

Phellinus linteus IY001의 자실체와 균사체 배양물로부터 분리한 다당류의 물리화학적 특성 비교

이준우* · 백성진¹ · 방광웅 · 김용석¹ · 한만덕² · 하익수¹

*경북전문대학 식품가공과, ¹일양약품 중앙연구소 생물공학팀, ²김천대 치위생과

Characteristics of Polysaccharide Isolated from the Fruit Body and Cultured Mycelia of *Phellinus linteus* IY001

Lee, June-Woo*, Sung-Jin Baek¹, Kwang-Woong Bang,
Yong-Seok Kim¹, Man-Deuk Han² and Ick-Su Ha¹

*Department of Food Science & Technology, Kyungbuk College, Youngju 750-712, Korea
¹Biotechnology Lab., Central Research Institute, Il Yang Pharm. Co. Ltd., Yongin 449-900, Korea
²Department of Dental Hygiene, Kimcheon College, Kimcheon 740-200, Korea

ABSTRACT: This study was conducted to investigate the characteristics of polysaccharides isolated from the fruit body and cultured mycelia of *Phellinus linteus* IY001. All fractions were extracted by hot water, followed by ethanol precipitation (F-THE and M-HE) or ultrafiltration (M-HU) (F-TH, F-THE; fruit body, M-HE, M-HU; cultured mycelia). Among these fractions, F-TH fraction was obtained at the highest yields of 6.83% and yield of F-THE was at the level 2.79%. The carbohydrates of these fractions was found to be a heteroglucan composed of glucose, galactose, mannose, fructose, ribose and xylose by analysis of gas chromatography. The total carbohydrate contents of M-HE and M-HU fractions were 99.2%, and 86.0% respectively. The glucose content of M-HE, M-HU and F-THE ranged from 54 to 84.8% of the total monosaccharide. Amino acid pattern showed that all fractions contained a large amount of aspartic acid, glycine, glutamic acid, alanine. Serine and threonine were found to be involved in the linkage, O-linked type. These fractions, except F-TH, contained polysaccharides with the molecular weights of 12 kD and showed the characteristics of IR absorption for β -glucosides at 890 cm^{-1} .

KEYWORDS: β -Glucan, Heteroglucan, *Phellinus linteus*, Polysaccharide

담자균 유래 다당류들은 대부분 β -glucan성 다당류로 숙주의 면역 기능을 활성화시킴으로서 새로운 항암제 및 보조제로서 기능이 밝혀지면서 많은 연구가 수행되어 왔으며, 이들중 목질진흙(상황) 버섯도 높은 면역활성 및 항암활성 등을 함유하고 있는 것으로 알려졌다(Ikekawa 등, 1968; Lee 등, 1996; 정 등, 1994).

목질진흙(상황) 버섯은 분류학적으로 담자균아문(Basidiomycotina)의 민주름버섯목(Aphylllophorales)의 소나무비늘버섯과(Hymenochaetaceae)의 진흙버섯속(*Phellinus* Quel. em. Imaz.)에 속하는 버섯으로 뽕나무 줄기에 자생하며 샷갓표면을 제외하고는 모두 황색이므로 상황이라고 잘 알려져 있다. 목질진흙(상황) 버섯은 중약대사전(상해과학기술)에 버드나무, 뽕나무, 닥나무 등의 나무 줄기에 자생하는 버섯이라 하여 상이, 상신, 호고안 등의 이명을 가지고 있다. 또한 신농본초경에서 상이는 상근백피(뽕나무, *Morus alba* L., 근피)의 향에 기록하고 있으며, 명대의 이시진은 본초강목에서 목이의 향으로 분류하여 상이, 상유, 상아, 상신 및 상황 등으로 기록하고 있고, 동의보감에서는 상

이, 상황 등으로 분류하고 있다. 목질진흙(상황) 버섯은 *Phellinus linteus* (Berk. et Curt) Aoshima, *P. igniarius* (L. ex Fr.) Quel, *P. yucatanensis* (Murr.) Imazek, *Fomes yucatanensis* Murrill., *Pyropolyporus yucatanensis* Murr. 등의 여러가지로 명명하고 있으나, 뽕나무, 버드나무, 두견 등의 광엽수에 자생하는 말뚝진흙버섯(*Phellinus igniarius* (L. ex Fr.) Quel)은 광의적으로 해석한 상황의 학명이고, 진정한 의미의 상황인 목질진흙버섯은 말뚝진흙버섯과 달리 뽕나무에서만 자생하며, 학명은 *Phellinus linteus* (Berk. et Curt) Aoshima이며(원색일본균류도감, 1975), 일본명은 메시마코브이다. 목질진흙(상황) 버섯은 뽕나무의 그루터기에 자생하는 버섯으로 그 모양은 초기에는 노란 진흙 덩이가 뭉친 것 같은 형태를 유지하다가 다 자란 후의 형태는 그루터기에 헛바닥을 내민 모습이어서 수설이라고도 한다. 헛바닥 같은 형태의 위 부분이 목질진흙(상황) 버섯의 품종에 따라 약간의 차이는 나지만 진흙과 같은 색깔을 나타내기도 하고, 감나무의 표피와 같이 검게 갈라진 모습 등으로 나타나기도 한다. 자연산의 목질진흙(상황) 버섯은 가격이 고가이며 동일 품종을 대량으로 구하기도 힘들기 때문에 동일 균주에 대한 일관성 있는 연구가 부족한 실정이다. 최근에는

*Corresponding author

국내에서 자연산과 유사한 목질진흙(상황) 버섯의 원목 인공 재배가 가능한 것으로 보고되었으나 재배기간이 1~2년 정도로 길며, 그 성공률도 낮은 것으로 알려졌다. 현재까지는 동일균주에 대한 자실체와 균사체간의 성분 비교 및 한외여과에 의한 다당류의 제조방법에 관한 보고가 미미한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 한국산 목질진흙(상황) 버섯 자실체를 채집하여 분류 및 동정을 실시한 후, 자실체와 자실체로부터 분리·배양한 균사체간 또는 제조 방법별 그들의 기본적인 물리화학적 특성을 비교하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용된 목질진흙버섯인 상황[*Phellinus linteus* (Berk. et Curt) Aoshima]은 자연산 자실체를 이용하였다. 균사체는 상기의 자실체로부터 무균적으로 분리한 균사(*Phellinus linteus* IY001)를 potato dextrose agar(PDA, Difco Co.)에서 27°C, 10일 동안 배양한 후, 순수 분리된 균사체를 액체배지의 종균으로 이용하였다.

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 0.2%, K₂HPO₄ 0.046%, KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.05%와 basal medium 10 ml을 가해 최종 1 l로 조정된 합성배지(pH 6.0)를 사용하였다. Basal medium의 조성은 0.5%의 FeCl₂·6H₂O, 0.36%의 MnCl₂·4H₂O, 0.3%의 ZnCl₂ 및 0.05%의 CuSO₄·5H₂O이었다. 총당 정량을 위한 sulfuric acid 및 phenol은 Sigma Co.(USA), 단백질 정량은 bicinchoninic acid(BCA) 단백질 정량 kit(Pierce Co.)를 사용하였으며, 그 외의 모든 시약은 특급 시약들을 이용하였다.

종균 및 본 배양

사면 배지로부터 균사체를 백금구로 분리하여 100 ml 액체 배지가 들어있는 500 ml 삼각 플라스크에 넣고 28°C에서 10일 동안 배양하였다. 그 후에 100 ml의 액체 배양용 기본배지가 함유된 500 ml 배양용 baffled 삼각 플라스크에 10 ml를 접종하여 28°C에서 120 rpm으로 6일간 진탕 배양하였다. 2차 종균 배양은 액체 배양용 배지 100 ml가 들어있는 500 ml의 배양 플라스크에 균질화된 종균배양액 10 ml를 접종하여 28°C에서 6일간 진탕 배양하였다. 2차 종균 배양으로부터 배양한 배양액을 5 l 발효조(한국발효기)에 5%(v/v)되게 집중하고, working volume 3 l, 교반속도 150 rpm, 통기량 0.4 vvm으로 하여 28°C에서 6일간 배양한 균사체를 조다당류 제조에 이용하였다.

다당류 제조

목질진흙(상황) 버섯 자실체 열수추출의 경우는 1×2

cm의 크기로 세절하여 20배(w/v, %)의 물을 가해 110°C에서 30분 동안 3회 반복 추출하고, 원심분리한 상등액의 1/3량은 동결건조하였으며(F·TH), 그리고 2/3의 분량은 농축하여 3배량의 에탄올을 가하고, 24시간 동안 방치한 다음 원심분리하여 얻어진 침전물은 증류수에 용해한 후 5일간 투석과정을 거친 후 동결건조하였다(F·THE).

균사체 배양물 열수 추출의 경우는 총 배양물에 2배의 물을 가해 110°C에서 30분 동안 2회 반복 추출하고, 이것을 원

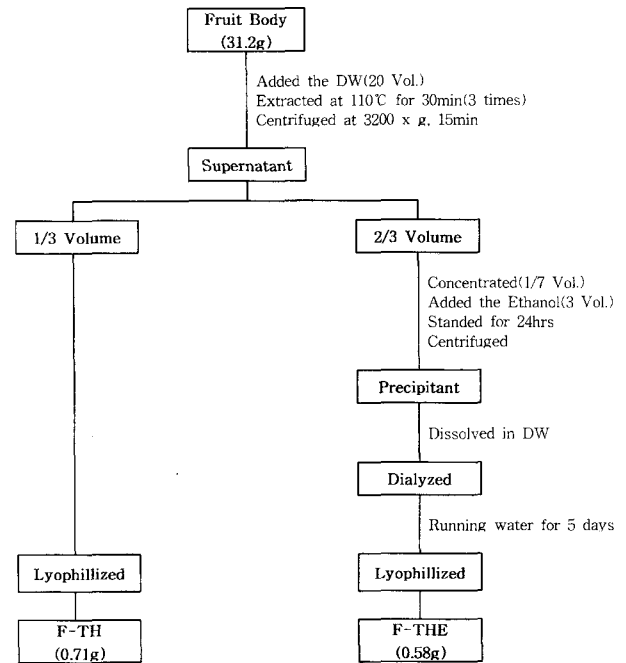


Fig. 1. Procedure for the hot water extraction from *Phellinus linteus* fruit body.

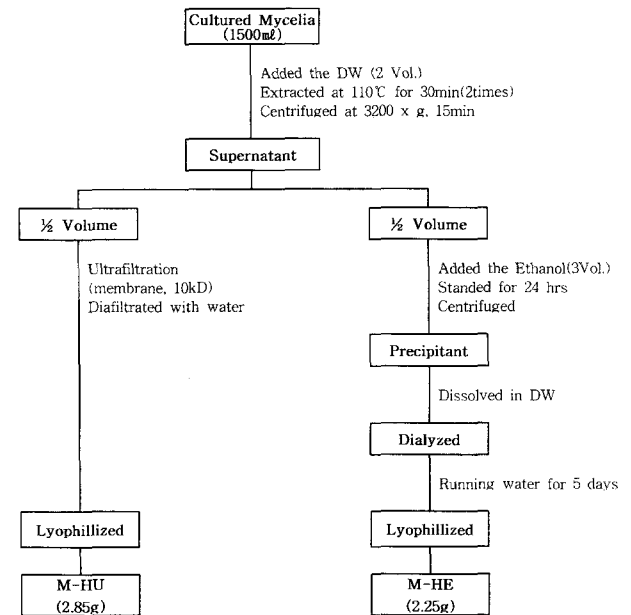


Fig. 2. Procedure for the hot water extraction from cultured mycelia of *Phellinus linteus* IY001.

심분리한 상등액의 1/2 량은 여과막(M. W. cut off 10,000)을 이용하여 한외여과(Sartocon-Mini system, Satorius Co.)한 후, 잔류액을 동결건조하였다(M-HU). 그리고 잔여 1/2의 량은 농축하여 3배량의 에탄올을 가하고, 24시간 동안 방치한 다음 원심분리하여 얻어진 침전물은 5일 동안 투석 과정을 행하여 탈염처리 한 후 동결건조하였다(M-HE)(Fig. 1 and Fig. 2).

총 당 및 단백질의 정량

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

Hexosamine의 정량

분리된 다당류의 hexosamine의 함량은 Elson과 Morgan 방법(1933)을 변형하여 측정하였다. 시료 10 mg에 3 N HCl 2 ml를 넣고 질소를 충전하여 100°C에서 18시간 가수분해시킨 후, 4 N NaOH를 넣어 pH 10으로 조정하였다. 가수분해된 시료 0.5 ml를 취하여 시험관에 넣고, 1 ml의 시약(acetylacetone 1.5 ml + 0.5 N NaOH 0.5 ml)을 첨가하여 95°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응물을 상온에서 식힌 후, 10 ml의 발색제(C-HCl 30 ml + ρ -dimethylaminobenzaldehyde 1.6 g + 99% ethanol 30 ml)를 가하여 1시간 동안 방치한 후, 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. Hexosamine의 함량은 2-amino-2-deoxy-D-glucose(D-glucosamine)를 이용하여 얻은 표준직선으로부터 산출하였다.

구성 당의 분석

Lee 등(1990)의 방법에 따라 구성 당을 분석하기 위해 시료 10 mg을 5 ml의 0.1 N HCl에 용해시켜 질소를 충전시킨 후, 100°C에서 5시간 동안 가수분해시켰다. 여기에 3배량의 ethanol을 가해 4°C에서 하룻밤 방치한 후 원심분리하여 얻은 상등액을 동결건조하였다. 이것을 1 ml의 pyridine에 용해시키고 0.2 ml의 hexamethyl disilazane과 0.1 ml의 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(80~100 mesh Shimalite) 3 mm D \times 3 m L borosilicate glass packed column, column temperature; 150~180°C, gradient; 1°C/1 min, detector; flame 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. 시료 4 mg을 1 ml의 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 ml에 용해시켜 이중 50 μ 를 아래의 조건에서 분석하였다. column; Beckman 2.6 mm D \times 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; 2.8 kg/cm², reaction bath temperature; 130°C, wave length; 440 nm, 540 nm, detector; tungsten.

IR spectrum

목적진흡(상황) 버섯의 자실체, 균사체의 열수 추출 및 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.

분자량 측정

0.3 N NaOH에 녹인 시료 200 μ 를 Sepharose CL-4B column(1.6 cm \times 52 cm)에 적용한 후, 1 ml/10 min 유속으로 fraction volume은 2 ml씩 0.3 N NaOH 용액으로 용출하여 gel permeation chromatography(GPC)를 행하였으며, 분자량 측정을 위한 표준물질로는 Sigma사의 dextran(2,000 kD, 500 kD, 124 kD, 9.3 kD)을 사용하였으며, 당의 확인에는 phenol sulfuric acid법을 이용하여 발색시켜 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

다당류의 수율 및 성분

목적진흡(상황) 버섯 자실체 및 균사체 배양물로부터 분획하여 얻어진 다당류들의 수율, 총당, 단백질 및 hexosamine를 측정된 결과는 Table 1과 같다. 다당류 수율은 자실체 열수 추출물(F-TH)은 6.83%, 열수 추출물에 에탄올

Table 1. The yield and compositions of each fraction extracted from fruit body and cultured mycelia of *Phellinus linteus* IY001

| Sample | Yield (%) | Content (%) | | |
|--------|-----------|-------------|---------|------------|
| | | Total sugar | Protein | Hexosamine |
| F-TH | 6.83 | 35.4 | 8.2 | 1.51 |
| F-THE | 2.79 | 54.2 | 6.4 | 1.11 |
| M-HE | 0.30 | 99.2 | 0.2 | 0.62 |
| M-HU | 0.38 | 86.0 | 1.3 | 0.97 |

F-TH: Total fraction of hot water extracted from fruit body, F-THE: Ethanol fraction of hot water extracted from fruit body, M-HE: Ethanol fraction of hot water extracted from cultured mycelia, M-HU: UF fraction of hot water extracted from cultured mycelia.

첨가 다당류 분획(F-THE)은 2.79%로 나타났다. 균사체 배양물의 열수추출 UF 처리 분획(M-HU)은 0.38%, 균사체 배양물의 열수추출 에탄올 침전분획(M-HE)은 0.30%로 나타났다. 위와 같은 결과들로부터 자실체 분획이 균사체 분획보다는 다당류 수율이 높았으며, 균사체를 UF 처리시에는 에탄올로 처리하는 방법보다 약 1.3배 수율 증가가 관찰되었다.

목질진흙(상황) 버섯 자실체와 균사체 배양물로부터 얻어진 다당류들의 총당은 35.4~99.2%의 분포를 나타내었다. 총당의 함량은 자실체 분획보다 균사체 배양물 분획에서 높았으며, 균사체 배양물의 경우 처리방법에 의한 비교시는 UF처리 분획이 에탄올처리 분획보다 당함량이 낮게 나타났다. 자실체 추출물에서 분획한 다당류들의 단백질함량은 6.4~8.2%이며, 균사체 다당류들의 경우는 소량 함유하고 있는 것으로 조사되었다. 한편 당과 단백질의 결합에 관여하는 것으로 알려진 hexosamine은 단백질의 함유량이 높았던 자실체 유래 다당류(F-THE, F-TH)는 1.11~1.51%인데 반하여, 균사체 유래 다당류들(M-HE, M-HU)은 0.62~0.97%를 함유하는 것으로 조사되었다. 이와 같은 결과는 목질진흙(상황) 버섯 유래 다당류들은 당과 단백질이 결합력을 이루고 있는 것으로 추정된다.

구성 당의 조성

목질진흙(상황) 버섯 자실체와 균사체 배양물로부터 분리한 다당류들의 구성 당 분석 결과는 Table 2와 같다. 모든 분획의 단당 조성은 glucose가 주를 이루고 있으며 mannose, galactose, xylose, ribose 및 fructose 등으로 구성되어 여러 가지 당이 결합된 구조를 이루는 hetero polymer 구조의 다당류임을 알 수 있었다. 이 결과는 Kim 등(1994)이 구름버섯과 표고버섯은 주로 glucose가 97%이며, 영지버섯은 주로 glucose와 galactose로 이루어진 것과 달리 목질진흙버섯은 여러 단당으로 이루어졌다는 연구 결과와 유사함을 보이고 있다. 즉 본 연구의 목질진흙(상황) 버섯 유래 다당류는 glucose가 38.5~84.8%를 차지하는 것으로 나타났고, α 와 β 결합은 1:1.02~1.17, β -anomeric의 대조물질로 사용한 curdlan은 1:1.27의 비율로 나타나는 것으로 보아 모든 분획들은 β -결합력을 이루는 다당류들이 보다 많이 존재하

Table 2. Compositions of monosaccharide of each fraction extracted from fruit body and mycelia of *Phellinus linteus* IY001

| Sample | Content (%) | | | | | | | | |
|---------|-------------|-----|-----|-----|---------------|--------------|------|---------------|--------------|
| | Ara | Rib | Xyl | Fru | α -Man | β -Man | Gal | α -Glu | β -Glu |
| F-TH | 0.9 | 5.2 | 7.0 | 3.3 | 5.3 | ND | 28.9 | 18.8 | 19.7 |
| F-THE | 1.1 | 6.5 | 7.7 | 4.6 | 10.0 | 1.7 | 4.7 | 26.8 | 27.4 |
| M-HE | ND | 1.5 | 3.6 | 0.8 | 8.5 | 1.5 | ND | 39.0 | 43.1 |
| M-HU | ND | 0.6 | 2.2 | 0.9 | 8.2 | 1.4 | ND | 39.1 | 45.7 |
| Curdlan | ND | ND | ND | ND | 1.0 | 1.3 | 3.4 | 41.5 | 52.8 |

ND: Not detected.

고 있는 것으로 조사되었다. 특히 균사체에 있어서 에탄올과 한외여과에 의해 얻어진 다당류들(M-HE, M-HU)은 glucose의 함량이 각각 82.1%와 84.8%, α 와 β -glucan의 비율이 1:1.11~1.17로 유사하므로 다당류 수확시 장시간이 소요되는 에탄올처리 방법보다는 단시간 내에 대량으로 처리할 수 있는 한외여과법이 적절하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

구성 아미노산의 조성

목질진흙(상황) 버섯 자실체와 균사체 배양물로부터 분리한 다당류의 아미노산 분석 결과는 Table 3에 나타낸 바와 같이 16여종의 아미노산으로 구성되어 있었다. 자실체와 균사체 배양물로부터 분리한 다당류의 모든 분획들은 공히 산성 아미노산인 Asp, Glu 등과 Gly 및 Ala 등을 많이 함유하고 있는 것으로 조사되었다. 상기와 같은 결과는 일반적인 담자균류 유래 다당류에서 나타나는 아미노산 조성 결과와 유사한 결과를 보임을 알 수 있었다(Manning, 1985).

일반적으로 당과 단백질의 결합은 Ser과 Thr이 개입하는 O-glucosidic 결합과 hexosamine 등과 같은 당아미노산이 관여하는 N-glucosidic 결합이 관여하고 있는 것으로 알려졌다(水野 拓, 1992). 본 실험의 결과에서도 온화한 추출방법인 열수추출 에탄올 분획에서 Ser 함량이 각각 14.2%(F-THE)와 13.8%(M-HE)로 높게 나타나고, Thr도 함유하고 있으므로 모든 다당류 분획들은 당과 단백질이 O-glucosidic 결합을 이루고 있으며, Table 1에서 조사된 바와 같이 hexosamine이 0.62~1.11%를 함유하고 있는 것으로 보아 N-

Table 3. Compositions of amino acids of each fraction extracted from fruit body and cultured mycelia of *Phellinus linteus* IY001

| | Content (%) | | | |
|-----|-------------|-------|------|------|
| | F-TH | F-THE | M-HE | M-HU |
| Asp | 13.4 | 12.1 | 11.1 | 11.4 |
| Thr | 6.3 | 8.8 | 8.3 | 4.8 |
| Ser | 9.8 | 14.2 | 13.8 | 8.6 |
| Glu | 13.4 | 12.1 | 13.8 | 12.3 |
| Pro | 6.3 | 5.5 | 5.6 | 10.5 |
| Gly | 13.4 | 12.1 | 13.8 | 23.6 |
| Ala | 9.8 | 9.9 | 8.3 | 10.5 |
| Cys | 2.7 | 1.1 | ND | 1.0 |
| Val | 0.9 | 2.2 | 2.7 | 1.0 |
| Met | 0.8 | 0.1 | 0.3 | 4.0 |
| Ile | 2.7 | 4.4 | 2.7 | 1.9 |
| Leu | 7.1 | 7.7 | 5.6 | 3.8 |
| Tyr | 1.4 | 1.8 | 1.1 | 0.8 |
| Phe | 2.2 | 2.6 | 1.6 | 1.1 |
| His | 0.9 | ND | 2.7 | 1.9 |
| Lys | 4.5 | 3.3 | 5.6 | 4.8 |
| Arg | 4.5 | 2.2 | 2.7 | 1.9 |

ND: Not detected.

Table 4. Infra-red absorption spectra of each fraction extracted from fruit body and cultured mycelia of *Phellinus linteus* IY001

| Sample | Frequencies of absorption peaks (cm ⁻¹) |
|---------|------------------------------------------------------------------------------|
| F-TH | 3411.5, 2933.4, 1653.0, 1540.7, 1400.1, 1240.3, 1043.4, 918.3, 889.9, 788.0 |
| F-THE | 3388.9, 2936.3, 1653.9, 1540.3, 1419.4, 1252.0, 1072.2, 882.0, 816.3 |
| M-HE | 3436.6, 2925.0, 1652.7, 1558.9, 1540.7, 1419.4, 1153.4, 1025.9, 924.8 |
| M-HU | 3422.2, 2932.1, 1652.7, 1558.7, 1540.5, 1419.2, 1153.4, 1023.9, 941.5, 883.1 |
| Curdlan | 3422.1, 2892.0, 1652.7, 1419.4, 1163.0, 1035.0, 927.4, 887.1, 850.5 |
| Starch | 3397.5, 2932.2, 1646.6, 1420.3, 1154.4, 1014.9, 928.6, 858.4, 765.7 |

glucosidic 결합이 동시에 이루어지고 있는 것으로 조사되었다.

IR spectrum

목질진흙(상황) 버섯 자실체와 균사체 배양물로부터 분리한 고분자 다당류의 결합 양식 및 기본 구조적 특성을 알아보기 위하여 IR을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 일반적으로 β -결합 다당류의 IR 흡수대는 $891 \pm 7 \text{ cm}^{-1}$ 부근에서 나타나고, α -결합은 860 cm^{-1} 부근에서 흡수대를 가지며, α 와 β 가 혼재된 경우에는 870 cm^{-1} 부근에서 peak 흡수대를 보이며, 당의 종류에 따라 약간씩 변경된 흡수대를 갖는 것으로 알려졌다(Brock 등, 1983). 실험 결과는 당류의 일반적인 peak인 3400 cm^{-1} 부근에서의 O-H 신축진동, 2930 cm^{-1} 부근에서의 C-H 신축진동, 1600 cm^{-1} 부근에서의 C=N 신축진동, 1400 cm^{-1} 부근에서의 CH₂ 변각진동 및 1100 cm^{-1} 부근에서의 C-O 변각진동 등의 흡수대를 나타내어 다당류에서 나타나는 일반적인 peak들이 관찰되었다. 대조로 사용한 β -glucan인 curdlan은 887.1 cm^{-1} 에서 흡수대가 나타났으며, α -결합구조인 starch는 858.4 cm^{-1} 부근에서 흡수대가 나타났다. 본 연구에서 자실체 분획(F-THE, F-TH)의 경우는 882 cm^{-1} 와 889.9 cm^{-1} , 균사체 분획인 M-HU와 M-HE의 경우는 883.1 cm^{-1} 과 924.8 cm^{-1} 에서 peak 흡수대를 나타내므로 β -glucosidic 결합력이 상대적으로 다량 함유된 다당류임을 알 수 있었다. 이 결과는 Table 2의 α 와 β 의 결합이 1:1.02~1.17의 비율로서 β 결합력을 이루는 다당류들이 보다 많이 존재하고 있다는 결과와 일치함을 보여주고 있다. 그리고 M-HE는 890 cm^{-1} 부근에서 흡수대를 확인할 수 있었으나 수치상으로는 양이 적어 검출되지 않은 것으로 추정된다.

분자량 분포

목질진흙(상황) 버섯 자실체와 균사체 배양물로부터 분리한 고분자 다당류의 분자량 측정 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4에 나타내었다. 자실체와 균사체 배양물로부터 분리한 고분자 다당류들의 분자량 측정 결과, 자실체 열수추출 총분획(F-TH)은 약 7.2 kD로 저분자에서 main peak를 보이고 있었으며, 자실체 열수추출 에탄올 침전 다당류(F-THE)와 균사체 다당류의 M-HE 및 M-HU 경우는 각각 11.2 kD, 12.6 kD, 12.6 kD로서 비교적 고분자인 12 kD 부근의 평균 분자량

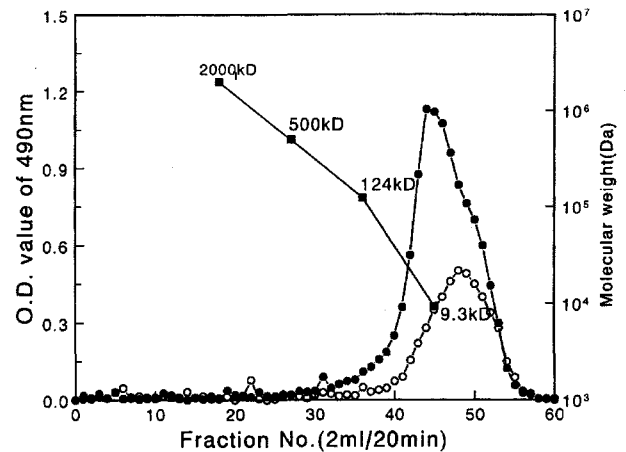


Fig. 3. Chromatogram of the fraction extracted from fruit body of *Phellinus linteus* IY001 on Sepharose CL-4B. (●): F-THE, (○): F-TH.

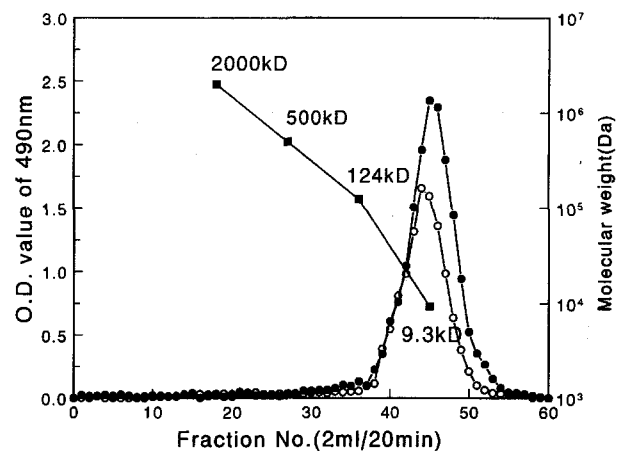


Fig. 4. Chromatogram of the fraction extracted from cultured mycelia of *Phellinus linteus* IY001 on Sepharose CL-4B. (●): M-HU, (○): M-HE.

분포를 나타내었다.

적 요

목질진흙(상황) 버섯 자실체와 균사체 배양물의 열수추출에 의한 다당류의 수율은 자실체분획이 높게 나타났다. 총당은 균사체 분획이 높고, 단백질과 hexosamine은 자실체

분획이 균사체보다 높게 나타났다. 구성 당은 대부분 분획에서 glucose가 주를 이루면서 여러 가지 단당으로 구성되어 있고, 또한 아미노산의 경우 대부분 분획은 Asp, Gly, Glu를 다량 함유하고 있었으며, 당과 단백질의 결합력에 관여하고 있는 Ser과 Thr를 다량 함유하고 있는 것으로 조사되었다. 다당류의 분자량은 12 kD 부근에서 주를 이루고 있었으며, IR spectrum pattern은 다당류의 전형적인 peak 흡수대를 나타냈으며, β -glucan과 α -glucan이 혼재된 다당류인 것으로 추정되나 890 cm^{-1} 부근에서 흡수대가 나타나므로 β -glucosidic 결합이 상대적으로 다량 함유된 β -glucan성 다당류인 것으로 조사되었다. 위의 결과들로부터 목질진흙(상황) 버섯 자실체와 균사체 배양물의 열수추출 및 열수 추출물의 에탄올, UF처리 분획들은 단백질을 함유하고 있는 다당류로 확인되었고, 자실체와 균사체의 성분은 서로 유사한 것으로 조사되었다. 물리화학적 특성과 관련한 항종양 및 면역활성 등의 약리 활성 본태는 이들 다당류에 의해 일어나고 있는 것으로 추정되며, 이들의 약리효과는 그들의 구조적 특징에 의해 결정되는 것으로 추정된다. 따라서 목질진흙(상황) 버섯에 대한 일반적인 인지도가 높음을 고려할 때 매우 가격이 높은 자실체보다는 대량생산이 가능하고 균일한 약리활성을 갖는 균사체 배양물의 UF처리 다당류를 이용하여 기능성 식품 및 의약품으로의 개발이 요망된다고 할 수 있을 것이다.

참고문헌

- 水野 卓, 川合正允: きのこの化学. 生化学, 學會出版 센터, 東京. 1992. pp. 315-321.
- 川村清一. 1975. 原色日本菌類圖鑑. 第一卷. 風間書房.
- Brock, K. and Pedersen, C. 1983. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of monosaccharides. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **41**: 25-36.
- Chung, K. S., Kim, S. S., Kim, H. S., Kim, K. Y., Han, M. W. and Kim, K. H. 1993. Effect of Kp, an antitumor protein-polysaccharide from mycelial culture of *Phellinus linteus* on the humoral immune response of tumor-bearing ICR mice to sheep red blood cells. *Arch. Pharm. Res.* **16**(4): 336-338.
- 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.
- Elson, L. A. and Morgan, W. T. J. 1986. Colorimetric assays of carbohydrates in glycoproteins and glycopeptides. Pp 174-176. *In*: Chaplin, M. F. and Kenned, J. F. Eds. Carbohydrate Analysis. IRL Press, Washington DC.
- Manning, K. 1985. Food value and chemical composition. Pp 211-230. *In*: Flegg, P. B., Spencer, D. M. and Wood, D. A. Eds. The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom. Jone Wiley and Sons Press, Chichester, N. Y., Brisbane, Toronto and Singapore.
- Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N. and Chihara, G. 1968. Antitumor action of some basidio mycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann* **59**: 155-157.
- Kim, Y. S., Park, K. S., Park, H. K. and Kim, S. W. 1994. Compositional sugar analysis of antitumor polysaccharides by HPLC and GC. *Arch. Pharm. Res.* **17**(5): 337-342.
- Lee, J. W., Jeong, H., Jung, C. H. and Lee, K. H. 1990. Effects of alkali extract of *Ganoderma lucidum* IY007 on complement and reticuloendothelial system. *Kor. J. Mycol.* **18**: 137-144.
- Lee, J. W., Jeong, H., Kim, K. N., Lee, S. M., Han, M. D., Lee, S. Y. and Kang, S. M. 1996. Effect of G009 on lipid peroxidation induced by peroxidizer in rats. *J. Appl. Pharmacol.* **4**(3): 244-250.
- Lee, J. H., Cho, S. M., Song, K. S., Han, S. B., Kim, H. M., Hong, N. D. and Yoo, I. D. 1996. Immunostimulating activity and characterization of polysaccharides from *Phellinus linteus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **6**(3): 213-218.
- Lee, J. H., Cho, S. M., Song, K. S., Hong, N. D. and Yoo, I. D. 1996. Characterization of carbohydrate-peptide linkage of acidic heteroglycopeptide with immunostimulating activity from mycelium of *Phellinus linteus*. *Chem. Pharm. Bull.* **44**(5): 1093-1095.
- 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.
- Song, K. S., Cho, S. M., Lee, J. H., Kim, H. M., Han, S. B. and Yoo, I. D. 1995. B-lymphocyte stimulating polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Chem. Pharm. Bull.* **43**(12): 2105-2108.