

치마버섯 균사체 배양물로부터 분리한 다당류의 이화학적 특성

이준우^{1*} · 김용석²

¹경북전문대학 식품가공조리과, ²일양약품 중앙연구소 생물공학팀

Characteristics of Polysaccharide Extracted from the Cultured Mycelia of *Schizophyllum commune*

June Woo Lee^{1*} and Yong Seok Kim²

¹Dept. of Food Processing and Cooking, Kyungbuk College, YeongJu, Gyeong Buk 750-712

²Biotechnology Lab., Central Research Institute, Il Yang Pharm. Co. Ltd., Yongin 449-900

(Received February 3, 2009. Accepted February 18, 2009)

ABSTRACT: To examine physico-chemical properties of the polysaccharide extracted from liquid-cultured mycelia of *Schizophyllum commune*, each the polysaccharide was extracted with hot water treatment and then fractionated with ethanol, alkaline solution and ultrafiltration. And we determined carbohydrate contents, composition of amino acids, infra-red spectrum and viscosity. Carbohydrate contents of polysaccharide treated with ethanol and ultrafiltration were 72.0% and 62.3%, and proteins content were 15.3% and 32.0% respectively. The carbohydrate consisted of four monosaccharides and the protein contained 16 amino acids. The polysaccharide obtained from ultrafiltration was shown an absorption band characteristic of the β -glycosidic linkage by infra red spectra. These results suggest that the polysaccharide extracted from *Schizophyllum commune* showed the characteristics of protein-bounded polysaccharide, and it was β -glycosidic linkage with strong viscosity.

KEYWORDS: β -Glucosidic linkage, Protein-bounded polysaccharide, Polysaccharide, *Schizophyllum commune*

치마버섯(*Schizophyllum commune* Fr.)은 치마버섯과(Schizophyllaceae) 치마버섯속(*Schizophyllum* Fr.)으로 갓은 부채형이고 미세한 털로 덮여있다. 봄부터 가을에 걸쳐 활엽수 및 침엽수의 고목, 나무토막, 용재, 그루터기 등에 속생하는 백색 목재 부후균이다. 갓은 직경 1~3 cm로 부채형 및 조개형이고, 표면은 백색 또는 회색의 털이 조밀하게 났으며, 갓 둘레는 불규칙하게 갈라졌다. 대는 거의 없고 갓의 일부가 기주에 붙어 있다. 포자는 4~6×1.5~2 μ m로 원통형이며 포자문은 백색이다. 이 버섯은 생장된 부위에서는 표고버섯이 생장하지 못하고, 피해 부위는 전체가 얇은 흑갈색으로 착색시킨다고 알려졌다(박완희 등, 1991). 치마버섯은 각질의 버섯으로 식용으로의 이용은 어려우나 순수 분리된 균사체의 액체 배양균사체나 배양여액으로부터 추출한 다당류의 이용에 대한 예는 보고되고 있다.

담자균류 유래 β -glucan성 다당류의 경우는 영지버섯, 표고버섯, 구름버섯 및 상황버섯 등이 연구가 주류를 이루고 있으며, 이들은 주로 면역증강활성을 통한 의약품 내지 건강 기능식품으로의 개발이 이루어지고 있는 실정이다. 의약품의 경우는 표고버섯의 lentinan(Chihara *et al.*, 1970), 구름버섯의

krestin(Tsukagoshi *et al.*, 1974), 치마버섯의 schizophyllan(Komatsu *et al.*, 1969; 水野 卓 등, 1992), 잎새버섯의 grifolan(Ohno *et al.*, 1984), 영지버섯 및 상황버섯을 이용한 다당류를 이용한 기능성식품 및 의약품이 개발되고 있는 실정이다(Ikekawa *et al.*, 1968; Lee *et al.*, 2008; 이준우 등, 1990). 이들 담자균류 유래 β -glucan성 다당류는 항암효과, 면역증강효과, 항산화효과, 간보호효과 등의 다양한 생리활성을 갖는 것으로 알려졌다. 이들 버섯은 생리활성이 우수하고 식용이 가능하여 기능성 식품의 소재 및 제품으로의 개발이 이루어지고 있다. 치마버섯(*Schizophyllum commune*)의 경우는 다양한 기능성을 가진 소재임에도 불구하고 거친 식감으로 인하여 버섯 자체로는 식용으로서의 사용이 어려워 많은 연구가 진행되고 있지 못한 형편에 있다. 최근에는 치마버섯 다당류 특유의 물성을 이용하여 산업용 소재로 개발하고자 하는 시도가 이루어지고 있다. 그러나 치마버섯 유래 다당류의 대량생산과 물리화학적으로 특성이 균일한 물성 유지를 위한 일관적 방법에 대한 연구가 부족한 형편에 있다. 그러므로 자연 상태에서 수집된 수종의 치마버섯을 순수 분리하여 액체배양하여 분리한 다당류에서 생리활성이 우수한 균주를 선별하고, 이것의 배양학적 특성 및 환경조건을 확립할 필요가 있다. 또한 다당류의 물리화학적 특성을 조사하여

*Corresponding author <E-mail : jwlee@kbc.ac.kr>

기능성 식품 및 산업 소재로 개발을 위한 기초자료를 확립할 필요가 있다.

본 연구에서는 기능성이 확인된 균주를 이용하여 화학적으로 균일한 제품의 균사체 액체 배양물로부터 다당류성 물질을 분리하는 방법, 분리한 β -glucan성 다당류의 이화학적 특성을 조사한다. 이것의 이화학적 및 생리적 특성을 이용하여 기능성 비누제조, 로션 및 스킨용 화장품 제조, 피부보호 및 치료용 마스크 팩, 식품의 다이어트용 소재 등을 개발하기 위한 기초자료로 이용하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주

본 연구에 사용된 치마버섯(*Schizophyllum commune* Fr.)은 자연산(지리산, 전남) 자실체를 이용하였다. 상기의 자실체로부터 무균적으로 분리한 균사(*Schizophyllum commune*)를 potato dextrose agar(PDA, Difco Co.)에서 27.5°C, 10일 동안 배양한 후, 순수 분리된 균사체를 액체배지에 배양하여 종균으로 이용하였다(Fig. 1).

배지 및 시약

균주 분리, 동정 및 종균 보관용 배지로는 potato dextrose broth 및 agar(Difco Co., USA)를 사용하였으며, 대량배양을 위한 액체배지는 glucose 4%, yeast extract 0.5%, peptone 1.5%, K_2HPO_4 0.046%, KH_2PO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%와 basal medium 10 m/을 가해 최종 1 l로 조정된 합성배지(pH 5.5)를 사용하였다. Basal medium의 조성은 0.5%의 $FeCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.36%의 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 0.3%의 $ZnCl_2$ 및 0.05%의 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 이었다. 총 당 정량을 위한 sulfuric acid와 phenol은 Sigma Co.(USA), 단백질 정량은 bicinchnonic acid(BCA) 단백질 정량 kit(Pierce Co.)를 사용하였으며, 그 외의 모든 시약은 특급 시약들을 이용하였다.

종균 및 본 배양

보관용 감자포도당하천(PDA) 평판 배지에 보관중인 균사체를 백금구로 분리하여 100 m/의 액체 배지가 들어있는 500 m/용 삼각 플라스크에 넣고 27.5°C에서 10일 동안 배양하였다. 그 후에 100 m/의 액체 배양용 기본배지가 함유된 500 m/ 배양용 baffled 삼각 플라스크에 10 m/를 접종하여

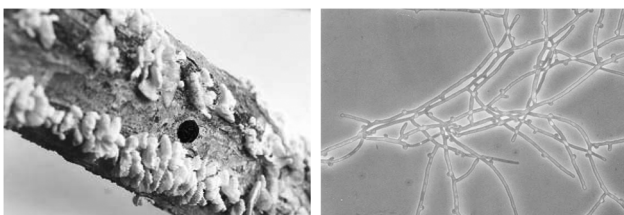


Fig. 1. Fruit body (left) and mycelia (right) of *Schizophyllum commune*.

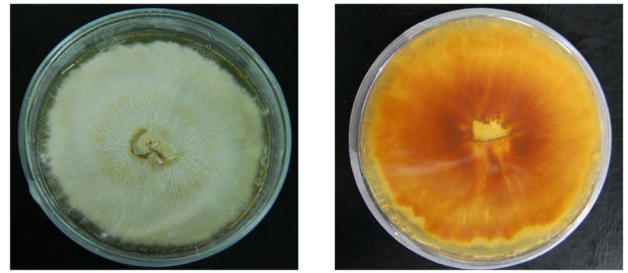


Fig. 2. Colony features of the isolate *Schizophyllum commune* grown for 10 days at 28°C on PDA.

27.5°C에서 120 rpm으로 6일간 진탕 배양하여 종균 배양액으로 이용하였다. 본 배양은 종균 배양한 배양액을 5 l 발효조(Kobitech Co. Korea)에 5% (v/v)되게 접종하고, working volume 3 l, 교반속도 150 rpm, 통기량 0.5 vvm으로 하여 27.5°C에서 6일간 배양한 균사체를 조다당류 제조에 이용하였다.

다당류 제조

본 배양된 균사체 배양액에 3배의 물을 가해 100°C에서 2시간 동안 추출하고, 7,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액과 균사체를 분리하였다. 이 상등액에 3배량의 에탄올을 첨가하여 24시간동안 방치하여 침전물을 얻었으며, 침전물은 흐르는 물에서 5일 동안 투석을 행하고 동결건조하였다(SC-EP). 배양액 추출물의 원심분리 침전물은 10% NaOH 용액을 첨가하여 24시간동안 추출하고, 7,000×g에서 15분간 원심분리하여 얻은 상등액에 초산을 이용하여 pH 7.0정도로 중화한 다음, 3배량의 에탄올을 첨가하여 하루 동안 방치하여 얻어진 침전물은 5일 동안 투석(membrane MW, 12 kD)을 행하여 탈염처리하고 동결건조하였다(SC-IP). 한외여과막을 이용하여 다당류를 제조하는 경우는 균사체 배양액에 3배의 물을 가해 100°C에서 2시간 동안 추출하고, 7,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻어진 상등액에 5배량을 물을 가하여 혼합한 다음, 여과막(M. W. cut off 10,000)을 이용하여 한외여과(Sartocon-Mini system, Satorius Co.)를 3회 반복하여 얻어진 잔류액을 동결건조하였다(SC-UP). 또한 배양된 균사체 배양액을 7,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 얻어 그대로 동결건조를 실시하였다(SC-NEP).

총 당 및 단백질의 정량

총 당의 함량은 phenol-sulfuric acid 법(Dubois 등, 1956)으로 측정하였으며, 단백질 함량은 bicinchnonic acid(BCA) 단백질 정량 시약(Pierce Co., USA)을 사용하여 측정하였다(Smith 등, 1985).

구성당의 분석

Lee 등(1990)의 방법에 따라 구성 당을 분석하기 위해 각각의 시료 10 mg을 5 m/의 0.1 N HCl에 용해시켜 질소를

충진시킨 후, 100°C에서 5시간 동안 가수분해시켰다. 여기에 3배량의 ethanol을 가해 4°C에서 하룻밤 방치한 후 원심 분리하여 얻은 상등액을 동결건조하였다. 이것을 1 m/의 pyridine에 용해시키고 0.2 m/의 hexamethyl disilazane과 0.1 m/의 trimethyl chlorosilane을 가하고 80°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액 중의 당은 gas chromatography (Shimadzu GL 9A)를 이용하여 분석하였으며, 분석조건은 다음과 같다. column; 3% OV-17 (80~100mesh Shimalite) 3 mm D × 3 mL borosilicate glass packed column, column temperature; 150~180°C, gradient; 1°C/1min, detector; frame ionization detector (FID), detector temperature; 190°C, injection temperature; 190°C, flow rate; carrier gas -N₂(50 ml/min), combustion gas-H₂(60 ml/min), air(60 ml/min).

구성 아미노산의 분석

시료 중의 아미노산은 Beckman system 6300 amino acid analyzer를 이용하여 분석하였다. 각각의 시료 4 mg을 1 m/의 6 N HCl에 용해시켜, 질소를 충전한 후 밀봉하여 110°C에서 24시간 동안 가수분해시킨 후 여과하여 침전을 제거하고 감압농축하여 건조된 시료를 0.08 M sodium citrate와 0.2 N HCl이 함유된 완충용액 2 m/에 용해시켜 이중 50 μ l를 아래의 조건에서 분석하였다. column; Beckman 2.6 mm D × 200 mm L, ion exchange resin No. 338076, flow rate ; buffer solution 0.33 ml/min, ninhydrin 0.17 ml/min, analysis cycle time; 60 min, column pressure; 147 kg/cm², ninhydrin pressure; 7 kg/cm², column temperature; 50~70°C gradient, N₂ pressure; 2.8kg/cm², reaction bath temperature; 130°C, wave length; 440 nm, 540 nm, detector ; tungsten.

IR spectrum

치마버섯 균사체 배양물의 열수 추출 에탄올, UF처리 다당류 추출분획의 IR absorption은 시료 10 mg에 200배 (w/w)의 KBr을 막자사발에 넣고 마쇄하여 pellet로 만든 다음, FT-IR(Bruker, IFS-48, Germany)를 이용하여 측정하였다. 이때 β -1,3-glucan의 표준물질로 curdlan과 α 구조를 위해서 starch를 사용하였다.

점도측정

치마버섯 유래 다당류 및 배양액의 점도는 점도계 (Brookfield model DV-II, Stoughton, USA)를 사용하여 측정하였다. 점도 측정은 배양액 및 동결건조된 다당류의 일정 농도를 정제수로 녹이고 측정하였으며, 조건은 spindle No. 5, 1~50 rpm, 30°C이었다.

결과 및 고찰

다당류의 수율 및 성분

*Schizophyllum commune*의 균사체 배양액에 3배의 물을

Table 1. The yield and compositions of each polysaccharide extracted from the cultured mycelia of *Schizophyllum commune*

Extracts	Yield (%)	Content(%)	
		Carbohydrate	Protein
SC-EP	0.32	72.0	15.3
SC-IP	0.19	48.9	24.8
SC-UP	0.26	62.3	32.0
SC-NEP	1.63	57.9	28.2

SC-EP: Extracellular polysaccharide extracted from *S. commune*

SC-IP: Intracellular polysaccharide extracted from *S. commune*

SC-UP: Ultrafiltrated polysaccharide extracted from *S. commune*

SC-NEP: Native extracellular polysaccharide of *S. commune*

가해 100°C에서 2시간 동안 추출하고, 7,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻어진 상등액에 2배량의 에탄올을 첨가하여 24시간동안 방치하여 침전, 투석하고 동결건조하여 얻어진 다당류(SC-EP)는 0.32% 이었다. 배양액 추출물의 원심분리 침전물은 10% NaOH 용액을 첨가, 추출, 중화, 에탄올 첨가, 투석 및 동결건조한 것(SC-IP)은 0.19%였다. 한외여과막을 이용한 다당류 제조는 균사체 배양액에 3배의 물을 가해 100°C에서 2시간 동안 추출, 원심분리, 물 첨가, 반복 한외 여과를 실시하여 얻어진 동결건조물(SC-UP)은 0.26%, 또한 균사체 배양액을 7,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 동결건조 한 다당류(SC-NEP)는 1.63%로 나타났다. 이와 같이 치마버섯 유래 다당류는 당과 단백질이 결합된 단백 다당류인 것으로 나타났으며, 분리 방법에 따라 당과 단백질의 함량이 상이하게 나타났다. 일반적으로 버섯 자실체의 경우는 0.5~2% 내외의 다당류가 추출되고, 균사체 유래 다당류는 0.1% 내외인 것으로 알려졌다(이 등, 2003; Kim *et al.*, 1980). 치마버섯도 균사체 배양물의 경우는 0.19%~1.63%의 수율을 나타내었다. 다당류의 추출 수율은 담자균류의 종류 및 배양 영양원에 따라 상이하게 나타날 것으로 추정된다. 치마버섯 균사체 배양물로부터 추출한 다당류의 총 당은 48.9~72.0%이고, 단백질은 15.3~32.0%를 함유하는 것으로 나타났다.

SC-EP 다당류의 구성당

*S. commune*의 균사체 배양물로부터 분리한 SC-EP 다

Table 2. Contents of monosaccharides of the polysaccharide (SC-EP) extracted from the cultured mycelia of *Schizophyllum commune*

Monosaccharide	Content(%)
Xylose	4.3
Fructose	26.1
α -Glucose	38.3
β -Glucose	31.3

당류의 구성당 분석 결과는 Table 2와 같다. 단당류로는 glucose가 주를 이루고, fructose가 26.1%로 높게 함유하고 있었으며 xylose가 4.3%로 소량 함유되어 있는 것으로 보아 hetero 다당류인 것으로 추정되었다. α -와 β -Glucose의 함량은 각각 38.3%와 31.2%이었으며, α -와 β -glucose의 비율은 1 : 0.82로서 α -glucose의 함량이 약간 높게 나타났다. 일반적인 담자균류는 여러 가지 당이 혼재된 이중 다당류이고, 균사체 유래 다당류의 당 및 단백질 성분은 사용하는 영양원에 따라 상이하고, 그 구조적 특성은 유사한 것으로 알려졌다(이 등, 2003; Kim *et al.*, 1980).

SC-EP 다당류의 구성 아미노산

*S. commune*의 균사체 배양물로부터 분리한 SC-EP 다당류의 구성 아미노산 분석 결과는 Table 3과 같다. 균사체 배양물로부터 추출된 다당류는 16여 종의 아미노산으로 구성되어 있었고, aspartic acid, glycine 및 glutamic acid 등이 각각 12.5%, 18.1% 및 15.2%, 중성 아미노산인 alanine은 9.9%를 함유하고 있는 것으로 나타났다. 당과 단백질의 O-glucosidic 결합에 관여하고 있는 threonine과 serine의

Table 3. Contents of amino acids of the polysaccharide (SC-EP) extracted from the cultured mycelia of *Schizophyllum commune*

Amino acids	Contents(%)
Aspartic acid	12.5
Threonine	2.9
Serine	2.7
Glutamic acid	15.2
Proline	10.1
Glycine	18.1
Alanine	9.9
Valine	5.7
Methionine	0.9
Isoleucine	3.3
Leucine	6.0
Tyrosine	1.6
Phenylalanine	2.2
Histidine	1.8
Lysine	5.7
Arginine	1.4

경우는 2.9% 및 2.7%로 나타났다. 이와 같은 결과로 미루어보아 치마버섯 유래 다당류는 당과 단백질이 결합된 단백 다당류인 것으로 추정된다. 일반적으로 glycoprotein의 결합 양식으로 아미노당이 개입된 O-glucosidic과 N-glucosidic 결합이 알려져 있으며(水野 卓 등, 1992), 본 연구의 결과에서도 치마버섯 유래 다당류도 O-glucosidic과 N-glucosidic 결합력을 이루는 단백다당류로 추정되었다.

SC-EP 다당류 IR spectrophotometry

치마버섯 균사체 배양물로부터 열수추출 에탄올 처리된 SC-EP 다당류의 결합양식 및 기본 구조적 특성을 알아보기 위하여 IR 분광분석을 실시한 결과는 Table 4와 같다. 그 결과는 당류의 일반적인 peak인 3400 cm^{-1} 에서의 O-H 신축진동, 2930 cm^{-1} 에서의 C-H 신축진동, 1400 cm^{-1} 부근에서의 C-H 변각진동 및 1100 cm^{-1} 부근에서의 C-O 변각진동 등의 흡수띠를 나타내어 다당류에서 나타나는 일반적인 peak들이 관찰되었다. 일반적으로 다당류의 α -glucosidic linkage 당은 860 cm^{-1} 부근, β -glucosidic linkage 당은 890 cm^{-1} 부근에서 강한 흡수대를 가지고 있다고 알려졌다(Neely, 1957). 본 연구의 결과, 치마버섯 유래 다당류(SC-EP)는 891 cm^{-1} 부근에서 흡수 peak가 관찰됨으로서 β -glucan성 다당류임을 알 수 있었다.

점도측정

다당류를 대량생산하기 위해서는 제조를 위한 시간과 비용 절감이 중요하다. 따라서 산업적 적용이 유리한 한외여과 장치를 이용한 다당류 생산시의 물성적 특성을 검토하였다. 치마버섯 균사체 배양물을 열수 추출하여 한외여과장치로 제조한 SC-UP 다당류의 0.5% 용액의 점도는 1 rpm, 20 rpm 및 50 rpm시 각각 1.2×10^3 cps, 70 cps, 32 cps였다(Table 5). 기능성 다당류로 점도가 강한 chitosan (Sigma

Table 5. Viscosity of the polysaccharides extracted from the cultured mycelia of *Schizophyllum commune*

RPM	Viscosity(CPS)	
	SC-UP	Chitosan
1	1.2×10^3	1.6×10^3
20	68	80
50	32	56

SC-UP: dissolved in DDW(0.5%)

Chitosan: dissolved in 0.1N HCl(0.5%)

Table 4. IR spectrum of the polysaccharide(SC-EP) extracted from the cultured mycelia of *Schizophyllum commune*

Sample	IR absorption (Frequency, cm^{-1})
Curdlan	3418.4, 2891.9, 1652.6, 1374.2, 1261.5, 1164.0, 1079.0, <u>889.6</u> , 572.5
Starch	3437.7, 2930.6, 1646.5, 1370.1, 1240.7, 1158.7, 1080.5, <u>861.3</u> , 574.8
SC-EP	3392.2, 2930.5, 1652.7, 1418.7, 1259.4, 1071.9, <u>891.8</u> , 813.8, 667.7

C-3646)의 0.5% 용액의 경우는 각각 1.6×10^3 cps, 80 cps, 56 cps로 나타났다. 담자균류 유래 다당류는 β -1,3-glucoside의 주쇄에 β -1,6-glucoside가 분지를 이루는 glucan 구조를 갖는 특징을 갖고 있다. 이들 결합 및 구조의 양식은 기원 또는 배지의 종류에 따라 구조적 특징이 상이한 것으로 알려졌다. 특히 치마버섯의 포도당 액체 배지로 배양한 균체의 다당류는 3중 나선구조에 의해 안정하고 복잡한 구조를 갖고 있으며, 주 결합은 포도당이 β -1,3-glucoside 주쇄에 β -1,6-glucoside 결합이 분지를 이루고 있으며, 포도당 3개당 1개의 포도당이 분지를 이루고 있는 것으로 알려졌다(水野 卓 등, 1992). 이러한 특성은 피부에서의 보습성 유지 및 보호에 중요한 특성을 부여할 것으로 판단된다. 일반적으로 균체 내에서 존재하는 native한 다당류는 3중의 나선구조가 주류를 이루고 있다고 알려졌다. 이들 다당류는 alkali, urea 또는 DMSO 등의 화학적 처리에 의해 sol 상태로 가용화되는데, 이는 native한 다당류가 helix 형태로 변환되고, 다시 열처리하면 helix form에서 native form으로 변환이 일어난다고 보고하였다(Ohno *et al.*, 1987). 다당류의 기능성 발현을 위해서는 입체구조가 중요하다고 보고하였으므로(Deslandes *et al.*, 1980), 다당류의 추출조건에 따른 구조와 생리활성에 대한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

적요

자연에서 채집한 치마버섯 자실체로부터 분리한 *Schizophyllum commune* 균을 배양하여 얻은 균사체 배양물로부터 추출한 다당류의 물리화학적 특성에 대하여 조사하였다. 액체배양 균사체로부터 추출된 다당류는 방법에 따라 0.19~1.63%의 수율을 나타내었다. 이들 다당류의 총 당은 48.9~72.0%이고, 단백질은 15.3~32.0%를 함유하고 있는 것으로 나타났다. 추출한 SC-EP 다당류의 구성 당은 glucose가 69.6%로 주를 이루고, fructose가 26.1%, 소량의 xylose로 구성된 것으로 나타나는 것으로 보아 hetero 다당류인 것으로 추정되었다. 또한, 산성 아미노산인 aspartic acid, glycine 및 glutamic acid 등은 각각 12.5%, 18.1% 및 15.2%, 중성 아미노산인 alanine은 9.9%, 당과 단백질의 O-glucosidic 결합에 관여하고 있는 threonine과 serine의 경우는 2.9% 및 2.7%로 나타났다. IR 분석결과 이들은 α 와 β -glucan이 혼재된 다당류인 것으로 나타났다. 한외여과장치로 제조한 다당류(SC-UP)의 0.5% 용액의 점도는 20 rpm 시 70 cps로 나타났다. 이상의 치마버섯 액체배양 균사체를 열수추출하여 에탄올 침전시켜 얻은 다당류는 당과 단백질이 결합된 단백다당류의 결합 형태를 이루고, 당은 2가지 이상의 당이 혼재하고 있으며, 아미노산은 산성아미노산의 함량이 높은 것으로 나타났다. 다당류의 결합 양식은 α 와 β -glucan이 혼재하고 있으며, 강한 점성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 경북전문대학 특성화사업 연구비의 일부 지원으로 수행되었음을 밝히며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 박완희, 이호득. 1991. 한국의 버섯, 교학사 p. 52.
- 이준우, 정훈, 정천희, 이권행. 1990. 영지균사체 알칼리추출물이 보체계와 망내계에 미치는 영향. 한국균학회지 18:137-144.
- 이준우, 방광웅, 서부일, 이은숙. 2003. *Ganoderma lucidum* IY005의 자실체와 균사배양물로부터 분리된 다당류의 이화학적 특성, 대한보초학회지 18(2):141-148.
- 水野 卓, 川合正允. 1992.きのこの化学. 生化学, 學會出版 センタ-, 東京. p. 31~321.
- Kim, B. K., Chung, H. S., Chung, K. S., and Yang, M. S. 1980. Studies on antineoplastic components of Korean basidiomycetes. *Kor. J. Mycol.* 8:107-113.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y. Y., Arai, Y., and Fukuoka, F. 1970. Fraction of the polysaccharide with antitumor activity, especially lentinan, from the *Lentinus edodes*(berk) Sing.(an edible mushroom). *Cancer Res.*, 30:2776-2781.
- Deslandes, Y., Marchessault, R. H., and Sarko, A. 1980. Triple-helical structure of (1 $\rightarrow$ 3) β -D-glucan, *Macromolecules*, 13:1466-1471.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Robers, P. A., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Biochem.* 28:350-356.
- Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., and Chihara, G. 1968. Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann* 59:155-157.
- Komatsu, N., Okubo, S., Likumoto, S., Kimura, K., Saito, G., and Sakai, S. 1969. host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann*, 60:137-145.
- Lee, J. W., Baek, S. J., and Kim, Y. S., 2008. Submerged culture of *Phellinus linteus* for mass production of polysaccharides, *Mycobiology*, 36(3):178-182.
- Neely, W. B. 1957. Infrared spectra of carbohydrates. *Advanced in carbohydrate chemistry*. 12:13-33.
- Ohno, N., Suzuki, I., Oikawa, S., Sato, K., Miyazaki, T., and Yadomae, T. 1984. Antitumor activity and structure characterization of glucans, extracted from cultured fruit bodies of *Grifola frondosa*. *Chem. Pharm.Bull.*, 32: 1142-1151.
- Ohno, N., Shinohara, H., and Yadomae, T. 1987. Conformation of the (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucan in the sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* IFO 9395 assed by carbon 13-cp-mass nmr spectroscopy, *Carbohydr. Res.*, 168:110-114.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., and Klenk, D. C. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150:76-85.
- Tsukagoshi, S. and Ohashi, F. 1974. Protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, effective against mouse sarcoma 180 and rat ascites hepatoma AH-13 by oral use. *Jpn. J. Cancer Res.*, 65:557-560.