

*Phellinus igniarius*로부터 분리한 단백다당류의 분리 및 특성

김선희 · 정인창¹ · 권용일² · 김소연 · 이종숙 · 이항우³ · 이재성*

영남대학교 식품가공학과, ¹동해대학 호텔조리과, ²협성농산(주), ³영남대학교 생물학과

초 록 : *Phellinus igniarius*의 배양방법별 균사체 및 단백다당류 생산수율비교 실험에서는 균사체내 다당류의 경우 모두 진탕배양이 효과적이었으나 균사체의 다당류의 경우 다당류 생산에서는 정치배양이 효과적이었다. 다당류의 정제는 조단백다당류를 이용하여 DEAE-cellulose column에 의한 1차 정제를 행하였고, 최종으로 Sepharose 2B를 이용한 2차 정제를 실시하여 최종적으로 균사체내 단백다당류의 탈이온수 분획물(PIIPDG)과 알칼리분획물(PIIPAG), 균사체의 단백다당류의 탈이온수 분획물(PIEPDG)과 알칼리 분획물(PIEPAG)을 얻었다. 이때의 정제 수율은 1차 정제에서 40%의 회수율을 나타내었으며 2차 정제에서는 38~61%의 높은 회수율을 보였다. PIEPDG는 총당 79.0%, 총단백질 7.2%, PIEPAG는 총당 56.7%, 총단백질 40.8%, PIIPDG는 총당 64.8%, 총단백질 17.4%, PIIPAG는 총당 56.9%, 총단백질 41.5%으로 측정되었다. 각 단백다당류의 분자량은 PIEPDG 166KDa에서 PIEPAG 565KDa까지 모두 10만이 넘는 거대분자로 나타났다. 각 분획물의 단당류 조성을 볼때, PIEPDG는 glucose, PIIPDG와 PIIPAG는 glucose, inositol, PIEPAG는 glucose, fructose, inositol이 검출되었다. (1999년 7월 14일 접수, 1999년 11월 3일 수리)

서 론

Phellinus igniarius(L.ex Fr.) Quel.은 진흙버섯과, 진흙버섯속에 속하는 다년생균으로 주로 백양나무와 버드나무 등의 활엽수 나무 몸통 위에서 자라며, 한국 및 전세계적으로 분포하고, 가을철에 거두어 절편한 후 햇볕에 말려 사용한다. 효능은 소화기 계통의 암인 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암을 비롯한 간암의 절제 수술 후 화학요법을 병행할 때 면역기능을 향진시키며, 자궁출혈 및 대하, 장출혈, 오장 및 위장 기능을 활성화시키고 해독하는 작용을 한다.¹⁾ 단지 뽕나무 위에서 자라는 것을 상황(桑黃)이라고 부르는데, 동종의 다른 나무 위에서 자라는 것 또한 유사한 효과가 있는 것으로 나타났다.^{2,4)}

최근 많은 연구자들이 담자균에서 추출한 다당류의 항암효과에 관해 많은 연구를 하고 있으며, *Phellinus*속 담자균에 관한 연구는 1960년대에 Shoji 등⁵⁾이 몇가지 담자균의 추출물에서 항암효과를 연구하였는데 그중에서 *Phellinus igniarius*가 Sarcoma-180에 대하여 87.4%의 종양억제율을 지니는 것으로 보고하였다. 그러나 그 이후 *Phellinus*속 담자균의 자실체가 아주 희귀하고 인공재배가 되지 않아 연구발표가 거의 없는 실정이었다. 1990년대에 이르러 송 등⁶⁾이 *Phellinus linteus*의 균사체에서 2차 대사산물에 대한 화학적 연구를 하였고, 이 등⁷⁾은 *Phellinus linteus*의 배양조건에 따른 다당류 생산 및 단당류 구성 변화를 연구하는 등 균사체에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 또한 송 등⁷⁾은 톱밥 종균을 이용하여 원목에서 자실체의 인공재배를 성공시켰으며, 정 등⁸⁾은 *Phellinus igniarius*의 인공

배지 조성 및 고체배양조건을 확립하여 건강식품의 소재로 이용하는 등, 여러 분야에 많은 기여를 하고 있다.^{9,10)}

본 실험에서는 *Phellinus igniarius*의 균사체내 단백다당류와 균사체의 단백다당류의 생산성 및 특성을 조사하여 이 균주를 고체 발효에 이용하여 기능성 식품을 개발하는 연구에 기초자료를 마련하고자 한다.

재료 및 방법

균주

본 실험에 사용된 담자균은 농업과학기술연구원 응용미생물과에서 *Phellinus*속종 *Phellinus igniarius* 26005를 분양받아 사용하였다.

균사체 배양방법

본 실험에 사용된 배지는 정 등¹¹⁾, 이 등¹²⁾이 확립한 PIM 배지(Malt extract 7%, Bacto soytone 0.3%, Yeast extract 0.2%)를 사용하였다. 배지는 500 ml 삼각 플라스크에 200 ml씩 분주하여 멸균하였으며, 접종원은 300 ml 삼각 플라스크에 배지 200 ml를 넣고 멸균한 후 고체배지에서 생육한 4×4 mm 크기의 균사체 덩어리를 5개 넣고 7일간 액체배양을 하여 균사체를 얻었고, 균사체 접종은 액체배양된 접종원을 homogenizer (Nissei AN-11, Japan)로 10초간 균질하여 5 ml씩 접종하여 28 °C에서 20일동안 정치 및 진탕배양을 실시하였다. 진탕배양을 위해서 shaking incubator(120 rpm, Hanback scientific Co., HB201S, Korea)를 사용하여 배양한 후, 각각의 균사체를 회수하여 증류수로 3회 씻은 후 동결건조하여 균사체의 무게를 비교하였다.

다당류의 추출

배양된 균사체는 배양액과 분리 후 증류수로 배양액을 잘 씻

찾는 말 : *Phellinus igniarius*, 균사체내 다당류, 균사체의 다당류, 단백다당류

약어 : PI, *Phellinus igniarius*; IP, Intracellular Proteoglycan; EP, Extracellular Proteoglycan; A, Alkaline solution fraction; D, Deionized water fraction; G, Gel filtration fraction

*연락처 : Tel : 053-810-2955, Fax : 053-816-7365

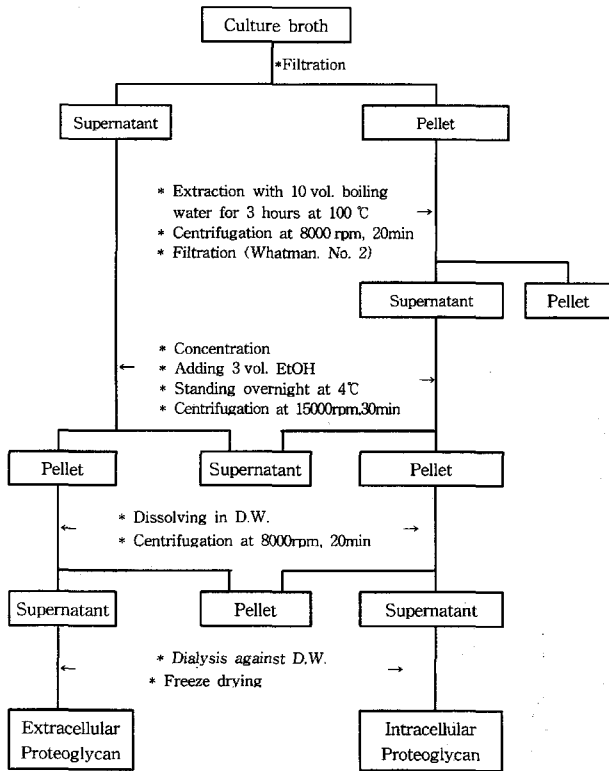


Fig. 1. Extraction procedure for intra and extracellular Proteoglycan.

어내고 동결건조하여 균사체의 무게를 비교하였다. 배양액과 균사체로부터 조단백 다당류의 추출은 김¹³⁾의 방법에 따라 실시하였다(Fig. 1).

다당류의 분리 및 정제

다당류의 정제는 우선 조단백다당류 분말 1g을 탈이온수에 용해시켜 원심분리한 상정액을 잘 수세된 DEAE-cellulose(anion form) column(25×600, id, mm)에 loading하여 탈이온수를 1 ml/min의 유속으로 용출시켜 8 ml/씩 분획하였으며, 비흡착성을 가진 다당류의 용출을 위하여는 0.1 N-NaOH용액을 사용하여 동일 유속의 조건으로 분획을 실시하였다. 이와 같이 1차 정제를 행한 각 분획은 phenol-sulfuric acid 법을 이용하여 490 nm에서 당을, 280 nm에서는 단백질 성분을 확인하였다. 용출한 분획 중 당단백이 확인된 분획은 0.1 N-oxalic acid로 중화시켜 흐르는 물에 3일간 투석하고 감압농축한 후 동결건조하여 미백색의 건조분말을 얻었다. 그 다음으로 1차로 정제된 각 분획(PIEPD, PIEPA, PIIPD, PIIPA)의 건조된 분말 1g을 0.1 N sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 녹여 Sepharose 2B gel을 충전시킨 column(25×600, id, mm)에 loading하여 0.1 N sodium phosphate buffer(pH 7.0)로 1 ml/min의 유속으로 용출시켜 5 ml/씩 분획하여 2차정제를 실시하였다. 이때 당단백이 확인된 각 분획은 흐르는 물에 3일간 투석하고 감압농축하여 동결건조하였다.

다당류의 총당 및 총단백질 정량

총당의 정량분석은 Dubois 등¹⁴⁾의 방법에 준하여 phenol-

sulfuric acid법으로 실시하였다. 총단백질의 정량분석은 Bradford¹⁵⁾방법에 따라 실시하였다.

다당류의 분자량 측정

2차정제된 다당류의 분자량측정은 정제된 분말을 0.1 N sodium phosphate buffer(pH 7.0)로 평형시킨 Sepharose 2B column(2×95 id, cm)에 blue dextran(MW. 2,000,000)을 이용하여 void volume(Vo)을 구하고 column을 완전히 수세한 후 표준다당류와 각각의 시료를 혼합해서 주입한 후 각각의 elution volume(Ve)을 구하였다.

표준 dextran의 분자량에 대하여 Ve/Vo값을 plot한 검량선과 대비하여 다당류의 분자량을 측정하였다. 이때 표준품은 blue dextran(MW 2,000,000, Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA)), MW 515,000과 260,000(Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA))의 dextran을 사용하였다.

단당류 분석

Gel filtration을 통해 다당류로 확인된 분획을 2 N HCl용액으로 100°C에서 8시간 가수분해시켜 여과한 후, 그 여액을 동결건조시킨 다음 이 시료에 대한 단당류 분석을 HPLC (Instrument: Young-In 9500 Korea, column: Rezex RNM <7.8×300, id, mm>, column temperature: 85°C, mobile phase: water, flow rate: 0.6 ml/min, RI detector: RID-6A, Shimazu, sample injection volume: 20 µl)로 행하였고, 각 표준당(농도 0.1 %)에 대해서도 같은 방법으로 행하였다.

아미노산 분석

다당류분획은 6 N HCl용액으로 105°C에서 24시간 가수분해시켜 여과한 후 여액을 동결건조시켰다. 이것을 eluent용액으로 희석해서 아미노산 분석기(Instrument: Biochrom 20 amino acid analyzer, column: High resolution <4.6×250, id, mm>, eluent: Lithium-citrate buffer, flow rate: 20 ml/h, detector: UV <570 nm, 440 nm>, column temperature: 35~80°C, sample injection volume: 10 µl)에 주입하여 분석을 행하였으며 각 표준 아미노산(농도 250 pmol)에 대해서도 같은 방법으로 행하였다. 이때의 아미노산의 정량은 표준 아미노산의 표준정량곡선에 대입하여 계산하였다.

결과 및 고찰

배양방법에 따른 균사체 수율

일반적으로 담자균의 균사체내 다당류가 균사체의 세포벽 부분에 분포하고 있으므로 균사체의 수율을 높이는 배양방법을

Table 1. The yields of intracellular and extracellular proteoglycan produced from submerged mycelial culture of *Phellinus igniarius* on different culture methods (unit : g, dry weight/l)

Culture	Cell mass	intracellular polysaccharide	extracellular polysaccharide
Shaking	6.97±0.21	0.34±0.05	1.08±0.04
Standing	4.50±0.15	0.35±0.04	6.45±0.11

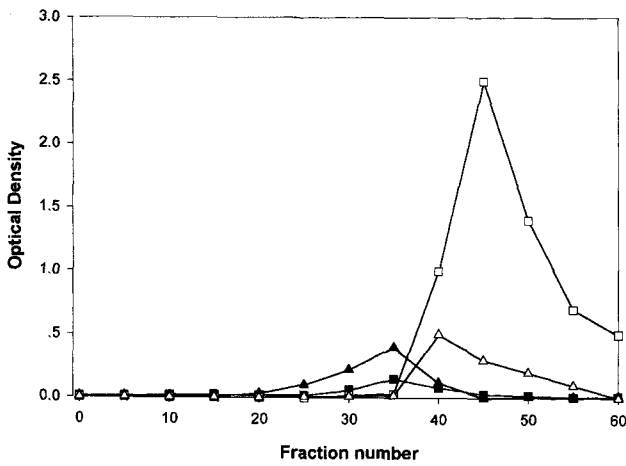


Fig. 2. The DEAE-cellulose ion exchange chromatogram of extracellular proteoglycan produced by *Phellinus igniarius*. The column operations were carried out at the following conditions. The eluent was deionized water and 0.1N NaOH. (flow rate: 1 ml/min, volume: 8 ml/tube) Fractions are referred to table 2. ■; PIIPD(280 nm), ▲; PIIPD(490 nm), □; PIIPA(280 nm), △; PIIPA(490 nm).

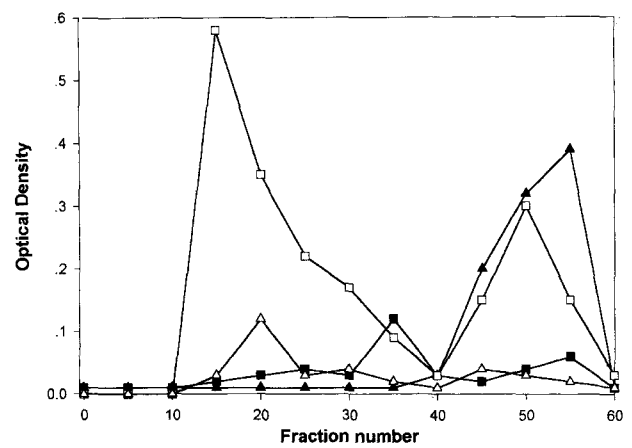


Fig. 4. The Sepharose 2B chromatogram of extracellular proteoglycan produced by *Phellinus igniarius*. The column operations were carried out at the following conditions. The eluent was 0.1N sodium phosphate buffer (flow rate: 1 ml/min, volume: 5 ml/tube) Fractions are referred to table 2. ■; PIIPD(280 nm), ▲; PIIPD(490 nm), □; PIIPA(280 nm), △; PIIPA(490 nm).

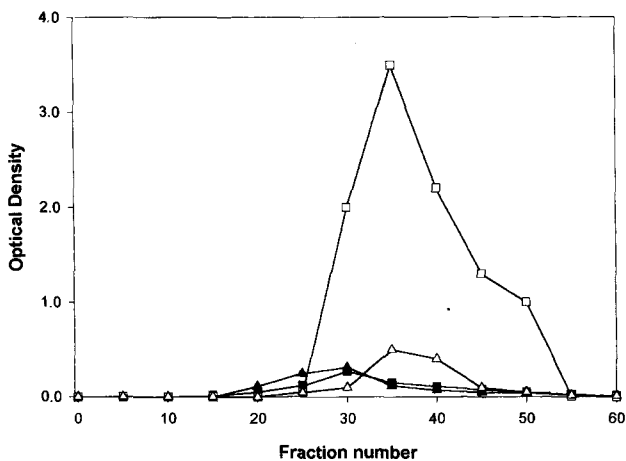


Fig. 3. The DEAE-cellulose ion exchange chromatogram of intracellular proteoglycan produced by *Phellinus igniarius*. The column operation and conditions are the same as Fig. 2. Fractions are referred to table 2. ■; PIIPD(280 nm), ▲; PIIPD(490 nm), □; PIIPA(280 nm), △; PIIPA(490 nm).

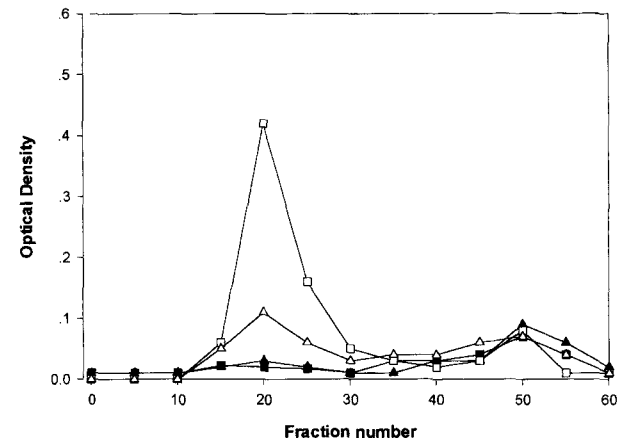


Fig. 5. The Sepharose 2B chromatogram of intracellular proteoglycan produced by *Phellinus igniarius*. The column operation and conditions are the same as Fig. 4. Fractions are referred to table 2. ■; PIIPD(280 nm), ▲; PIIPD(490 nm), □; PIIPA(280 nm), △; PIIPA(490 nm).

찾기위하여 정치배양과 진탕배양을 실시하였다. 각 배양방법에 따른 균사체의 양을 비교하면 진탕배양의 경우, 6.97 g/l로 정치배양때의 4.50 g/l보다 높게 나타났으며, 이 등¹⁶⁾이 진탕배양법에 의한 표고버섯 균사체의 생산을 실험한 결과와 유사하였고 호기성균인 담자균이 진탕배양에 의하여 공기와의 접촉이 원활하였기 때문으로 사료되었다.

배양방법에 따른 다당류 함량

배양방법이 다당류의 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각각의 다당류를 수거하여 동결건조시킨 후 건조량을 확인하였다(Table 1). 균사체에서 추출된 다당류의 수율은 진탕배양시의 양이 정치배양하였을 때의 양과 비교하여 차이가 거의 없는 것으로 나타났으나, 균사체의 다당류의 경우 정치배양에서 아주 높은 생산수율을 나타내었다. 이 결과에서 볼 때, 균사체내 다

당류는 균사체벽에 존재하므로 정치배양한 균사체에서 다당류가 많이 생산된 것은 정치배양이 균사체벽 성장에 효과적임을 알 수 있다. 진탕배양의 경우 빠른 길이생장으로 인해 배지의 고갈과 균사체의 다당류의 함량이 낮게 나타났다. 이는 한 등¹⁷⁾이 장기간 배양된 균사체의 경우, 배지의 고갈로 인한 부족한 성장물질을 균사체에서 분비한 다당류를 재사용함으로써 계속 성장해 간다고 한 보고나 Bush와 Horisberger¹⁸⁾가 장기간 배양된 균사체의 경우, 배지로 분비되는 수용성 glucan의 양이 감소되며, 이는 균사체로부터 β-(1→3) glucanase가 균체의외로 분비되어 수용성 균체의 다당류를 분해시키고, 분해된 산물들은 세포벽성 다당류 합성에 재사용되었기 때문이라고 하는 보고에서 그 원인을 찾을 수 있겠다. 담자균의 종류에 따라서 다당류의 생산수율을 증가시키기 위해서는 균사체의 길이생장에 유리한 진탕배양과 균사체 벽 성장에 효과적인 정치배양에서 선택이 중요한 문제라고 생각된다. 물론, 전체 균사체의 생산량

Table 2. Purification data for intra and extracellular proteoglycan produced by liquid culture of *Phellinus igniarius*

Purification step	Amount(g/l)	Stepwise recovery(%)
Crude proteoglycan ^A		
Extracellular polysaccharide	1.08±0.04	
Intracellular polysaccharide	0.34±0.05	
Ion exchange chromatography ^B		
Extracellular proteoglycan		
PIEPD	0.09 ^a	9
PIEPA	0.13 ^a	13
Total amount	0.22	22
Intracellular proteoglycan		
PIIPD	0.08 ^a	8
PIIPA	0.10 ^a	10
Total amount	0.18	18
Size exclusive gel filtration ^C		
Extracellular		
PIEPDG	0.61 ^b	61
PIEPAG	0.41 ^b	41
Intracellular		
PIIPDG	0.45 ^b	45
PIIPAG	0.39 ^b	39

^AHot water extraction-Ethanol precipitation-Freeze dried.

^BDEAE-cellulose chromatography.

^CSephrose-2B gel filtration.

^aYield obtained from 1g of crude proteoglycan.

^bYield obtained from 1g of the corresponding partially purified samples.

*PIEPD: *Phellinus igniarius* Extracellular Proteoglycan Deionized water fraction.

PIEPA: *Phellinus igniarius* Extracellular Proteoglycan Alkaline solution fraction.

PIIPD: *Phellinus igniarius* Intracellular Proteoglycan Deionized water fraction.

PIIPA: *Phellinus igniarius* Intracellular Polysaccharide Alkaline solution fraction.

PIEPDG: PIEPD Gel filtration fraction, PIEPAG: PIEPA Gel filtration fraction.

PIIPDG: PIIPD Gel filtration fraction, PIIPAG: PIIPA Gel filtration fraction.

**All of the partial purification methods were described above the material and method.

과 다당류의 수율을 종합적으로 평가하여야 한다.

다당류의 분리 및 정제수율

본 실험을 통해 균사체내외에서 분리된 단백다당류는 DEAE-cellulose(OH form)를 충전한 column을 이용하여 얻어진 1차 정제 분획물과 Sepharose 2B column으로 gel filtration하여 회수한 2차정제 분획물에 대한 결과를 Table 2에 나타내었다.

다당류를 DEAE-cellulose(OH form)를 충전한 column을 통해서 분획한 경우, 균사체의 다당류의 탈이온수 분획물(*Phellinus igniarius* Extracellular Polysaccharide Deionized water fraction; 이하 PIEPD) 9.3% 및 0.1 N NaOH 분획물(*Phellinus igniarius* Extracellular Polysaccharide Alkaline solution fraction; 이하 PIEPA) 12.8%의 회수율을 얻었고, 균사체내 다당류의 탈이온수 분획물(*Phellinus igniarius* Intracellular Polysaccharide Deionized water fraction; 이하 PIIPD)의 회수

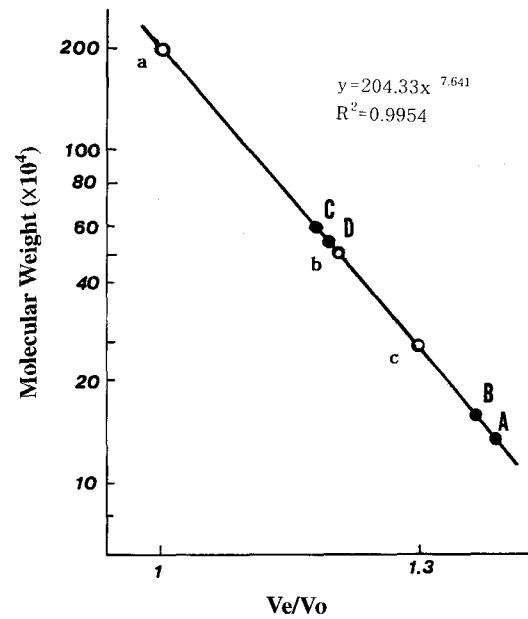


Fig. 6. Determination of molecular weight of each fraction by Sepharose 2B gel filtration.

Vo: void volume, Ve: elution volume of each fraction.

a: blue dextran (MW 2,000,000).

b: dextran (MW 515,000).

c: dextran (MW 260,000).

A: PIEPDG, B: PIIPDG, C: PIEPAG, D: PIIPAG.

Fractions are referred to table 2.

율은 8.4%, 0.1 N NaOH 분획물(*Phellinus igniarius* Intracellular Polysaccharide Alkaline solution fraction; 이하 PIIPA)은 10.1%의 회수율을 각각 나타내었다.

이들 분획물들을 농축한 다음, Size exclusive gel filtration 한 결과, 거의 순수한 단백다당류를 얻을 수 있었는데, PIEPD의 gel filtration 분획물(PIEPD Gel filtration fraction; 이하 PIEPDG)은 61.2%의 회수율, PIEPA의 gel filtration 분획물(PIEPA Gel filtration fraction; 이하 PIEPAG)은 41.4%의 회수율, PIIPD의 gel filtration 분획물(PIIPD Gel filtration fraction; 이하 PIIPDG)은 45.1%의 회수율, PIIPA의 gel filtration 분획물(PIIPA Gel filtration fraction; 이하 PIIPAG)은 38.6%의 회수율을 각각 얻었다.

다당류의 총당 및 총단백질 정량

정제된 단백다당류의 총당과 총단백질 함량은 Table 3과 같다. 알칼리 분획물이 탈이온수 분획물보다 총당과 총단백질의 함량이 높게 나타났는데, PIEPDG에서의 총당 34.5%, 총단백질 7.2%로 알칼리 분획물인 PIEPAG의 56.7%, 40.8%보다 모두 낮았으며 또한 PIIPDG도 32.4%, 17.4%로 PIIPAG의 41.5%, 56.9%보다 낮게 나타났다. 한편, 각 분획물의 총당과 총단백질 함량이 크게 다르게 나타났는데, 이 등¹⁹⁾의 보고에 의하면, *Phellinus igniarius*의 총다당류에서의 면역증강효과에 대해 우선 항체 생성세포에 미치는 영향을 보았을 때, 균사체내 총다당류는 46-50%정도의 증강효과를 보였으며 균사체내 총다당류의 경우, 68-100%의 증강효과를 나타내었다. 또한 복강침출세포, 비장세포, 단세포임파구에 대한 탐식능을 관찰한 결

Table 3. Total sugar and protein content of various fractions

(unit : %)		
Fraction	Total sugar	Total protein
PIEPDG	79.0	7.2
PIIPDG	64.8	17.4
PIEPAG	56.7	40.8
PIIPAG	56.9	41.5

*Fractions are referred to table 2.

Table 4. Monosaccharide content of the proteoglycan moiety of various fractions

(unit : %)			
Fraction	Glucose	Fructose	Inositol
PIEPDG	96.07	N.D.	N.D
PIIPDG	78.74	N.D.	18.30
PIEPAG	24.98	40.45	31.13
PIIPAG	27.62	N.D	69.08

*N.D. : not detected** Fractions are referred to table 2.

Table 5. The amino acid composition of the protein moiety of various fractions

(unit : %)				
Amino acids	PIEPDG	PIIPDG	PIEPAG	PIIPAG
Aspartic acid	92.492	62.447	16.814	13.709
Threonine	0.405	2.742	5.165	11.107
Serine	-	2.116	-	-
Glutamic acid	0.380	5.039	2.942	8.990
Proline	0.786	2.911	6.197	7.368
Glycine	0.101	0.489	1.129	1.444
Alanine	0.241	2.421	2.82.	4.731
Cystine	0.494	8.516	3.913	10.79
Valine	0.076	0.217	-	0.463
Methionine	0.202	1.501	0.311	4.333
Isoleucine	0.025	0.136	1.489	0.297
Leucine	0.063	2.443	0.684	2.356
Tyrosine	0.164	0.119	1.227	6.31
Phenylalanine	0.139	0.419	0.403	1.000
Histidine	0.076	0.849	0.622	2.236
Lysine	0.012	0.223	0.042	0.869
Ammonia	0.038	0.049	0.165	0.274
Arginine	4.299	7.357	56.071	23.719

*Fractions are referred to table 2.

과, 균사체내의 다당류 모두 30-42% 정도의 탐식기능을 강화 시킴을 보고하고 있다. 이러한 결과로부터 총다당류 뿐만 아니라 각 분획물에 대한 면역증강효과도 차이가 있으리라 보이는 바, 앞으로 당과 단백질 성분 및 함량이 면역체계에 미치는 영향을 밝히기 위하여 각 분획의 *in vivo* 기능성 검정을 수행하여야 된다고 생각한다.

다당류의 분자량

다당류의 분자량은 Fig. 6에서 보는 바와 같이, PIEPDG는 166KDa, PIIPDG는 188KDa, PIEPAG는 565KDa, PIIPAG는 513KDa로 나타났고, 수용성 분획물 다당체가 0.1 N NaOH로 분획된 다당체보다는 낮았다. 본 실험에서 얻은 모든 분획물의 분자량은 조 등²⁰⁾이 발표한 *Fomitella froxinea* 자실체로부터 열

수 추출한 다당류의 분자량인 8,700Da과 15,000Da에 비해 아주 크게 나타났으며, 이 등²¹⁾이 영지에서 추출한 면역 다당체의 분자량이 10만 이상이라고 보고한 것과 같은 결과를 보였다.

한편, Miyazaki²²⁾는 최근 상황버섯의 균사체로부터 항암 면역 활성을 나타내는 다당류를 얻었는데, 균사체의 열수 추출물이 *in vitro*에서 β -lymphocyte가 관여하는 human immune response에 강한 활성을 갖는데는 분자량 15만 정도의 분자량이 필요하며, 당이 필수적 요소임을 밝히기도 하였다.

다당류의 단당류 조성

각 분획물의 단당류 분석 및 조성은 Table 4와 같다. PIEPDG는 glucose만으로 구성된 homoglycan이었고 PIIPDG는 glucose와 inositol, 그의 분획물들은 glucose와 fructose, inositol로 구성되어 있는 것으로 나타났으며, 이 결과는 종이 다른 담자균들에서 얻은 다당류의 조성결과와는 확실한 차이가 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 조 등²⁰⁾이 담자균류가 분비하는 다당류 및 단당류의 성분 특성을 조사하였을 때, 장수버섯 유래의 각 분획에 대한 당성분은 glucose, fucose, galactose, mannose등으로 구성된 heteroglycan이며 또한 사용되는 균주, 추출용매, 추출온도 및 추출 용매의 농도 등 다양한 요인에 의하여 다당류의 구성이 결정된다고 보고한 결과로 보아 산업적으로 이용할 때는 다양한 조건에 의한 연구를 선행하는 것이 필요하다.

아미노산 조성

다당류에 결합된 단백질의 아미노산 조성은 Table 5와 같이 aspartic acid, glutamic acid, arginine등 17종이었으며, 표준 아미노산에 대한 peak area측정법으로 계산하여 백분율로 환산하였다. 탈이온수 분획물중 PIEPDG와 PIIPDG에서는 산성 아미노산인 aspartic acid의 함량이 높았으며, 알카리 분획물인 PIEPAG와 PIIPAG에서는 serine이 거의 나타나지 않았고, PIEPAG분획물에서는 valine과 isoleucine이 소량 함유되었으며, 알카리 분획물에서는 염기성 아미노산인 arginine의 함량이 높게 나타났다.

아미노산 역시 다당류의 조성과 같이 각 분획의 기능성에 영향을 미치는 가에 대한 검토는 분획간의 기능성 검정이 수행될 때 가능할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술처 선도기술개발사업비의 지원에 의하여 수행된 결과의 일부로서 이를 수행할 수 있도록 지원하여 주신 것에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kim, B. K., Kim, Y. S., Sok, S. J. J., Sung, M., Sin, J. Y., An, Y. N. and Han, J. H. (1995) In 'Mushroom Health Diet, The Effect of *Phellinus igniarius*', 161, Garang Publishing Co, Korea. (In Korean)
2. Lee, J. H., Cho, S. M., Ko, K. S. and Yoo, I. D. (1995) Effect

- of cultural condition on polysaccharide production and its monosaccharide composition in *Phellinus linteus* L13202. *Kor. J. Mycol.* **23**, 325-331.
3. Kang, B. S. (1994) In 'Chinese Bonchodogam', Vol. 1, 274, Chunggang Publishing Co., Korea. (In Korean)
 4. Kim, S. S. and Kim, Y. S. (1990) In 'Korean Mushrooms', Yupung Publishing Co., Korea. (In Korean)
 5. Shoji, S., Yoshihiro, M., Cheno, F. M., Fumiko, F. and Miyako, N. (1968) Antitumor studies on some extracts of basidiomycetes, *GANN.* **59**, 159-161.
 6. Song, K. S., Cho, S. M., Ko, K. S., Han, M. W. and Yoo, I. D. (1994) Secondary metabolites from the mycelial culture broth of *Phellinus linteus*. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **37**, 100-104.
 7. Song, C. H., Moon, H. Y. and Ryu, C. H. (1997) Artificial cultivation of *Phellinus linteus*. *Kor. J. Mycol.* **25**, 130-132.
 8. Jung, I. C., Kim, S. H., Kwon, Y. I., Kim, S. Y., Lee, J. S., Park, S., Park, K. S. and Lee, J. S. (1997) Cultural condition for the mycelial growth of *Phellinus igniarius* on chemically defined medium and grains, *Kor. J. Mycol.* **25**, 133-142.
 9. Jong, S. C. and Birmingham, J. M. (1992) Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. *Advances in Applied Microbiology* **37**, 101-134.
 10. Jung, I. C., Kim, S. H., Kwon, Y. I., Kim, S. Y., Lee, J. S., Park, S., Park, K. S. and Lee, J. S. (1997) Cultural condition for the mycelial growth of *Phellinus igniarius* on chemically defined medium and grains. *Kor. J. Mycol.* **25**, 133-142.
 11. Jung, I. C., Kim, S. H., Kwon, Y. I. and Lee, J. S. (1996) Cultural condition for the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* on cereals. *Kor. J. Mycol.* **24**, 81-88.
 12. Lee, J. S., Park, S. and Park, K. S. (1989) Optimization of media composition and cultivation for the mycelial growth of *Agrocybe cylindracea*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **21**, 399.
 13. Kim, S. H. (1997) Characteristic and immunopotentiating effect of polysaccharides extracted from Basidiomycetes, Ph. D. Thesis, Yeungnam university,
 14. Chaplin, M. F. and Kennedy, J. F. (1986) In 'Carbohydrate Analysis, A Practical Approach', IRL Press, Oxford and Washington, D. C., 2.
 15. Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
 16. Lee, B. W., Im, G. H., Kim, D. W., Park, K. M., Son, S. H. and Son, T. H. (1993) Cultural characteristics and pilot scale fermentation for the submerged mycelial culture of *lentinus edodes*. *Kor. J. of Appl. Microbiol. and Biotech.* **6**, 609-614.
 17. Han, M. D., Jeong, H., Lee, J. W., Back, S. J., Kim, S. U. and Yoon, K. H. (1995) The Composition and bioactivities of ganoderan by mycelial fractionation of *Ganoderma lucidum* IY 009. *Kor. J. Mycol.* **23**, 285-297.
 18. Bush, D. A. and Horisberger, M. (1972) Structure of a β -D-glucan from the mycelial wall of Basidiomycetes QM 806. *Carbohydrate Res.* **22**, 361-367.
 19. Lee, J. S. (1997) Scale up Culture and Development of Functional Food with Higher Fungi. Report of G-7 Project. 37-49.
 20. Cho, S. M., Lee, J. H., Han, S. B., Kim, H. M., Yoo, S. H. and Yoo, I. D. (1995) Immuno-stimulating Polysaccharides from the fruiting bodies of *Fomitella fraxinea*(II)-isolation and characterization of hot-water extracted polysaccharides. *Kor. J. Mycol.* **23**, 340-347.
 21. Lee, K. H., Lee, J. W., Han, M. D., Jung, H. and Oh, D. H. (1994) Pharmacological, toxicology studies of antitumor polysaccharides obtain from *Ganoderma lucidum* IY 009, *Kor. J. of Appl. Microbiol. and Biotech.* **22**, 190-196.
 22. Miyazaki, T. (1990) Mycological β -glucan, In 'Structure and Biological Activity of Polysaccharides', Chap. 1, Asakura Shoten, Japan. (In Japanese)

Characteristics and purification of proteoglycan from *Phellinus igniarius*

Seon-Hee Kim, In-Chang Jung¹, Yong-Il Kwon², So-Yeun Kim, Jong-Suk Lee, Hang-Woo Lee³ and Jae-Sung Lee*(Dept. of food science and technology, Yeungnam University, Kyungsan 712-749, Korea; ¹Dept. of Hotel culinary art, Tonghae Junior College, Tonghae 240-150, Korea; ²Hyupsungnongsan Co., Ltd, Taegu 704-170, Korea; ³Dept. of Biology, Yeungnam University, Kyungsan 712-749, Korea)

Abstract: The proteoglycan, intracellular and extracellular, extracted from the liquid culture of *Phellinus igniarius* were purified and characterized. The mycelial productivity was proved to be better in shaking culture compared to standing culture. The productivity of intracellular proteoglycan of *Phellinus igniarius* appeared to be similar in two culturing methods. The standing culture of *Phellinus igniarius* produced 6 times as much extracellular proteoglycan compared to shaking culture. The proteoglycan were purified to a single peak by ion exchange chromatography(DEAE-cellulose) followed by gel filtration(Sepharose 2B). PIEPDG contained 79.0% total sugar and 7.2 % protein. PIEPAG contained 56.7% total sugar and 40.8% protein. PIIPDG contained 64.8% total sugar and 17.4% protein. PIIPAG contained 56.9% total sugar and 41.5% protein. The molecular weights of all the fractions were estimated to be above 100,000, from 134KDa of PIEPDG to 560 KDa of PIEPAG. The results of sugar analysis by HPLC showed that PIEPDG contains glucose only. The sugar part of PIIPDG and PIIPAG were consisted of glucose and inositol. The PIEPAG contained three kinds of monosaccharides, glucose, fructose and inositol.

Key words : *Phellinus igniarius*, intracellular proteoglycan, extracellular proteoglycan

*Corresponding author