

藥用菇類液體培養基本 原理與提高活性成分生 成之培養策略

撰文/楊芳鏘

前言

幾千年來，因為獨特美妙的味道，蘑菇被認為是世界的美食。除了食用，人類也發現許多種類蘑菇是擁有神奇功效的生物物種。它們在東方醫學上有悠久的使用歷史，而促進健康和活力的傳奇效果也得到當代科學研究的證實。在過去三十年中，關於藥用菇類 (medicinal mushrooms, MMs) 成分分析、生理功能與培養技術開發的期刊論文數量眾多，儼然成為一個新興的研究領域。藥用菇類也成為熱門的保健食品，許多進行中的臨床實驗研究，更期望從菇類提取物中發現新一代藥物。

依據生物學家估計，地球上菇類數量在 150,000 至 160,000 之間；大約只有 10% 是生物學已知命名的物種。具有生理活性功能的藥用菇類超過 400 種，其中已經人工馴化栽培的僅有 50 多種，而成功大規模商業化生產的更不到 30 種。從生物分類學來看，藥用菇類歸屬於高等真菌，而且絕大多數屬於擔子菌綱，只有少數是子囊菌綱。國內外主要的藥用菇類包括：香菇 (*Lentinula edodes*)、靈芝 (*Ganoderma lucidum*)、松杉靈芝 (*Ganoderma tsugae*)、冬蟲夏草 (*Cordyceps sinensis*)、蛹蟲草 (*Cordyceps militaris*)、蟬花 (*Cordyceps sobolifera*)、茯苓 (*Poria cocos*)、豬苓 (*Grifola umbellata*)、巴西

蘑菇 (*Agaricus blazei*)、雲芝 (*Coriolus versicolor*)、裂褶菌 (*Schizophyllum commune*)、樟芝 (*Antrodia cinnamomea*)、香杉芝 (*Antrodia salmonea*)、舞菇 (*Grifola frondosa*)、猴頭菇 (*Hericium erinaceus*)、桑黃 (*Phenillus ignarius*)、白樺茸 (*Inonotus obliquus*) 和竹蓀 (*Dictyophora indusiata*) 等。藥用菇類與藥用植物有些相似，它們以萃取物或粉末的形式，用於疾病的預防、減輕或治療，或提供平衡健康的飲食。根據「草藥」(herbal drugs) 的定義，國際上將藥用菇子實體、菌絲體、孢子及其萃取物認定為「蘑菇藥物」(mushroom pharmaceuticals) 或「真菌藥物」(fungal drugs)。

藥用菇類活性成分與生理功能

近年來藥用菇類無論是子實體或是菌絲體，已證實含有許多具有生理功能的成分。這些生物活性代謝產物 (biologically active metabolites, BAM) 可以區分為一次代謝產物 (primary metabolite) 與二次代謝產物 (secondary metabolite)，它們具有不同化學官能基。除了為人熟知的多醣體、蛋白質或兩者的複合物以外，還有低分子量的代謝產物，包含酚類化合物 (phenolic compounds)、聚酮化合物 (polyketides)、萜類化合物 (terpenoids)、固醇類

(steroids)、核苷酸 (nucleotides)、凝集素 (lectins)、內酯 (lactones)、生物鹼 (alkaloid) 和抗生素等。這些低分子量代謝產物，具有穿透細胞膜能力，能夠調節細胞內代謝途徑並產生重要的免疫功能，在癌症治療中發揮重要的作用。有些藥用菇類同時含有不同種類的氧化酵素如漆酶 (laccase)、葡萄糖氧化酶、超氧歧化酶、過氧化酶等，這些酵素對防止氧化損傷 (oxidative-stress) 和抑制癌細胞生長也有功效。

藥用菇類最為人熟知的生理功能是多醣體免疫調節與抗癌作用，在 70-80 年代，日本陸續有三種菇類多醣（雲芝素、香菇多醣和裂褶菌多醣）被開發成藥品上市。根據已發表科學期刊歸納整理，藥用菇類生理活性功能包括：抗腫瘤、抗氧化、免疫調節、抗發炎、自由基清除、保護心血管、保肝、降血脂、降血糖、降血壓、降膽固醇、抗血栓和抗病毒等作用。這些功能分別發現於不同種類藥用菇的子實體或菌絲體萃取物中。此外，還有抗菌、抗寄生蟲和抗真菌功能的相關報告。在預防和疾病治療方面，尤其針對免疫缺陷和免疫抑制患者；具有改善癌症化療或放療後副作用，B、C 和 D 型病毒感染肝炎、不同類型的貧血、愛滋病毒、單純疱疹病毒 (HSV)、慢性疲勞症候群 (CFS)、慢性胃炎和幽門螺旋桿菌引起胃潰瘍以及近年來極受矚目的神經退化性疾病如失智症等。

藥用菇類主要產品與生產現況

目前，藥用菇銷售產品的主要用途歸納為：

1. 直接食用 (2012年世界蘑菇產量為3,000萬噸)；
2. 膳食補充劑 (dietary supplement) 或機能性食品 (每年價值超過180億美元)；
3. 新類型的藥物；
4. 用於植物保護具有抗蟲、抗真菌、抗細菌、抗線蟲和抗病毒的天然生物製劑；
5. 藥用化妝品 (cosmeceuticals)。

這些產品中，80% 到 85% 是來自於人工栽培或野外採集的子實體，只有 15% 是由菌絲體或菌

絲體萃取物得到。其中子實體栽培主要以固態發酵 (solid-state fermentation, SSF) 進行，而菌絲體生產則多採用液體深層培養 (submerged culture) 方式。

固態發酵使用固態物質當作培養基質，常用五穀雜糧之類的農產品為原料，控制微生物在水分含量適當的固體生長。固態發酵在亞洲國家傳統發酵食品的製造上扮演了重要的角色，它也能將植物原料或農產廢棄物經過發酵作用轉化為高價值產品。這些食品加工廢棄物因為富含纖維質碳水化合物和其它營養成分，非常適合作為高等真菌培養基質。固態發酵與液態深層培養相比有下列優點：較低的能量消耗（能量效率相對較高）、發酵基質水分含量低而產物濃度高、生物反應器小而體積產率高。

然而，固態培養的主要困難點來自天然基質不均勻性，菌絲生長、養分、溫度、水含量分佈不規則，造成反應器內細胞生理、物理、化學環境隨空間位置改變。這種複雜現象，使得培養過程重要環境因子的控制非常困難。固態發酵大規模生產的主要障礙與大型生物反應器的設計和操作有關，這是由於涉及 pH、溫度、通氣和氧氣傳送、水分含量與攪拌等參數控制的問題。想要解決上述難題，有效建立輸送現象基本理論，結合生化反應器設計與通氣、攪拌與溫度控制等技術是重要關鍵。雖然，目前市場上的食藥用菇子實體主要來自固態發酵，但是固態發酵是一個非常費時與耗人力的製程。它們通常需要幾個月時間來完成，在發酵過程中產品品質控制也不易。因此，利用液體培養食用或藥用菇，高效率生產菌絲體或有價值的代謝產物，已被認為具有高度商業潛力，相關技術的研究開發也引起許多國家的興趣與關注。

藥用菇類液體培養技術

液體深層培養技術及現代發酵工業起源於 1945 年青黴素的大量生產，生化工程也因此應運而生，其中關鍵技術包括：種菌培養、培養基製備與殺菌、空氣過濾、通氣與攪拌、生物反應器設計與操作及規模放大等。液體培養通常需要能量進行攪拌和

供應氧氣。然而，攪拌也帶來發酵液均勻混合的效益，並且可以透過線上感測器進行培養過程的監測與控制。生產程序經由篩選最佳菌種，結合適當的培養基組成與環境因子控制，進行菌體生長與目標產物生成。其中培養基組成主要考量包括：碳源種類與濃度、氮源種類與濃度、無機鹽類、生長因子及維生素。環境因子有：溫度、pH 值、攪拌與通氣等。液體培養允許最佳化及標準化條件下操作，生產具有高價值的菌絲體和生理活性成份。雖然培養後的分離程序，需要去除大量水分。但是與固態發酵相比，產物的分離純化相對容易進行。

由於食藥用菇類屬於絲狀真菌，它們在發酵液中可能呈現兩種形態變化：菌絲球 (pellet) 與菌絲狀 (mycelium)。不同的生長形態，對發酵液的流變性以及生物反應器的操作性能與質傳現象產生重大的影響。當菌絲呈絲狀形態生長時，發酵液在中低菌體濃度下，即會表現出高的表觀粘度 (apparent viscosity) 和非牛頓流變 (non-Newtonian rheology) 性質。這些效應可能引發不良的質傳，而造成產率下降。而當菌絲生長以球狀菌體懸浮時，發酵液多屬於低黏性，而且只在高菌絲球濃度下才會表現出非牛頓流體性質。菌絲球的形態呈多樣性，從鬆散不規則到緊密紮實的圓球都有。

液體培養過程中菌絲形態除了與菌種特性有關外，主要的影響因素是培養條件、環境因子及反應器選擇與設計。例如以氣泡式反應器進行時，菌體大多以菌絲球形態出現，若採用攪拌式反應器，較大剪切力使得菌體可能以絲狀形態出現。絲狀微生物外觀形態，直接影響發酵液的黏度與質傳效果，也間接影響到產物的生成。一般認為菌絲球形成影響因子主要包括：

(一) 接菌濃度

接菌量一般被認為是菌絲球形成的最大影響因素。在低濃度的接菌量較容易生成菌絲球而高濃度的接菌量則會形成絲狀菌絲，而且接菌量也會影響菌絲球形態。

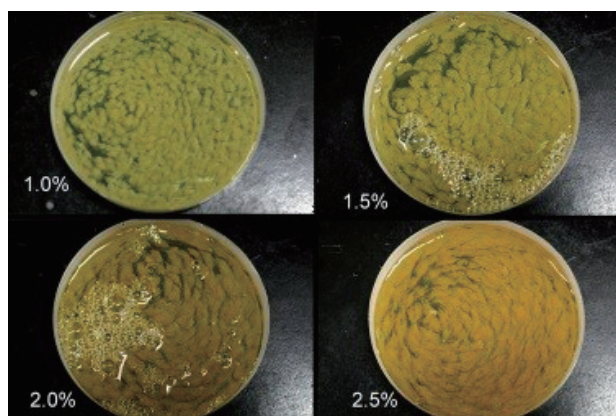
(二) 攪拌強度

攪拌強度的影響就是攪拌葉片所產生的剪應力影響，對於高黏度的發酵環境，提高攪拌速率能提高溶氧量，有助於菌體生長及多醣生成，相對地也增加可能傷害菌絲的剪切力。針對不同的菌體生長與產物生成，必須選擇適當的攪拌轉速或葉片設計，以達到最高的生產效率。

(三) 培養基成分

培養基成分被認為是決定菌絲球結構的重要因子，曾有學者以不同種類氮源和濃度進行絲狀真菌培養，發現以黃豆粉、棉仔粉及魚粉當氮源時呈現絲狀，而使用酵母萃出物、玉米浸出液和穀蛋白粉則形成菌絲球，此現象可能與培養基的碳氮比有關。本研究室開發靈芝深層培養多醣生產技術時，也發現不同酵母萃出物濃度對靈芝菌絲生長形態有相當程度的影響 (圖一)。

綜上所述，絲狀真菌特殊的菌體生長形態，增加了深層培養技術上的困難度。欲求更廣泛的開發利用絲狀真菌生物資源，必須對菌絲形態生成機制有深入的了解，並結合環境因子與培養條件的調整，以及發酵槽的設計與操作，讓培養過程中菌絲



資料來源：(本研究室提供)。

圖一 不同酵母萃出物濃度對靈芝液態培養菌絲體生長形態的影響

體的生長、菌絲體形態與代謝產物的生成之間的關連，能夠完整而有效的掌握。正確選擇培養基組成和培養參數對最佳菌絲生長或代謝產物生成，以及藥用菇菌絲體大規模培養技術開發非常重要。目前，利用三角搖瓶和實驗室小型發酵槽進行批式培養是常用的技術。小型發酵槽使用的優點是環境條件容易控制，例如溫度、攪拌、溶氧濃度和發酵液 pH。然而，絲狀菌絲體的生長延伸對質傳，代謝速率和產物分泌產生影響。菌絲可能包覆攪拌軸或葉片而導致堵塞，並擴散到取樣和營養物進料管線中。菌絲的生長增加發酵液粘度，導致質量和氧氣傳送限制。增加攪拌速率雖然可以改善質傳限制問題，卻也可能因為高剪切力造成菌絲體顆粒或絲狀菌體的傷害，所以藥用菇菌絲體液體培養中最關鍵的問題是如何控制氧氣供給與傳送、攪拌與剪切力和規模放大。

提高生理活性成分生成之培養策略

如前所言，固態發酵通常需要幾個月時間完成子實體生長，相較之下，由於液體培養在較佳的營養成分與環境條件控制下進行，菌絲體生長快速，因此在數周內即可完成一個批次的培養操作。然而，液體培養由於缺少了菌絲體化為子實體生理變化過程，所得到菌絲體活性成分與子實體明顯的不同。因此，兩者具有的生理功能當然也有差異。例如：液體培養的靈芝菌絲體產物比起子實體萃取物，多糖濃度較高，但是靈芝酸含量偏低。樟芝也有類似的情況，液體培養菌絲體中二次代謝產物的三類種類與濃度明顯較少。如何藉由培養成分、環境因子變化與培養策略，提升液體培養菌絲體中生理活性物質的種類與濃度，一直是許多學者的研究重點。以下介紹發酵工程中常用生物反應器饋料批次操作及新式培養策略。

(一) 饋料批次培養(Fed-batch culture)

饋料批次培養是一個介於批次及連續式之間的操作，饋料批次前段操作與批次培養相同，營養成

分大量消耗而菌絲體快速生長。在營養基質消耗殆盡時，新鮮培養基隨即以間斷或連續的方式加入發酵槽中，直到達到最高細胞密度、最高產物濃度或是發酵槽液體體積達到飽和。提高菌體或代謝產物濃度是許多研究最主要的目的。一般微生物代謝生成的產物依照其生成與細胞生長階段差異區分為：生長連動型 (growth associated)、混合型生長連動型 (mixed-growth associated)、非生長連動型 (non-growth associated)。當目標產物屬於生長連動型或一次代謝產物時，微生物生長同時伴隨產物生成(菌體本身可能就是產物)。饋料批次操作策略是在培養過程中，當營養成分消耗殆盡時，將有利於生長的營養液饋入反應器。反觀如果目標產物為非生長連動型或二次代謝產物時，產物不在生長對數期產生，而是在進入穩定期 (stationary phase) 後生成。菌體生長與目標產物生成所須營養成分可能完全不同，此時饋料批次操作策略可以改為控制前後兩階段在兩種不同的營養基質狀態下培養，前期先將菌體濃度提高後期再進行二次代謝產物生成。因此依目標產物的差異，選擇不同的饋料策略。以下介紹食藥用菇菌絲體饋料批次操作實例。

Shih 等人 (2008) 在 5 公升發酵槽中進行舞茸液體培養，比較批次培養和饋料批次培養中的菌絲生長和胞外多醣產量。在培養的第 13 天舞茸菌絲濃度和胞外多醣的濃度分別為 6.7 克 / 公升和 3.3 克 / 公升，糖分析顯示碳源在發酵結束時耗盡。由於缺乏碳源阻礙胞外多醣持續生成和菌絲體生長，因此當培養基中的葡萄糖濃度低於 0.5% 時開始饋料，進行了六次饋料後，菌絲濃度以及胞外多醣的濃度在培養的第 13 天達到 8.23 克 / 公升和 3.88 克 / 公升。證明饋料批次培養有效提高菌絲濃度和胞外多醣的積累。另一研究利用饋料批次培養同時產生高濃度靈芝多醣和靈芝酸的方法 (Tang & Zhong, 2002)。研究的動機是觀察到乳糖濃度高於 35 克 / 公升降低了靈芝酸的產生。以 35 克 / 公升乳糖開始發酵，當糖濃度降至 5 至 10 克 / 公升之間時，通過脈衝進料

加入乳糖將濃度提高為 15 克 / 公升。在攪拌式發酵槽中達到的菌絲濃度、胞外多醣、胞內多醣和靈芝酸的最大產量分別為 21.89 克 / 公升、0.87 克 / 公升、2.49 克 / 公升和 367.1 毫克 / 公升。

本研究室曾經開發靈芝液態培養多醣生產技術，研究菌絲體形態的生成機制與控制策略。藉由攪拌速率與菌體型態控制，有效維持菌絲片斷濃度，同時結合饋料批次操作，提升菌絲體生長速率及代謝產物生成，建立高濃度菌絲與多醣培養方法。這種培養控制策略可以運用於其他藥用菇類如：雲芝、巴西蘑菇等胞外多醣的生產（圖二）。

（二）兩階段培養(Bi-stage culture)

兩階段培養基本概念是針對二次代謝產物生產而提出的操作策略，基本意義是利用第一階段針對菌體生長進行營養或環境因子調控，等到生長達到



資料來源：(本研究室提供)。

圖二 利用饋料批次操作結合菌絲形態控制策略生產高濃度靈芝多醣發酵液

對數期後段，即將進入穩定期時，改變關鍵環境因子，誘發二次代謝產物大量生成。兩階段培養控制策略，可以在批次培養進行或結合饋料批次操作一起進行。以下介紹幾個兩階段培養的操作實例：

Fang & Zhong (2002) 發現靈芝液體培養過程中，低氧濃度有利靈芝酸的生產，因此設計在三角錐形瓶中進行了兩階段培養。第一階段在培養箱中進行振盪培養，4,8 或 12 天後停止振盪，然後保持靜置培養直到第 24 天。在振盪 4 天，然後靜置培養 12 天後獲得最高的靈芝酸（在第 12 天為 582 毫克 / 公升）。產量幾乎是連續振盪對照培養的兩倍。在這種操作模式下培養，白色菌絲體層出現在培養液表面上層，分析顯示該層靈芝酸的產率高於深層培養菌絲體。兩階段過程中的靈芝酸含量從 1.36 毫克增加至 3.19 毫克 / 100 毫克菌體乾種。

Lee 等人 (1999) 使用 pH 雙階段控制的策略，在氣舉式發酵槽進行靈芝批次培養，探討不同 pH 控制與不控制對靈芝的菌體生長與胞外多醣 (EPS) 生成的影響。結果發現：在 pH3.0 的控制下的培養比 pH6.0 得到更高的菌絲體密度。另一方面，在 pH 6.0 控制下比 pH 3.0 有更高的胞外多醣產量。基於這些觀察，提出了雙階段 pH 控制策略：pH 開始時設定為 3.0，然後在 2 天後轉變為 6.0。該策略證實有效提高胞外多醣產率。

（三）誘導子或前驅物添加 (Addition of elicitor or precursor)

在植物抗病作用中，誘導子 (elicitor) 是指能夠激發或誘導植物寄主產生防禦反應的因子。利用誘導子添加策略促使細胞快速、大量合成目的二次代謝物，已被認為是促進植物細胞培養二次代謝產物生成最有效的途徑之一。此種理論應用在藥用菇的液態培養中也證實有一定的效果，以下是幾個研究實例：

Zhong 等人發現纖維分解酵素為提升靈芝酸生成的有效誘導子，與使用乳糖作為對照組 (779.6 毫克 / 公升) 相比，靈芝酸濃度達到 1334.5 毫克 / 公升。

在第 3 天加入 5 毫克 / 公升纖維分解酵素最大靈芝酸濃度達到 1608 毫克 / 公升。此外，10mM 鈣離子添加可以增強靈芝酸的生產，造成總靈芝酸有 3 到 4 倍的增加。定量基因轉錄分析顯示：外部鈣離子可能通過調節神經磷酸酶信號傳遞通路對靈芝酸生物合成產生影響 (Xu & Zhong, 2012)。

另外，Ren 等人 (2014) 提出添加乙酸增加了靈芝酸在菌絲體的累積。在最佳化條件下培養，靈芝酸含量達到 5.5 毫克 / 100 毫克菌體乾重，與對照相比增加了 105%。靈芝酸生物合成的中間代謝物，羊毛甾醇和角鯊烯也增加到 47 和 15.8 微克 / 克菌體乾重。依據結果推論：乙酸顯著誘導靈芝酸的生物合成通路相關基因轉錄與表達，同時增加靈芝酸合成相關中間代謝物羊毛甾醇、角鯊烯和靈芝酸 A 的代謝，導致靈芝酸積累。

從前驅物添加觀點考量，本研究室曾在樟芝固態培養及深層培養時，探討經由柑橘類果皮粉末、果皮精油萃取物或純單萜化合物添加，提高三萜類生成的可能性。柑橘類果皮精油中含有豐富的萜類，尤其以單萜類為最多。而 isopentenyl pyrophosphate (IPP, 萜類合成中間物) 可以穿過質體膜作為不同路徑生成萜類的前體。所以可以透過柑橘類果皮精油添加，抑制樟芝菌絲體質體內單萜類生成，改變代謝路徑，達到增產樟芝三萜類的目的。實驗結果發現：不同時間添加柑橘類果皮萃取液實驗中，以第七天添加極柑果皮精油培養至第 28 天效果最好，三萜類含量可達 101.15 毫克 / 克菌體乾重，是控制組的 9.65 倍。不同單萜類及不同檸檬烯濃度添加實驗中，以添加檸檬烯乙醇溶液對生理活性代謝產物促進效果最佳，在第七天添加 1% 檸檬烯和 1% 乙醇，可使三萜類含量提升為 33.93 毫克 / 公升，為控制組的 3.24 倍 (Yang 等人 2013、Ma 等人 2014 及 2016)。

結語和展望

根據統計，已經有大約 400 項使用藥用菇類針對不同疾病進行治療的臨床試驗，藥用菇類各項

研究發表的科學論文超過 50,000 篇，另外還有約 15,000 篇藥用菇類相關專利。從 2005 年起，每年有 350 項靈芝專利註冊，臺灣在樟芝方面有 100 多項專利。然而，藥用菇類未來的發展仍然存在許多有待解決的問題，主要包括產品安全性、生產與產品品質標準化、調節作用和功效機制。由於對膳食補充劑或保健食品生物活性作用的理解不足，來自藥用菇類機能性的世界性標準仍處於早期階段，包括：缺乏國際公認的藥用菇產品生產、測試標準和協議；如果產品的品質不一致，市售的藥用菇製劑將顯著不同，在組成和性能方面也將有很大差異；此外，無法確認生物活性作用是由單一成分引起的，或是由幾種成分協同作用的結果。這些都是藥用菇產品想要由機能性食品提升為治療用藥必須克服的問題。

臺灣在藥用菇類機能性食品開發上最大的問題，個人認為是缺乏垂直性的研究整合。通常這類產品的生產研發需要包括：生物菌種、成分分析與鑑定、生理功能測試、培養技術與生產製程開發等不同專長的人，結合起來共同努力。臺灣除了少數公司有效整合運用產官學研資源以外，多數不同領域專長的學者都是單打獨鬥，缺乏垂直整合連貫性研究計畫，因此研究成果多數只能用於論文發表而未能延伸到新產品開發的高附加價值，實在是另類的資源浪費。

由於固態發酵與液體培養各有其優缺點，可以預見未來仍然都是食藥用菇類培養的方式。固態發酵可以利用回收農產廢棄物為培養基質，採用較傳統方式生產子實體。反觀液體培養則在最適培養基組成與環境因子調控下，使用現代化生物反應器進行高效率菌絲體培養。由於生長代謝環境、生理狀態與分化過程皆有差異，兩種培養方式所得到產物成份必然不同，因此也具備了不同生理功能。例如：樟芝固態發酵產物三萜類含量遠高於液體培養菌絲體；猴頭菇子實體中含有猴頭酮，卻不含在菌絲體內發現的猴頭素。如何藉由液體菌絲培養，結合培養基組成、環境因子、菌絲形態控制與新式培養策

略操作，提升高價值生理活性成分生成，應該是未來液體培養技術發展的重要關鍵。

利用液體培養菌絲體是否可能產生子實體？針對這個問題，本實驗室曾經利用液體培養菌絲體快速生長優勢，將生長後的高濃度菌絲體轉移到溫度、濕度、光照控制環境，誘發菌絲體進行分化作用形成子實體，證實經由液體培養菌絲體也可以形成子實體，試驗成功的食用菇類包括：香菇、杏鮑菇、袖珍菇及藍寶石菇（圖三）。此種培養方式，將香菇子實體栽培所需時間由傳統數個月縮短到數周內完成。臺灣許多食品製造加工後殘餘的廢水，富含有機營養物質，只要經過簡單前處理步驟，即可回收再利用於食藥用菇類液體培養。這種液體培養菌絲生產製程，不但降低培養成本，也符合減廢及循環經濟的概念。

AgBIO

楊芳鏘 東海大學 化學工程與材料工程學系 教授



左上：香菇；左下：杏鮑菇；右上：袖珍菇；右下：藍寶石菇。
資料來源：(本研究室提供)。

圖三 利用液體培養菌絲體誘發子實體實驗

參考文獻

1. 楊芳鏘、楊明哲(2001)菌絲狀真菌之深層培養技術。化工技術，95：176-189。
2. Fang, Q.-H. and Zhong, J.-J. (2002) *Two-Stage Culture Process for Improved Production of Ganoderic Acid by Liquid Fermentation of Higher Fungus Ganoderma lucidum* Biotechnology Progress 18:51-54.
3. Lee, K.M., Lee, S.Y., Lee, H.Y. (1999) *Bistage control of pH for improving exopolysaccharide production from mycelia of Ganoderma lucidum in an air-lift fermenter*. Journal of Bioscience and Bioengineering 88:646-50.
4. Ma, T.-W., Lai, Y. T., Yang, F.-C. (2014) *Enhanced production of triterpenoid in submerged cultures of Antrodia cinnamomea with the addition of citrus peel extract*. Bioprocess Biosystem Engineering 37(11):2251-61.
5. Ma, T.-W., Lai, Y. T., Chen, L.-T., Yang, F.-C. (2016) *The cultivation strategy of enhancing triterpenoid production in submerged cultures of A. cinnamomea by adding monoterpenes*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 58: 210-218.
6. Ren, A., Li, X.-B., Miao, Z.-G., Shi, L., Jaing, A.-L., Zhao, M.-W. (2014) *Transcript and metabolite alterations increase ganoderic acid content in Ganoderma lucidum using acetic acid as an inducer*. Biotechnology Letter 36:2529-2536.
7. Shih, I.L., Chou, B.W., Chen, C.-C., Wu, J.-Y., Hsieh, C. (2008) *Study of mycelial growth and bioactive polysaccharide production in batch and fed-batch culture of Grifola frondosa*. Bioresour Technology 99:785-93.
8. Tang, Y.-J. and Zhong, J.-J. (2002) *Fed-batch fermentation of Ganoderma lucidum for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid*. Enzyme and Microbial Technology 31:20-28.
9. Xu, Y.-N., and Zhong, J.-J. (2012) *Impacts of calcium signal transduction on the fermentation production of antitumor ganoderic acids by medicinal mushroom Ganoderma lucidum*. Biotechnology Advances 30: 1301-1308.
10. Yang, F.-C., Ma, T.-W., Lee, Y.-H. (2013) *Reuse of citrus peel to enhance the formation of bioactive metabolite-triterpenoid in solid-state fermentation of A. cinnamomea*. Biochemical Engineering Journal 78:59-66.