곡물배지가 느타리버섯의 균사배양과 생리활성에 미치는 영향

류현순¹²·손미예¹¹·조용운²¹·갈상완²¹·이상원¹²* 한국전통발효식품연구소¹¹. 진주산업대학교 미생물공학과²¹*

Effect of solid grain media on the mycelial growth of Pleurotus ostreatus and its biofunctional activity

Hyun-Soon Ryu^{1,2)}, Mi-Yae Shon²⁾, Yong-Un Cho²⁾, Sang-Wan Gal²⁾ and Sang-Won Lee^{1,2)}*

¹⁾Korea Fermented Food Research Institute, Sancheong 666–962, Korea ²⁾Dept. of Microbiological Engineering, Jinju National University, Jinju 660–758, Korea

ABSTRACT: Effect of solid grain media on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* and its biofunctional activities were investigated using seven kinds of grains. Foxtail millet and barley were good for growth of hypha of *P. ostreatus*. However, growth of the mycelium was very slow in the solid grain media containing wheat, corn and brown rice. Mycelial growth of *P. ostreatus* according to water content of solid grain media was good at 25% to 30%. Mycelial growth of *P. ostreatus* according to heating-time and temperature of solid grain media was good for 30 min at 121°C. Anticancer activities against lung cancer cell line of the myceial extracts from *P. ostreatus* grown on several grain media were strong in the corn, defatted soybean, brown rice, barly and black bean in order. Fibrinolytic activities of the mycelial extracts were strong in order defatted soybean, wheat, foxtail millet, barley, brown rice and black bean. The mycelial extracts were showed good antibacterial activities against *Pseudomonas aeroginosa* and *Staphylococcus aureus*.

KEYWORDS: grain media, Pleurotus ostreatus, anticancer activities, fibrinolytic activities, antibacterial activities

등의 일반영양소들이 풍부할 뿐만 아니라 다양한 약리작용을 가지고 있어 예로부터 식용 및 민간의약 체제로 널리이용되어 왔다(Chang과 Miles, 1989). 이러한 버섯류 중에서 느타리버섯은 백색 목재부후균으로서 주로 폐면이나 볏짚 등의 발효배지를 사용하여 재배되어 왔으나 1980년부터 인공재배가 시작된 이래 그 생산량이 급격하게 증가하여 1998년 특용작물 생산실적에 의하면 전국재배면적이 210만평으로 생산량은 75,684톤에 이르러 버섯 총생산량의 67%를 점유하고 있는 농가소득의 주요 작목으로보고 되어 있다(장, 2000).

최근 버섯의 생물활성이 보고 되고 있는데 특히 항암효과는 일본을 중심으로 활발히 연구되어 왔고(Jung 등, 1992; Kim 등, 1992; Kim 등, 1993), 최근 국내에서도 한국산 버섯류의 항종양 활성에 관한 연구들이 보고 되고 있다(Han 등, 2003; Choi 등, 2000; Lee와 Park, 1998; Jung 등, 1996; Kim 등, 1998). 활성성분의 대부분은 버섯 자실체나 액체배양 균사체로부터 추출되고 있는데 특히, Lentinus edodes 및 Pleurotus ostreatus 등(Ikekawa 등, 1969; Yuko 등, 1985)의 버섯류로부터 분리한 단백다당체인 protein-bound polysaccharide(PBP)는 항암효과를 나타내는 것으로 알려져 있으며, 이들은 기존의 합성

항암제와는 달리 종양세포에 직접 작용하지 않고 면역계 의 host mediated 면역반응에 관여하여 면역기능을 회복 시켜 주기도하고, 또한 생체내에서 감염방어 등의 면역기 능을 나타내는 보체(complement)계를 활성화시키거나 (Dennert와 Tucker, 1973) macrophage를 활성화하여 암세포의 생물학적 반응을 변화시켜 종양세포에 대하여 독성을 나타내어 치료효과를 나타내므로 식용 및 의료용 으로 장기간 복용하여도 독성 및 부작용이 거의 없는 것으 로 알려져 있기(Hamuro와 Wagner, 1978; Sugihara 등, 1972) 때문에 버섯곰팡이인 담자균은 대량배양기술에 의 해서 항암성 물질인 다당류의 생산에 이용되고 있다(Jung 등, 1996; Song 등, 1998; Park 등, 1998). 그러나 버섯을 식품 및 의약품으로 이용할 때에는 자실체 및 균사체를 대 량배양 후 추출 및 특정성분을 분리 · 정제하여 사용하고 있는데(Fukuda 등, 1975; Suzuiki 등, 1989; Saito 등, 1989), 이 과정에서 시간, 노동력 및 비용 등이 많이 소비 될 뿐만 아니라 추출·정제를 할 때에 사용되는 유기용매 에 의한 환경오염 등이 발생할 우려가 있다.

본 연구자들은 우리가 일상생활에서 상식하고 있는 곡물을 배지로 하여 버섯균사를 배양하였을 경우는 그대로 식용가능하기 때문에 물질 추출을 위한 시간 및 경비 등이 많이 절약될 것이며, 또한 기능성 전통발효식품 개발을 위한 코오지 균으로도 사용할 수 있을 것으로 생각하였다. 그렇

기 때문에 이와 같은 여러 가지 장점을 직접 전통발효식품 개발에 응용하기 위하여 우선 우리나라에서 생산량이 가 장 많은 느타리버섯을 식용 가능한 여러 가지 곡물배지에 고체배양하기 위한 최적배지의 조건을 검토하고, 곡물배 지에서 배양한 느타리버섯 균사체의 암세포에 대한 항암 성과 항균력 및 혈전용해 활성 등을 검토하였다.

재료 및 방법

공시균주및 배지

본 실험에 사용한 느타리버섯(Pleurotus ostreatus(Fr.) Kummer)은 경남농업기술원으로부터 분양 받은 원형느 타리 버섯을 사용하였으며, 항균활성 검토를 위한 미생물 로는 본 연구실에 보존 중인 Bacillus cereus KCCM-11204, Pseudomonas aeruginosa ATCC-15442, Escherichia coli ATCC-25922, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae KCTC-2208, Lactobacillus plantarum 등을 NA평판배지에 보존하면서 사용하였다. 암세포는 인체 폐암세포주인 A549를 10% FBS를 첨가한 RPMI 1640배지를 사용하여 37℃, 5% CO₂ incubater에서 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 버섯배양을 위한 곡물배지로는 옥수수(corn, Zea mays), 조(foxtail millet, Setaria italica), 밀(wheat, Triticum aestivum), 대두박(defatted soybean, Glycine max), 현 미 (brown rice, Oryza sativa), 보리 (barley, Hordeum vulgare), 검정콩(black bean, Glycine max) 등 7종의 곡 물을 사용하였으며, 버섯의 보존은 Potato dextrose agar (PDA) 평판배지를 사용하여 배양한 후 5℃의 냉장고 에 보관하면서 1개월 이내에 사용하였다.

곡물버섯배지의최적수분함량 및 증자시간

옥수수, 조, 현미 및 보리쌀을 각각 수세한 후 4hr 정도수침을 행하고 30분간 물 빼기를 행한 다음, 직경 52mm, 높이 140mm의 투명한 원통형 유리용기에 각 곡물을 110g씩 첨가한 후 수돗물을 30%, 40%, 50%, 60%(V/W)씩 각각 첨가하여 121℃에서 30분, 60분, 90분, 120분 동안 각각 증자한 다음 미리 배양하여 보존해둔 버섯균사체를 배지의 표면부분에 접종하고 25℃의 growth chamber에서 15일간 배양하였다. 느타리버섯 균사의 성장은 접종면으로부터 아래로 성장해간 균사의 길이를 측정하여 나타내었다.

곡물을 이용한 버섯균사의 고체배양

각 곡물을 수세, 수침 및 물 빼기를 한 후 300㎡ 삼각플라스크에 50g씩 넣고 수분함량이 30%되게 물을 첨가한 다음 121℃에서 증자한 후 미리 배양해 둔 버섯균사를 코르크바의 No. 3으로 5조각 접종하여 25℃의 growth chamber에서 배양하였다.

항균활성

항균활성은 agar diffusion법에 준하여 측정하였다 (Farag, 1989). 느타리버섯 균사체가 완전히 성장한 7종 류의 각 곡물 10g과 증류수 50㎡를 혼합하여 잘 분쇄한 후 4℃에서 12시간 추출한 다음, 15,000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 0.2μm의 membrane filter로 여과한 여액을 시료로 사용하였다. 멸균된 paper disc (Toyo Rhosi Kaisha, Ltd., 8mm)에 시료용액 150ℓℓ씩을 spot한다음 50℃의 dry oven에서 용매를 완전히 휘발시키고 중층 시험용 plate의 표면에 놓아 밀착시켜 냉장고에서 1시간 동안 방치시킨 후, 30~35℃의 incubator에서 배양하면서 병원성균의 생육저해를 나타내는 clear zone의 크기(직경, mm)를 측정하여 항균력을 비교하였다. 대조구는 버섯을 배양하지 않은 곡물을 동일 방법으로 처리하여 사용하였다.

암세포 증식억제효과

Monolayer로 자란 암세포주를 0.25% Trypsin—EDTA 용액으로 처리하여 single cell로 만든 후 최종세포농도가 5×10⁴cells/㎖ 되도록 희석하여 48well plate에 각 well 당 450㎖씩 seeding한 다음, 37℃, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 전배양하였다. 여기에 항균활성 측정법과 동일하게 처리한 버섯균사체 용액을 각 농도별로 첨가하여 배양하면서 세포증식 정도를 도립현미경 (Nikon H-III, Japan)으로 직접 관찰하였다.

혈전용해활성

혈전용해활성 측정을 위한 시료용액은 항균활성 측정법과 동일하게 조제하였으며, fibrin plate는 0.1g의 fibrinogen과 50mM Tris-buffer 15㎖을 혼합하여 37℃의 항온기에서 fibrinogen을 완전히 용해시킨 후 petri dish에 분주하여 thrombin 10៧를 첨가하여 배지를 응고시켰다. 혈전용해활성 측정은 응고된 fibrin배지 상에 제조한 버섯균사체 배양 시료용액을 각각 10세씩 loading한 후 37℃에 일정시간 반응시켜 형성된 fibrin용해 clear zone의 장축지름(mm)의 크기를 측정하여 나타내었다(納豆試驗研究會, 1990). 대조구는 버섯의 균사를 배양하지 않은곡물배지를 동일조건으로 처리하여 사용하였다.

결과 및 고찰

곡물배지의 최적수분함량 및 증자시간

여러 가지 곡물을 느타리버섯의 생육배지로 사용할 때 배지에 첨가하는 최적수분함량을 검토한 결과 배지에 수분을 25~35%(V/W) 전후로 첨가할 경우는 느타리버섯 균 사체의 생육이 왕성하였지만, 40% 및 45%로 수분 첨가량이 많아지면 균사체의 생육속도는 현저하게 떨어지는 현

상을 관찰하였다. 각 곡물배지에 수분을 25~35% 첨가했을 때 느타리버섯의 균사생육은 조, 대두박, 보리 및 검정 콩의 배지에서 대체로 빠르게 생육하였으나 옥수수, 밀 및 현미 배지에서는 생육이 느리게 나타났다.

수분함량이 너무 낮을 경우는 버섯 균사체로의 수분공급

Table 1. Effect of water content of solid grain media on the mycelial growth of *P. ostreatus* (Unit: mm)*

Continuos din	Water amount				
Grain media	25%	30%	35%	40%	45%
Corn	67	67	55	42	39
Foxtail millet	78	77	68	57	49
Wheat	67	65	59	45	40
Defatted soybean	78	75	65	60	51
Brown rice	68	70	58	45	34
Barley	80	78	70	54	46
Black bean	79	79	68	61	45

^{*}Growth rates were determined by the growing distance(mm) from the innoculation surface of *P. ostreatus*.

이 충분하지 못하기 때문에 균사체의 성장이 늦어질 것으로 사료되지만, 반대로 배지의 수분함량이 많을 경우는 각곡물배지를 증자함으로 인하여 곡물에 함유된 전분이 호화되어 배지의 응집력이 강하게되어 배지 내부로의 산소의 공급이 불충분하게될 뿐만 아니라 버섯 균사체가 배지내부로의 침투가 어려워지기 때문에 버섯균사의 생육이늦어지는 것으로 생각된다.

또한 수분함량을 25% 함유시킨 각각의 곡물배지에서 증자시간이 버섯 균사체의 성장에 미치는 영향을 검토하여 Table 2에 나타내었다. 증자시간을 달리한 모든 곡물배지에서 느타리버섯의 균사생육이 가능하였으나 조 및 보리쌀의 배지에서 생육이 가장 왕성하였고, 그 다음은 검정콩,

Table 2. Effect of heating time of solid grain media on the mycelial growth of *P. ostreatus* (Unit: mm)*

			(OIII. IIII)	
Grain media	Heating time				
Grain media	30 min	60 min	90 min	120 min	
Corn	62	68	67	69	
Foxtail millet	79	79	74	75	
Wheat	60	61	60	57	
Defatted soybean	72	72	70	71	
Brown rice	67	70	67	64	
Barley	74	78	72	73	
Black bean	70	72	70	71	

^{*}Growth rates were determined by the growing distance(mm) from the innoculation surface of *P. ostreatus*.

대두박 및 현미 배지의 순이었으며 옥수수와 밀 배지에서는 생육이 매우 늦은 것으로 나타났다. 증자시간은 균사체성장에 크게 영향을 미치지 않았으나 30분 정도의 증자가적당한 것으로 판단하였다. 이상의 결과로 곡물을 이용한느타리버섯 균사체 성장을 위한 고체 배양에서는 곡물에 25%의 수분을 함유시키고, 증자시간은 30분 행하였다.

곡물을 이용한 버섯의 고체배양

옥수수, 조, 밀, 대두박, 현미, 보리쌀 및 검정콩의 곡물에 수분을 25%함유시키고 30분간 증자한 다음 느타리버섯을 접종하여 10일 동안 배양하면서 느타리버섯이 각 곡물 배지에서 성장하는 정도를 Fig. 1에 나타내었다. 느타리버섯 균사는 배지로 사용된 모든 곡물배지에서 생육 가능하였지만, 성장속도는 배지의 종류에 따라 많은 차이를 나타내어 조와 보리쌀에서 생육이 가장 왕성하였고 그 다음은 대두박과 검정콩이었으며 밀, 옥수수 및 현미배지에서는 생육이 늦은 것으로 나타났다. Han 등(2003)은 조, 보리, 대두박 및 밀 등의 곡물을 분쇄하여 각각 5%농도의 액체 배지를 제조한 후 팽이버섯 균사를 배양하였을 때 조, 밀, 대두박 및 보리의 순으로 건조균체 무게가 많이 나타나는 것을 관찰하고 배지의 종류, 균종 및 배양방법에 따라 균의 생육에 큰 차이를 나타낸다는 보고와 일치하였다.

느타리버섯 균사추출물의생리활성



Fig. 1. Appearance of mycelial growth of *P. ostreatus* grown on solid grain media. 1;corn, 2;foxtail millet, 3;wheat, 4;defatted soybean, 5;brown rice, 6; barley, 7; black bean.

7종류의 곡물을 배지로 사용하여 성장시킨 느타리버섯 균사추출물이 나타내는 폐암세포에 대한 항암활성과 혈전용해활성 및 항균활성을 검토하여 Table 3, Table 4 및 Fig. 2에 나타내었다. 곡물자체를 동일조건으로 처리하여 검토한 대조구에서는 폐암세포에 대하여 아무런 영향을 나타내지 않았으나 곡물배지에 배양한 모든 균사추출물들은 폐암세포에 대하여 높은 항암활성을 가지고 있었다. 그중에서 옥수수, 대두박, 현미, 보리쌀 및 검정콩 배지에서 배양한 느타리버섯 균사추출물은 폐암세포에 대하여 비교적 높은 항암성을 나타내었으며, 조와 밀의 배지에서 배양한 균사추출물은 약간 낮은 항암성을 나타내었다. 이상의

결과로 느타리버섯 균사추출물이 나타내는 폐암세포의 항 암성은 곡물배지의 종류에 따라서 다르게 나타난다는 것 을 확인할 수 있었다. Park 등(1998)은 표고버섯 및 느타 리버섯 자실체와 균사체의 조단백다당체 분말을 생리식염 수에 용해시켜 마우스의 백혈병(L1210) 및 간암(H22)에 대 한 항암효과를 검토하였다. 백혈병(L1210)에 대한 저지율은 표고버섯 배양 균사체 조단백다당 5mg/kg 처리구가 54.9%(p<0.001), 자실체 조단백다당은 25mg/kg 처리구 가 86%(p<0.001)를 나타내었으며, 느타리버섯 자실체 조 단백다당은 5mg/kg 처리구가 40%(p<0.05), 25mg/kg 처리 구가 56.1%(p<0.001)을 나타내었다. 그리고 간암(H₂₂)에 대한 저지율은 표고버섯 배양 균사체 조단백다당 25mg/kg 처리구가 33.3%, 자실체 조단백다당 25mg/kg 처리 때는 71.0%%(p<0.05)을 나타내었으며, 느타리버섯 자실체 조 단백다당은 5mg/kg 처리구가 45%이고 자실체 조단백다당 25mg/kg 처리 시에 36.6%를 나타내었다고 보고하였다.

느타리버섯 균사추출물의 혈전용해활성은 곡물배지의

Table 3. Anticancer activities against lung cancer cell line(A549) of mycelial extracts from *P. ostreatus* grown on solid grain media

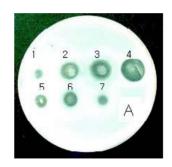
Grain media	Control	P. ostreatus extracts	
Corn	-	+++1)	
Foxtail millet	-	++2)	
Wheat	-	+3)	
Defatted soybean	-	+++	
Brown rice	-	+++	
Barley	-	+++	
Black bean	-	+++	

¹⁾ strong activity, 2) medium activity, 3) weak activity

종류에 따라 fibrin배지에 나타나는 투명환의 형성 시기는 약간 차이가 있었지만, 버섯 균사체 추출액 접종 8시간 이후부터 투명환이 나타나기 시작하여 대두박, 밀, 조, 보리

쌀, 현미 검정콩, 옥수수배지의 순으로 혈전용해활성이 높게 나타났다. 특히 접종 12시간 이후에는 대두박, 밀 및 조의 배지에서 아주 뚜렷한 투명환이 나타났다. 이상의 결과로 버섯균사체 배양 추출물의 혈전용해활성은 사용하는 곡물배지의 종류에 따라서 그 활성에 많은 차이를 나타내었다. 팽이버섯을 여러 종류의 곡물배지에 액체 배양한 후혈전용해활성을 검토한 결과 조, 대두박 및 검정콩배지에서는 높은 활성을 나타내었지만 옥수수, 밀, 현미 및 보리의 배지에서는 약간 낮은 활성을 나타내었다고 보고한 Han(2003) 등의 결과와 비교해 볼 때 혈전용해활성은 버섯의 종류 및 배지의 종류에 따라 상당한 활성의 차이를 나타내는 것을 알 수 있었다.

느타리버섯 균사추출물이 병원성 세균의 생육에 미치는



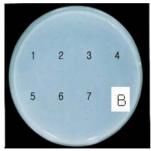


Fig. 2. Fibrinolytic activities of mycelial extracts(A) from *P. ostreatus* grown on solid grain media and grain extracts(B). 1;corn, 2;foxtail millet, 3;wheat, 4;defatted soybean, 5;brown rice, 6; barley, 7; black bean.

항균활성을 검토한 결과 대조구인 곡물자체배지에서는 모든 공시균주에 대하여 전혀 항균활성을 나타내지 않았지만(결과 미제시), B. cereus에 대해서는 옥수수배지에서만이 활성을 나타내었고, P. aeruginosa에 대해서는 옥수수, 조, 밀 및 현미배지에서, S. aureus에 대해서는 사용한 7종류 곡물배지 모두에서 항균활성을 나타내었다. 액체 배양한 팽이버섯의 경우 S. aureus에 대해서는 밀, 보리 및

Table 4. Antibacterial activities of mycelial extracts from P. ostreatus growth on solid grain media

(Unit: mm)*

						(= ===== ,
Grain media	Bacillus cereus	Pseudomonas aeruginosa	Escherichia coli	Staphylococcus aureus	Klebsiella pneumoniae	Lactobacillus plantarum
Corn	10.5	10.8	0	10.7	0	0
Foxtail millet	0	10.6	0	10.9	0	0
Wheat	0	10.9	0	10.5	0	0
Defatted soybean	0	0	0	11.2	0	0
Brown rice	0	10.4	0	11.0	0	0
Barley	0	0	0	10.8	0	0
Black bean	0	0	0	11.4	0	0

^{*}Antifungal activities were determined by the diameters(mm) of non-growing spots of bacteria.

검정콩에서, *L. plantarum*에 대해서는 조, 밀 및 보리에서, 그리고 *E. coli*에 대해서는 밀과 보리 배지로 배양한 배양 액 추출물이 항균활성을 나타내었다는 보고와는 차이를 나타내었다(Han 등, 2003).

요 약

버섯을 이용한 기능성 전통 장류발효식품의 개발 및 버섯 가공산업 육성을 위한 기초자료를 제공하고자 상식하고있 는 7종류의 곡물배지에 느타리버섯 균사체 배양을 행하고 그 배양추출물의 생리활성 등을 검토하였다. 곡물을 냉수에 4시간 수침시킨 후 물 빼기를 한 다음 곡물 중량비에 대하 여 수분을 25%(V/W) 전후로 첨가하고 증자시간을 30분 행하는 것이 느타리버섯 균사생육에 효과적이었다. 7종류 의 곡물배지에 느타리버섯 균사를 고체 배양한 결과 조와 보리쌀 배지에서 생육이 가장 왕성하였고 그 다음은 대두 박과 검정콩 배지로 나타났으며 밀, 옥수수 및 현미배지에 서는 생육이 늦은 것으로 나타났다. 느타리버섯 균사추출 물들이 폐암세포의 생육에 미치는 영향을 검토한 결과 옥 수수, 대두박, 현미, 보리쌀 및 검정콩 배지에서 비교적 높 은 항암성을 나타내었고, 조와 밀의 배지에서는 낮은 항암 성을 나타내었다. 혈전용해활성은 대두박, 밀, 조, 보리쌀, 현미, 검정콩, 옥수수배지의 순으로 높게 나타났으며, 병원 성 세균에 대한 항균활성은 Pseudomonas aeruginosa 및 Staphylococcus aureus에 대하여 높게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2002년 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- 장갑열. 2000. 느타리버섯 생육환경과 기형버섯. Mushroom 4: 50-64.
- 納豆試驗研究會. 1990. 納豆試驗法. 光琳社. 東京. p79.
- Chang, S.T., Miles, P.G. 1989. Edible mushroom and their cultivation. CRC press, New York. p27.
- Choi, J.W., Ryu, D.Y., Kim, Y.K., Hong, E.G., Kwun, M.S. and Han, J.S. 2000. Extraction and purification of bioactive materials from *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Korean J. Biotechnol. Bioeng* 15:293-298.
- Dennert, G. and Tucker, D. 1973. Antitumor polysaccharide lentinan a T cell adjuvant. *J. Natl Cancer Instv.* 51:1727-1735.
- Farag, R.S. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.* 52:665-671.
- Fukuda, K., Uematsu, T., Hamada, A., Akiya, S., Komatsr, N. and Okubo, S. 1975. The polysaccharide from *Lamptromyces japonicus*. *Chem. Pharm Bull*. 23:1955-

1962

- Hamuro, G. and Wagner, H. 1978. β 1,3-Glucan mediated augmentation of alloreactive murine cytotoxic T lymphocytes *in vivo*. Cancer Res. 38:3080-3088.
- Han, S.Y., Shon, M.Y. and Lee, S.W. 2003. Physiological activities of mycelial *flammulina velutipes* cultured in liquid grain media. *Food Industry and Nutrition* 8:50-56.
- Ikekawa, T., Uehara, N., Maeda, Y., Nakanishi, M. and Fukuoka F. 1969. Antitumor activities of aqueous extracts of some edible mushroom. *Cancer Res.* 29:734-735.
- Jung, I.C., Park, S., Park, K.S. and Ha, H.C. (1996) Antioxidative effect of fruit body and mycelial extracts of Pleurotus ostreatus. Korean J. Food Sci. Technol. 28:464-469
- Jung, K.H., Park, W.B., Kim, H.W., Choi, O.C., Kim, B.K. 1992. Studies on antitumor components from *Ganoderma lucidum*. Kor J. Mycol. 20:324-336.
- Kim, B.K., Kwun, J.Y., Park, Y.I. and Choi, E.C. 1992. Antitumor components of the cultured mycelia of *Calvatia craniformis*. *J. Kor Cancer Assoc*. 24:57-63.
- Kim, S.H., Kim, H.W., Choi, O.C. and Kim, B.K. 1993. Immunological studies on colluban isolated *Collubia confluens. J. Kor Cancer Assoc.* 25:288-298.
- Kim, S.H., Lee, J.N., Kim, S.H., Oh, S.J., An, S.W., Lee, J.H., Park, Y.S., Chung, E.K. and Lee, H.Y. 1998. Studies on screening and comparison of biological activities from the fruiting body and mycelium of *Elfvingia applanata*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 26:331-337.
- Lee, B.W. and Park, K.M. 1998. Anti-tumor activity of protein-bound polysaccharides extracted from mycelia of Lentinus edodes. Korean J. Food Sci. Technol. 30:665-671
- Park, M.H., Oh, K.Y. and Lee, B.W. 1998. Anti-cancer activity of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Korean J. Food Sci. Technol*. 30:702-708.
- Saito, K., Nishijima, M. and Miyazak,i T. 1989. Structural analysis of a acidic polysaccharide from *Ganoderma lucidum*(Studies on fungal polysaccharides. XXXV). *Chem. Pharm Bull.* 37:3134-3140.
- Song, C.H., Ra, K.S., Yang, B.K. and Jeon, Y.J. 1998. Immuno-stimulating activity of *Phellinus linteus*. *The Korean J. of Mycology*, 26:86-90.
- Sugihara, T., Yoshioka, Y. and Nishioka, K. 1972. Anticomplementary activity of antitumor polysaccharides. *Nature New Biol.* 238:59-60.
- Suzuiki, I., Hashimoto, K., Oikawa, S., Sato, K., Osawa, M. and Yadomae, T. 1989. Antitumor and immunomodulating activities of a βglucan obtained from liquid-cultured *Grifola frondosa*. *Chem. Pharm Bull*. 37:410-416.
- Yuko, Y., Ryoko, T., Hazime, S., Nobukaki, U. and Funoko, F. 1985. Antitumor polysaccharide from *P. ostreatus* (fr), qual; isolation and structure of a β glucan. *Carbohydrate Res.* 140:93-100.