

培養基組成與醱酵條件對蛹蟲草生物活性指標成分之影響

李柏儀、徐泰浩

E-mail: 9806218@mail.dyu.edu.tw

摘要

蛹蟲草又稱為北冬蟲夏草、蛹草、鱗蛹蟲草、蠶蛹蟲草、北方蟲草或北蟲草，是蛹蟲草菌(*Cordyceps militaris* Link)寄生在鱗翅目(Lepidoptera)的昆蟲蛹體上形成的子座與菌核的複合體。具有許多生物活性，包括抗腫瘤、抗發炎、抗氧化、免疫調節、降血糖及降血脂等功效。本研究探討利用不同碳源培養基與培養溫度對蛹蟲草菌絲體生質量、胞外多醣體及生物活性指標性成分生成與含量變化之影響。利用搖瓶培養及五公升醱酵槽培養方式於不同碳源培養下，以蔗糖為碳源者可測得最高產量之菌絲體生質量(18.62 mg/mL、2.22 mg/mL)、胞外多醣體(1.30 mg/mL、1.26 mg/mL)及麥角固醇(8.32 μ g/mL、16.61 μ g/mL)，以葡萄糖為碳源者可測得最高產量之腺苷(14.55 μ g/mL、4.49 μ g/mL)及蟲草素(24.41 μ g/mL、21.84 μ g/mL)。利用搖瓶培養及五公升醱酵槽培養方式於 19、22 及 25 三種不同溫度培養蛹蟲草菌，其中以 22 為培養溫度之培養條件下，可測得最高產量之菌絲體生質量(17.56 mg/mL、2.13 mg/mL)、胞外多醣體(1.25 mg/mL、1.28 mg/mL)、腺苷(14.41 μ g/mL、4.48 μ g/mL)、蟲草素(24.59 μ g/mL、21.88 μ g/mL)及麥角固醇(7.51 μ g/mL、14.93 μ g/mL)。以蔗糖為碳源及 22 為培養溫度之培養條件下，較有利於菌絲體生質量及胞外多醣體產量之增加，而且醱酵液中還原糖含量幾乎完全消耗，由此可知，蛹蟲草菌對三種糖為碳源的利用以蔗糖為最佳。綜合生物活性指標性成分產量結果，顯示以葡萄糖為碳源及 22 為培養溫度之培養條件下，較有利於生物活性指標性成分產出。腺苷可作為蟲草素合成的前驅物，當培養基中的腺苷含量越高時，蛹蟲草菌代謝之蟲草素產量則越高，因此適當培養基碳源與培養溫度對蛹蟲草生物活性指標性成分扮演重要角色。

關鍵詞：蛹蟲草、醱酵、多醣體、腺苷、蟲草素、麥角固醇

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xv	
表目錄xix	
1.前言1	
2.文獻回顧3	
2.1生物學特性3	
2.2蛹蟲草成分4	
2.2.1一般化學成分4	
2.2.2水解胺基酸組成5	
2.2.3微量元素成分5	
2.2.4揮發性化學成分6	
2.2.5其他成分6	
2.3生物活性成分7	
2.3.1蟲草素7	
2.3.2腺苷9	
2.3.3多醣類9	
2.3.4其他機能性成分11	
2.3.4.1甘露糖醇11	
2.3.4.2麥角固醇13	
2.3.4.3超氧化歧化13	

- 2.4藥理作用15
 - 2.4.1抗腫瘤作用15
 - 2.4.2鎮靜、催眠作用15
 - 2.4.3抗氧化與清除自由基16
 - 2.4.4降血脂作用16
 - 2.4.5延緩衰老作用17
 - 2.4.6降血糖作用17
 - 2.4.7增加免疫活性18
 - 2.4.8抗菌作用18
 - 2.4.9抗炎作用18
 - 2.4.10保護肝臟功能19
 - 2.4.11保護心臟功能19
 - 2.4.12保護腎臟功能20
- 2.5液態發酵20
- 2.6蛹蟲草之浸液培養20
- 2.7液態發酵影響因素22
 - 2.7.1碳源種類及濃度22
 - 2.7.2氮源種類及濃度23
 - 2.7.3無機鹽類24
 - 2.7.4其他添加物24
 - 2.7.5溫度25
 - 2.7.6pH值25
 - 2.7.7攪拌強度26
 - 2.7.8通氣量27
 - 2.7.9二次代謝物27
- 3.材料與方法29
 - 3.1實驗藥品29
 - 3.2儀器設備30
 - 3.3實驗流程31
 - 3.4試驗菌株32
 - 3.5菌株保存32
 - 3.6種菌培養33
 - 3.7搖瓶培養試驗34
 - 3.7.1不同碳源培養基搖瓶培養試驗34
 - 3.7.2不同培養溫度搖瓶培養試驗35
 - 3.8搖瓶培養產程試驗35
 - 3.8.1不同碳源培養基搖瓶培養產程試驗35
 - 3.8.2不同培養溫度搖瓶培養產程試驗35
 - 3.9五公升基礎培養基發酵槽試驗36
 - 3.9.1碳源試驗36
 - 3.9.2培養溫度試驗36
 - 3.10分析方法37
 - 3.10.1菌絲體生質量37
 - 3.10.2pH值測定37
 - 3.10.3還原糖測定37
 - 3.10.3.1DNS試劑配方37
 - 3.10.3.2DNS試劑配製方法38
 - 3.10.3.3還原糖含量測定38
 - 3.10.4胞外多醣測定38
 - 3.10.4.1胞外多醣之萃取38
 - 3.10.4.2胞外多醣含量測定39
 - 3.11生物活性成分分析39
 - 3.11.1發酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量分析39

3.11.2腺?及蟲草素之標準溶液39

3.11.3麥角固醇之標準溶液40

3.11.4腺?及蟲草素HPLC操作條件40

3.11.5麥角固醇HPLC操作條件40

4.結果與討論41

4.1不同碳源培養基搖瓶培養試驗對蛹蟲草菌之影響41

4.1.1不同碳源培養基搖瓶培養試驗對蛹蟲草菌醱酵液最終pH值、菌絲體生質量及還原糖含量之影響41

4.1.2不同碳源培養基搖瓶培養試驗對蛹蟲草菌胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響43

4.2不同培養溫度搖瓶培養試驗對蛹蟲草菌之影響45

4.2.1不同培養溫度搖瓶培養試驗對蛹蟲草菌醱酵液最終pH值、菌絲體生質量及還原糖含量之影響45

4.2.2不同培養溫度搖瓶培養試驗對蛹蟲草菌胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響48

4.3不同碳源培養基搖瓶培養期間對蛹蟲草菌之影響51

4.3.1不同碳源培養基搖瓶培養期間對蛹蟲草菌醱酵液pH值、菌絲體生質量及還原糖含量之影響51

4.3.2不同碳源培養基搖瓶培養期間對蛹蟲草菌胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響55

4.4不同培養溫度搖瓶培養期間對蛹蟲草菌之影響58

4.4.1不同培養溫度搖瓶培養期間對蛹蟲草菌醱酵液pH值、菌絲體生質量及還原糖含量之影響58

4.4.2不同培養溫度搖瓶培養期間對蛹蟲草菌胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響65

4.5不同碳源培養基於5L醱酵槽培養期間對蛹蟲草菌之影響70

4.5.1不同碳源培養基於5L醱酵槽培養期間對蛹蟲草菌醱酵液pH值、菌絲體生質量及還原糖含量之影響70

4.5.2不同碳源培養基於5L醱酵槽培養期間對蛹蟲草菌胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響73

4.6不同培養溫度於5L醱酵槽培養期間對蛹蟲草菌之影響80

4.6.1不同培養溫度於5L醱酵槽培養期間對蛹蟲草菌醱酵液pH值、菌絲體生質量及還原糖含量之影響80

4.6.2不同培養溫度於5L醱酵槽培養期間對蛹蟲草菌胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響84

5.結論91

參考文獻93

圖2.1蟲草素結構式8

圖2.2腺?結構式10

圖2.3甘露糖醇結構式12

圖2.4麥角固醇結構式14

圖3.1實驗流程圖31

圖4.1蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同碳源搖瓶培養下，對菌絲體生質量、醱酵液最終pH值及還原糖含量之影響42

圖4.2蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同碳源搖瓶培養下，對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響44

圖4.3蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同溫度搖瓶培養下，對菌絲體生質量、醱酵液最終pH值及還原糖含量之影響47

圖4.4蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同溫度搖瓶培養下，對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響49

圖4.5蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以4%葡萄糖為碳源對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響52

圖4.6蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以4%蔗糖為碳源對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響53

圖4.7蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以4%麥芽糖為碳源對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響54

圖4.8蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以4%葡萄糖為碳源對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響56

圖4.9蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以4%蔗糖為碳源對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響57

圖4.10蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以4%麥芽糖為碳源對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響59

圖4.11蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以19 為培養溫度對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響62

圖4.12蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以22 為培養溫度對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響63

圖4.13蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以25 為培養溫度對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響64

圖4.14蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以19 為培養溫度對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響66

圖4.15蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以22 為培養溫度對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響67

圖4.16蛹蟲草菌(BCRC32219)於搖瓶培養期間以25 為培養溫度對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響68

圖4.17蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以4%葡萄糖為碳源對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響71

- 圖4.18蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以4%蔗糖為碳源對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響72
- 圖4.19蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以4%麥芽糖為碳源對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響74
- 圖4.20蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以4%葡萄糖為碳源對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響76
- 圖4.21蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以4%蔗糖為碳源對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響77
- 圖4.22蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以4%麥芽糖為碳源對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響78
- 圖4.23蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以19 為培養溫度對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響81
- 圖4.24蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以22 為培養溫度對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響82
- 圖4.25蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以25 為培養溫度對菌絲體生質量、醱酵液pH值及還原糖含量之影響83
- 圖4.26蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以19 為培養溫度對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響85
- 圖4.27蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以22 為培養溫度對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響86
- 圖4.28蛹蟲草菌(BCRC32219)於5L醱酵槽培養期間以25 為培養溫度對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響87
- 表3.1YMA培養基組成32
- 表3.2種菌培養基組成33
- 表3.3基礎培養基組成34
- 表4.1蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同碳源搖瓶培養下，對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響46
- 表4.2蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同溫度搖瓶培養下，對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響50
- 表4.3蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同碳源搖瓶培養期間對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響60
- 表4.4蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同溫度搖瓶培養期間對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響69
- 表4.5蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同碳源5L醱酵槽培養期間對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響79
- 表4.6蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同溫度5L醱酵槽培養期間對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響88
- 表4.7蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同碳源搖瓶培養與5L醱酵槽培養期間對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響89
- 表4.8蛹蟲草菌(BCRC32219)於不同溫度搖瓶培養與5L醱酵槽培養期間對胞外多醣、醱酵液中腺?、蟲草素及麥角固醇含量之影響90

參考文獻

- 1.王琦、韓曉龍。2002。蛹蟲草對老年大鼠自由基代謝影響的研究。遼寧師專學報4(4):104-106。
- 2.王玉華、葉加、李長齡。2004。冬蟲夏草提取物延緩衰老實驗研究。中國中藥雜誌29(8):773-776。
- 3.王建芳、楊春清。2005。蛹蟲草有效成分及藥理作用研究進展。中藥研究進展5(22):30-32。
- 4.江曉路、葛蓓蕾、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。
- 5.李楠、龔長虹、張宏。2001。北冬蟲夏草人工栽培技術研究。食用菌4:34-356。
- 6.李祝、劉愛英、梁宗琦。2002。蟲草菌素的生物活性及檢測方法。食用菌學報9(1):57-62。
- 7.李翠新、張國慶、何永珍、王賀祥。2007。野生蛹蟲草的分離與高產菌株的篩選。中國食用菌26(2):20-21。
- 8.何志煌。1998。植物二次代謝物的生產。生物技術的應用第151-163頁。九州圖書。台北，台灣。
- 9.沈曉云、李兆蘭、田軍。1998。冬蟲夏草與蟲草菌絲有效成分比較。山西大學學報(自然科學版)21(1):80-85。
- 10.沈齊英、陳順志。2001。北蟲草對正己烷所致大鼠損傷的保護作用。中藥材 24(2):112-116。
- 11.吳畏、高新華、崔星明、錢國深、陳偉。2000。北冬蟲夏草(*Cordyceps militaris*)的研究應用近況。上海農業報16:99-104。
- 12.周良楣、楊倚竹、續月名、朱慶義、馬紫亮、朱延瑞、葛孝炎。1990。冬蟲夏草菌絲體治療慢性乙型肝炎的近期療效觀察。中國中藥雜誌15(1):53-55。
- 13.林桂英。1999。不同冬蟲夏草菌株醱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。彰化，台灣。
- 14.林家如。2002。浸液醱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。大葉大學食品工程研究所碩士論文。彰化，台灣。
- 15.林群英、宋斌、李泰輝。2006。蛹蟲草研究進展。微生物學通報33(4):154-157。
- 16.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)第99-102頁。中國農業科技出版社。北京，中國。
- 17.孫雲灌。1985。冬蟲夏草及人工蟲草菌絲體研究概況。中藥通報10(12):3-5。
- 18.貢成良、吳衛東、徐承智、楊昆、陳國剛。2002。家蠶蛹蟲草的化學成分分析。蠶業科學28(2):168-172。
- 19.柴建萍、白興榮、謝道燕。2003。蛹蟲草主要有效成分及其藥理功效。雲南農業科技4:22-23。
- 20.馬冰如、何玲、張甲生。1994。蠶蛹蟲草與冬蟲夏草化學成分的比較。中國食用菌13(1):34-37。
- 21.桂仲爭、朱雅紅。2008。蛹蟲草的人工培育、有效成分及藥理作用研究進展。蠶業科學34(1):178-184。
- 22.袁建國、程顯好、侯永勤。1999。功能因數冬蟲夏草多醣的研究開發。中國食品添加劑(2):18-22。
- 23.張甲生、王寶珍、王曉光、丁長江、李平亞、孫平、夏愛華。1994。蠶蛹蟲草和冬蟲夏草中游離胺基酸的比較分析。白恩求醫科大學學報20(1):24-25

。24.張顯科、劉文霞。1997。蛹蟲草化學成份測定。菌物系統16(1):78-80。25.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。26.張平、朱述鈞、錢大順。2003。北冬蟲夏草功能成分及保健作用分析。江蘇農業科學(6):105-107。27.都興范、李應杰、王林華、石理鑫、徐宏、張俊濤、王曉燕、王鶴。2003。北冬蟲夏草的研究發展現狀。遼寧農業科學4:26-28。28.陳道明。1985。冬蟲夏草及人工培養菌絲體對小鼠內臟單核巨噬細胞系統免疫功能影響的研究。中西醫結合雜誌。5:42。29.陳敬民、李友娣、療驅、洪庚辛。1997。蛹蟲草的鎮靜催眠作用。中藥藥理與臨床13(6):44-45。30.陳桂寶、羅梅初、劉寶晶。1997。蛹蟲草的藥理作用研究。中草藥28(7):415-417。31.陳長安。1998。常用藥物治療手冊。第534、592及706頁。全國藥品年鑑雜誌社。台北，台灣。32.陳晉安、黃浩、鄭忠輝、黃耀堅、蘇文金。2001。蛹蟲草液體發酵條件的研究。集美大學學報3(6):219-223。33.陳佳玲。2006。培養環境對蛹蟲草菌絲球形態及生物活性成份生產之相關性影響。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。34.莊曉莉、李祥麟、黃檀溪。2003。蠶蛹蟲草具有顯著之抗氧化性與自由基清除能力。師大學報:數理科技類48(1,2):13-24。35.彭國平、李紅陽、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。36.萬濤、杜連祥。2007。培養條件對蛹蟲草液體培養生產蟲草素的影響。現代食品科技9(23):29-31。37.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。山西中藥10(4):36-38。38.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。彰化，台灣。39.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?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，中國。40.劉靜明、鍾裕容、楊智、崔淑蓮、王伏華。1989。蛹蟲草之化學成分研究。中國中藥雜誌14(10) :32-33。41.劉民培。1999。人工蛹蟲草子實體對荷瘤小鼠免疫功能的影響。中國醫藥學報14(1)25-27。42.劉新裕、林義恭、賴瑞聲、王昭月。2000。冬蟲夏草之開發與利用。農業世界雜誌203:91-93。43.劉慈欣。2004。液態培養環境對北冬蟲夏草(Cordyceps militaris)菌絲體生長及其機能性成分之影響。東海大學食品科學研究所碩士論文。台中，台灣。44.廖春麗、方改霞、王蓮哲、王國貞、萬亞濤。2008。蛹蟲草主要有效成分分析。安徽農業科學36(12):5050-5052。45.趙鵬、楊俊峰、李彬、劉榮珍、何為濤、李鳳文、王彥武、何勵。2004。蛹蟲草菌絲體降血脂作用的動物試驗研究。中國食品衛生雜誌16(5):434-436。46.竇文、宋麗豔、于榮敏、李博。2003。人工培養蛹蟲草多糖的抗炎及免疫作用研究。時珍國醫國藥14(1):1-2。47.鄭建仙。1995。功能食品。第79頁。中國輕工業出版社。北京，中國。48.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。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。49.謝雅惠。2008。培養基碳源對蛹蟲草菌(Cordyceps militaris)醱酵產程中生物活性成分及菌絲球形態特性之影響。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。50.蘇濤、李玉花、韓梅。2008。北蟲草高產菌株在改良人工培養基生長的研究。中國食用27(2):23-24。51.Ahn, Y. J., Park, S. J., Lee, S. G., Shin, S. C. and Choi, D. H. 2000. Cordycepin: Selective growth inhibitor derived from liquid culture of Cordyceps militaris against Clostridium spp. J. Agric. Food. Chem. 48:2744-2748.52.Braun, S. and Vecht-Lifshitz, S. E. 1991. Mycelial morphology and metabolite production. Trends Biotechnol. 9:63-68.53.Birmingham S., Maltby L., and Cooke R.C. 1995. A critical assessment of the validity of ergosterol as an indicator of fungal biomass. Mycol Res. 99(4):479-484.54.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. 166:949.55.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 Chem. 74:203-207.56.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):18-22.57.Domingues, F. C., Queriroz, J. A., Cabral, J. M. S. and Fonseca, L. P. 2000. The influence of culture conditions on mycelial structure and cellulose production by Trichoderma reesei Rut C-30. Enzyme Microb. Technol. 26:394-401.58.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. 37:769-774.59.Hajjaj, H., Blane, P. J., Groussac, E., Goma, G., Uribealarea, J. L and Loubiere, P. 1999. Improvement of red pigment / citrinin production ratio as a function of environmental conditions by Monascus rubber. Biotechnol. Bioeng. 64:497-501.60.Haq, I. U., Ali, S., Qadeer, M. A. and Iqbal, J. 2002. Effect of copper ions on mould morphology and citric acid productivity by Aspergillus niger using molasses media. Process Biochem. 37:1085-1090.61.Kiho, T., Hui, J. I., Yamane, A. and Ukai, S. 1993. polysaccharide in fungi. X X X X II. Hypoglycemic activity and chemical properties of a Polysaccharide from the cultural mycelium of Cordyceps sinensis. Biological and Pharmaceutical Bulletin 16:1291-1293.62.Kitakaze, M. and Hori, M. 2000. Adenosine therapy: A new approach to chronic heart failure. Expert Opinion on Investigational Drugs. 9(11) :2519-2535.63.Kodama, E. N., Mcaffrey, R. P., Yusa, K. and Mitsuya, H. 2000. Antileukemic activity and mechanism of action of cordycepin against terminal deoxynucleotidyl transferase positive (TdT+) Leukemic cell. Biochem. Pharmacol. 59:273-281.64.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):407-411.65.Kim, K. M., Kwon, Y. G., Kim, T. W and Kim, Y. M. 2003. Methanol extract of Cordyceps pruinosa inhibits in vitro and in vivo inflammatory mediators by suppressing NF-KB activation. Toxicology and Applied Pharmacology. 190:1-8.66.Kim, S. W., Xu, C. P., Hwang, H. J., Choi, J. W. and Yun, J. W. 2003a. Production and characterization of exopolysaccharides from an entomopathogenic fungus Cordyceps militaris NG3. Biotechnol. Prog. 19:428-435.67.Kim, S. W., Hwang, H. J., Xu, C. P., Sung, J. M., Choi, J. W. and Yun, J. W. 2003b. Optimization of submerged culture process for the production of mycelial biomass and exo-polysaccharides by Cordyceps militaris C738. Appl Microbiol. 94:120-126.68.Kim, H. O. and Yun, J. W. 2005. A comparative study on the production of exopolysaccharides between two entomopathogenic fungi Cordyceps militaris and Cordyceps sinensis in submerged mycelial culture. J. Appl. Microbiol. 99:728-738.69.Kim, H. G., Shresth, A. B. and Lim S. Y. 2006 Cordycepin inhibits lipopolysaccharide induced inflammation by the suppression of NF2kappa B through Akt and p38 inhibition in RAW 264. 7 macro2 phage cells. Eur J Pharmacol. 545 (2-3):192-199.70.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):111-113.71.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) : 371-374.72.Li, S. P., Yang, F.Q. and Tsim, Karl W. K. 2006. Quality control of *Cordyceps sinensis*, a valued traditional Chinese medicine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41:1571-1584.73.Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.74.Marks, D. B. and Keller, B. J. 1971. Growth of unicellular forms of the fungus *Cordyceps militaris* and analysis of the chemical composition of their wall. *J. Gen. Microbiol.* 69:235-239.75.Metz, B. and Kossen, N. W. F. 1977. The growth of molds in the form of pellets-a literature review. *Biotechnol. Bioeng.* 19:781-799.76.Mao, X. B. and Zhong, J. J. 2004. Hyperproduction of cordycepin by two-stage dissolved oxygen control in submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris* in bioreactor. *Biotechnol. Prog.* 20(5):1408-1413.77.Mao, X. B., Eksriwong, T., Chauvatcharin, S. and Zhong, J. J. 2005. Optimization of carbon source and carbon / nitrogen ratio for cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Process Biochem.* 40:1667-1672.78.Mao, X. B. and Zhong, J. J. 2006. Significant effect of NH₄⁺ on cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Enzyme Microbial Technol.* 38:343-350.79.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*. *Lett. Appl. Microbiol.* 33:76-81.80.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. Microbiol.* 34 (6):433-438.81.Park, J. P., Kim, S. W., Hwang, H. J., Cho, Y. J. and Yun, J.W. 2002a. Stimulatory effect of plant oils and fatty acid on the exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Enzym. Microb. Technol.* 31:250-255.82.Park, J. P., Kim, Y. M., Kim, S. W., Hwang, H. J., Cho, Y. J. and Lee, Y. J. Morphology and exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Process. Biochem.* 37:1257-1262.83.Papagianni, M. 2004. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnol. Adv.* 22:189-259.84.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 cell by aqueous extract of *Cordyceps militaris* through induction of apoptosis. *Oncol. Rep.* 13:1211-1216.85.Ribeiro, J. A. 1995. Purinergic inhibition of neurotransmitter release in the central nervous system. *Pharmacology and Toxicology.* 77(5):299-305.86.Seitz LM. and Paukstelis JV. 1977. Metabolites of *alternata*: ergosterol and ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one. *J Agric Food Chem* 25(4):838-841.87.Stasinopoulos, S. J. and Seviour, R. J. 1990. Stimulation of exopolysaccharide production in the fungus *Acremonium persicinum* with fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering.* 36:778-782.88.Stasinopoulos, S. I. and Seviour, R. J. 1992. Exopolysaccharide production by *Acremonium* in stirred-tank and airlift fermentors. *Applied and Microbiol Biotechnology.* 36:465-468.89.Sugar, A. M. and McCaffrey, R. P. 1998. Antifungal activity of 3'-deoxyadenosine (Cordycepin). *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:1424-1427.90.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. *Cell Biochem and Function.* 18(2):93-97.91.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.* 5:1-8.92.Yang, Q. Y. and Jong, S. C. 1989. Medicinal mushroom in China. *Mushroom Sci.* 12:631-643.93.Yoshikawa, N., Nakamura, K., Yamaguchi, Y., Kagota, S., Shinozuka, K. and Kunitomo, M. 2004. Antitumour activity of Cordycepin in mice. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 31:51-53.94.Yoo, H. S., Shin, J W., Cho, J. H., Son, C. G., Lee, T. W., Park, S. Y. and Cho, C. K. 2004. Effects of *Cordyceps militaris* extract on angiogenesis and tumor growth. *Acta pharmacol Sin.* 25(5):657-665.95.Yuan, J. P., Wang, J. H., Liu, X., Kuang, H. C. and Zhao, S. Y. 2007. Simultaneous determination of free ergosterol and ergosteryl esters in *Cordyceps sinensis* by HPLC. *Food Chemistry.* 105:1755-1759.96.Zhu, J. S., Halpern, G. M. and Jones, K. 1998. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herb medicine: *Cordyceps sinensis*: Part I. *J Altern Complement Med.* 4:289-303.97.Zhou, Y., Du, J. and Tsao, G. T. 2000. Mycelial pellet formation by *Rhizopus oryzae* ATCC 20344. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 84-86:779-789.98.Znidarsic, P., Komel, R. and Pavko, A. 2000. Influence of some environmental factors on *Rhizopus nigricans* submerged growth in the form of pellets. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16:589-593.