

不同培養方式對蛹蟲草菌絲體生長及其生物活性成分之研究

蔡昆霖、謝建元

E-mail: 9417949@mail.dyu.edu.tw

摘要

中文摘要 蛹蟲草是子囊菌亞門、麥角菌科、蟲草屬真菌，為蟲生菌的一種，其所含藥用成分和多種藥效可與冬蟲夏草相媲美，特別是其活性成分蟲草素含量明顯高於冬蟲夏草。本研究主要探討利用不同的培養方式，進行蛹蟲草機能性成分生產之探討，包含蟲草素、腺[?]、多醣等。本研究顯示：在胞內部分，以蔗糖為碳源、YE為氮源、起始pH 4或添加大豆油都可以使菌體生長較佳；胞內蟲草素以蔗糖為碳源、(NH)₄HPO₄為氮源或起始pH 6都可以得到較佳的產量。在胞外部分用棉花塞（較佳的空氣交換）振盪培養，可得最佳菌體濃度17.49 g/L，而機能性成分之蟲草素是以棉花塞為瓶塞，先振盪後靜置培養，在第30天產量最高(1103 mg/L)、而腺[?]及多醣皆是以橡皮塞為瓶塞振盪後靜置產量最高，分別可得114 mg/L、1.03 g/L。在不同起始pH值下，以pH 4可得蟲草素產量(315.64 mg/L)、腺[?]則是以pH 7最佳(109.73 mg/L)，而多醣以pH 5最佳(1.05 g/L)。在不同轉速條件下，以轉速150 rpm所得到的蟲草量明顯高於50 rpm。而以統計軟體statistica最適化胞外蟲草素的結果以pH 5、YE含量為2.82 %、振盪天數為6.29、靜置天數為41.76。這結果靜置的時間似乎太長，而以獨立因子去計算，得到的結果以pH 6、YE含量為4.5 %、振盪天數為8、靜置天數為10最佳。經實驗所得胞外蟲草素產量可得1435.79 mg/L。關鍵字：蛹蟲草、蟲草素、腺[?]、多醣

關鍵詞：蛹蟲草；蟲草素；腺[?]；多醣

目錄

目錄 封面內頁 簽名頁 授權書	iii 中文摘要
iv 英文摘要	vi 誌謝
	viii 目錄
	xv 表目錄
	ix 圖目錄
xvii 第一章 緒言	1 第二章 文獻回顧
2 2.1 蟲草屬的分類	2 2.2 蛹蟲草的簡介
3 2.4 蟲草的機能性成份	4 2.4.1 一般化學成份
2.4.3 腺 [?] (adenosine)	6 2.4.4 多醣(polysaccharide)
醇(D-mannitol)	6 2.4.5 其它機能性成份
藥理作用	9 2.4.5.1 甘露糖
心臟功能	9 2.4.5.2 超氧歧化?(Superoxide dismutase;SOD)
14 2.5.8 延緩機能老化	9 2.4.5.3 胺基酸
	9 2.4.5.4 麥角甾醇
	10 2.5 2.5.1 抗腫瘤
	10 2.5.2 增強免疫系統
	11 2.5.3 抗氧化與清除自由基
	12 2.5.4 保護
	13 2.5.5 降血壓、血脂、血糖作用
	13 2.5.6 保肝作用
	13 2.5.7 固腎作用
	14 2.6 蛹蟲草的人工培養研究
	14 2.6.1 液態發酵
	15 2.6.2 固態發酵
	15 2.7 液態培養之影響因子
	16 2.7.1 通氣量與攪拌
	16 2.7.2 pH值
	16 2.7.3
	20 2.7.5 添加植物油、界面活性劑
	21 2.7.6 其他影響因子
	22 第
三章 材料與方法	23 3.1 實驗材料
23 3.1.1 實驗菌株	23 3.1.2 種菌培
23 3.1.3 試驗藥品	24 3.1.4 試驗儀器
25 3.2 實驗方法	26
26 3.2.1 菌種保存	26 3.2.2 菌種活化
26 3.2.3 液態菌種	26 3.2.4 不同培養條件對
27 3.2.4.1 兩種菌株在不同雙碳源比例下的生長情形	27 3.2.4.2 不同瓶塞
27 3.2.4.3 不同起始pH值對蛹蟲草液態培養的影響	27 3.2.4.4 不同碳源對蛹蟲
28 3.2.4.5 不同氮源對蛹蟲草液態培養的影響	28 3.2.4.6 添加不同油脂對蛹蟲草液態培養的影響
28 3.2.4.7 添加不同界面活性劑對蛹蟲草液態培養的影響	29 3.2.5 不同培養條件對蛹蟲草菌絲體及胞外產物的影響
29 3.2.5.1 不同培養方式對蛹蟲草菌絲體生長及代謝產物的影響	29 3.2.5.2 不同起始pH值對蛹蟲草菌絲體生
30 3.2.5.3 不同轉速對蛹蟲菌絲體生長及代謝產物的影響	30 3.2.5.4 添加不同植物油
31 3.2.5.5 不同氮源對蛹蟲草菌絲體生長及代謝產物的影響	31
32 3.2.6 以統計方式最適化蛹蟲草機能性成分	32 3.3
34 3.3.1 發酵pH值的測定	34 3.3.2 菌體乾重分析
34 3.3.3 殘糖的分析	34 3.3.4 胞內多醣的分析
35 3.3.5 胞外多醣的分析	35 3.3.6 酚硫酸法
36 3.3.7 胞內蟲草素及腺 [?] 含量分析	36 3.3.8 胞外蟲草素及腺 [?] 含量分析
36 3.3.9 Box-Behnken實驗設計法 (BBD)	37
38 4.1 不同培養條件對蛹蟲草菌絲體及胞內產物的影響	38
38 4.1.1 兩種菌株在不同雙碳源比例下的生長情形	38 4.1.2 蛹蟲草液態培養的生長情形
	41 4.1.3 不同瓶塞對蛹

蟲草液態培養的影響 43	4.1.4 不同起始pH值對蛹蟲草液態培養的影響 43	4.1.5 不同碳源對蛹蟲草液態培養的影響 47	4.1.6 不同氮源對蛹蟲草液態培養的影響 47	4.1.7 添加不同油脂對蛹蟲草液態培養的影響 51	4.1.8 添加不同界面活性劑對蛹蟲草液態培養的影響 51	4.2 不同培養條件對蛹蟲草菌絲體及胞外產物的影響 55	4.2.1 不同培養方式對蛹蟲草液態培養的影響 55	4.2.2 不同起始pH對蛹蟲草菌絲體生長及代謝產物的影響 61	4.2.3 不同轉速對蛹蟲草菌絲體生長及代謝產物的影響 61	4.2.4 添加不同植物油對蛹蟲草菌絲體生長及代謝產物的影響 66	4.2.5 不同氮源對蛹蟲草菌絲體生長及代謝產物的影響 69	4.2.6 不同氮源含量對蛹蟲草菌絲體生長及代謝產物的影響 69	4.3 以統計方式最適化蛹蟲草機能性成分影響 74	第五章 結論 100	參考文獻 83	附錄一 腺?之HPLC層析圖 85																								
100 附錄二 蟲草素之HPLC層析圖	101 附錄三 腺?標準品之校正曲線	102 附錄四 蟲草素標準品之校正曲線	103 附錄五 多醣之檢量線	104 附錄六 蛹蟲草最適化之照片	105 附錄七 論文口試問題	107 圖目錄	圖2.1 蟲草素結構式 8	圖2.2 腺?結構式 8	圖4.1 蛹蟲草在兩種不同雙碳源比例下生長情形 39	圖4.2 蛹蟲草在液態培養的生長情形 42	圖4.3 不同瓶塞對蛹蟲草液態培養的影響 45	圖4.4 不同起始pH值對蛹蟲草液態培養的影響 46	圖4.5 不同碳源對蛹蟲草液態培養的影響 49	圖4.6 不同氮源對蛹蟲草液態培養的影響 50	圖4.7 添加不同油脂對蛹蟲草液態培養的影響 53	圖4.8 添加不同界面活性劑對蛹蟲草液態培養的影響 54	圖4.9 不同培養方式對蛹蟲草菌體生長的影響(振盪培養) 57	圖4.10 不同培養方式對蛹蟲草菌絲體培養發酵液中蟲草素、腺?、多醣的影響(振盪培養) 58	圖4.11 不同培養方式對蛹蟲草菌體生長的影響(靜置培養) 59	圖4.12 不同培養方式對蛹蟲草菌絲體培養發酵液中蟲草素、腺?、多醣的影響(靜置培養) 60	圖4.13 不同起始pH對蛹蟲草菌絲體生長的影響 62	圖4.14 不同起始pH對蛹蟲草菌絲體培養發酵液中蟲草素、腺?、多醣的影響 63	圖4.15 不同轉速對蛹蟲草菌絲體生長的影響 64	圖4.16 不同轉速對蛹蟲草菌絲體培養發酵液中蟲草素、腺?、多醣的影響 65	圖4.17 添加不同植物油對蛹蟲草菌絲體生長的影響 67	圖4.18 添加不同植物油對蛹蟲草菌絲體培養發酵液中蟲草素、腺?、多醣的影響 68	圖4.19 不同氮源對蛹蟲草菌絲體生長的影響 70	圖4.20 不同氮源對蛹蟲草菌絲體培養發酵液中蟲草素、腺?、多醣的影響 71	圖4.21 不同氮源含量對蛹蟲草菌絲體生長的影響 72	圖4.22 不同氮源含量對蛹蟲草菌絲體培養發酵液中蟲草素、腺?的影響 73	圖4.23 根據獨立因子運算最適化結果(瓶塞分別用棉花塞及橡皮塞) 81	圖4.24 根據statistica運算最適化結果 82	表目錄	表3.1 四因子三水準正交表 32	表3.2 四因子Box-Behnken實驗設計表 33	表4.1 四因子Box-Behnken設計及實驗結果(表一) 76	表4.2 四因子Box-Behnken設計及實驗結果(表二) 77	表4.3 迴歸係數顯著性檢定表 78	表4.4 蛹蟲草培養發酵液中蟲草素最適化條件(用統計軟體statistica 運算) 79	表4.5 蛹蟲草培養發酵液中蟲草素最適化條件(獨立因子運算) 80

參考文獻

- 參考文獻 1. 于森和康凱。2003。蛹蟲草的栽培方法。中國農村科技 第10期。第12頁。 2. 王寶貴、張桂英和越林伊。2002。柞蠶蛹草對黑腹果蠅壽命的影響。中國老年學雜誌 22:148 - 150。 3. 王伯徹。2000。具開發潛力食藥用菇介紹。食品工業 32 (5) :1 - 7。 4. 王進琦、李聰明及賴敏男。1998。猴頭菇以液態浸漬培養產製水溶性多醣之探討。食品科學 25 (6) :714 - 726。 5. 匡彥德和王美英。1989。冬蟲夏草免疫增強作用機理的研究。上海免疫學雜誌 9(1):6 - 8。 6. 方清居。2004。蠶業研究利用的另一章-蠶蛹蟲草。苗栗區農業專刊 第六期。第8頁。 7. 方煥謀。1990。蟲草菌無性型確證方法的思考。中國蟲生真菌研究與應用 2:67 - 68。 8. 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。第30 - 81頁。大葉大學食工所碩士論文。彰化。 9. 白壽雄和羅道蘊。1994。生物性多醣體及其應用。生物產業5:167 - 173。 10. 冉翠香、王莉和許智宏。2001。人工培養蛹蟲草子實體原基的誘發形成。食用菌 4:9 - 10。 11. 江曉路、葛蓓蕾和胡曉珂。2002。蛹蟲草(*Cordyceps militaris*)對藥物引起免疫抑制的拮抗作用。青島海洋大學學報 32 (1) :46 - 50。 12. 朱歷忠。2003。淺談冬蟲夏草。耕讀茶話 第40期。第7頁。 13. 李楠、龔長虹和張宏。2001a。北蟲夏草人工栽培技術研究。食用菌 4:34 - 35。 14. 李建良。2001b。液態培養生產冬蟲夏草菌絲體與冬蟲夏草多醣之研究。第28 - 68頁。交通大學生物科技研究所碩士論文。新竹。 15. 李雲準和李修錄。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。 16. 李兆蘭。1987。裂褶菌深層培養及多醣測定。真菌學報 6 (3) :170 - 177。 17. 宋振玉。1995。中草藥現代研究 第一卷。北京中國協和醫科大學聯合出版社。北京 18. 金水日、張甲生和何玲。1990。蠶蛹蟲草和冬蟲夏草中D-甘露醇的分析。白求恩醫學大學學報18 (1) :47 - 49。 19. 吳畏、高新華、崔星明和錢國琛。1998。"北冬蟲夏草子實體人工高產栽培技術及工廠化生產研究" 通過專家鑑定。上海農業學報 14 (4) :62。 20. 步嵐、朱振元、梁宗琦和劉愛英。2002。真菌激發子對提高蛹蟲草蟲草菌素的作用。菌物系統 21 (2) :252 - 256。 21. 郁利平、李華娟和李修義。1994。蛹蟲草對癌誘變劑-MMS所致BALB/C小鼠脾細胞DNA損傷的拮抗作用。實用腫瘤學雜誌 8 (2) :7。 22. 周碧溫。2003。以饋料批次發酵對舞菇多醣生產之探討。第41 - 70頁。大葉大學食品工程所碩士論文。彰化。 23. 周佳賢、曾耀銘和劉炳嵐。2004。蛹蟲草固態培養之探討。第九屆生化工程研討會論文集。大葉大學。彰化。 24. 周良楣、楊倚竹、續月名、朱慶義、馬紫亮、朱延瑞和葛孝炎。1990。冬蟲夏草菌絲體治療慢性乙型病毒肝炎的近期療效觀察。中國中藥雜誌 15 (1) :53 - 55。 25. 林家如。2002。浸液發酵培養基與培養條件對藥用茯苓(*Wolfiporia cocos*)菌絲體及胞外多醣體生成之影響。第26 - 68頁。大葉大學食工所碩士論文。彰化。 26. 張志豐。2004。深層培養松茸(*Tricholoma matsutake*)之最適化培養液組成。第53 - 99頁。大同大學生物工程研究所碩士論文。台北。 27. 張德玉。2003。培養條件對靈芝菌絲體超氧歧化(SOD)生成之影響。第7 - 15頁。東海大學化工所碩士論文。台中。 28. 張緒璋。2002。北冬蟲夏草的人工培養及其營養成分分析。中國食用菌 22 (2) :19 - 21。 29. 張淑芬。2001。科學與技術。食用菇類搖瓶液體條件之探討。食品工業。33 (7) :39 - 46。 30. 張甲生、王寶珍、王曉光、丁長江、李亞平、孫平和夏愛華。1994。蛋蛹蟲草和冬蟲夏草中游離胺基酸的比較分析。白求恩醫科大學學報 20 (1) :24 - 25

31. 胡琦桂。1994。真菌球狀菌絲體生長之探討。食品工業 26 (9) :37 - 45。 32. 貢成良、吳衛東、徐承智、楊昆和陳國剛。2002。家蠶蛹蟲草的化學成份分析。蠶業科學 28 (2) :168 - 172。 33. 貢成良、吳友良、朱軍貞、潘中華、彭國平和樓鳳昌。1994。家蠶蛹蟲草的人工培育及其成份分析。中國食用菌 12:21 - 23。 34. 柴建萍、白興和謝道燕。2003。不同蛹蟲草菌株比較試驗與篩選。雲南農業科技 4:22 - 23。 35. 徐廷方、王麗波、段文健和楊彤。2002。人工蛹蟲草胞外多醣對受抑制的免疫功能及抗疲勞作用。中藥藥理與臨床 18 (6) :17 - 18。 36. 徐文豪、薛智和馬建民。1988。冬蟲夏草的水溶性成分—核苷類化合物的研究。中藥通報 13 (4) :34 - 36。 37. 陶雪娟、徐崇敬、宋鳳菊、張建敏和陳建華。1999。蕈菌液體生物發酵技術研究與進展。上海農學院學報 17:141 - 147。 38. 馬芳、越德化和盛寶恒。1987。秦巴蛹蟲草的藥理實驗研究。中國藥學雜誌 2 (2) :6。 39. 都興范、李應杰、王林華、石理鑫、徐宏、張俊濤、王曉燕和王鶴。2003。北冬蟲夏草的研究發展現狀。遼寧農業科學 4:26 - 28。 40. 陸文樑、林忠平和林志彬。1992。靈芝的科學應用。渡假出版社。台北。 41. 莊曉莉、李祥麟和黃檀溪。2003。蠶蛹草具有顯著之抗氧化性與自由基清除能力。師大學報:數理與科技類 48 (1, 2) :13 - 24。 42. 莊曉莉、李祥麟、陳香蘭和黃檀溪。2001。蠶蛹草之特點與安全性。真菌科學 18 (3, 4) :151 - 161。 43. 黃任平。2002。回應曲面法應用於4-L發酵槽生產冬蟲夏草(*Cordyceps sinensis*)菌絲體。第29 - 41頁。雲林科技大學工業化學與災害防治研究所碩士論文。雲林。 44. 陳佳玲和徐泰浩。2004。培養基中碳氮源對蛹蟲草菌(*Cordyceps militaris*)生質、菌絲球及生物活性成分生成之影響。第九屆生化工程研討會論文集。大葉大學。彰化。 45. 陳宜濤和馮明光。2003。最適化玫瑰色擬青黴液相發酵生產的培養基和初始的接種量及pH。浙江大學學報(農業與生命科學版) 29 (1) :39 - 43。 46. 陳長安。1998。常用藥物治療手冊。第534 - 706頁。全國藥品年鑑雜誌社。台灣。 47. 陳桂寶、羅梅初和劉寶晶。1997。蛹蟲草的藥理作用。中草藥 28 (7) :415。 48. 管代義、陳春華、孫璐西、孫蓮玉、張秀琴、張援平、陳順志、吳佩杰、劉毅和王永杰。1993。北冬蟲夏草抗氧化作用的實驗研究。中國藥學雜誌 28:473 - 475。 49. 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。第26 - 93頁。大葉大學生科所碩士論文。彰化。 50. 寶文、于榮敏和白秀峰。2000。人工培養蛹蟲草多醣的研究。瀋陽藥科大學學報 17 (5) :361 - 364。 51. 蔡銘璉。2004。以液態及固態發酵進行蛹蟲草機能性成分之研究。第19 - 74頁。大葉大學生科所碩士論文。彰化。 52. 鄭萬禎。2002。利用批次發酵生產巴西洋菇菌絲體及胞外多醣之研究。第68 - 83頁。中興大學食科所碩士論文。台中。 53. 褚西寧、白玉明、江如琴、羅建穎和程巧梅。1997。蟲生真菌超氧化物歧化酶的研究。中國蟲生真菌研究與應用。第82 - 86頁。中國農業科技出版社，北京。 54. 劉慈欣。2004。液態培養環境對北冬蟲草(*Cordyceps militaris*)菌絲體生長及其機能性成分之影響。第49 - 106頁。東海大學食品科學所碩士論文。台中。 55. 魏景超。1979。真菌鑑定手冊。第218頁。上海科學技術出版社。上海。 56. 蘇慶華。1994。冬蟲夏草及蟲草。農藥世界 136:32 - 36。 57. Bae, J. T., Park, J.P., Sinha, J., Song, C. H and Yun, J. W. 2001. Effect of Carbon Source on the Mycelial Growth and Exo- biopolymer production by submerged culture of *Paecilomyces japonica*. Journal of Bioscience and Bioengineering. 91(5): 522 - 524. 58. Bok, J. W., Lerner, L., Chilton, J., Klingeman, H. G and Towers, G. G. N. 1999. Antitumor sterols from the mycelia of *Cordyceps sinensis*. Phytochemistry. 51: 891 - 898. 59. Bullock, W. E., Luke, R. G., Nuttall, C. E and Bhatena, D. 1976. Can Mannitol Reduce Amphotericin B Nephrotoxicity? Double-Blind Study and Description of a New Vascular Lesion in Kidneys. Antimicrob Agents Chemother. 10(3): 555 - 563. 60. Choi, S. B., Park, C. H., Choi, M. K., Jun, D. W and Park, S. 2004. Improvement of insulin resistance and insulin secretion by water extracts of *cordyceps militaris*, *Phellinus linteus*, and *Paecilomyces tenuipes* in 90 % pancreatectomized rats. Biosci. Biotechnol. Biochem. 68(11): 2257 - 2264. 61. Cho, Y. J., Hwang, H. J., Kim S. W., Song, C. H and Yun, J. W. 2002. Effect of carbon source and aeration rate on broth rheology and fungal morphology during red pigment production by *Paecilomyces sinclairii* in a batch bioreactor. Journal of Biotechnology. 95: 13 - 23. 62. Chang, H. L., Chao, G. R., Chen, C. C and Mau, J. L. 2001. Non-Volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Antrodia camphorate* and *Cordyceps militaris* mycelia. Food Chemistry. 74: 203 - 207. 63. Chen, Y. J., Shiao, M. S., Lee, S. S and Wang, S. Y. 1997. Effect of *Cordyceps sinensis* on the proliferation and differentiation of human leukemic U937 cells. Life Sciences. 60(25): 2349 - 2359. 64. 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. 65. Hsieh, C., Tsai, M. J., Hsu, T. H., Chang, D. M and Lo, C. T. 2005. Medium optimization for polysaccharide production of *Cordyceps sinensis*. Appl Biochem Biotechnol. 120(2): 145 - 157. 66. Hajjaj, H., Blane, P. J., Groussac, E., Goma, G., Uribelarrea, J. L and Loubiere, P. 1999. Improvement of red pigment / citrinin production ratio as a function of environmental conditions by *Monascus ruber*. Biotechnol. Bioeng. 64: 497 - 501. 67. Jagger, D. V., Kredich, N. M and Gorin, A. J. 1961. Inhibition of Ehrlich mouse ascites tumor growth by cordycepin. Cancer Res. 21: 216 - 220. 68. Koh, J. H., Kim, J. M., Chang, U. J and Suh, H. J. 2003. Hypocholesterolemic Effect of Hot-Water Extract from Mycelia of *Cordyceps sinensis*. Biol. Pharm. Bull. 26(1): 84 - 87. 69. Kim, S. W., Hwang, H. J., Xu, C. P., Sung, J. M., Choi, J. W and Yun, J. W. 2003a. Production and Characterization of Exopolysaccharides from an Entomopathogenic Fungus *Cordyceps militaris* NG3. Biotechnol. Prog. 19 : 428 - 435. 70. Kim, K. M., Kwon, Y. G., Chung, H. T., Yun, Y. G., Pae, H. O., Han, J. A., Ha, K. S., Kim, T. W and Kim, Y. M. 2003b. Methanol extract of *Cordyceps pruinosa* inhibits in vitro and in vivo inflammatory mediators by suppressing NF- κ B activation. Toxicology and Applied Pharmacology. 190: 1 - 8. 71. Kim, S. W., Hwang, H. J., Xu, C. P., Sung, J. M., CHOL, J. W. and Yum, J. W. 2003c. Optimization of submerged culture process for the production of biomass and exo-polysaccharides by *Cordyceps militaris* C738. Journal of Applied Microbiology. 94: 120 - 126. 72. Koh, J. H., Yu, K. W., Choi, Y. M., Ahn, T. S. and Suh, H. J. 2002. Activation of macrophages and the intestinal immune system by an orally administered decoction from cultured mycelia of *Cordyceps sinensis*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 66(2): 407 - 411. 73. Kodama, E. N., McCaffrey, R. P., Yusa, K and Mitsuya, H. 2002. Antileukemic activity and mechanism of action of cordycepin against terminal deoxynucleotidyl transferase -positive(TdT+) leukemic cells. biochemical pharmacology. 59: 273 - 281. 74. Kredich, N. M. 1980. Inhibition of Nucleic Acid Methylation by Cordycepin. The Journal of Biological chemistry. 255(15): 7380 - 7385. 75. Li, S. P., Zhao, K. J., Song, Z. H., Dong, T. T. X., Lo, C. k., Cheung, J. K. H., Zhu, S. Q and Tsim, K. W. K. 2003. A polysaccharide isolated from *Cordyceps sinensis*, a traditional

Chinese medicine, protects PC12 cells against hydrogen peroxide-induced injury. *Life Sciences*. 73: 2503 - 2513.

76. Ling, J. Y., Sun, Y. J., Zhang, H., Lv, P and Zhang, C. K. 2002. Measurement of Cordycepin and Adenosine in stroma of *Cordyceps* sp. By Capillary Zone Electrophoresis(CZE). *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 94(4): 371 - 374.

77. Mao, X. B., Eksiwong, T., Chauvatcharin, S and Zhong, J. J. 2004. Optimization of carbon source and carbon / nitrogen ratio for cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Process Biochemistry*. 1 - 6.

78. Marks, D. B., Keller, B. J and Guarino, A. J. 1969. The Composition of the cell wall fraction of the fungus, *Cordyceps militaris*. *Biochim Biophys Acta*. 183: 58 - 64.

79. Myers, R. H and Montomery, D. C. 1995. Response Surface Methodology. 318 - 321.

80. Nakamura, K., Konoha, K., Yoshikawa, N., Yamaguchi, Y., Kagota S., Shinozuka, K and Kunitomo, M. 2005. Effect of cordycepin (3'-deoxyadenosine) on hematogenic lung metastatic model mice. *In Vivo*. 19(1): 137 - 141.

81. Nan, J. X., Park, E. J., Yang, B. K., Song, C. H., Ko, G and Sohn, D. H. 2001. Antifibrotic effect of extracellular biopolymer from submerged mycelial cultures of *Cordyceps militaris* on liver fibrosis induced by bile duct ligation and scission in rat. *Arch. Pharm. Res*. 24(4): 327 - 332.

82. Park, C., Hong, S. H., Lee, J. Y., Kim, G. Y., Choi, B. T., Lee, Y. T., Park, D. I., Park, Y. M., Jeong, Y. K and Choi, Y. H. 2005. Growth inhibition of U937 leukemia cells by aqueous extract of *Cordyceps militaris* through induction of apoptosis. *Oncol Rep*. 13(6): 1211 - 1216.

83. Park, J. P., Kim, S. W., Hwang, H. J., Cho, Y. J and Yun, J. W. 2002a. Stimulatory effect of plant oils and fatty acids on the exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 250 - 255.

84. Park, J. P., Kim, Y. M., Woo, Kim, S. W., Hwang, H. J., Cho, Y. J., Lee, Y. S, Song, C. H and Yun, J. W. 2002b. Effect of aeration rate on the mycelial morphology and exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Process. Biochemistry*. 37: 1257 - 1262.

85. Park, J. P., Kim, S. W., Hwang, H. J and Yun, J. W. 2001. Optimization of submerged culture conditions for the mycelia growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*. *Letters in Applied Microbiology*. 33: 76 - 81.

86. Rodman, E., Farnell, D. R., Coyne, J. M., Allan, P. W., Hill, D. L., Duncan, K. L., Tomaszewski, J. E., Smith, A. C and Page, J. G. 1997. Toxicity of Cordycepin in Combination with the Adenosine Deaminase inhibitor 2'-Deoxycoformycin in Beagle Dogs. *Toxicology and applied pharmacology*. 147: 39 - 45.

87. Shen, Q and Chen, S. 2001. Effect of *Cordyceps militaris* on the damage of rats induced by n-hexane. *Zhong Yao Cai*. 24(2):112 - 6.

88. Stasinopoulos, S. I and Seviour, R. J. 1990. Stimulation of exopolysaccharide production in the fungus *Acremonium persicinum* with fatty acid. *Biotech. and Bioeng*. 36: 778 - 782.

89. Song, C. H., Cho, K. Y and Nair, N. G. 1987. A synthetic medium of the production of submerged culture of *Lentinus edodes*. *Mycologia*. 79(6): 866 - 876.

90. 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.

91. Won, S. Y and Park, E. H. 2005. Anti-inflammatory and related pharmacological activities of cultured mycelia and fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. *J. Ethnopharmacol*. 96 (3): 555 - 61.

92. Wang, Z., He, Z., Li, S and Yuan, Q. 2005. Purification and partial characterization of Cu,Zn containing superoxide dismutase from entomogenous fungal species *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology*. 5:1-8.

93. Wang, Y. H., Ye, J., Li, C. L., Cai, S. Q., Ishizaki, M and Katada, M. 2004. An experimental study on anti-aging action of *Cordyceps* extract. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 29(8): 773 - 6.

94. Weng, S. C., Chou, C. J., Lin, L. C., Tsai, W. J and Kuo, Y. C. 2002. Immunomodulatory functions of extracts from the Chinese medicinal fungus *Cordyceps cicadae*. *Journal of EthnoPharmacology*. 83: 79 - 85.

95. Wu, Z. L, Wang, X. X and Cheng, W. Y. 2002. Inhibitory effect of *Cordyceps sinensis* and *Cordyceps militaris* on human glomerular mesangial cell proliferation induced by native LDL. *China Medical Board of New York*. 90 - 527.

96. Williamson, J. 1966. Cordycepin, an antitumor antibiotic with trypanocidal properties. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg*. 60: 8 - 9.

97. Xu, C. P., Kim, S. W., Hwang, H. J., Choi, J. W and Yun, J. W. 2003. Optimization of submerged culture conditions for mycelial growth and exo-biopolymer production by *Paecilomyces tenuipes* C240. *Process Biochemistry*. 38: 1025 - 1030.

98. Xiao, J. H., Chen, D. X., Xiao, Y., Liu, J. W., Liu, Z. L., Wan, W. H., Fang, N., Bing, B. T., Liang, Z. Q and Liu, A. Y. 2004. Optimization of submerged culture conditions for mycelial polysaccharide production in *Cordyceps pruinosa*. *Process Biochemistry*. 1 - 7.

99. Yu, R., Song, L., Zhao, Y. Bin, W., Wang, L., Zhang, H., Wu, Y., Ye, Y and Yao, X. 2004. Isolation and biological properties of polysaccharide CPS-1 from cultured *Cordyceps militaris*. *Fitoterapia*. 75: 465 - 472.

100. Yamaguchi, Y., Kagota, S., Nakamura, K., Shinozuka, K and Kunitomo, M. 2000. Antioxidant activity of the extracts from fruiting bodies of cultured *Cordyceps sinensis*. *Phytotherapy Research*. 14: 647 - 649.

101. Yang, F. C., Ke, Y. F and Kuo, S. S. 2000. Effect of fatty acids on the mycelial growth and polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in shake flask cultures. *Enzyme and microbial technology*. 27: 295 - 301.

102. Yoo, H. S., Shin, J. W., Cho, J. H., Son, C. G., Lee, Y. W., Park, S. Y and Cho, C. K. 2004. Effects of *Cordyceps militaris* extract on angiogenesis and tumor growth. *Acta pharmacol Sin*. 25(5): 657- 665.

103. Yoshikawa, N., Nakamura, K., Yamaguchi, Y., Kagota, S., Shinozuka, K and Kunitomo, M. 2004. Antitumour activity of cordycepin in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 31(2): 51 - 53.

104. Zhong, J. J and Mao, X. B. 2004. Hyperproduction of cordycepin by two-stage oxygen control in submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris* in bioreactors. *Biotechnol Prog*. 20(5): 1408 - 1413.

105. Zhou, X., Meyer, C. U., Schmidtke, P and Zepp, F. 2002. Effect of cordycepin on interleukin-10 production of human peripheral blood mononuclear cells. *European Journal of Pharmacology*. 453: 309 - 317.

106. Zhu, J. S., Halpern, G. M and Jones, K. 1998. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: *Cordyceps sinensis*: part I. *J Altern Complement Med*. 4: 289 - 303.