect of initial pH on production of ganoderic acid and polysaccharide by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum*. *Process Biochemistry*.37:769-774. 56. Guoging, Y. and Guoshan, W. 1988. Preliminary report on growth habit of *Cordyceps militaris*. *Edible Fungi*.2:4. 57. Glazer, R. I., and Kuo, J. F. Inhibition of effects of cordycepin on cyclic nucleotide-dependent and cyclic nucleotide-independent protein kinases. *Biochem. Pharmacol.* 26:1287-1290, 1977. 58. Guihua, Y. and Guoshan, W. 1988. Preliminary report on growth habit of *Cordyceps militaris*. *Edible Fungi*. 4:110-111. 59. Kuznetsov, D. A. and Musajev, N. I. 1990. The molecular mode of brain mRNA processing damage followed by the suppression of posttranscriptional poly (A) synthesis with cordycepin. *Int.J. Neurosci.* (Eng) 51:53-67. 60. Kiho T, Hui J I, Yamane A, Ukai S. 1993. Polysaccharides in fungi . Hypoglycemic activity and chemical properties of a polysaccharides from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Biol Pharm Bull*.16 (12) :1291-1293. 61. Kiho, T., Yamane, A., Hui, J., Usui, S. and Ukai, S. 1996. Polysaccharides in fungi . Hypoglycemic activity of a polysaccharide (CS-30) from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis* and its effects on glucose metabolism in mouse liver. *Biol. Pharm. Bull*.19 (2) :294-296. 62. Liu, J. Y. S., Yang, X., Chen, Z. and Li, J. 1997. Anticarcinogenic effect and hormonal effect of *Cordyceps militaris* Link. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*. 22 (2) :111-113. 63. Miyazaki, T., Oikawa, N., and Yamada, H. 1977. Studies on fungal polysaccharides. XX. Galactomannan of *Cordyceps sinensis*. *Chem. Pharm. Bull.* 25 (12) : 3324-3328. 64. Nair, V., Purdy, D. F., and Lyons, A. G. 1991. Novel analogue of the nucleoside antibiotic cordycepin. *Nucleosides*.10 (1-3) :497-498. 65. Park, J. P., Kim, S. W., Hwang, H. J. Cho, Y. J., and Yun, J. W. 2002. Stimulatory effect of plant oil and fatty acids on the exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology*.31:250-255. 66. Park, J. P., Kim, Y. M., Kim, S. W., Hwang, H. J., Cho, Y. J., Lee, Y. S., Song, C. H., and Yun, J. W. 2002. Effect of aeration rate on the mycelial morphology and exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Process Biochemistry*.37:1257-1262. 67. Shiao, M. S., Wang, Z. N., Lin, L. J., Lien, J. Y. and Wang, J. J. 1994. Profiles of nucleosides and nitrogen bases in Chinese medicinal fungus *Cordyceps sinensis* and related species. *Bot. Bull. Acad. Sin.*35:261-267. 68. Stasinopoulos, S. I., and Seviour, R. J. 1992. Exopolysaccharide production by *Acremonium* in stirred-tank and airlift fermentors. *Applied and Microbiol Biotechnology*.36:465-468. 69. Stasinopoulos, S. J., Seviour, R. J. 1990. Stimulation of exopolysaccharide production in the fungus *Acremonium persicinum* with fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering*, 36, 778-782. 70. Tang, Y. J., and Zhong, J. J. 2003. Role of oxygen supply in submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* for production of *Ganoderma* polysaccharide and ganoderic acid. *Enzyme and Microbial Technology*. 32:478-484. 71. Tomaselli, S. C., Vergoignan, C., Feron, G., and Durand A., " Glucosamine measurement as indirect method for biomass estimation of *Cunninghamella elegans* grown in solid state cultivation conditions. ", *Biochemical Engineering Journal*, 7, 1-5, 2001. 72. 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 (5) :547-553.