

## 상황버섯의 균사체로부터 다당류의 추출과 정제

최 근 호<sup>†</sup>

한밭대학교 화학공학과  
305-719 대전시 유성구 덕명동 산16-1  
(2007년 9월 18일 접수, 2007년 12월 18일 채택)

### Extraction and Purification of Polysaccharides from *Phellinus linteus* Mycelia

Keun Ho Choi<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Hanbat National University, San 16-1, Dukmyung-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-719, Korea  
(Received 18 September 2007; accepted 18 December 2007)

#### 요 약

상황버섯(*Phellinus linteus*) 균사체로부터 얻어지는 다당류를 최대화하기 위하여 투석시간(8, 16, 24, 48 h)을 포함하는 추출조건과 정제조건이 다당류의 양에 미치는 영향에 대해 연구하였다. 추출온도(50, 65, 80, 95 °C)와 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비(10, 15, 20, 25 ml/g), 추출시간(2, 4, 6, 8 h), 에탄올의 최종 농도(70, 75, 80, 85%) 그리고 묵침시간(1, 4, 8, 16 h)이 증가할수록 다당류의 양은 증가하였다. 투석시간이 24 h까지 증가할수록 다당류의 양은 감소하였으나 그 이상의 투석시간은 다당류의 양을 거의 변화시키지 못했다. 침전용매로는 3가지 용매(에탄올, 메탄올, 아세톤)를 사용하였는데, 다당류의 양은 아세톤, 에탄올, 메탄올의 순서로 감소하였다. 최적 추출조건은 추출온도가 95 °C이고, 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비가 25 ml/g이며, 추출시간은 8 h인 조건이었다.

**Abstract** – To maximize the obtained polysaccharides from *Phellinus linteus* mycelia, effects of extraction and purification conditions including dialysis time (8, 16, 24, 48 h) on an amount of the polysaccharides were investigated. As extraction temperature (50–95 °C), ratio of solvent volume to the dry weight of mycelia (10, 15, 20, 25 ml/g), extraction time(2, 4, 6, 8 h), final concentration of ethanol (70, 75, 80, 85%), and aging time (1, 4, 8, 16 h) increased, an amount of the polysaccharides was increased. An increase in precipitation time up to 24 h increased an amount of the polysaccharides but a further increase in precipitation time after 24 h did not changed largely an amount of the polysaccharides. Three precipitation solvents (ethanol, methanol, acetone) were tested. An amount of the polysaccharides was increased in order to acetone, ethanol, and methanol. On the optimal extraction condition, extraction temperature, ratio of water volume to the dry weight of mycelia, and extraction time were 95 °C, 25 ml/g, and 8 h, respectively.

Key words: *Phellinus Linteus*, Polysacchrides, Water Extraction, Purification

#### 1. 서 론

지금까지 여러 연구자들이 버섯으로부터 항종양성 다당류(antitumor polysaccharides)를 얻기 위한 연구를 진행하여왔으며, 그 결과 상황버섯(*Phellinus linteus*)과 표고버섯(*Lentinus edodes*), 팽이버섯(*Flamulina velutipes*) 그리고 구름버섯(*Coriolus versicolor*)을 포함하는 십여 종의 버섯이 항암효과를 갖는 다당류를 갖고 있는 것으로 확인되었다. 그 중에서도 상황버섯으로부터 추출한 다당류가 쥐에 이식한 육종(sarcoma-180)에 대해 탁월한 효과가 있는 것으로 알려져 있다[1]. 또한, 상황버섯의 자실체를 구하기가 매우 어렵고 액체배양된 균사체로부터 얻은 추출물이 자실체의 추출물과 거의 동등한 항암효과와 면역 조절 효력을 보이기 때문에 인공적으로

로 배양한 균사체로부터 다당류를 얻으려는 연구가 진행되어왔다.

버섯의 자실체나 배양된 균사체로부터 약효를 가진 다당류를 의약품으로 얻는 전체 과정은 크게 5 단계로 구분할 수 있다. 첫 번째 단계는 추출을 준비하는 단계로 자실체인 경우에 불순물의 제거를 위하여 세척하고 추출을 용이하게 하기 위해 분쇄하거나 잘게 자르는 것이 이에 해당하며, 배양된 균사체인 경우에 균질화를 하고 원심분리나 여과를 통하여 배양액으로부터 균사체를 분리하는 일이 이에 해당한다. 두 번째 단계는 추출용매를 사용하여 시료로부터 다당류를 추출하는 단계이다. 세 번째 단계는 정제를 준비하는 단계로 원심분리 또는 여과를 통하여 추출이 끝난 고체물질을 제거하고, 추출액을 농축하여 용액의 부피를 줄이는 것이 포함된다. 네 번째 단계는 다당류를 정제하는 단계로 침전용매를 가하여 다당류를 침전시키고 침전을 완결시키기 위해 용액을 일정기간 방치한 후에 원심분리를 통하여 침전물을 분리하고, 증류수로 침전물을 다시 녹여

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: khchoi@hanbat.ac.kr

서 증류수를 바탕용액으로 사용한 투석을 통하여 분자량이 작은 불순물을 제거하는 과정이 보통 포함된다. 다섯 번째 단계는 정제된 다당류가 들어 있는 용액을 건조하여 분말화 하는 단계이다.

추출단계에서 추출용매로는 뜨거운 물[2-16]이 가장 많이 사용되며 에탄올[7, 10, 17], 알카리 용액과 염 용액[14, 15, 18], 계면활성제 용액[12], PBS(phosphate buffer-saline) 용액[15]과 초산에틸 그리고 아세톤[19]이 사용되기도 한다. 추출효율을 높이기 위해 추출시에 용액에 마이크로파[6]를 가하기도 한다. 다당류의 정제를 위하여 추출액을 카본 또는 숯을 사용하여 흡착 처리한 경우도 보고되고 있다[19]. 침전용매로는 에탄올이 사용되는 것이 보통이나 ammonium sulfate 등이 사용되기도 한다[12, 15, 20]. 다른 농도의 침전용매를 사용하여 침전과 원심분리를 두 번 이상 반복하거나 이온 크로마토그래피와 겔 크로마토그래피를 사용하여 다당류를 보다 세분하기도 한다[12, 20]. 그렇지만 상업적인 생산 공정이라면 제품의 생산을 위한 개별 단계의 수는 최소화되는 것이 바람직하므로 침전과 투석의 횟수는 반드시 최소화되어야 할 필요가 있다[21]. 분말화 하는 마지막 단계에서 실험에 사용하는 것을 목적으로 하는 소량의 추출액인 경우에는 다당류의 파괴를 최소화하기 위하여 동결건조하는 것이 보통이나, 상업적인 제품의 생산을 목적으로 하는 다량의 추출액인 경우에는 비용의 절감을 위해 동결건조대신에 스프레이건조(spray-dry)를 들 수 있다[20].

생물반응기를 이용하여 *Phellinus linteus* 균사체의 대량으로 배양하고 균사체로부터 항암물질인 다당류를 보다 경제적으로 생산하기 위해서는 균사체로부터 다당류를 추출하고 정제하는 것과 관련된 조건의 최적화가 필요하다. 지금까지의 문헌을 살펴보면 *Phellinus linteus* 균사체로부터 다당류의 추출과 정제와 관련된 조건의 최적화에 관한 연구 결과는 많지 않다. 따라서, 본 연구에서는 생물반응기에서 배양하여 얻은 *Phellinus linteus* 균사체로부터 항암물질인 다당체를 추출하고 정제하는 것과 관련된 조건인 추출온도, 건조 균사체의 무게에 대한 추출용매(물)의 부피의 비, 추출시간, 침전용매의 종류, 에탄올의 최종농도 그리고 묵힘시간이 얻어지는 다당류의 양에 미치는 영향에 대한 연구를 체계적으로 수행하였다.

2. 실험 방법

5 L 용량의 교반조 발효기와 공기부양 발효기를 사용하여 *Phellinus linteus* 균사체의 액체 배양에 대한 통기속도와 교반기의 회전속도가 미치는 영향에 대한 이전 실험[22]에서 얻어진 건조 균사체를 그동안 밀봉한 상태로 상온에서 보관해 오던 것을 시료로 사용하였다. 배지의 구성과 pH의 변화에 따라 *Phellinus linteus* 버섯의 균사체 배양으로 얻어지는 다당류의 생산량과 단당류 구성에는 차이가 있는 것으로 알려져 있으며[2], 사용된 발효기의 종류와 통기속도와 교반기의 회전속도와 같은 운전조건에 따라서 얻어진 건조 균사체의 양은 다르다. 운전조건이 다른 이전의 실험에서 얻어진 각각의 건조 균사체 덩어리 내에 들어 있는 다당류 양에도 차이가 있을 가능성이 있다. 이러한 사실을 고려하여 보관 중이던 여러 개의 건조 균사체 덩어리는 가정용 원두 분쇄기(cocobia hand mill)를 사용하여 알갱이의 크기가 1.40 mm 이하가 되도록 3번 분쇄하면서 잘 섞어서 실험에 사용될 건조 균사체 시료를 준비하였다.

이렇게 준비한 시료 5 g이 들어 있는 비커에 일정량의 증류수에 부어서 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비(10, 15, 20, 25

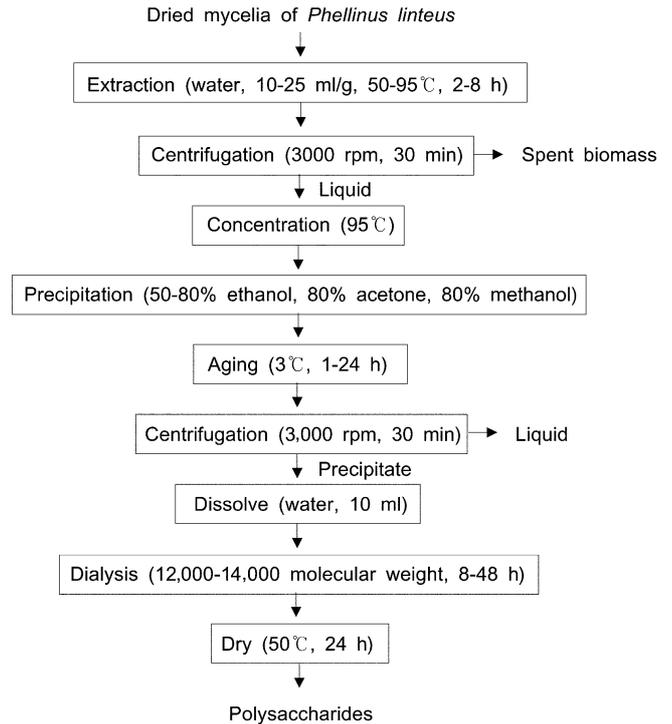


Fig. 1. Extraction and purification of *Phellinus linteus* polysaccharides.

ml/g)를 조절하였다. 다당류를 추출하는 동안에 증류수의 과도한 증발을 막기 위해 비커의 입구를 음식보관용 랍을 씌운 후에 항온기에 넣고 추출온도(50, 65, 80, 95 °C)에 도달하도록 가열하였다. 추출온도에 도달하면 그 때부터 시작하여 추출시간(2, 4, 6, 8 h) 동안 다당류를 추출하였다. 추출이 끝나면 비커 내의 내용물을 원심분리기용 튜브에 옮겨 담고, 3,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 상등액을 다른 500 ml 비커에 담았다. 상등액을 담은 비커를 가열기(hat plate)에 올려놓고 95 °C로 가열하여 5 ml가 될 때까지 농축하였다. 농축된 액을 원심분리기용 튜브에 옮겨 담고 침전용매로 에탄올을 최종 농도 50~80%가 되도록 가하거나 메탄올 또는 아세톤을 최종 농도 80%가 되도록 가하였다. 침전물이 든 튜브를 3 °C로 유지되고 있는 냉장고에 넣고 묵힘시간(1, 4, 8, 16, 24 h)동안 놓아두었다. 튜브를 꺼내 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리하고 상등액은 버렸다. 10 ml 증류수를 가하여 튜브 내에 남아있는 침전물을 녹여서 얻은 용액을 투석봉투(분자량 12,000~14,000)에 담았다. 투석봉투를 200 ml 증류수가 들어있는 비커에 담고 냉장고에 넣어 3 °C에서 투석시간(8, 16, 24, 48 h)동안 투석하였다. 투석봉투 내에 들어있는 용액을 증발접시에 옮겨 담고 건조기에 넣어 24 h동안 50 °C에서 건조하였다. 건조가 끝나면 증발접시의 무게를 달아서 다당류의 양을 구했다. Fig. 1에 본 연구에서 *Phellinus linteus*의 건조 균사체 시료로부터 다당류를 얻기 위해 사용한 실험 방법을 간략하게 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 추출조건의 영향

건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비는 10 ml/g으로, 추출시간은 4 h로, 에탄올의 최종 농도는 80%로, 묵힘시간은 16 h로, 투석시간은 24 h로 일정하게 유지하면서 추출온도를 50, 65, 80, 95 °C

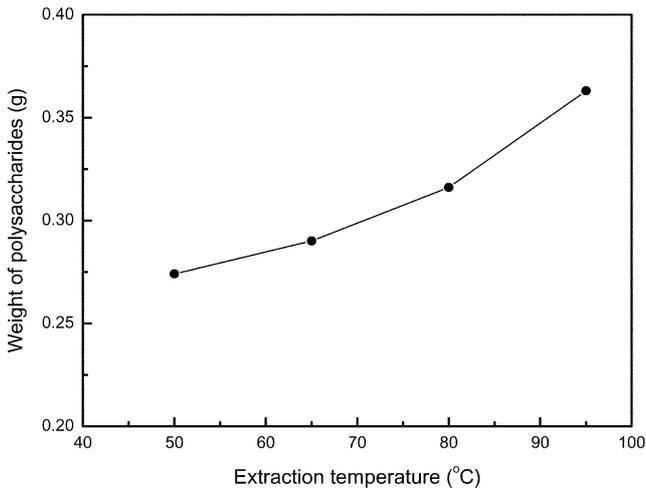


Fig. 2. Effect of extraction temperature on the weight of polysaccharides.

로 변화시키면서 실험한 결과는 Fig. 2와 같았다. 다른 운전조건들이 일정할 때에 추출온도를 증가시키면 다당류의 양이 증가하였다. 표고버섯의 경우에 다당류의 80%가 균사체의 세포막에서 얻어지는 것으로 알려져 있다[13]. 상황버섯의 경우에도 추출온도를 증가시킬수록 세포막을 포함한 건조 균사체가 보다 부풀기 때문에 물질전달 면적이 증가할 뿐만 아니라 세포막이 파괴되는 빈도도 증가할 것이기 때문에 추출되는 다당류의 양이 증가하는 것으로 사료된다. Lee 등[2]은 100 °C의 끓는 물을 사용하여 상황버섯으로부터 다당류를 추출한 바가 있다. 표고버섯과 장수버섯과 같은 다른 버섯으로부터 다당류를 추출하는 데도 보통 끓는 물이 사용되고 있다[12, 14]. 한편, Song과 Oh[6]는 65~100 °C의 물을 사용하여 상황버섯으로부터 다당류를 추출하였는데 100 °C의 물을 사용하였을 때 가장 많은 양의 다당류를 얻었다고 보고하였다. 본 실험의 결과는 그들이 얻은 결과와 유사하다.

Fig. 3은 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비가 얻어진 다당류의 무게에 미치는 영향을 보여주고 있다. 균사체의 무게에 대한 물 부피의 비의 영향에 대한 실험을 수행하는 동안에 추출온도는 95 °C, 추출시간은 4 h, 에탄올의 최종 농도는 80%, 묵힘시간은

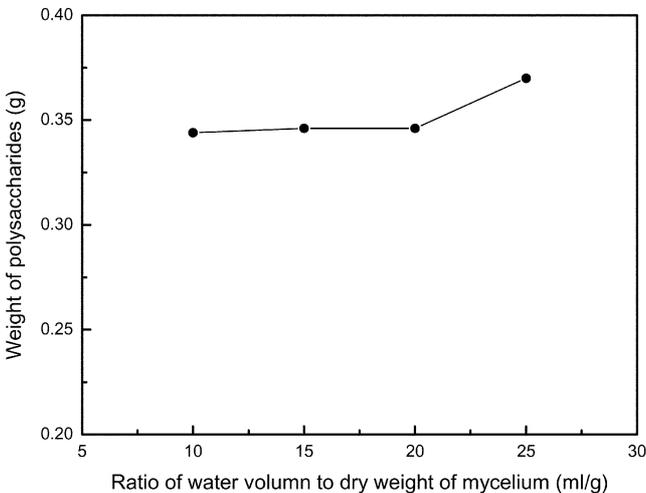


Fig. 3. Effect of the ratio of water volume to the dry weight of mycelia on the weight of polysaccharides.

16 h, 투석시간은 24 h로 각각 일정하였다. 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비가 증가할수록, 즉 추출용매로 사용되는 물의 양이 증가할수록 추출기간 동안에 추출의 구동력인 농도차가 상대적으로 크게 유지되므로 추출속도가 빨라져서 얻어진 다당류의 양은 증가하였다. 따라서, 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비가 25 ml/g일 때에 가장 많은 다당류가 얻어졌다. 그러나 추출단계에서 용액을 교반하지 않았기 때문에 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비를 변화시킴에 따른 다당류 양의 변화는 다른 조건들의 변화와 비교할 때에 크지 않았다. 식용버섯으로부터 다당류를 추출할 때에 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비로는 보통 10 ml/g이 선택되고 있다[7, 9, 17]. Song과 Oh[6]는 상황버섯인 경우에 균사체의 무게에 대한 물 부피의 비를 10~100 ml/g의 범위에서 변화시키면서 실험하였는데 20 ml/g일 때 얻어진 다당류의 질량이 가장 컸다고 보고하였다.

Fig. 4는 얻어진 다당류의 양에 대한 추출시간의 영향을 나타낸 것이다. 추출시간의 영향에 대한 실험에서는 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비는 20 ml/g, 추출온도는 95 °C, 에탄올의 최종 농도는 80%, 묵힘시간은 16 h, 투석시간은 24 h이었다. 추출시간이 증가할수록 초기에는 다당류의 수율이 급격히 증가하나 점차 다당류의 추출율은 감소하였다. 이는 추출의 구동력인 균사체 내부와 추출액 간의 농도차가 시간이 증가할수록 점차 줄어들기 때문이다. Song과 Oh[6]도 추출시간을 0.5~3 h로 변화시키면서 상황버섯의 균사체로부터 다당류를 추출하였는데 3 h일 때 가장 많은 양의 다당류를 얻었다고 보고한 바가 있다.

균사체 내부와 추출액 간의 농도차가 시간이 증가할수록 점차 줄어드는 현상으로 인한 추출속도의 감소를 고려하여 보다 빨리 많은 다당류를 추출하기 위한 방안으로 추출용매를 새 것으로 바꿔주면서 2번 이상 추출을 반복하는 것이 제안되고 있다[5, 7, 10, 11, 17]. 그러나 실제의 상업적인 공정에서 반복 추출은 소요되는 시간의 증가와 함께 이후의 과정에서 취급해야할 용액 부피의 증가로 인한 비용 증가의 문제를 초래하므로 언제나 경제적으로 바람직한 것은 아니다. 추출에 필요한 전체 시간과 취급되는 용액의 양을 증가시키지 않는다는 하더라도 여러 번의 원심분리나 여과는 추가적인 시간과 비용을 초래할 것이므로 이러한 점을 종합적으로 고려하여 반복 추출의 적용 여부를 결정해야 한다.

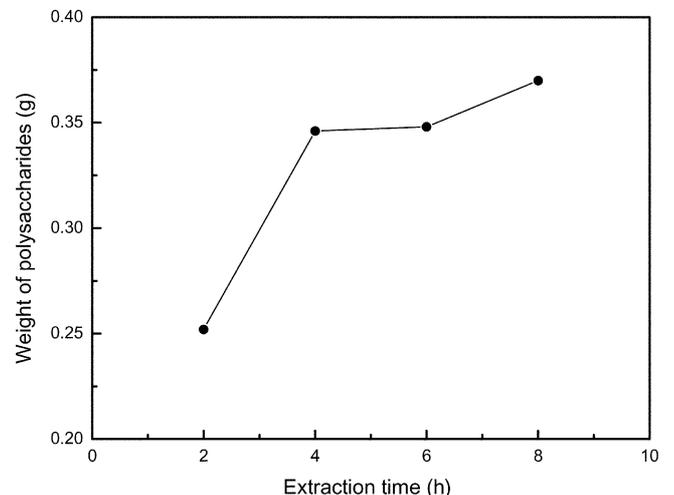


Fig. 4. Effect of extraction time on the weight of polysaccharides.

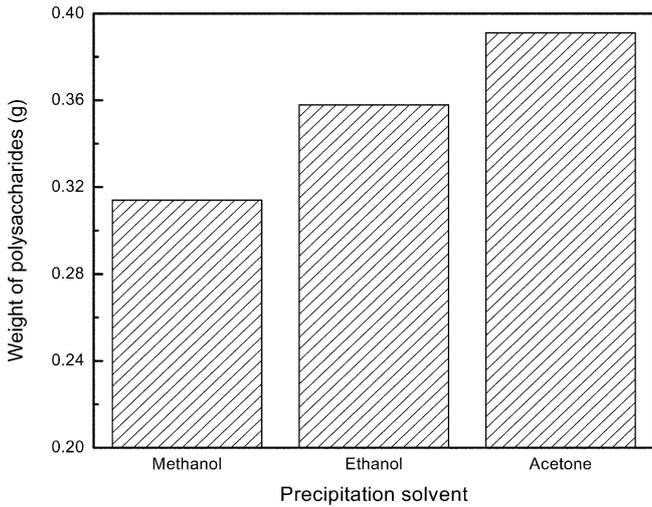


Fig. 5. Effect of precipitation solvent on the weight of polysaccharides.

3-2. 침전조건의 영향

건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비가 20 ml/g, 추출온도는 95 °C, 추출시간은 8 h, 묵힘시간은 16 h, 투석시간은 24 h일 때에 침전용매의 변화가 다당류의 양에 미치는 영향을 Fig. 5에 나타내었다. 침전용매로는 3가지 용매(에탄올, 메탄올, 아세톤)를 사용하였는데, 각각의 최종농도는 80%였다. 얻어진 다당류의 양은 아세톤, 에탄올, 메탄올의 순서로 감소하였다. 아세톤과 메탄올은 에탄올에 비하여 인체에 미치는 독성이 큰 것으로 알려져 있다. 그런 물질은 침전 이후의 단계에서 완전히 제거하지 않으면 최종단계에서 얻어진 다당류를 의약품으로 사용하는데 제약이 따르게 된다. 이를 고려할 때에 다당류의 회수율에 약간의 차이를 주기는 하지만 침전용매로 아세톤보다는 에탄올이 보다 선호된다.

Fig. 6은 다당류의 양에 대한 에탄올의 최종농도의 영향을 보여주고 있다. 에탄올의 최종농도의 영향에 대한 실험에서는 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비는 20 ml/g, 추출온도는 95 °C, 추출시간은 8 h, 묵힘시간은 16 h, 투석시간은 24 h로 일정하게 유지되었다. Fig. 6은 침전용매로 에탄올을 사용할 때에 에탄올의 최

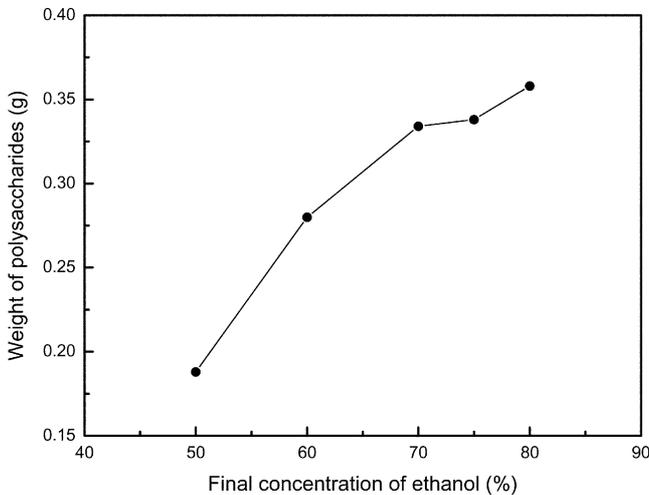


Fig. 6. Effect of the final concentration of ethanol on the weight of polysaccharides.

종농도는 다당류의 양에 대해 본 연구에서 시험된 조건 중에서 가장 큰 영향을 미치는 것을 보여주고 있다. 에탄올의 최종농도가 50%에서 80%로 증가할 때에 다당류의 값은 0.188 g에서 0.358 g으로 크게 증가하였다. Lee 등[4]은 이러한 현상을 다당류를 세분화하는데에 이용하였는데, 80%의 에탄올에는 침전되지만 60%의 에탄올에는 용해되는 다당류가 추출액을 80%의 에탄올로 침전시켰을 때에 침전되지 않는 다당류(Fr. 2)나 침전되는 다당류(Fr. 3) 보다 활성이 높으며, 80% 에탄올과 60% 에탄올에 모두 침전되는 다당류(Fr. 5) 보다도 활성이 높다고 보고하였다. 따라서 에탄올의 최종농도를 증가시킬수록 다당류의 양이 많이 얻어졌다고 해서 약효가 뛰어난 성분이 더 많이 얻어졌다고는 볼 수는 없다. 이를 규명하려면 어떤 농도일 때에 약효가 뛰어난 성분이 더 많이 얻어지는 지에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

3-3. 묵힘시간의 영향

묵힘시간을 줄여서 전체 과정에 필요한 시간을 줄일 수는 없는지의 여부를 판단하기 위해 묵힘시간의 변화가 다당류의 양에 미치는 영향을 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 7과 같다. 묵힘시간의 영향에 대한 실험에서는 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비는 20 ml/g, 추출온도는 95 °C, 추출시간은 8 h, 에탄올의 최종 농도는 80%, 투석시간은 24 h로 일정하였다. 본 실험 범위에서 묵힘시간이 증가할수록 다당류의 양이 증가하였다. 본 실험의 범위에서는 묵힘시간이 증가해도 다당류의 양이 거의 일정해지는 시점이 밝혀지지 않았기에, 아주 적은 양의 다당류의 손실을 감수하면서 단축할 수 있는 묵힘시간에 대한 정보는 얻지 못하였다. 그러나 묵힘시간을 16에서 14 h으로 감소시키기만 해도 다당류의 양이 5.6% 감소하므로 묵힘시간을 16 h 이하로 감소시키기에는 다당류의 손실이 크다는 것을 분명히 알 수 있다.

3-4. 투석시간의 영향

투석시간의 변화가 다당류의 양에 미치는 영향을 실험한 결과는 Fig. 8과 같다. 투석시간의 영향에 대한 실험을 할 때에 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비는 20 ml/g, 추출온도는 95 °C, 추출시간은 8 h, 에탄올의 최종 농도는 80%, 묵힘시간은 16 h이었다. 다당류의 양은 투석시간이 24 h이 될 때까지는 투석시간이 증가할

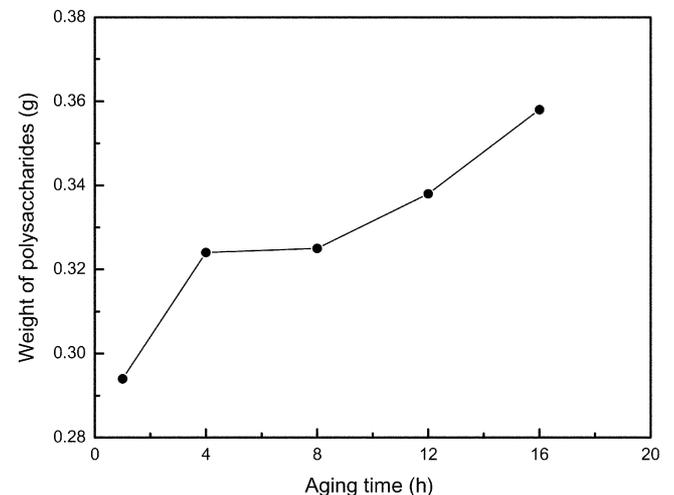


Fig. 7. Effect of aging time on the weight of polysaccharides.

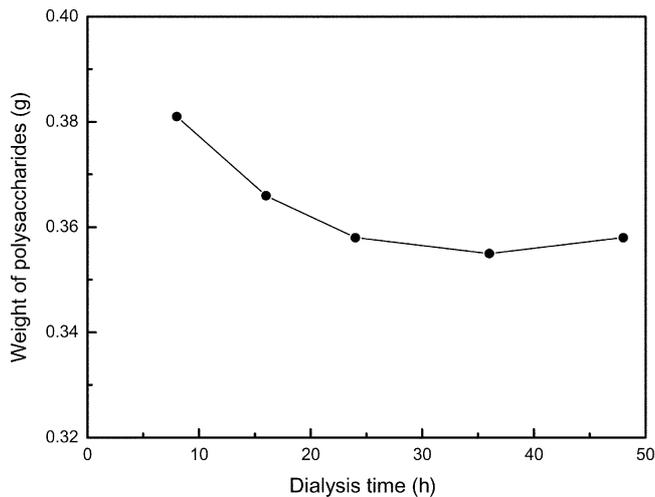


Fig. 8. Effect of dialysis time on the weight of polysaccharides.

수속 급격히 감소하다가 24 h이 지난 이후에는 투석시간이 증가하여도 크게 변화하지 않았다. 투석시간을 8 h 이상으로 할 때에 투석시간이 다당류에 미치는 영향은 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비와 마찬가지로 다른 조건들에 비해 작았다. 이 결과로부터 필요할 경우에 다당류의 손실이 거의 없이 투석시간을 대략 24 h로 단축할 수 있음을 알 수 있다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 *Phellinus linteus* 균사체로부터 다당류를 추출하고 정제하는 과정에 대한 최적조건을 찾기 위하여 추출온도, 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비, 추출시간과 같은 추출조건과 침전용매의 종류, 침전용매의 최종 농도, 묵힘시간, 투석시간과 같은 정제조건이 얻어진 다당류의 양에 미치는 영향에 대하여 체계적으로 연구하였다. 본 연구에서 얻은 실험결과를 정리하면 다음과 같다.

- (1) 실험된 범위의 추출온도, 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비, 추출시간, 에탄올의 최종 농도 그리고 묵힘시간이 증가할수록 다당류의 양은 증가하였다.
- (2) 투석시간이 24 h까지 증가할수록 다당류의 양은 감소하였으나 그 이상의 투석시간은 다당류의 양을 거의 변화시키지 않았다.
- (3) 다당류의 양은 사용된 침전용매의 종류에 영향을 받아서 침전용매로 아세톤, 에탄올, 메탄올이 사용될 때의 순서로 감소하였다.
- (4) 에탄올이 침전용매로 사용되는 경우에 실험된 범위에서 얻어진 최적 추출조건은 추출온도가 95 °C이고, 건조 균사체의 무게에 대한 물의 부피의 비가 25 ml/g이며, 추출시간은 8 h인 조건이었다.

#### 참고문헌

1. Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F., "Antitumor Action of Some Basidiomycetes, Especially *Phellinus linteus*," *Gann*, **59**, 155-157(1968).
2. Lee, J. H., Cho, S. M., Ko, K. S. and Yoo, I. D., "Effect of Cultural Conditions on Polysaccharide Production and Monosaccharide Composition in *Phellinus linteus* L13202," *Kor. J. Mycol.*, **23**(4), 325-331(1995).

3. Song, K. S., Cho, S. M., Lee, J. H., Kim, H. M., Han, S. B., Ko, K. S. and Yoo, I. D., "B-Lymphocyte-Stimulating Polysaccharide from Mushroom *Phellinus linteus*," *Chem. Pharm. Bull.*, **43**(12), 2105-2108(1995).
4. Lee, J. H., Cho, S. M., Song, K. S., Han, S. B., Kim, H. M., Hong, N. D. and Yoo, I. D., "Immunostimulating Activity and Characterization of Polysaccharides from Mycelium of *Phellinus linteus*," *J. Microbiol. Biotechnol.*, **6**(3), 213-218(1996).
5. Lee, J. W., Beak, S. J., Bang, K. W., Kang, S. W., Kang, S. M., Kim, B. Y. and Ha, I. S., "Biological Activities of Polysaccharide Extracted from the Fruit Body and Cultured Mycelia of *Phellinus linteus* IY001," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **32**(3), 726-735(2000).
6. Song, H. N. and Oh, S. W., "Optimization of Extraction and Clarification Condition for Preparation of Liquid Extract Tea from Artificially Cultivated *Phellinus linteus*," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **31**(4), 636-641(2002).
7. Ham, S. S., Oh, S. W., Kim, Y. K., Shin, K. S., Chang, H. Y. and Chung, G. H., "Antimutagenic and Cytotoxic Effects of Ethanol Extract from the *Inonotus obliquus*," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **32**(7), 1088-1094(2003).
8. Hwang, Y. J., Noh, G. W. and Kim, S. H., "Effect of *Inonotus obliquus* Extracts on Proliferation and Caspase-3 Activity in Human Gastro-Intestinal Cancer Cell Lines," *J. Korean Nutrition Society*, **36**(1), 18-23(2003).
9. Choi, J. W., Ryu, D. Y., Kim, Y. K., Hong, E. G., Kwun, M. S. and Han, J. S., "Extraction and Purification of Bioactive Materials from *Agaricus blazei* Fruiting Bodies," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**(3), 293-298(2000).
10. Kim, H. K., Choi, Y. J., Jeong, S. W. and Kim, K. H., "Functional Activities of Microwave-Assisted Extracts from *Lyophyllum ulmarium*," *Korean J. Food Pres.*, **9**(4), 385-390(2002).
11. Choi, M. Y., Lim, S. S. and Chung, T. Y., "The Effects of Hot Water Soluble Polysaccharides from *Lentinus edodes* on Lipid Metabolism in the Rats Fed Butter Yellow," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**(2), 294-299(2000).
12. Park, K. S. and Lee, B. L., "Extraction and Separation of Protein-bound Polysaccharide by *Lentinus Edodes*," *Korean J. Food Nutr.*, **10**(4), 503-508(1997).
13. Park, K. M. and Lee, B. W., "Extraction and Purification of Antitumor Protein-bound Polysaccharides from Mycelia of *Lentinus edodes*," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**(5), 1236-1242(1998).
14. Yoon, S. H., Lim, J. H., Kim, Y. S., Kim, C. H., Jo, J. H. and Hwang, Y. S., "Pharmacological Effects of Proteoglycans Extracted from Fruiting Bodies of *Fomitella Fraxined*," *Korean J. Mycology*, **26**(4), 511-518(1998).
15. Sone, Y., Okuda, R., Wada, N., Kishida, E. and Misaki, A., "Structures and Antitumor Activities of the Polysaccharides Isolated from Fruiting Body and the Growing Culture of Mycelium of *Ganoderma lucidum*," *Agric. Biol. Chem.*, **49**(9), 2641-2653(1985).
16. Wang, H. X., Ng, T. B., Liu, W. K., Ooi, V. E. C. and Chang, S. T., "Polysaccharide-Peptide Complexes from Cultured Mycelia of the Mushroom *Coriolus versicolor* and their Culture Medium Activate Mouse Lymphocytes and Macrophages," *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **28**(5), 601-607(1996).
17. Ji, J. H., Kim, M. N., Choi, K. P., Chung, C. K. and Han, S. S.,

- “Antimutagenic and Cytotoxicity Effects of *Agaricus blazei* Murill Extracts;” *Korean J. Food Sci. Technol.*, **32**(6), 1371-1378 (2000).
18. Ueno, S., Yoshikumi, C., Hirose, F., Omura, Y., Wada, T., Fujii, T. and Takahashi, E., “Method of Producing Nitrogen-Containing Polysaccharides;” U. S. Patent No. 4,202,969(1980).
19. Chung, K. H., Han, J. J., Lee, C. W., Park, J. D. and Ko, E. C., “Composition Containing Chaga Mushroom Extract as an Active Ingredient;” Korean Patent Unexamined Publication No. 10-2003-0065964(2003).
20. Hotta, T., Enomoto, A., Yoshikumi, C., Ohara, M. and Ueno, S., “Protein-Bound Polysaccharides;” U. S. Patent No. 4,271,151 (1981).
21. Cui, J. and Chisti, Y., “Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: Physiological Activity, Uses, and Production;” *Biotechnology Advances*, **21**, 109-122(2003).
22. Choi, K. H. and Lee, C. W., “Submerged Culture of *Phellinus linteus* in a Stirred Tank Fermenter and an Airlift Fermenter;” *Korean Chem. Eng. Res.*, **38**(2), 310-315(2000).