

## 능이자실체의 Glycoprotein\*<sup>1</sup>

조 남 석\*<sup>2+</sup> · 최 태 호\*<sup>2</sup> · 조 희 연\*<sup>3</sup> · 안드레 레오노비치\*<sup>4</sup>

### Glycoprotein in the Fruit Body of *Sarcodon aspratus*\*<sup>1</sup>

Nam-Seok Cho\*<sup>2+</sup> · Tae-Ho Choi\*<sup>2</sup> · Hee-Yeon Cho\*<sup>3</sup> · Andrzej Leonowicz\*<sup>4</sup>

#### 요 약

본 연구에서는 능이가 포함하고 있는 각종 생리활성 성분을 분석하고, 열수추출-에틸알코올 침전에 의하여 분리한 glycoprotein의 특성을 구명코자 하였다. 능이(*Sarcodon aspratus*)의 무기성분 및 아미노산의 조성을 분석하였는 바, 능이는 Ca, Mg, Zn, Mn, Fe, Cu 및 Pb를 함유하였으며, 특히 Ca 및 Na 성분이 많이 함유되어 있었다. 유리 및 총 아미노산을 분석한 결과, 14종의 유리아미노산이 검출되었고, glutamic acid, alanine, arginine 등이 많았다. 총아미노산은 15종이었으며, glutamic acid가 가장 많았고, aspartic acid, serine, threonine 등이 그 다음이었다.

열수-95% 에틸알코올 추출에 의하여 70.6%의 당과 3.32%의 glycoprotein을 얻었으며, 에틸알코올의 농도에 따라 당의 함량이 상이한 glycoprotein을 얻을 수 있었는데, 에틸알코올의 농도가 30~70%로 낮은 경우, 당함량이 92% 이상으로 매우 높았다.

조 glycoprotein (GP), 분자량 30만 이상의 분획(P), P분획 가운데 DEAE-Sephadex에 흡착되지 않는 분획(P-1), P-1을 다시 Sepharose 2B로 겔여과하여 얻은 부분(P-2), DEAE-Sephadex에 흡착되는 부분(P-3) 등으로 분획한 결과, 정제과정에서 total sugar의 함량은 점차 증가하였으며, 단백질의 함량은 점차 감소되는 것으로 나타났다.

단당류의 조성을 분석한 결과, GP 및 P-3에서 glucose, galactose, mannose, fucose 등 4종의 당이 검출되었으며, GP에는 glucose가 거의 대부분을 이루고 있었고, glutamic acid, serine, alanine, glycine 등이 고농도로 함유되어 있었다. P-3에는 mannose 및 aspartic acid, glutamic acid, glycine 등의 아미노산이 함유되어 있었다. P-2에서는 glucose가 많았고, 다른 fraction에는 없었던 fucose의 함량이 높았으며 mannose는

\*<sup>1</sup> 접수 2004년 2월 23일, 채택 2004년 5월 29일

본 연구는 농림기술관리센터('99첨단, 능이생리활성 성분연구)의 연구비 지원으로 수행되었음.

\*<sup>2</sup> 충북대학교 산림과학부 목재종이과학전공, Wood and Paper Science, School of Forest Resources, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

\*<sup>3</sup> 미국 데이비스캘리포니아대학 분자세포생물학연구실, Section of Molecular & Cellular Biology, University of California Davis, Davis, CA 95616, USA

\*<sup>4</sup> 폴란드 마리아-큐리대 생화학과, Department of Biochemistry, Maria Curie-Skłodowska University, Maria Curie-Skłodowska Place 3, 20-031 Lublin, Poland

† 주저자(corresponding author) : 조남석(e-mail: nscho@chungbuk.ac.kr)

검출되지 않았다.

한편 아미노산조성은 조 glycoprotein (GP)에는 glutamic acid, serine, alanine, glycine 등이 고농도로 함유되었으며, P-3분획에서는 aspartic acid, glutamic acid, glycine 등이 함유되어 있었다. 한편 P-2 fraction의 경우는 단백질함량이 1.1%로서 매우 낮았으며, 분자량은 700,000 이상이었다. aspartic acid, glutamic acid, alanine이 비교적 다량 함유되었으며, mannose 및 cysteine은 거의 확인되지 않았다.

## ABSTRACT

This study was performed to investigate compositions of inorganic elements, amino acids and glycoprotein fractions as biological substances in fruit body of *Sarcodon aspratus*. The fruit body of *Sarcodon aspratus* contained Ca, Mg, Zn, Mn, Fe, Cu, and Pb, in particular high Ca and Na. Hot water extracts consisted of 54% of polysaccharide fraction and 32.6% of protein. In amino acids composition, fourteen free amino acids were detected, mainly glutamic acid, alanine and arginine. Fifteen kinds of total amino acids were contained with major components of glutamic acid, aspartic acid, serine and threonine.

Concerned to glycoprotein extraction, 95% ethyl alcohol concentration gave the highest yields with 70.6% sugar fraction, 3.32% glycoprotein. Different ethyl alcohol concentration resulted in different protein precipitations, and lower concentration ethyl alcohol in the range of 30 to 70% gave more than 92% of higher sugar fraction.

Crude glycoprotein (GP) was fractionated by P fraction of more than MW 300,000, P-1 fraction unadsorbed by DEAE-Sephadex, P-2 fractionated from P-1 by Sepharose 2B gel chromatography and P-3 fraction adsorbed by DEAE-Sephadex. Total sugars were increased and protein contents decreased during fractionation. GP and P-3 contained glucose, galactose, mannose and fucose. GP had high glucose with high contents of glutamic acid, serine, alanine and glycine. P-3 fraction contained high mannose with aspartic acid, glutamic acid, and glycine. P-2 fraction was 700,000 MW with high glucose and fucose, and low protein of 1.1%, high amounts of aspartic acid, glutamic acid and alanine, but no mannose and no cysteine.

**Keywords:** *Sarcodon aspratus* (Berk.), glycoprotein, amino acids, polysaccharide, fractionation

## 1. 서 언

버섯류는 영양성분으로서 식이섬유가 풍부히 함유된 고섬유질 식품으로 평가되고 있으며, 이들이 가지는 성분에 의하여 항암(Cho *et al.*, 1988) 및 항종양성(Sakagami *et al.*, 1988; Maruyama *et al.*, 1989; Mizuno, 1995; 진 등, 1998), 혈압강하(Kabir & Kimura, 1989) 등 생리기능이 해명되면서 그 중요성이 주목받고 있다. 버섯에 포함된 생리활성성분 가운데 구름버섯(Hirase *et al.*, 1976a; 1976b; Park *et*

*al.*, 1989)으로부터의 clestine, mizofirane, 표고버섯에 들어있는 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 eritadenine (Suzuki & Oshima, 1976), 암세포를 억제시키는 다당체인 lentinan (Hamuro *et al.*, 1974; Chihara, 1993) 등 의약품으로서 인가된 성분도 있으며, 기타 버섯으로부터 유래되는 돌연변이 억제효과(김 등, 1999) 등의 연구보고가 많고, 항바이러스 효과(Yamamura & Cochrane, 1976)를 나타내는 생리활성 물질에 대한 연구도 진행되고 있는 등, 임상버섯의 식용, 약용 버섯은 신약개발의 중요한 천연자원으로 인

정되고 있다. 일본의 경우 특히 기능성 식품의 중심을 이루는 표고버섯으로부터 추출·정제된 eritadenine 성분은 오늘날 특정 보건용 식품과 깊은 관계가 있는 미량성분과 생리기능의 과학적 해명이 이루어지면서 당시 일본의 JSD 식품제도를 발족시키는데 결정적 역할을 하였다. 최근 성인병이 늘어나면서 특히 암이나 심장질환이 증가하는 추세에 있는 바, 항종양 및 콜레스테롤의 저하작용을 가지는 버섯의 기능성 성분에 관한 이용(Kawagishi *et al.*, 1990a; 1990b; 木野·川畠, 1992; Mizuno, 1995; 민 등, 1995; 차 등, 1998) 등이 새로이 주목을 받고 있다.

산림에서 나는 식용버섯으로 능이(향버섯, *Sarcodon aspratus*)는 참나무류의 뿌리와 공생하는 버섯으로 균근성이며 아직 인공재배법은 알려지지 않고 있다. 능이는 향이 우수하며 건조시에 특히 강한 향이 생성되는 등 우수한 향으로 각광받고 있으며, 향기와 맛이 매우 좋고 한방과 민간요법에서 육류의 소화제로 알려져 있으므로 한국 고유의 고급식품 문화발달에 기여한 것으로 생각된다.

능이는 우리나라 및 일본에서 널리 식용되는 버섯으로서 그 향기가 높아 향버섯으로도 불리고 있으며, 우리나라에서는 민간약으로서 고기류를 먹고 체한데 매우 좋은 약으로 사용되어 왔다. 최근 연구에서 능이가 많은 단백질가수분해효소(proteinase, protease)를 함유하고 있음이 보고(Cole *et al.*, 1993; Dhandapani & Vijayaragavan, 1994; Dosoretz *et al.*, 1990; 박, 1983a; 1983b) 되어졌으며, 특히 이 버섯에 함유된 protease는 타 버섯류에 비하여 매우 높은 단백질분해활성이 있음을 확인할 수 있었다. 능이는 오래 전부터 우리나라에서 식용되어 온 버섯으로 한방에서는 육류를 먹고 체할 때 탕약으로 사용되어 왔다(고, 1985). 능이버섯의 혈중 cholesterol 저하효과(古川, 1992), 추출물의 항돌연변이성 효과(배 등, 2000) 및 간손상 예방효과(배 등, 2001) 등의 연구도 보고되었다.

본 연구에서는 능이가 포함하고 있는 생리활성 성분을 찾을 목적으로 능이를 열수 및 에틸알코올로 추출하여 얻어진 glycoprotein의 특성을 파악하고자 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

1999년 10월 월악산 충북대 연습림 및 농협 물류센터에서 구입한 능이(*Sarcodon aspratus*)를 40°C 이하의 열풍건조기에서 건조시킨 다음 4°C에서 저온저장하여 공시하였다.

### 2.2. 조성분의 분석

버섯이 함유하는 무기성분 분석은 150°C에서 건조시킨 시료를 500±25°C에서 8시간 동안 회화시킨 후, 최종적으로 700°C까지 올려 다시 2시간 더 회화시켜 얻은 회분을 농산에 용해시켜 원자흡광분석기를 사용하여 흡광도를 측정, 표준용액의 흡광도로부터 구한 검량선에 따라 시료중의 농도를 계산하였다. 측정시각각 다른 파장(Ca 318 nm, Mg 285 nm, Fe 238 nm, Cu 325 nm, Zn 214 nm, Mn 279 nm, Pb 257 nm, Na 589 nm)에서 측정하였다.

### 2.3. 능이의 용매추출

#### 2.3.1. 열수추출

시료분말 100 g에 증류수 1,000 ml를 가한 다음, 80~90°C에서 8시간 추출을 행하였다. 이 추출물을 cellulose acetate 투석막에 넣어 4°C에서 증류수 3,000 ml를 사용, 2시간 투석하는 조작을 7회 반복 후, 감압·농축하여 10°C에서 6,000 G로 40분간 원심분리 후, 상등액을 냉동건조시켜 분말시료를 얻었다.

#### 2.3.2. 알코올 추출

시료분말 100 g을 75% 에틸알코올 500 ml에 넣고 water bath에서 30분간 3회 추출, ethylether로 탈지시킨 다음, 농축시켜 유리아미노산 정량용 시료로 하였다.

## 2.4. 다당류, 단백질 및 아미노산의 정량

열수추출물중에 포함된 polysaccharide fraction의 분석은 Carney(1986) 및 Cho 등(1988)의 방법으로 실시하였는 바, 시료액 2 ml, anthrone시약 200 mg 을 무수에틸알코올 5 ml에 녹인 후, 75% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 가하여 100 ml로 한 다음, 정색반응을 일으킨 다음, 625 nm에서 흡광도를 측정하여 glucose의 표준곡선의 결과로부터 당함량을 정량하였다.

총 단백질량은 Folin's phenol reagent (Lowry et al., 1951)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하고, albumin (Sigma Co.)을 표준시료로하여 만든 검량선으로 단백질함량을 계산하였다. 총 아미노산함량은 버섯 1 g에 대하여 6 N-HCl 60 ml을 가하고 110°C에서 20시간 가수분해시킨 후, 감압·농축시켜 0.02 N HCl용액으로 희석시켜 Amino Acid Analyzer (Hitachi, 835)로 분석하였다.

## 2.5. Glycoprotein의 추출 및 정제

시료에 10배량의 증류수를 가하고 100°C에서 3시간 동안 추출한 후, 3,000 G에서 20분간 원심분리하여 그 상등액을 여과하였다. 여과액을 감압농축기로 용적을 1/10로 농축시킨 다음, 3배량의 에틸알코올을 가하여 4°C에서 하룻밤 방치하였다. 이때 30, 50, 70 및 90% 에틸알코올로 농도별 침전물의 수율을 비교하였다. 생성된 침전물을 5,000 G에서 30 분간 원심분리하여 회수하고, 이를 다시 소량의 증류수에 녹여 3,000 G에서 20분간 원심분리하여 불용성 불순물을 제거하였다. 이를 증류수에 넣어 24시간 투석한 다음, 동결건조시켜 조 glycoprotein을 분리하였다.

열수추출-에틸알코올 침전을 거쳐 조제된 조 glycoprotein (GP)을 박막여과에 의한 분획을 시도하였는 바, 박막은 Diaflo XM300 (MW cut-off 300,000)을 사용하였다. 박막여과의 분획에서 회수된 분자량 300,000 이상의 분획(P)과, 이 300,000 이상의 고분자부분을 DEAE-Sephadex A-50 컬럼을 사용, DEAE-Sephadex A-50 (Pharmacia Co.)에 흡착되지 않는 분획(P-1)과, P-1을 다시 10 mM sodium phosphate (pH 7.0)에 녹여 상등액을 Sepharose 2B (Pharmacia

Co.)로 젤여과하여 얻은 부분(P-2) 등 2종의 glycoprotein으로 분획하였다. DEAE-Sephadex에 흡착되는 부분은 P-3으로 하였다.

이들 glycoprotein의 분자량은 gel filtration 방법으로 실시하였는바, 먼저 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 평형시킨 Sepharose 2B column (2×95 cm)의 void volume (V<sub>0</sub>)을 구하고, column을 완전히 수세한 다음, 표준단백질과 glycoprotein을 혼합하여 column에 넣어 각각의 elution volume (V<sub>e</sub>)를 구한다. 표준단백질의 분자량에 대하여 V<sub>e</sub>/V<sub>0</sub> 값을 plot한 검량선과 비교하여 glycoprotein의 분자량을 측정하였다. 이때 사용한 표준단백질은 blue dextran (MW 2,000,000), thyroglobulin bovine (MW 669,000), alcohol dehydrogenase (MW 150,000)이었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 버섯이 함유하는 무기성분

능이의 회분함량은 1.48%였으며 이들중에 함유된 무기성분은 Table 1에 나타난 바와 같다. 성분 가운데 Ca의 함량이 82.5 ppm으로서 가장 높았으며, 다음이 Na으로서 26.3 ppm, Mg 10.4 ppm, Fe 7.08 ppm의 순이었으며, Zn, Mn, Cu도 함유되어 있었고, Pb는 0.05 ppm으로서 가장 소량 함유되어 있었다. 박(1983b)의 연구결과에 의하면 Ca이 71.9 ppm로서 가장 많았으며, Fe이 6.92 ppm으로서 2번째로 많았고, Zn, Mg, Mn, Cu의 순으로서, 본 연구에서 사용한 능이가 Na 및 Mg이 더 많이 함유된 것으로 나타났다.

Table 1. Contents of minerals in the fruitbody of *S. aspratus*

Mineral	Contents, ppm
Ca	82.5
Mg	10.4
Zn	3.95
Mn	2.47
Fe	7.08
Cu	1.89
Pb	0.05
Na	26.3

Table 2. Polysaccharides and protein contents in hot-water extracts from the fruitbody of *S. aspratus*

L/I	Contents. %
Polysaccharide fraction	54.0
Total protein	32.6

### 3.2. 능이의 열수추출 성분특성

Table 2는 열수추출물중의 당함량 및 총 단백질함량을 측정된 결과로서, 당함량은 54%였으며, 총 단백질은 32.6%를 나타냈다. Spiro(1966)도 glycoprotein중의 당 및 단백질함량을 분석한 결과, 총 다당류 함량이 반 이상을 차지하였으며, 단백질도 약 30%를 함유하는 것으로 보고하였다.

### 3.3. 능이의 알코올 추출성분 특성

Table 3은 능이의 유리아미노산 및 총 아미노산함량을 측정된 결과로서, 알코올추출물 중의 아미노산으로서는 총 14종의 아미노산이 검출되었으며, glutamic acid가 6.08 mg으로서 가장 많았으며, alanine과 arginine이 그 다음으로 많이 들어 있었다. Proline, cysteine, tyrosine 등은 검출되지 않았다. 산 가수분해물 중에 함유된 아미노산은 15 종이었으며, 그 가운데 glutamic acid가 21.7 mg으로서 가장 많았고, aspartic acid, serine, threonine 등이 그 다음으로 많이 함유되어 있었다. 정 등(1975) 및 노(1976)가 분석한 식용버섯의 아미노산 분석결과와 비교하였을 때, 아미노산의 종류는 거의 유사하였으며, 성분 함량에는 버섯에 따라 다소의 차이가 인정되었다.

### 3.4. Glycoprotein의 추출 및 성상

에틸알코올의 농도에 따른 glycoprotein의 수율은 농도 30%일 때 0.50 g이었으며, 농도가 점차 증가됨에 따라 그 수율이 증가하여 에틸알코올 농도 50%일 때 1.21 g, 70%일 때 2.15 g, 95%일 때 3.32 g으로서 수율이 증가하는 결과를 나타냈다. 침전에 사용된 에틸알코올의 농도에 따른 total sugar 및 총 단백질함

Table 3. Free and total amino acids in the fruitbody of *S. aspratus*

Amino acids	Free, mg/g	Total, mg/g
aspartic acid	0.71	15.5
threonine	0.45	12.6
serine	0.68	15.0
glutamic acid	6.08	21.7
proline	-	trace
glycine	0.51	10.8
alanine	2.09	9.82
cysteine	-	2.11
valine	0.71	10.5
methionine	0.44	0.56
isoleucine	0.61	10.2
leucine	0.79	13.7
tyrosine	-	0.08
phenylalanine	0.25	4.55
lysine	0.71	10.9
arginine	1.53	6.73
histidine	0.21	4.88

Table 4. Sugar and protein contents of crude glycoprotein

Contents, %	Ethyl alcohol concentration, %			
	30	50	70	95
Total sugar	95.1	92.8	92.7	70.6
Protein	n.d.	n.d.	n.d.	6.8

\* n.d. : not detected

Table 5. Sugar and protein contents in various fractions of glycoprotein from the fruitbody of *S. aspratus*

Fraction	Total sugar, %	Protein, %
GP	70.5	6.5
P	81.4	22.4
P-1	84.6	6.8
P-2	90.1	1.1

량은 Table 4에서 보는 바와 같이 30% 에틸알코올로 침전시켰을 때, total sugar의 함량이 95.1%로 가장 높았으며, 에틸알코올 농도가 높아감에 따라 당함량이 점차 낮아지는 것으로 나타났으며, 95% 에틸알코올로 침전시켰을 때 단백질이 검출되었다. 침전물 중에는 glycoprotein 이외에 단순다당류 및 단순단백질도 함유되어 있다고 볼 수 있다. 이러한 연구결과는 Clegg(1982)의 연구결과와 유사하였으며, Park 등

Table 6. Carbohydrate composition in various fractions of glycoprotein

Fraction	Fucose	Galactose	Glucose	Mannose
GP	2.21	5.69	82.5	0.11
P-2	22.5	7.42	70.8	n.d.
P-3	6.7	27.33	20.7	45.8

\* n.d.: not detected.

(1989)에 의해 수행된 *Coriolus versicolor*의 glycoprotein의 경우와도 유사한 경향을 보여주었다.

열수추출-에틸알코올 침전을 거쳐 조제된 조 glycoprotein (GP)을 분리정제한 분자량 30만 이상의 분획(P), P분획 가운데 DEAE-Sephadex에 흡착되지 않는 분획(P-1), P-1을 다시 Sepharose 2B로 젤여과하여 얻은 부분(P-2), DEAE-Sephadex에 흡착되는 부분(P-3) 등으로 분획한 결과, Table 5에서 보는 바와 같이 glycoprotein의 정제과정에서 total sugar의 함량은 점차 증가하였으며, 단백질의 함량은 점차 감소되는 것으로 나타났다. P-2는 단백질함량이 1.1%로서 매우 낮았으며, 분자량은 700,000 이상이었다.

또한 조 glycoprotein (GP), P-2 및 DEAE-Sephadex에 흡착되는 부분 P-3에 대하여 다당류의 조성을 분석한 결과, Table 6에서 보는 바와 같이 GP 및 P-3에서 glucose, galactose, mannose, fucose 등 4종의 당이 검출되었으며, GP에는 glucose가 거의 대부분을 이루고 있었고, P-3에는 mannose가 다량 함유되어 있었고, galactose 및 glucose의 상대적 함량도 비교적 높았는데 대하여, P-2에서는 glucose가 많았고, 다른 fraction에는 없었던 fucose의 함량이 높았으며 mannose는 검출되지 않았다.

열수추출-에틸알코올 침전에 의하여 분리한 glycoprotein의 각 fraction에 대하여 아미노산을 분석한 결과, Table 7에서 보는 바와 같이 조 glycoprotein (GP)는 glutamic acid, serine, alanine, glycine 등이 고농도로 검출되었으며, P-3분획에서는 aspartic acid, glutamic acid, glycine이 고농도로 함유되어 있었다. 한편 중성 다당류로서 분획된 P-2 fraction의 경우는 aspartic acid, glutamic acid, alanine이 비교적 다량 함유되었으며, cysteine은 거의 확인되지 않았다.

Table 7. Amino acid composition in various fractions of glycoprotein

Amino acid	GP	P-2	P-3
aspartic acid	8.14	8.85	14.8
glutamic acid	12.0	12.8	20.1
serine	10.8	9.88	10.3
glycine	9.22	9.74	14.9
histidine	3.77	1.45	2.11
arginine,	6.73	5.51	5.72
threonine	12.0	12.8	7.63
alanine	7.61	6.81	1.39
proline	3.74	3.81	0.97
tyrosine	7.51	6.79	5.11
valine	2.36	2.33	0.51
methionine	0.85	n.d.	3.29
cysteine	4.55	9.75	2.25
isoleucine	5.84	5.41	4.51
leucine	3.21	2.76	1.60
phenylalanine	2.35	1.30	4.38
lysine			

## 4. 결 론

본 연구에서는 능이(*Sarcodon aspratus*)가 포함하고 있는 각종 생리활성 성분을 분석하고, 열수추출-에틸알코올 침전에 의하여 분리한 glycoprotein의 특성을 구명코자 하였다. 능이의 무기성분 및 아미노산의 조성을 분석하였는바, Ca, Mg, Zn, Mn, Fe, Cu 및 Pb를 함유하였으며, 특히 Ca 및 Na 성분이 많이 함유되어 있었다. 유리 및 총 아미노산을 분석한 결과, 14종의 유리아미노산이 검출되었고, glutamic acid, alanine, arginine 등이 많았다. 총 아미노산은 15종이었으며, glutamic acid가 가장 많았고, aspartic acid, serine, threonine 등이 그 다음이었다.

열수추출물은 54%의 다당류를 함유하였으며, 32.6%의 단백질을 가지고 있었다. 열수-95% 에틸알코올추출에 의하여 3.32%의 수율로 glycoprotein을 얻었으며, 추출에 사용하는 에틸알코올의 농도에 따라 당의 함량이 상이한 glycoprotein을 얻을 수 있었는데, 에틸알코올의 농도가 낮을수록 당의 함량이 높았다. 침전에 사용된 에틸알코올의 농도에 따른 total sugar 및 총 단백질함량은 30% 에틸알코올로 침전시켰을 때, total sugar의 함량이 95.1%로 가장 높았으

며, 에틸알코올 농도가 높아감에 따라 당함량이 점차 낮아지고, 95% 에틸알코올로 침전시켰을 때 단백질이 검출되었다.

조 glycoprotein (GP), 분자량 30만 이상의 분획 (P), P분획 가운데 DEAE-Sephadex에 흡착되지 않는 분획(P-1), P-1을 다시 Sepharose 2B로 겔여과하여 얻은 부분(P-2), DEAE-Sephadex에 흡착되는 부분(P-3) 등으로 분획한 결과, 정제과정에서 total sugar의 함량은 점차 증가하였으며, 단백질의 함량은 점차 감소되는 것으로 나타났다. P-2는 단백질함량이 1.1%로서 매우 낮았으며, 분자량은 700,000 이상이었다. 또한 단당류의 조성을 분석한 결과, GP 및 P-3에서 glucose, galactose, mannose, fucose 등 4종의 당이 검출되었으며, GP에는 glucose가 거의 대부분을 이루고 있었고, P-3에는 mannose가 다량 함유되어 있었다. P-2에서는 glucose가 많았고, 다른 fraction에는 없었던 fucose의 함량이 높았으며 mannose는 검출되지 않았다. 한편 아미노산조성은 조 glycoprotein (GP)에는 glutamic acid, serine, alanine, glycine 등이 고농도로 함유되었으며, P-3분획에서는 aspartic acid, glutamic acid, glycine 등이 함유되어 있었다. 한편 P-2 fraction의 경우는 aspartic acid, glutamic acid, alanine이 비교적 다량 함유되었으며, cysteine은 거의 확인되지 않았다.

## 참고 문헌

1. 고봉경. 1985. 능이버섯의 성분연구. 고려대학교 대학원 석사학위논문.
2. 김현정, 이병훈, 김옥미, 배준태, 박선희, 박동철, 이갑량. 1999. 먹물버섯자실체 및 균사체추출물의 돌연변이억제 효과. 한국식품영양과학회지 28(2): 452~457.
3. 노일협. 1976. 식용버섯의 아미노산 구명. 숙대논문집 16: 427~432.
4. 민두식, 조남석, 성재모, 조재명. 1995. 표고버섯. 새로운 재배와 경영. 농민신문사. pp. 65~76.
5. 박완희. 1983a. 능이의 성분에 관한 연구(제1보). 한국균학회지 11(2): 85~89.
6. 박완희. 1983b. 능이의 성분에 관한 연구(제2보). 한국균학회지 11(4): 159~162.
7. 배준태, 이갑량. 2000. 향버섯(*Sarcodon aspratus*) 추

- 출물의 향돌연변이성 및 DNA topoisomerase 저해효과. 한국식품영양과학회지 29(5): 917~921.
8. 배준태, 장종선, 박준홍, 박선희, 김지영, 오은정, 김현정, 김옥미, 이별나, 이갑량. 2001. 벤조피렌을 투여한 마우스에서 향버섯추출물의 간손상 예방효과. 한국식품영양과학회지 30(2): 320~324.
9. 정재기, 정태영, 나상두. 1975. GLC에 의한 버섯의 아미노산의 정량. 한국식품영양학회지 8: 47~52.
10. 진미림, 정규선, 김병각. 1998. 잣나무 균사체로부터 분리한 단백질당체의 암종에 따른 선별적 항암작용. 약학회지 42(5): 480~486.
11. 차동열, 성재모, 조남석 외. 1998. 버섯학. 교학사. pp. 85~94.
12. 古川久産. 1992. きのこ學. 共立出版株式會社. pp. 325~374.
13. 水野 卓, 川合正允(編著). 1992.キノコの化學・生化學. (株)學會出版センター. pp. 13~91.
14. Carney, S. L. 1986. Carbohydrate Analysis, A Practical Approach. IRL Press, Oxford and Washington DC. p. 135.
15. Chihara, G. 1993. Medical aspects of Lentinan isolated from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. pp. 261~266. In: Chang, S. T., Buswell, J. A. and Chiu, S. W. eds. Mushroom biology and Mushroom products. Proceedings of the first international conference on mushroom biology and mushroom products. August 23~26, 1993, The Chinese Univeristy of Hong Kong, Hong Kong.
16. Cho, H. J., M. J. Shim, E. C. Choi, and B. K. Kim. 1988. Studies on constituents of higher fungi of Korea (VII). Comparison of various antitumor constituents of *Coriolus versicolor*. Korean J. Mycol. 16: 162~174.
17. Clegg, J. C. S. 1982. Glycoprotein detection in nitrocellulose transfers of electrophoretically separated protein mixtures using concanavalin a and peroxidase: application to arenavirus and flavivirus proteins, Anal. Biochem. 127: 389~394.
18. Cole, S. C. J., A. K. Charnley, and R. M. Copper. 1993. Purification and partial characterization of a novel trypsin-like cysteine protease from *Metarbizium anisopliae*, FEMS. Microbiol. Letter 113: 189~196.
19. Dhandapani, R. and R. Vijayaragavan. 1994. Production of a thermophilic, extracellular alkaline

- protease by *Bacillus stearothermobilus* AP-4, World. J. Microbiol. Biotechnol. 10: 33~35.
20. Dosoretz, C. G., H. C. Chen, and H. E. Grethlein. 1990. Effect of environmental conditions on extracellular protease activity in lignolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*, Appl. Environ. Microbiol. 56: 395-400
  21. Hamuro, J., Y. Maeda, F. Fukuoka, and G. Chihara. 1974. Antitumor polysaccharides lentinan and pachymaran as immunopotentiators. Mushroom Science 9: 477~487.
  22. Hirase, S., S. Nakai, T. Absatsu, A. Kobayashi, M. Oohara, K. Matsunaga, M. Fujii, S. Kodaira, T. Fujii, T. Furutsho, Y. Ohmura, T. Wada, C. Yoshikumi, S. Ueno, and S. Ohtsuka. 1976a. Structural studies on the antitumor active polysaccharides from *Coriolus versicolor*. II. Structures of  $\beta$ -glucan moieties of fractionated polysaccharides. Yakugaku Zasshi 96: 419~424.
  23. Hirase, S., S. Nakai, T. Akatsu, A. Kobayashi, M. Oohara, K. Matsunaga, M. Fujii, S. Kodaira, T. Fujii, T. Furusho, Y. Ohmura, T. Wada, C. Yoshikumi, S. Ueno, and S. Ohtsuka. 1976b. Structural studies on the antitumor active polysaccharides from *Coriolus versicolor*. I. Fractionation with barium hydroxide. Yakugaku Zasshi 96: 413-418.
  24. Kabir, Y. and S. Kimura. 1989. Dietary mushrooms reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR). J. Nutr. Sci. Vitaminol. 35: 91~94.
  25. Kawagishi, H., M. Ando, and T. Mizuno. 1990a. Hericenone A and B as cytotoxic principles from mushroom, *Hericum erinaceum*. Tetrahedron Letters 31: 373~376.
  26. Kawagishi, H., T. Kanao, R. Inagaki, T. Mizuno, K. Shimura, H. Ito, T. Hagiwara, and T. Nakamura. 1990b. Formolysis of a potent antitumor (1-6)- $\beta$ -D-glucan-protein complex from *Agaricus blazei* fruiting bodies and antitumor activity of the resulting products. Carbohydrate Polymers 12: 393~403.
  27. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 458~465.
  28. Maruyama, F., K. Yamazaki, Murofushi, C. Kondo, and T. Ikekawa. 1989. Antitumor Activity of *Sarcodon aspratus* (BERK.) S. ITO and *Ganoderma lucidum* (FR.) Karst, J. Pharmacobio. 12: 118~123.
  29. Mizuno, T. 1995. Antitumor polysaccharides isolated from mushroom fungi. Mushroom Sci. (Japan) 2(3): 99~114.
  30. Park, Y. D., Y. K. Hong, W. K. Whang, J. D. Huh, and S. Park. 1989. Comparisons of protein-bound polysaccharide contents obtained from mycelial cultured broth and fruitbody of *Coriolus versicolor*. Korean J. Mycol. 17: 223~228.
  31. Sakagami, Y., Y. Mizogushi, T. Shin, S. Seki, K. Kobayashi, S. Morisawa and S. Yamamoto. 1988. Effect of an antitumor polysaccharide schizophyllan on interferon- $\gamma$  and interleukin-2 by peritoneal blood mononuclear cells. Biochem. Biophysic. Res. Commun. 155: 650~655.
  32. Spiro, R. G. 1966. Analysis of sugars found in glycoproteins, Methods Enzymol. 8: 3~26.
  33. Suzuki, S. and S. Oshima. 1976. Influence of shiitake (*Lentinus edodes*) on human serum cholesterol. Mushroom Sci. 9: 463~467.
  34. Yamamura, Y. and K. W. Cochrane. 1976. A selective inhibitor of myxoviruses from shiitake (*Lentinus edodes*). Mushroom Sci. 9: 495~507.