

## 표고버섯 균사체의 생산과 당뇨 유발 흰쥐에 대한 혈당강하 효과

양병근<sup>1\*</sup> · 김동현 · 송치현

대구대학교 생물공학과, <sup>1</sup>농산물 저장·가공 산업화 연구센터

## Production of *Lentinus edodes* Mycelia in Submerged Culture and Its Hypoglycemic Effect in Diabetic Rats

Byung-Keun Yang<sup>1\*</sup>, Dong-Hyun Kim and Chi-Hyun Song

Department of Biotechnology, <sup>1</sup>Research Center for Processing & Application of Agricultural Products, Taegu University, Kyungsan, Kyungbuk 712-714, Korea  
(Received May 31, 2002)

**ABSTRACT:** The optimum conditions for the production of *Lentinus edodes* mycelia and its hypoglycemic effect was studied. Optimum pH and temperature for the production of mycelia in shaken flask culture were 5 and 30°C, respectively, for 24 days cultivation. Culture period for maximum production of mycelia (8.13 g/l) in 5-l jar fermenter cultivation was shortened as much as 6 days compared to shaken flask culture. The mycelial dose of 5% proved almost equally effective in lowering the plasma glucose, total cholesterol, and triglyceride level as much as 23.0, 20.7, and 27.1%, respectively. The values of alanine transaminase and aspartate transaminase were also estimated and exhibited a substantial reduction (29.6 and 34.3%, respectively) in activity after the administration of dried mycelia.

**KEYWORDS:** Hypoglycemic effect, *Lentinus edodes* mycelia, Submerged culture

표고버섯(*Lentinus edodes*)은 담자균류에 속하는 버섯으로써, 식용적인 가치 뿐만 아니라 항종양(Chihara *et al.*, 1969), 항콜레스테롤(Suzuki and Oshima, 1976), 항바 이러스(Yamamura and Cochrane, 1976) 및 면역증강(Suzuki *et al.*, 1990) 등의 효과로 인해 현재에는 기능성 식품, 건강식품 및 다이어트식품 등으로 주목을 받고 있다. 또한 표고버섯 자실체에서 분리된 다당류의 일종인 lentinan은 세포 면역반응을 촉진시키고 강력한 항암효과가 있으며(Maeda and Chihara, 1971), 최근에는 tumor necrosis factor(TNF)로 인한 발열, 빈혈 등의 전신 쇠약증상을 완화하는 것으로 보고되고 있다(Tamura *et al.*, 1997).

최근 우리나라는 과거에 비해, 경제적 발전에 따른 식생활 패턴의 변화로 인한 동물성 식품의 섭취 증가로 인해 비만, 고혈압, 동맥경화, 당뇨병 등의 만성퇴행성질환이 주요 사망원인으로 나타나고 있다. 그 중 당뇨병은 날이 갈수록 증가하는 추세를 보여 심각한 문제로 등장하고 있다. 당뇨병은 내분비계 hormone인 insulin의 분비 이상으로 혈중 포도당이 에너지원으로 이용되지 못하고 그 농도가 이상수준이 되어 뇨로 배설되는 증상으로 당질대사, 단백질대사 및 지질대사의 이상을 초래하므로(Wahren *et al.*, 1972; Saudek and Eder, 1979), 치료하기 어려운 질병으로 약물치

료와 함께 식이요법이 절대적으로 필요하다. 또한 기존의 인슐린이나 경구용 혈당강하제의 투여로는 근원적 치료에 한계가 있고 경제적 부담과 부작용의 위험도 수반하고 있어, 근래에 와서는 오랫동안 민간 약용으로 쓰여온 야생식물의 혈당강하 효과에 대한 관심이 증대되고 이 분야에 대한 많은 연구가 수행되고 있다(Bailey and Day, 1989).

이에 본 연구에서는 표고버섯의 액체 배양을 통한 균사체 배양조건의 최적화와 표고버섯 균사체를 당뇨가 유발된 흰쥐에 급여시킨 후 혈당, 지질농도 및 ALT, AST 활성에 미치는 영향을 비교 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 균주, 배지 및 종균

본 실험에 사용된 *Lentinus edodes*(산림 2호)는 농촌진흥청으로부터 분양 받아 사용하였으며, 보관용 배지로는 potato dextrose agar(Difco, Co.)를 사용하였고, 균사체 생장을 위한 배지는 mushroom complete medium(MCM)을 사용하였다. MCM의 조성(g/l)은 glucose 20, yeast extract 2, peptone 2, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.46, MgSO<sub>4</sub> 0.5이며, pH는 멸균 전에 5로 조절하였다. 종균제조는 MCM 100 ml을 포함한 250 ml flask를 진탕배양기(120 rpm)에서 25°C로 7일간 배양하여 사용하였다. 배양 후 균

\*Corresponding author <E-mail: yangbk@taegu.ac.kr>

사체를 포함한 배지 100 ml을 ice bath에서 3분간 Sorvall omni-mixer를 이용하여 무균적으로 균질화 한 후, 균사체 현탁액의 1%를 flask와 5-l jar fermenter 배양을 위한 중균으로 사용하였다(Song and Cho, 1987).

**균사체 회수**

MCM으로 배양된 표고버섯 균사체 액체배양액을 1,0447×g에서 20분간 원심분리하고, 침전된 균사체를 증류수로 3회에 걸쳐 세척하여 냉동건조기에서 중량이 일정하게 될 때까지 냉동건조하여 이를 시료로 사용하였다.

**pH 및 온도 조건에 따른 균사체 성장**

상기 배지를 사용하여 온도는 5°C 간격으로 20~35°C로, pH는 0.5 간격으로 4~8로 조절하여 120 rpm으로 24일간 진탕배양하였다. 배양 후 균사체를 회수하고 냉동건조하여 건조중량(mycelia dry weight; MDW)을 측정하였다.

**균사체 성장을 위한 진탕배양과 발효조 배양**

진탕 배양은 500 ml flask에 배지 200 ml(pH 5)를 넣고 멸균(121°C/15 min)하여 실온으로 식힌 후 종균을 접종하여 30°C, 120 rpm으로 배양하였고, 발효조 배양은 5-l jar fermenter에 배지 3 l를 넣고, 멸균(121°C/20 min)하여 실온으로 식힌 후 종균을 접종하여 30°C, pH 5, 120 rpm, 1.0 vvm으로 배양하면서 3일마다 200 ml씩 sampling하여 균사체를 정량하여 균사체 성장곡선을 얻었다.

**실험동물 및 당뇨 유발**

실험동물은 생후 5주령된(체중; 200~220 g) Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 대한바이오링크에서 구입하여 1주일간 실험실 환경(온도; 22±0.5°C, 습도; 55±5%, 명암; 12시간 주기)에 적응시킨 다음 당뇨를 유발하였다. 당뇨 유발은 streptozotocin(STZ)을 0.1 M citrate buffer에 용해시켜 근육주사(45 mg/kg body weight)하였으며(Junod et al., 1967), 당뇨 유발 확인은 STZ를 주사한지 24시간 후에 꼬리 정맥에서 채혈한 혈액의 혈당량이 300 mg/dl 이상인 동물을 당뇨쥐로 간주하여 본 실험에 사용하였다. 실험군의 분류는 혈당량과 체중을 고려하여 정상 대조군(Normal), 당뇨유발 대조군(Control) 및 당뇨유발 표고버섯 균사체 투여군(Mycelia)으로 나누었으며(Table 1), 각

**Table 1.** Experimental group for hypoglycemic activity of *Lentinus edodes* mycelia

Group	Diet
Normal <sup>a</sup>	Commercial diet
Control <sup>b</sup>	Commercial diet
Mycelia <sup>b</sup>	Commercial diet + <i>Lentinus edodes</i> mycelia (5%)

<sup>a</sup>Normal rats (n = 8).

<sup>b</sup>Diabetic state was induced by streptozotocin (45 mg/kg body weight) (n = 8).

군당 8마리로 하였다. 실험기간 동안 물과 식이는 자유롭게 섭취케 하고 추후에 섭취량을 측정하였다.

**실험동물 처리**

실험동물의 체중은 사육기간 중 오전의 일정한 시간에 매일 측정하였으며, 식이 섭취량은 체중 측정 직전에 잔량을 수거하여 측정하였다. 사육 7일간의 최종일에는 9시간 절식시키고 물만 공급하였으며, ether로 마취하여 복부 대동맥으로부터 heparine이 처리된 주사기로 채혈한 혈액은 4°C에서 원심분리(1,100×g/15 min)하여 혈장을 얻어 실험 시료로 사용하였다.

**혈장 glucose, 지질 농도 및 ALT, AST 활성 측정**

혈장 glucose, total cholesterol 및 triglyceride의 측정은 glucose oxidase kit(Raabo and Terkildsen, 1960), cholesterol oxidase-DAOS 법(Allain et al., 1974) 및 glycerol kinase를 사용한 Bucolo 법(Bucolo and David, 1973)으로 각각 효소 kit(아산제약)로 측정하였으며, ALT(alanine transaminase)와 AST(aspartate transaminase) 활성은 Reitman-Frankel 법(Reitman and Frankel, 1957)을 이용하는 효소 kit(아산제약)를 사용하여 측정하였다.

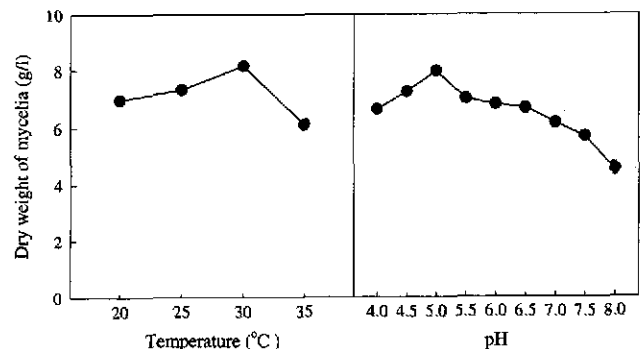
**통계처리**

실험결과들은 SPSS(statistical package of social science) program을 이용하여 분석, 비교 하였고, ANOVA(analysis of variance)분석을 통해 실험 군별로 평균(mean)±표준오차(S.E.)로 나타내었으며, 각 실험군 간의 평균치의 통계적 유의성  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test(Duncan, 1957)에 의해 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**배양조건 확립**

Flask 진탕배양에서 pH와 온도에 따른 균사체 생육에



**Fig. 1.** Effect of pH and temperature on the mycelial growth from submerged culture of *Lentinus edodes* in shake flask. Culture conditions : 120 rpm, 1% inoculum, and 24 days.

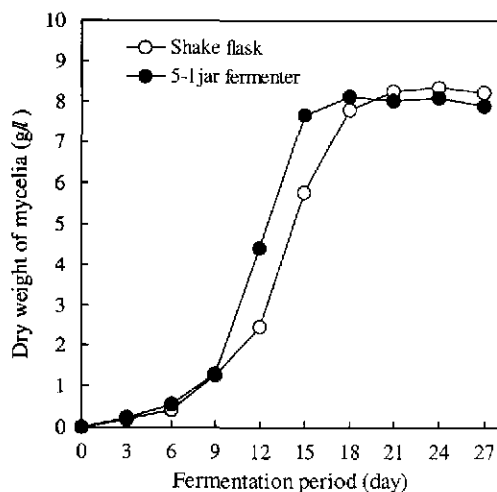
미치는 영향을 조사한 결과(Fig. 1) pH 5에서 균사체 생육이 7.97 g/l로 가장 높았으나, pH가 7 이상에서는 균사체 생육이 감소하였다. 이는 Lee 등(1993)과 Chung(1982)의 최적 pH 4.0과 5.5와는 다소 차이가 있으나, pH 7 이상에서는 균사체 생육이 급격히 감소한다는 보고와는 일치하였다. 일반적으로 버섯의 종류에 따라 차이는 있으나, 성장 최적 pH는 약산성 또는 중성으로 알려져 있다.

균사체 배양 온도는 30°C에서 균사체 생육이 8.16 g/l로 최대를 나타내었고, 20°C와 25°C에서는 균사체 생육이 비교적 양호하였으나, 35°C에서는 균사체 생육이 급격히 감소함을 나타내었다. 이는 대부분의 식용버섯균에서 균사체 증식을 위한 최적온도가 20~30°C인 것과 같은 결과이며, Lee 등(1993)과 Park과 Lee(1991)의 35°C 이상에서는 균사체 생장이 저해를 받는다는 보고와 같은 결과를 나타내었다. 상기와 같은 결과로 표고버섯 균사체의 최적 배양 pH와 온도는 5와 30°C로 각각 결정하였다.

### 진탕 및 발효조 배양에서 균사체 수율

배양 완료 시기를 결정하기 위해 상기의 조건으로 27일간 진탕배양한 결과, 배양 24일째 균사체 수율이 8.34 g/l로 최대였으며(Fig. 2), 이때 균사체의 specific growth rate와 doubling time은 각각 0.008 h<sup>-1</sup>과 90.265 h로 나타났다. Stationary phase 이후 균사체의 수율이 떨어지는 것은 배지 영양분의 고갈과 균사체의 lysis 때문으로 추측된다. 따라서 진탕배양에서는 24일 후 배양을 끝내고 균사체를 회수하는 것이 가장 효과적으로 나타났다.

pH 조절이 가능한 발효조 배양에서 진탕배양과 같은 pH 5, 30°C, 120 rpm으로 1 vvm(Lee et al., 1993)의 조



**Fig. 2.** Comparison of growth curve between 5-l jar fermenter and shake flask culture for the submerged mycelial culture of *Lentinus edodes*. Culture conditions of shake flask : 30°C, 120 rpm, pH 5.0, and 1% inoculum. Culture conditions of 5-l jar fermenter : 30°C, 120 rpm, pH 5, 1 vvm, and 1% inoculum.

건하에서 배양한 결과 균사체의 최대 수율은 진탕배양과 비슷한 8.13 g/l로 나타났으나, 배양기간은 진탕배양 기간보다 6일이나 단축시킨 결과를 나타내었다(Fig. 2). 발효조 배양에서 균사체의 specific growth rate와 doubling time은 각각 0.011 h<sup>-1</sup>과 64.240 h로 나타났다. 이는 aeration과 agitation에 의한 산소 및 영양공급이 원활하게 이루어진 결과이거나 pH 조절의 영향(Song et al., 1998)으로 인하여 진탕배양보다 발효조 배양에서 균사체의 생육이 빨라진 것으로 사료된다.

### Hypoglycemic 효과

표고버섯 균사체를 당뇨 유발 흰쥐에 7일간 급여 후 각군의 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율은 Table 2와 같다. 체중 증가량에 있어서 대조군보다 당뇨 유발군들이 낮게 나타난 것은 STZ가 췌장의  $\beta$ -cell을 선택적으로 파괴하여 insulin 생성의 이상을 초래하여 당대사의 불균형을 일으켜 체중이 쉽게 회복되지 않기 때문이다(Beppu et al., 1987). 그러나 당뇨 유발 실험군 중에서 Mycelia 군은 Control 군보다 체중 증가량이 23.9% 높게 나타났다. 따라서 표고버섯 균사체 섭취에 의하여 STZ로 당뇨가 유발된 흰쥐에 있어서 insulin의 분비를 다소 증가시켜주는 것으로 사료된다. 식이 섭취량의 경우에는 당뇨 유발군들이 대조군보다 높게 나타났으며, 식이효율은 낮게 나타났다. 이런 현상은 당뇨의 증상 중에 다식증의 현상(Woo et al., 1998)이 나타난 것이라 할 수 있다. 이상과 같은 현상으로 보아 본 실험은 당뇨 실험에 적합했음을 알 수 있다.

당뇨가 유발된 흰쥐에 표고버섯 균사체를 7일간 급여시 나타나는 혈장 glucose, total cholesterol 및 triglyceride 농도를 Table 3에 나타내었다. 당뇨 유발 실험군들에서 모두 고혈당이 나타났지만, Mycelia 군이 Control 군보다 유의적으로 혈장 glucose 수치를 23.0% 감소시켰다. 이는 Cho 등(2002)의 실험에서 표고버섯의 섭취가 당뇨쥐의 혈당을 감소시켰다는 보고와 같은 경향을 보였고, 혈중 glucose 증가에 대한 insulin의 분비 증가 및 췌장  $\beta$ -cell의 손상을 완하시키는 효과(Lee et al., 1998)가 있는 것으로 사료된다. 당뇨병의 대사적 특징은 혈당의 상승과

**Table 2.** Effect of *Lentinus edodes* mycelia on the growth parameters in streptozotocin-induced diabetic rats for 7 day

Group <sup>x</sup>	Body weight <sup>y</sup> gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio <sup>z</sup>
Normal	6.57±0.46c <sup>z</sup>	17.15±2.51a	0.38±0.01c
Control	4.43±0.46a	25.20±2.51c	0.18±0.01a
Mycelia	5.49±0.25b	21.28±1.28b	0.26±0.02b

<sup>x</sup>Refer to Table 1.

<sup>y</sup>Body weight gain/Food intake.

<sup>z</sup>Each value is the mean±SE (n = 8). Values with different superscript letters in the same column significantly different among the groups at  $p < 0.05$ .

**Table 3.** Effect of *Lentinus edodes* mycelia on the plasma glucose, total cholesterol, and triglyceride levels in streptozotocin-induced diabetic rats for 7 days

Group <sup>y</sup>	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
Normal	102.04±3.27a <sup>z</sup>	72.26±2.48a	61.73±3.14a
Control	162.63±6.51c	100.12±4.55c	95.79±4.00c
Mycelia	125.28±7.28b	79.37±4.92ab	69.81±3.27ab

<sup>y</sup>Refer to Table 1.

<sup>z</sup>Each value is the mean±SE (n = 8). Values with different superscript letters in the same column significantly different among the groups at p < 0.05.

비정상적인 지질대사로, 혈당의 상승으로 지질과산화 반응을 유도하여 동맥경화증을 유발 할 수 있으며, 혈당의 조절상태가 불량할수록 고지혈증이 심해지므로, 혈중 very low-density lipoprotein 제거율이 감소되어 혈중 total cholesterol과 triglyceride가 증가된다(Tol, 1977; Bar-on et al., 1984). 본 실험에서 당뇨 유발군들이 혈중 total cholesterol과 triglyceride가 정상 대조군보다 높게 나타났으며, 표고버섯 균사체의 섭취가 당뇨로 인한 혈장 total cholesterol과 triglyceride의 증가를 유의적으로 20.7%와 27.1% 정도 억제하는 것은 Yang 등(2002)의 표고버섯 exopolymer가 당뇨쥐의 혈장 total cholesterol과 triglyceride를 감소시켰다는 보고와 Cho 등(2002)의 표고버섯의 섭취가 당뇨쥐의 혈당은 물론 혈장 cholesterol과 triglyceride를 낮추었다는 것과 같은 경향을 보였다. 이는 표고버섯에 함유된 단백당체외에 다른 물질이 관여하였거나 이들의 상호작용에 의한 효과로 보여진다.

표고버섯 균사체의 섭취가 혈장 ALT와 AST 활성에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. ALT와 AST 활성은 간세포에 다량 존재하는 효소로 간 손상시 세포외로 다량 유출되어 혈액에 증가됨으로써 간 손상의 지표로 이용되는 효소이다. 당뇨시에 간장내 지질 대사 이상을 초래하여 간장 손상을 일으켜 ALT와 AST가 증가하는 것으로 알려져 있다(Rho et al., 1998). 본 실험에서 당뇨 유발군들이 ALT와 AST 활성이 높게 나타난 것은 고혈당으로 인한 간장의 손상으로 추측되며, Mycelia 군이 Control

**Table 4.** Effect of *Lentinus edodes* mycelia on the plasma ALT and AST levels in streptozotocin-induced diabetic rats for 7 days

Group <sup>y</sup>	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
Normal	53.28±3.91a <sup>z</sup>	142.31±4.59a
Control	109.68±5.62c	263.52±7.84c
Mycelia	77.26±3.42ab	173.02±4.54ab

<sup>y</sup>Refer to Table 1.

<sup>z</sup>Each value is the mean±SE (n = 8). Values with different superscript letters in the same column significantly different among the groups at p < 0.05.

군보다 ALT와 AST 활성이 29.6%와 34.3%가 낮게 나타난 것은 표고버섯 균사체의 섭취가 고혈당으로 인한 간장 손상을 어느 정도 회복시켜 줌을 알 수 있다.

## 요 약

표고버섯 균사체가 항당뇨 효과에 미치는 영향을 검토하기 위해 당뇨가 유발된 흰쥐에 표고버섯 균사체를 7일간 급여시킨 후 혈장 glucose, total cholesterol, triglyceride 및 ALT, AST 활성을 관찰하였고, 표고버섯 균사체 생장의 최적 배양 조건을 조사하였다. 균사체 생장을 위한 최적의 pH와 온도는 5와 30°C로 나타났으며, 발효조 배양시에는 최대 균사체 생장(8.13 g/l)이 진탕배양일 때보다 6일 단축되었다. Hypoglycemic 효과에서 혈장 glucose는 당뇨 유발군에서 표고버섯 균사체 급여군이 대조군보다 23.0%가 유의하게 감소하였으며, 혈장 total cholesterol과 triglyceride는 20.3%와 27.1%로 낮게 나타났다. 또한 혈장 ALT와 AST 활성은 당뇨 대조군에 비해 표고버섯 균사체 급여군이 29.6%와 34.3% 낮은 활성을 보였다.

## 감사의 말

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 대구대학교 농산물 저장·가공 및 산업화 연구센터의 지원에 의한 것입니다.

## 참고문헌

- Allain, C. C., Poon, L. S. and Richmond, W. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* **20**: 470-475.
- Bailey, C. J. and Day, C. 1989. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care* **12**: 553-559.
- Bar-on, H., Levy, E., Oschry, Y., Ziv, E. and Scafrir, E. 1984. Removal effect of very low density lipoproteins from diabetic rats. *Biochem. Biophys. Acta.* **793**: 115-118.
- Beppu, H., Maruta, K., Kurner, T. and Kolb, H. 1987. Diabetogenic action of streptozotocin:essential role of membrane permeability. *Acta. Endocrinol (Copenh)* **114**: 90-96.
- Bucolo, G. and David, H. 1973. Quantative determination of serum triglycerides by use of enzyme. *Clin. Chem.* **19**: 476-482.
- Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F. 1969. Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Nature* **17**: 687-688.
- Cho, Y. J., Kim, H. A., Bang, M. A. and Kim, E. H. 2002. Effects of dietary mushroom on blood glucose levels, lipid concentrations and glutathione enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor. J. Nutr.* **35**(2): 183-191.
- Chung, K. S. 1982. Studies on the constituents and culture of the higher fungi of Korea (II); The antitumor components and culture of *Lentinus edodes* (Berk.) Singer. *Kor. J. Mycol.* **10**(1):

- 33-39.
- Duncan, D. M. 1957. Multiple-range tests for correlated and heteroscedastic means. *Biometrics* **13**: 164-170.
- Junod, A., Lambert, A. E., Orci, L., Pictet, R., Gonet, A. E. and Renold, A. E. 1967. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **126**: 201-205.
- Lee, B. W., Im, G. H., Kim, D. W., Park, K. M., Son, S. H. and Shon, T. H. 1993. Culture characteristic and pilot scale fermentation for the submerged mycelial culture of *Lentinus edodes*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **21**(6): 609-614.
- Lee, K. S., Seo, J. S. and Choi, Y. S. 1998. Effect of sea tangle and hypoglycemic agent on lipid metabolism in diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**: 960-967.
- Maeda, Y. and Chihara, G. 1971. Lentinan a new immuno-accelerator of cell mediated responses. *Nature* **229**: 634-639.
- Park, K. S. and Lee J. S. 1991. Optimization of media composition and culture conditions for the mycelial growth of *Coriolus versicolor* and *Lentinus edodes*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **6**(1): 91-98.
- Raabo, E. and Terkildsen, T. C. 1960. On the enzymatic determination of blood glucose. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **12**: 402-407.
- Reitman, S. and Frankel, S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**: 56-63.
- Rho, H. M., Choi, M. A. and Koh, J. B. 1998. Effects of raw soy flour (yellow and black) on serum protein concentrations and enzyme activity in streptozotocin-diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**: 724-730.
- Saudek, C. D. and Eder, H. A. 1979. Lipid metabolism in diabetes mellitus. *Am. J. Med.* **66**: 843-849.
- Song, C. H., Yang, B. K., Jeon, Y. J., Ra, K. S., Shon, D. H., Kim, H. I. and Kim, Y. H. 1998. The optimum conditions for the production of exo-polymer from submerged mycelial culture of *Ganoderma lucidum* WK-003 and Its hepatoprotective effect. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **13**(4): 364-368.
- Song, C. H. and Cho, K. Y. 1987. A synthetic medium for the production of submerged culture of *Lentinus edodes*. *Mycologia* **76**: 866-876.
- Suzuki, H., Iiyama, K., Yoshida, O., Yamazaki, S., Yamamoto, N., and Toda, S. 1990. Structural characterization of the immunoprotective and antiviral water-solubilized lignin in an extract of the culture medium of *Lentinus edodes* mycelia (LEM). *Agric. Biol. Chem.* **54**: 479-487.
- Suzuki, S. and Oshima, S. 1976. Influence of Shitake (*Lentinus edodes*) on human serum cholesterol. *Mushroom Science* **9**: 463-467.
- Tamura, R., Tanebe, K., Kawanishi, C., Torii, K. and Ono, T. 1997. Effects of lentinan on abnormal ingestive behaviors induced by tumor necrosis factor. *Physiology & Behavior* **61**: 399-404.
- Tol, A. V. 1977. Hypertriglyceride in the diabetic rat defective removal of serum very low density lipoprotein. *Atherosclerosis* **26**: 117-128.
- Wahren, J., Felig, P., Cerasi, E. and Luft, R. 1972. Splanchnic and peripheral glucose amino acid metabolism in diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, **51**: 870-876.
- Woo, J. Y., Baek, K. Y. and Han, J. P. 1998. Effect of Royal jelly on therapy and prevention of streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**: 1267-1272.
- Yamamura, Y. and Cochrane, K. W. 1976. A selective inhibitor of myxoviruses from Shiitake (*Lentinus edodes*). *Mushroom Science* **9**: 495-507.
- Yang, B. K., Kim, D. H., Jeong, S. C., Das, S., Choi, Y. S., Shin, J. S., Lee, S. C. and Song, C. H. 2002. Hypoglycemic effect of a *Lentinus edodes* exo-polymer produced from a submerged mycelial culture. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **66**(5): 707-712.