

油脂與界面活性劑對舞菇生長與多醣生產之影響

劉佳茹、謝建元

E-mail: 9417958@mail.dyu.edu.tw

摘要

舞菇 (Grifola frondosa) 又稱灰樹花或舞茸，是可食性菇類的一種。近幾年經學者證實舞菇的子實體或液態培養的菌絲體都具有特殊多醣體，目前，市面上已有舞菇多醣 (D-fraction) 產品，已證實具有抗腫瘤及抗愛滋等功用。本研究主要是以液態培養舞菇，在培養基中添加不同濃度的界面活性劑及植物性油脂，探討其對舞菇生長及多醣體生產之影響，研究發現以2 % 葡萄糖為碳源時，添加界面活性劑及植物性油脂只增加菌體濃度，而並無增加胞外多醣及胞內多醣的產量。若以4 % 葡萄糖為碳源比2 % 葡萄糖為碳源所得的胞外多醣量較高，故以4 % 葡萄糖為碳源在不同培養時間下添加0.5 % 的界面活性劑及植物性油脂，對菌體生長與多醣產量都有明顯提升，菌體生長方面，在培養初期添加大豆油所得菌體濃度可達8.551 g/L，是控制組 (2.836 g/L) 的3倍，另外在第五天添加Span 80菌體濃度也可達8.069 g/L；胞內多醣產量方面，在培養初期添加橄欖油所得的胞內多醣量最高，達0.029 g/g-cell，是控制組 (0.011 g/g-cell) 的2倍以上，而第七天添加Tween 80所得的胞內多醣量達0.021 g/g-cell；胞外多醣產量方面，以第九天添加Span 20產量達1.381 g/L，以第七天添加大豆油產量達1.350 g/L。在5公升的發酵槽中，分別通以21 % 及40 % 氧培養，發現以21 % 氧培養的菌體濃度比40 % 氧高，顯示以40 % 氧培養舞菇會破壞菌的生長，若以40 % 氧加橄欖油培養舞菇，菌體濃度在第九天達最高16.853 g/L，顯示在高氧環境下添加油脂有助於菌的生長。在利用掃描式電子顯微鏡觀察添加界面活性劑及植物性油脂對菌絲體型態的影響，發現添加植物性油脂所產生菌絲較未添加者粗厚且表面有團狀物體覆蓋於菌絲表面，添加Tween 20者菌絲也觀察到較厚，這些推論可能是多醣體的包裹所造成。而添加Tween與Span系列的菌絲型態與未添加者有明顯不同，特別是添加Span系列的菌絲型態都呈現較粗短的情況。

關鍵詞：舞菇、多醣、界面活性劑、植物性油脂

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 ix	圖目錄 xiv	表目錄 xvii	附錄 xix	第一章 緒言 1	第二章 文獻回顧 2	2.1 舞菇之主要成分 2	2.2 舞菇的多醣體 3	2.3 舞菇的生理功能 3	2.3.1 增強免疫力 3	2.3.2 抗腫瘤活性 3	2.3.3 抗愛滋病毒 4	2.3.4 抗氧化作用 5	2.3.5 其他生體機能 6	2.4 液態培養之優點 6	2.4.1 液態發酵培養舞菇的環境影響因子 6	2.4.1.1 物理因素 7	2.4.1.1.1 pH值 7	2.4.1.1.2 溫度 9	2.4.1.1.3 通氣量與攪拌 9	2.4.1.1.4 菌體型態與接種量 11	2.4.1.1.5 泡沫的控制 13	2.4.1.2 化學因素 13	2.4.1.2.1 碳源 13	2.4.1.2.2 氮源 14	2.4.1.2.3 碳氮比 15	2.4.1.2.4 礦物質鹽類及無機鹽類 15	2.4.1.2.5 界面活性劑 16	2.4.1.2.6 植物油與脂肪酸 20	第三章 材料與方法 23	3.1 實驗材料 23	3.1.1 菌株 23	3.1.2 實驗藥品 23	3.1.3 實驗器材 24	3.2 基礎培養 26	3.2.1 平板培養 26	3.2.2 液態菌源培養 26	3.3 實驗方法 27	3.3.1 不同濃度的界面活性劑對G. frondosa在搖瓶中生長之影響 27	3.3.2 不同濃度的植物性油脂對G. frondosa在搖瓶中生長之影響 27	3.3.3 不同比例的油脂與葡萄糖對G. frondosa菌體生長及多醣產量的影響 28	3.3.4 不同培養時間添加植物性油脂對G. frondosa在搖瓶中生長之影響 28	3.3.5 不同比例的油脂與葡萄糖對G. frondosa菌體生長及多醣產量的影響 28	3.3.6 不同氣氛濃度與橄欖油的添加對G. frondosa於發酵槽中的影響 29	3.4 分析方法 29	3.4.1 pH 29	3.4.2 菌體濃度 29	3.4.3 基質殘糖量 30	3.4.4 胞外多醣 30	3.4.4.1 酚硫酸法 30	3.4.4.1.1 標準檢量線製作步驟 30	3.4.4.1.2 舞菇胞外多醣 31	3.4.4.2 胞外多醣分子量分佈 31	3.4.5 舞菇胞內多醣 32	3.4.5.1 胞內多醣濃度 32	第四章 結果與討論 33	4.1 添加不同葡萄糖濃度對G. frondosa液態培養之影響 33	4.2 探討非離子性界面活性劑及植物性油脂對G. frondosa液態培養的影響 37	4.2.1 Tween系列界面性劑對G. frondosa菌體生長及多醣生成的影響 37	4.2.2 Span系列界面性劑對G. frondosa菌體生長及多醣生成的影響 42	4.2.3 探討不同植物性油脂對G. frondosa菌體生長及多醣生成的影響 46	4.3 在不同培養時間添加0.5 % (v/v) 的界面活性劑及植物性油脂對G. frondosa液態搖瓶培養的影響 54	4.3.1 在不同培養時間添加Tween系列對G. frondosa液態搖瓶培養的影響 55	4.3.2 在不同培養時間添加Span系列對G. frondosa液態搖瓶培養的影響 60	4.3.3 在不同培養時間添加植物性油脂對G. frondosa液態搖瓶培養的影響 65	4.3.3 G. frondosa在不同的添加物下培養，利用掃描式電子顯微鏡觀察其菌絲型態變化 75	4.4 不同比例的油脂與葡萄糖對G. frondosa菌體生長及多醣產量的影響 79	4.5 不同氣氛濃度及添加橄欖油對G. frondosa於發酵槽中發酵的影響 85	4.5.1 不同氣氛濃度及添加橄欖油對G. frondosa於發酵槽中發酵，在不同時間取出後，放置於搖瓶液態培養七天 90	第五章 結論 94	參考文獻 96	圖目錄 圖4-1	G. frondosa於不同葡萄糖濃度搖瓶培養下，對菌絲體生長及胞外、胞內多醣含量的影響 35	圖4-2 G. frondosa於不同葡萄糖濃度培養下，利用掃描式電子顯微鏡觀察菌絲型態變化 36	圖4-3 不同濃度的Tween 80對G. frondosa培養第十三天菌體生長及多醣產量的影響 39	圖4-4 不同濃度的Tween 20對G. frondosa培養第十三天菌體生長及多醣產量之影響 43	圖4-5 不同濃度的Span 80對G. frondosa培養第十三天菌體生長及多醣產量之影響 43

不同濃度的Span 20對G. frondosa培養第十三天菌體生長 及多醣產量之影響	43
圖4-7不同濃度的紅花籽油對G. frondosa培養第十三天菌體生長 及多醣生產的影響	48
圖4-8不同濃度的橄欖油對G. frondosa培養第十三天菌體生長及 多醣生產的影響	48
圖4-9不同濃度的大豆油對G. frondosa培養第十三天菌體生長及 多醣生產的影響	49
圖4-10不同濃度的葵花油對G. frondosa培養第十三天菌體生長及 多醣生產的影響	49
frondosa培養第十三天菌體生長及 多醣生產的影響	49
圖4-11在不同的培養時間添加0.5 % (v/v) Tween 80對G. frondosa 生長及多醣生產的影響	58
圖4-12在不同的培養時間添加0.5% (v/v) Tween 20對 G. frondosa 生長及多醣生產的影響	58
圖4-13在不同的培養時間添加0.5 % (v/v) Span 80對G. frondos 生長及多醣生產的影響	61
圖4-14在不同的培養時間添加0.5 % (v/v) Span 20對G. frondos 生長及多醣生產的影響	63
圖4-15在不同的培養時間添加0.5 % (v/v) 紅花籽油對G. frondosa 生長及多醣生產的影響	67
圖4-16在不同的培養時間添加0.5% (v/v) 葵花油對G. frondosa 生長及多醣生產的影響	69
圖4-17在不同的培養時間添加0.5 % (v/v) 橄欖油對G. frondosa 生長及多醣生產的影響	71
圖4-18在不同的培養時間添加0.5% (v/v) 大豆油對G. frondosa 生長及多醣生產的影響	73
圖4-19 G. frondosa在不同的添加物培養下，利用掃描式電子顯微 鏡觀察菌絲型態變化	78
圖4-20添加葡萄糖和三油酸甘油酯的比例不同，培養13天後對 G. frondosa之pH值、乾菌重及胞內多醣有何影響	81
圖4-21 G. frondosa於不同葡萄糖和三油酸甘油酯的比例下培養， 利用掃描式電子顯微鏡觀察其菌絲型態變化	84
圖4-22 5公升發酵槽培養G. frondosa對菌體濃度的影響	87
圖4-23 5公升發酵槽培養G. frondosa對胞外多醣的影響	87
圖4-24 5公升發酵槽培養G. frondosa對胞內多醣的影響	88
圖4-25 G. frondosa於不同氧氣及加橄欖油培養下，利用掃描式電子顯微鏡觀察不同天數的菌絲型態變化	89
圖4-26利用5公升發酵槽在21%O ₂ 培養G. frondosa，在不同天數 取出 (A : 五天 ; B : 七天 ; C : 九天)，在進行液態搖瓶 培養G. frondosa七天	92
圖4-27利用5公升發酵槽在40%O ₂ 培養G. frondosa，在不同天數 取出 (A : 五天 ; B : 七天 ; C : 九天)，在進行液態搖瓶 培養G. frondosa七天	92
圖4-28利用5公升發酵槽在40%O ₂ 加橄欖油培養G. frondosa，在 不同天數取出 (A : 五天 ; B : 七天 ; C : 九天)，在進行 液態搖瓶培養G. frondosa七天	93
表目錄 表2-1Tween系列界面活性劑基本物性	19
表2-2 Span系列界面活性劑基本物性	20
表4-1添加不同濃度的Tween80於G. frondosa液態搖瓶培養13 天其胞外多醣分子量之影響	40
表4-2添加不同濃度的Tween20於G. frondosa液態搖瓶培養13 天其胞外多醣分子量之影響	41
表4-3添加不同濃度的Span80於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	44
表4-4添加不同濃度的Span20於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	45
表4-5添加不同濃度的紅花籽油於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	45
表4-6添加不同濃度的葵花油於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	51
表4-7添加不同濃度的大豆油於G. frondosa液態搖瓶培養13天其 胞外多醣分子量之影響	52
表4-8添加不同濃度的葵花油於G. frondosa液態搖瓶培養13天其 胞外多醣分子量之影響	53
表4-9添加0.5 % (v/v) Tween80於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	57
表4-10添加0.5 % (v/v) Tween20於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	59
表4-11添加0.5 % (v/v) Span80於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	62
表4-12添加0.5% (v/v) Span20 於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	64
表4-13添加0.5% (v/v) 紅花籽油於G. frondosa液態搖瓶培養13 天其胞外多醣分子量之影響	68
表4-14添加0.5 % (v/v) 葵花油於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	70
表4-15添加0.5% (v/v) 橄欖油於G. frondosa液態搖瓶培養13天其 胞外多醣分子量之影響	72
表4-16添加0.5% (v/v) 大豆油於G. frondosa液態搖瓶培養13天 其胞外多醣分子量之影響	74
表4-17添加葡萄糖和三油酸甘油酯的比例不同於G. frondosa液 態搖瓶培養13天其胞外多醣分子量之影響	82
附錄一、糖蜜之碳、氫、氮元素一覽表.....	
..... 108	
附錄二、玉米浸液粉之主要成分一覽表.....	108
附錄三、無機鹽溶液組成一覽表.....	
..... 108	
附錄四、組成大豆油的主要脂肪酸.....	109
附錄五、組成葵花油的主要脂肪酸.....	
..... 109	
附錄六、組成橄欖油的主要脂肪酸.....	109
附錄七、組成紅花籽油的主要脂肪酸.....	
..... 109	
附錄八、組成三油酸甘油酯的主要脂肪酸.....	110
附錄九、多醣體濃度檢量線.....	
..... 110	
附錄十、多醣分子量分佈檢量線.....	111
..... 111	
十一、論文口試實錄.....	112
..... 112	
..... 113	

參考文獻

- 參考文獻 1.水野卓、川合正允（賴慶亮譯）。1997。菇類的化學、生化學，國立編譯館。台北。台灣。 2.王世遠、趙國強。1994。天然營養保健品—栗子蘑。中國食用菌13 (4):36。 3.王伯徵。2001。保健用菇的生理活性物質。農業世界雜誌210: 56-59。 4.王懿丞。2003。食藥用真菌 - 蓮花菌菌絲體及多醣體發酵產程之研究。大葉大學食品工程所碩士論文。彰化。 5.宋細福、許玲卿。1996。舞菇之開發與研究（一）。台灣省農業試驗所技術服務25:14-17。 6.呂欣怡。2002。舞菇多醣體成分之分析研究。南台科技大學化學工程系碩士論文。台南。 7.杜雙田 編著。2002。蛹蟲草灰樹花天麻高栽培新技術。中國農業出版社:81-96。 8.李幸嫻、陳勁初。1999。食藥用菇類:舞茸。鄉間小路25 (4):32-33。 9.林永浩。2005。食藥用菇類液態發酵培養菌絲形態之探討。食品工業37 (5):35-50。 10.周柏甫。2001。探討菌體型態對於裂褶菌多醣體生產之影響。22-27。中央大學化學工程系碩士論文。桃園。 11.周碧溫。2003。以餌料批次發酵進行舞菇之探討。50-56。大葉大學食品工程所碩士論文。彰化。 12.吳聲華。2004。台灣大型真菌資源的多樣性與研究展望。食品工業36 (5):4-15。 13.胡琦桂。1994。真菌球狀菌絲體生長之探討。食品工業26 (9):37-45。 14.孫希雯、朱明光。1999。灰樹花深層發酵培養基的優化及一種胞外多醣快速測定方法的建立。天津輕工業學院學報3:24-28。 15.郭美娟。1999。菌類之王—舞菇。Nature. Nov-Dec (24):75-76。 16.陳國朱、陳玉先。1995。灰樹花馴化栽培與研究。中國食用菌14 (4):24。 17.張甫安 編著。1992。食用菌製種指南。34-38。上海科技出版社。上海。 18.張雅雯。2002。化學合成與天然浸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糖之影響。46-69。大葉大學食品工程研究所碩士論文。彰化。19.莊晟榜。2001。Tween 系列界面活性劑對微生物降解碳氫化合物之影響。41-42。中原大學化學工程研究所碩士論文。桃園。20.黃仕政、陳勁初。2000。發酵生物技術在菇類食品的應用。中華食品工業40:62-66。21.黃惠君。2004。食藥用菇的營養與藥用價值。食品工業36 (5) :25-32。22.曾美華。2004。不同培養條件對舞菇多醣生產之探討。53-61。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。23.蔡銘璣。2004。以液態及固態發酵進行蛹蟲草機能性成分之研究。第64頁。大葉大學生物產業科技學系碩士論文。彰化。24.賴進此。2003。菇類活性物質的分離及其應用。食品工業35 (5) :29-38。25.Arnesen, S., Eriksen, S. H., Olsen, J. and Jensen, B. 1998. Increased production of α -amylase from *Thermomyces lanuginosus* by the addition of Tween 80. Enzyme and Microbial Technology. 23:249-252. 26.Banchio, C. and Gramajo, H. C. 1997. Medium- and long-chain fatty acid uptake and utilization by *Streptomyces coelicolor* A3(2):first characterization of a Gram-positive bacterial system. Microbiology.143:2439-2447. 27.Brown, M. R. W., and Richards, R. M. E. 1964. Effect of polysorbate(Tween 80) on the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to chemical inactivation. J. Pharmacol. 16:51-55. 28.Butler, M. and Huzel, N. 1995. The effect of fatty acid on hybridoma cell growth and antibody productivity in serum-free cultures. Journal of Biotechnology. 39:165-173. 29.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 (Aphyllophoromycetidae). Inter. J. Med. Mush.2:221-228. 30.Dalmau, E., Montesinos, J. L., Lotti, M. and Casas, C. 2000. Effect of different carbon sources on lipase production by *Candida rugosa*. Enzyme and Microbial Technology. 26:657-663. 31.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 (7):769-774. 32.Fang, Q. H., Tang, Y. J. and Zhong, J. J. 2002. Significance of inoculation density control in production of polysaccharide and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum*. Process Biochemistry.37:1375-1379. 33.Fukushima, Y., Itoh, H., Fukase, T. and Motai, H. 1991. Stimulation of protease production by *Aspergillus oryzae* with oils in continuous culture. Applied Biochemistry and Biotechnology. 34:586-590. 34.Hajjaj, H., Blane, P. J., Groussac, E., Goma, G., Uribelarrea, J. L. and Loubiere, P. 1999. Improvement of red pigment/citrinin production ration as a function of environmental conditions by *Monascus* rubber. Biotechnol Bioeng. 64:497-501. 35.Hobbs, C. 1996. Medicinal Mushrooms: An Exploration of Tradition, Healing & Culture. Botanica Press, Santa Cruz, CA. 36.Hsieh, C., Tsai, M. J., Hsu, T. H., Chang, D. M. and Lo, C. T. 2005. Medium Optimization for Polysaccharide Production of *Cordyceps sinensis*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 120(2):145-158. 37.Hsieh, C., Hsu, T. H., and Yang, F. C. 2005. Production of polysaccharides of *Ganoderma lucidum* (CCRC36021) by reusing thin stillage. Process Biochemistry.40:909-916. 38.Jong, S. C., Birmingham, J. M. and Pai, S. H. 1991. Immunomodulatory substances of fungal origin EOS-J. Immunol. Immunopharmacol. 11:115-122. 39. Jong, S. C. and Birmingham, J. M. 1990. The medicinal value of the mushroom *Grifola* . World J Microbiol Biotechnol. 6:101-127. 40.Kazuo, S. and Shigetoshi, S. 1999. Small-Scale Solid-State Fermentations. Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2:61-63. 41.Kurashing, S., Akuzawa, Y. and Eudo, F. 1997. Effect of *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa* and *Pleurotus ostreatus* administration on cancer outbreak and activities of macrophages and Lymphocytes in mice treated with a carcinogen. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 19:175-185. 42.Lai T., L. S., Tsai, T. H., Wang, T. C. and Cheng, T. Y. 2005. The influence of culturing environments on lovastatin production by *Aspergillus terreus* in submerged cultures. Enzyme and Microbial Technology. 36:737-748. 43.Lee, B. C., Bae, J. T., Pyo, H. B., Choe, T. B., Kim, S. W., Hwang, H. J. and Yun, J. W. 2003. Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. Enzyme and Microbial Technology. 32:574-581. 44.Lee, B. C., Bae, J. T., Pyo, H. B., Choe, T. B., Kim, S. W., Hwang, H. J. and Yun, J. W. 2004. Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. Enzyme and Microbial Technology. 35:369-376. 45.Lee, J. H., Cho, S. M., Ko, K. S. and Yoo, I. D. 1995. Effect of cultural conditions on polysaccharide production and its monosaccharide composition in *Phellinus linteus* L13202. Korean J Mycol. 23:325-331. 46.Lee, K. M., Lee, S. Y. and Lee, H. Y. 1999. Bistage control of pH for improving exopolysaccharide production from mycelia of *Ganoderma lucidum* in an air-lift fermentor. Journal of Bioscience and Bioengineering. 88(6):646-650. 47.Li, C. Y., Cheng, C. Y. and Chen, T. L. 2004. Fed-batch production of lipase by *Acinetobacter radioresistens* using Tween 80 as the carbon source. Biochemical Engineering Journal. 19:25-31. 48.Litchfield, J. H. 1967. Submerged culture of mushroom mycelium. In:Microbial Technology. 107-144. Reinhold, New York. 49.Mau, J. L., Lin, H. C., Ma, J. T. and Song, S. F. 2001. Non-volatile taste components of several speciality mushrooms. Food Chemistry. 73:461-466. 50.Medvedevan, G., Meissel, M., and Volkova, T. 1969. Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 35:27-28. 51.Miura, D., Tanaka, H. and Wariishi, H. 2004. Metabolomic differential display analysis of the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* grown under air and 100% oxygen. FEMS Microbiology Letters. 234:111-116. 52.Mizuno, T. and Zhuang, C. 1995. Maitake,*Grifola frondosa*: pharmacological effects. Fd. Rev. Internat. 11:135-149. 53.Mizuno, T., Ohsawa, K., Hagiwara, N. and Kuboyama, R. 1986. Fractionaction and characterization of antitumor polysaccharides from Maitake, *Grifola frondosa*. Agric. Biol. Chem. 50:1679-1688. 54.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(Tokyo).33:3395-3401. 55.Nascimento, A. E., Nascimento, A. E., Lima, M. A. B. and Campos-Takaki, G. M. 2000. A cytochemical study of acid carbohydrates on the surface of *Candida lipolytica* grown in tween80-containing medium. Brazilian Journal of Microbiology.31:30-36. 56.Natascha, S., Lucas, J. S. and Luuc, R. M. 2000. Exopolysaccharide production by the epipelic diatom *Cylindrotheca closterium*:effect of nutrient conditions. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.249:13-27. 57.Nunn, W. D., Simons, R. W., Egan, P. A. and Maloy, S. R. 1979. Kinetics of the utilization of medium and long-chain fatty acid degradation by a mutant of *Escherichia coli* defective in the fadL gene. J Biol Chem. 254:9130-9134. 58.Ohno, N., Iino, K., Takeyama, T., Suzuki, I., Sato, K., Oikawa, S., Miyazaki, T. and Yadomae, T. 1985. Structural Characterization and Antitumor Activity of the Extracts from Matted Mycelium of Cultured

Grifola frondosa. Chem. Pharm. Bull.33(8)3395-3401. 59.Park, J. P., Kim, S. W., Hwang, H. J., Cho, Y. J. and Yun, J. W. 2002. Stimulatory effect of plant oils and fatty acids on the exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. Enzyme and Microbial Technology. 31:250-255. 60. 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 agitation intensity on the exo-biopolymer production and mycelial morphology in *Cordyceps militaris*. Lett Appl. Microbial. 34(6):433-438. 61.Paunesen, E., A. Ciocla-Negoescu, and Piscu, G. 1964. The effect of Tween 80 and penicillin on the physiochemical properties of the cell wall in mycobacteria. Acad. Repub. Pop. Rom. Stud. Cercet. Biochem. 7:184-190. 62.Peacock, L., Ward, J., Ratledge, C., Dickinson, F. M. and Ison, A. 2003. How *Streptomyces lividans* uses oils and sugars as mixed substrates. Enzyme and Microbial Technology. 32:157-166. 63.Perez, C., Juarez, K., Garcia-Castells, E., Soberon, G. and Servin-Gonzalez, L. 1993. Cloning, characterization, and expression in *Streptomyces lividans* 66 of an extracellular lipase-encoding gene from *Streptomyces* sp. M11. Gene.123:109-114. 64.Proma Khondkar, Kofi E. Aidoo, Richard F. Tester. 2002. Sugar profile of extracellular polysaccharides from different *Tremella* species. International Journal of Food Microbiology.79:121-129. 65.Rau, U., Gura, E., Olszewski, E. and Wangner, F. 1992. Enhanced glucan formation of filamentous fungi by effective mixing. Ind Microbiol.9:12-26. 66.Reese, E. T. and A. Maguire. 1969. Surfactants as stimulants of enzyme production by microorganisms. Applied Biochemistry and Biotechnology. 17:242-245. 67.Ronald, W. W. and William, E. M. L. 1975. Effectiveness of various unsaturated fatty acids in supporting growth and respiration in *Saccharomyces cerevisiae*. The Journal of Biological Chemistry. 250(23):9121-9129. 68.Schisler, L. C. and Volkoff, O. 1977. The effect of safflower oil on mycelial growth of Boletaceae in submerged liquid cultures. Mycologia. 69:118-125. 69.Shu, C. H. and Lung, M. Y. 2004. Effect of pH on the production and molecular weight distribution of exopolysaccharide by *Antrodia camphorata* in batch cultures. Process Biochemistry. 39:931-937. 70.Sinha, J., Bae J. T., Park, J. P., Song, C. H. and Yun, J. W. 2001. Effect of substrate concentration on broth rheology and fungal morphology during exo-biopolymer production by *Paecilomyces japonica* in batch bioreactor. Enzyme and Microbial Technology. 29:392-399. 71.Stasinopoulos, S. J. and Seviour, R. J. 1990. Stimulation of exopolysaccharide production in the fungus *Acremonium persicinum* with fatty acid. Biotechnology and Bioengineering.36:778-782. 72.Takahashi, J., Abekawa G. and Yamada K. 1960. Effect of non-ionic surface active agents on mycelial form and amylase production of *A. niger*. Nippon Nogei Kagaku Kaishi 34:1043-1045. 73.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. 74.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. 75.Umesaki, Y., Kawai, Y. and Mutai, M. 1977. Effect of Tween 80 on glucosyltransferase production in *Streptococcus mutans*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 34:115-119. 76.Wang, Y. C. and Mcneil, B. 1995. pH effects on exopolysaccharide and oxalic acid production in cultures of *Sclerotium glucanicum*. Enzyme and Microbial Technology. 17:124 – 130. 77.Wasser, S. P. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl. Microbiol Biotechnol. 60:258-274. 78.Wasser, S. P. and Weis A. L. 1999. Medicinal properties of substances occurring in Higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives. Int J Med Mushroom. 1:31-62. 79.Weeks, G., Shapiro, M., Burns, R. O. and Wakil, S. J. 1969. Control of fatty acid metabolism. Journal of Bacteriology. 97(2):827-836. 80.Wei, G., Li, Y., Du, G. and Chen, J. 2003. Effect of surfactants on extracellular accumulation of glutathione by *Saccharomyces cerevisiae*. Process Biochemistry. 38:1133-1138. 81.William, R., and Kenealy, Diane M. Dietrich. 2004. Growth and fermentation responses of *Phanerochaete chrysosporium* to O₂ limitation. Enzyme and Microbial Technology. 34:490 – 498. 82.Yang, F. C. and Liau, C. B. 1998a. Effects of cultivating conditions on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* in submerged flask cultures. Bioprocess Engineering. 19:233-236. 83.Yang, F. C. and Liau, C. B. 1998b. The influence of environmental conditions on polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in submerged cultures. Process Biochemistry. 33(5):547-553. 84.Yang, F. C. and Hwang, S. Y. 1998c. Nutritional studies on submerged culture of *Ganoderma lucidum*. Tunghai J. 39:1-10. 85.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(3-5):295-301. 86.Yeh, D. H., Pannell, K. D. and Parlostathis, S. G. 1998. Toxicity and biodegradation screening of nonionic surfactants using sediment-derived methanogenic consortia. Wat. Sci. Tech. 38(7):55-62. 87.Young, C. S., Young, H. K., Hyun, S. L., Young, N. K. and Si, M. B. 1987. Production of Pullulan by a Fed-batch Fermentation. Biotechnology Letters. 9(9):621-624. 88.Zhong, J. J., Fang, Q. H. and Tang, Y. J. 2002. Enhanced production of valuable bioactive metabolites in submerged cultures of medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* by manipulation of oxygen supply. Journal of Plant Biotechnology. 4(3)109-115. 89.Zlotnik, H., Fernandez, M. P., Bowers, B. and Cabib, E. 1984. J. Bacteriol. 159: 1018-1026.