

擔子菌이 生産하는 酵素에 관한 研究

第一報. 粗酵素의 生産에 관하여

洪載植 · 金東翰

全北大學校 農科大學 農化學科

(1981년 2월 15일 수리)

Studies on the Enzymes Produced by *Basidiomycetes* Part 1. The Production of Crude Enzymes

Jai Sik Hong and Dong Han Kim

College of Agriculture, Jeonbug National University, Jeon-Ju, Korea

Abstract

Among the *Basidiomycetes*, *Pleurotus ostreatus* 301 and *Lentinus edodes* 3-1 were chosen because of their good enzyme productivity and rapid mycelial growth in rice straw medium. Their cultural conditions adequate for the enzymes production and effects of various materials and inorganic salts added to the rice straw media were investigated. *L. edodes* 3-1 was excellent in productivity of cellulase and xylanase, and *P. ostreatus* 301 in protease. The optimum conditions for enzyme production were at 30°C in cellulase production and at 25°C in xylanase and protease production, with 75% moisture content and 5.0-6.0 initial pH. The appropriate cultural periods, for enzyme production were 30 days and 35 days for *P. ostreatus* 301 and *L. edodes* 3-1, respectively. Among the various materials added, defatted soybean, defatted rape seed, or defatted sesame were all effective to enzyme production but reduced mycelial growth. Rice bran was also effective, particularly at 30% concentration. The addition of inorganic salts showed effective to enzyme production. Among inorganic salts, optimum concentration of CaCO₃ was 5%, and that of CaSO₄ was 2%.

緒 論

擔子菌類에서 生産되는 버섯은 蛋白質, vitamin, 無機物 등이 풍부할뿐 아니라 藥理的 効能이 최근 漸進적으로 밝혀짐에 따라 세계 각국에서 버섯에 대한 관심도가 높아가고 있는 실정이다.

擔子菌類에 대한 研究로는 杉森¹⁾ 등은 培地の 炭素源을 非炭水化合物로 했을때 버섯菌의 菌絲生育과 子實體 生産에 대하여 研究한바 있고 Koske²⁾ 는 *Typhla erthropus*의 菌絲生育과 胞子發芽, 小川³⁾ 등은 송이버섯의 菌絲培養에 대하여 研究報告한바 있다. 後藤⁴⁾ 등은 合成培地에서 窒素源으로

로 glutamate가 표고버섯의菌絲培養에 미치는 영향, 中澤⁵⁾ 등은 原木상의 표고버섯子實體形元에 대하여 研究한바 있고 尹⁶⁾은 팽이버섯의形態的分離, 洪⁷⁾은 느타리버섯의生理化學的性質에 대한 研究, 金⁸⁾은 잣버섯의成分에 대하여 研究報告한바 있다. 川合^{9,10,11,12,13)}과 金¹⁴⁾ 등은擔子菌類가 cellulase, xylanase, amylase, protease, pectinase, trehalase 등을分泌한다고 報告한바 있고 若林^{15,16)} 등이 半合成培地에서 培養한 *Irpex lacteus*의 cellulase, 洪^{17,18,19,20,21)} 등은 벗짚培地에 느타리와 팽이버섯菌을 培養하여 cellulase, protease, xylanase의 酵素學的性質을 研究報告한바 있다. 川合^{22,23,24)} 등의 半合成培地上的 擔子菌類에 의한 植物組織崩壞酵素에 대한 研究와 馬田²⁵⁾ 등의 擔子菌이 生産하는 菌母生細胞를 溶解하는 酵素에 關於하여 研究報告한 바 있다.

그러나 擔子菌類의 벗짚배지상에서 酵素生産條件에 대한 研究는 거의 不수 없으므로 著者는 버섯栽培와 醱酵飼料로의 利用에 필요한 資料로 삼고자 몇개의 擔子菌類를 벗짚培地에 培養하여 酵素生産과 菌絲生育이 良好한 菌株를 選定하여 이들 菌絲의 酵素生産條件을 檢討하고 아울러 培地에 副原料와 無機鹽類를 添加했을때 酵素生産에 미치는 影響에 대하여 調查한 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 供試菌株

本實驗室에서 保管하고 있는 *Pleurotus ostreatus* 201, 202, 301, *Lentinus edodes* 3-1, 3-14, 3-15, *Flammulina velutipes*, *Amanita rubescens*, *Auricularia auriculajudae*를 供試菌株로 使用하였다.

2. 培地의 調製

1) 水分

벗짚을 2~2.5cm로 잘라 水侵한 다음 米糠 10%를 가하고 水分含量 比較 實驗區를 제외하고는 水分含量을 75%되게 調整한후 500ml容 廣口培養瓶에 210g씩 넣고 1.2kg/cm² 壓力에서 30分間 殺菌하였다.

2) pH

벗짚培地의 pH는 HCl과 NaOH를 使用하여 pH 比較實驗區를 除外하고는 水侵後 pH를 수차에 걸쳐 pH 6.0으로 調整하여 培地를 調製하였다.

3) 副原料

벗짚에 副原料로 밀기울, 大豆粕, 油菜粕, 참깨묵, 澱粉粕을 각각 10%씩 가하고 水分과 pH를 調整하여 調製하였다. 米糠을 0~40%되게 添加하였다.

4) 無機鹽類

벗짚培地에 (NH₄)₂SO₄, (NH₄)₂HPO₄, Co(NH₂)₂, NaNO₃는 0.5%, KH₂PO₄는 0.2%, MgSO₄는 0.1%, CaCO₃는 5%, CaSO₄는 2%를 각각 添加하여 調製했다. CaCO₃와 CaSO₄의 添加量 比較 實驗區는 CaCO₃는 0~7%, CaSO₄는 0~3%로 添加量을 달리하였다.

3. 培養方法

前記培地에 일정량의 種菌을 培養瓶의 상면 중앙에 接種하여 菌株選定, 培養溫度 培養期間의 影響을 보기위한 實驗區를 제의하고는 25°C에서 *P. ostreatus* 301은 20日, *L. edodes* 3-1은 30日間 培養하였다.

4. 酵素液의 調製

培養이 끝난 培養物을 乾物로 환산하여 10倍量의 蒸溜水를 가한후 Waring blender로 3分間 磨碎하고 濾過하여 遠心分離(6000rpm : 20min) 한후 上澄液을 粗酵素液으로 使用하였다.

5. 酵素의 活性度 測定

1) Cellulase糖化活性^{17,26)}

0.5% Na-CMC 溶液 2ml에 McIlvaine緩衝液 2ml와 1ml의 粗酵素液을 가하고 40°C水槽에서 120分間 反應시킨후 遊離된 還元糖을 Somogyi-Nelson法으로 比色定量하고 酵素液 1ml로 生成된 還元糖(glucose)의 μg으로 cellulase糖化活性의 比較單位로 하였다.

2) Xylanase의 活性^{19,27)}

1% xylan溶液 5ml와 McIlvaine緩衝液 4ml를 L형 시험관에 취하고 粗酵素液 1ml를 가하여 50°C의 恒溫振盪水槽에서 30分間 反應시킨후 Somogyi-Nelson法으로 還元糖을 定量하고 酵素液 1ml로 生成된 還元糖(xylose)의 μg으로 酵素活性의 比較單位로 하였다.

3) Protease의 活性^{9,18)}

Anson 荳原法에 準했으며 酵素液 1ml로 生成하는 tyrosine의 μg으로 酵素活性의 比較單位로 하였다.

結果 및 考察

1. 菌絲의 選定

몇개의 擔子菌類중에서 酵素生産力과 菌絲生育

이 優秀한 菌株를 選定하기 위하여 各種菌絲를 接種하여 25°C에서 20日間 培養한후 酵素生産力을 檢討한 結果는 Table 1과 같다.

Table 1. Relative enzymes activity of *Basidiomycetes*

Strains	Cellulase	Xylanase	Protease
<i>Pleurotus ostreatus</i> 201	708	754	62.5
<i>Pleurotus ostreatus</i> 202	726	806	68.0
<i>Pleurotus ostreatus</i> 301	734	876	72.0
<i>Lentinus edodes</i> 3-1	1216	2164	18.0
<i>Lentinus edodes</i> 3-14	1186	1853	17.0
<i>Lentinus edodes</i> 3-15	1042	1672	19.5
<i>Flammulina velutipes</i>	768	662	98.0
<i>Auricularia auriculajudae</i>	802	721	58.5
<i>Amanita rubescens</i>	736	1156	13.5

Table 1과 같이 cellulase와 xylanase生産은 *L. edodes group*이 良好하였고 이중에서도 *L. edodes* 3-1이 제일 우수하였으며 cellulase는 나머지 菌株

들간에 거의 비슷하였으나 xylanase는 *L. edodes* group 다음으로 *Am. rubescens*가 좋았다. Protease는 이와는 달리 *F. velutipes*가 제일양호하였고 그다음에 *P. ostreatus* group이었으며 이중에서는 *P. ostreatus* 301이 좋았고 *Am. rubescens*는 아주 不良하였다. 菌絲生育은 *P. ostreatus* group이 제일 빠르고 그 다음에 *L. edodes* group과 *F. velutipes*이었으며 *Au. auriculajudae*와 *Am. rubescens*는 生育이 不振하였다. 이와같이 酵素生産力과 菌絲生育은 일치하지 않았으며 버섯 菌의 種類에 따라서 相異함이 많았다. 그러므로 酵素生産力이 제일강하고 菌絲生育이 比較의 良好한 *L. edodes* group중에서 *L. edodes* 3-1과 菌絲生育이 제일빠르고 比較의 酵素生産力이 강한 *P. ostreatus* group중에서 *P. ostreatus* 301을 選定하여 다음 實驗에서는 使用하기로 하였다.

2. 培養溫度의 影響

培養溫度가 酵素生産에 미치는 影響을 알기 위하여 20~35°C에서 培養하여 酵素生産力을 檢討한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2. Effect of cultural temperature on the enzyme production* of *Basidiomycetes*

Temperature (C)	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase	Xylanase	Protease	Cellulase	Xylanase	Protease
20	448	389	58.0	1152	1665	18.0
25	704	671	67.5	1408	2662	22.2
30	768	572	49.0	1536	1887	14.7
35	704	473	45.0	0	0	0

* relative activity

Cellulase는 兩菌株間에 酵素生産力의 差異는 있지만 모두 30°C에서 最高의 生産을 보였고 그 다음이 25°C이며 20°C에서는 酵素生産이 상당히 減少되었다. Xylanase와 protease는 25°C에서 酵素生産이 제일 우수했으며 다음으로 良好한 溫度는 xylanase는 30°C이나 protease는 이와는 달리 20°C에서 良好하였다. 菌絲의 生育程度는 兩菌株가 모두 20°C에서는 生育이 다소 늦은 경향이 있고 25°C에서 매우 旺盛하였으며 *P. ostreatus* 301은 30°C이상에서 菌絲生育이 부진하였고 *L. edodes* 3-1은 35°C에서는 生育하지 않았다. 尹⁶⁾은 *F. velutipes*의 榻榻地 培養實驗에서 菌絲生育이 24°C에서 제일 良好하다고 하였고 洪⁷⁾은 *P. ostreatus*의 合成培地 培養實驗에서 菌絲生育의 最適溫度가 25°C라고 報告한것과는 잘 一致되었다.

3. 培地水分含量의 影響

벗길培地에 水分含量을 55~75%되게 調整하여 25°C에서 一定時間 培養하여 酵素生産力을 檢討한 結果는 Table 3과 같다.

兩菌株에서 모두 55~60%에서는 酵素生産力이 매우 不良하였고 이보다 水分含量이 增加할수록 酵素生産이 漸進的으로 增加하였으며 75%에서 酵素生産이 제일 良好하였다. 그러나 水分含量이 75% 이상일때는 殺菌後 병멸에 水分이 고이기 때문에 不可能하였다. 이는 *Agaricus bisorus*의 菌培養에서 最適水分量 65%보다는 높았고²⁸⁾ 洪⁷⁾의 *P. ostreatus*의 菌絲生育이 水分 75%에서 良好했다는 報告와는 잘 一致하였다.

4. 培地 pH의 影響

벗길培地의 pH가 酵素生産에 미치는 影響을 檢

Table 3. Effect of water content to rice straw media on the production* of enzymes from *Basidiomycetes*

Water content (%)	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase	Xylanase	Protease	Cellulase	Xylanase	Protease
55	192	242	22.5	760	1443	11.2
60	288	341	36.0	992	1654	15.7
65	416	473	45.0	1197	2220	22.9
70	576	605	54.0	1382	2775	25.2
75	704	777	63.5	1613	2997	31.5

* relative activity

Table 4. Effect of initial pH to rice straw media on the production of enzymes* by *Basidiomycetes*

pH	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase	Xylanase	Protease	Cellulase	Xylanase	Protease
4	512	759	54.0	1280	2472	13.9
5	736	891	67.5	1344	2775	17.1
6	704	979	73.0	1459	2442	20.2
7	640	833	81.0	1382	2109	22.5
8	500	750	72.0	1334	1887	18.4

* relative activity

討하기 위하여 培地의 pH를 4.0~8.0으로 調整한 다음 一定時間 培養하여 酵素生産力을 檢討한 結果는 Table 4와 같다.

兩菌株간에 程度의 差는 있으나 protease는 pH 6~7에서 良好하였고 pH가 酸性側으로 기울어질 수록 酵素生産力이 減少하는 추세를 보였다. Cellulase와 xylanase生産은 兩菌株間에 다소 差異가 있어 cellulase는 *P. ostreatus* 301에서는 pH 5.0,

L. edodes 3-1은 pH 6.0에서 제일 良好하였다. Xylanase는 *P. ostreatus* 301에서 pH 6.0, *L. edodes* 3-1에서는 pH 5.0에서 제일 良好하였다. 菌絲生育의 pH는 *P. ostreatus* 301이 pH 5.0~6.0, *L. edodes* 3-1은 pH폭이 다소 넓어 pH 4.0~6.0에서 잘 生育하였다. 이는 洪⁽⁷⁾이 *P. ostreatus*를 培養한 實驗에서 菌絲生育의 最適 pH가 5.0~6.5라 한것과 類似하였다.

Table 5. Effect of cultural period on the enzymes production* of *Basidiomycetes*

Period (days)	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase	Xylanase	Protease	Cellulase	Xylanase	Protease
20	640	777	67.5	1215	199	15.7
25	704	1110	76.75	1280	2331	20.2
30	768	1221	81.0	141.	2664	22.9
35	608	1110	85.5	1600	2775	04.3
40	544	979	82.5	1472	2731	20.2
45	212	781	80.0	1344	2664	18.0
50	449	682	76.5	1215	2441	18.0
55	416	605	67.5	1152	2220	17.1

* relative activity

5. 培養期間의 影響

培養期間이 酵素生産에 미치는 영향을 알기 위하여 25°C에서 20~55日間 培養하여 酵素生産力을 檢討한 結果는 Table 5와 같다. Table 5와 같이 *P. ostreatus* 301의 cellulase와 xylanase는 培養期間이 경과함에 따라서 30일까지는 漸進적으로 增加되었으나 그후부터는 서서히 減少되었고 protease는 培養期間 35일까지 계속 增加의 추세를 보이다가 그以後부터는 減少하였다. *L. edodes* 3-1은 3가지 酵素 모두가 培養期間 35일까지는 계속

增加하다가 40일부터의 漸進적으로 減少의 경향을 보였다. 洪⁽⁷⁾은 *P. ostreatus*의 벗짚栽培期間 중의 酵素生産力이 75日 前後하여 가장 높았다고 한 것과는 큰 差異가 있었는데 이는 子實體 形成을 誘導하기 위하여 낮은 溫度(10~15°C)에서 栽培했기 때문에 그 原因이 培養溫度差異에서 由來된 것으로 생각된다.

6. 副原料의 影響

벗짚培地에 各種 副原料를 添加하여 酵素生産力을 檢討한 結果는 Table 6과 같다.

Table 6. Effect of various materials added to rice straw media on the production of enzymes* from *Basidiomycetes*

Materials (10%)	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase (%)	Xylanase (%)	Protease (%)	Cellulase (%)	Xylanase (%)	Protease (%)
None	77	88	86	83	84	75
Rice bran	100	100	100	100	100	100
Wheat bean	100	95	94	95	101	85
Defatted soybean	147	131	119	115	138	115
Defatted rape seed	138	126	111	116	118	105
Defatted sesame	120	115	130	113	129	109
Starch cake (sweet potato)	100	90	94	100	87	95

* relative activity

兩菌株間에 程度의 差異는 있으나 副原料를 添加했을때가 벗짚을 單獨으로 使用하였을 때보다 酵素生産에 좋았다. 밀기울과 전분박은 米糠添加시보다 다소 떨어지는 경향이었으나 大豆粕, 油菜粕, 참깨묵은 이보다 酵素生産이 좋았다. 그러나 菌絲生育은 米糠添加區가 제일빠르며 酵素生産에 效果의이었던 3가지 粕은 菌絲生育이 不振하였다. 金^{26,29)} 등의 公報가 cellulase生成에 大豆粕이 效果의이라는 報告와는 類似하였으나 李⁽²⁷⁾ 등의 *Asp.*

*niger*와 *Tirchoderma viride*을 이용한 實驗에서는 大豆粕의 效果가 없었다고 한 것과는 相異한 점이 있었다.

7. 米糠 添加量의 影響

副原料중에서 비교적 酵素生産이 良好하였고 菌絲生育이 빠른 米糠의 添加量이 酵素生産에 미치는 영향을 檢討한 結果는 Table 7과 같다. 兩菌株에서 米糠의 添加量이 增加함에 따라 cellulase와 xylanase의 生産은 30%까지는 계속 增加되었

Table 7. Effect of the amount of rice bran added to rice straw media on the production of enzymes* from *Basidiomycetes*

Rice bran conc. (%)	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase	Xylanase	Proteas	Cellulase	Xylanase	Protease
None	576	666	58.5	1088	2220	18.0
10	704	782	67.5	1282	2553	24.7
20	1024	1110	79.5	1472	3108	28.3
30	1152	1221	90.0	1536	3330	31.0
40	992	1110	103.5	1312	3157	36.0

* relative activity

으나 그 이상은 減少되었고 protease는 米糠 添加量이 增加함에 따라 계속 增加의 傾向을 보였다. 菌絲生育은 10%以上の 添加에서는 10% 濃度와 別차이가 없었으며 米糠添加量이 많을수록 雜菌의 汚染이 높음을 알 수 있었다.

8. 無機鹽類의 影響

벗길 培地에 各種 無機鹽類를 添加하여 酵素生産

에 미치는 影響은 Table 8과 같이 菌株, 鹽類 및 酵素間에 差異가 심하여 *P. ostreatus* 301의 cellulase와 xylanase 生産은 대부분 增加의 傾向을 보였고 protease生産은 $(NH_4)_2HPO_4$, KH_2PO_4 , $CaCO_3$ 가 効果의이 있는데 이중에서도 KH_2PO_4 가 제일 効果의이었다. *L. edodes* 3-1은 3가지 酵素生産이 程度의 差異는 있으나 增加의 추세를 보

Table 8. Effect of inorganic salts added to rice straw media on the production of enzymes* from *Basidiomycetes*

Salts (%)	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase (%)	Xylanase (%)	Protease (%)	Cellulase (%)	Xylanase (%)	Protease (%)
None	100	100	100	100	100	100
$(NH_4)_2 HPO_4$ 0.5	122	118	120	113	172	110
$(NH_4)_2 SO_4$ 0.5	124	110	93	112	152	112
CO $(NH_2)_2$ 0.5	128	100	82	107	188	115
NaNO ₃ 0.5	123	100	85	110	132	105
KH_2PO_4 0.2	116	120	140	112	127	145
HgSO ₄ ·7H ₂ O 0.1	122	125	108	111	120	122
CaCO ₃ 5.0	128	132	122	120	121	120
CaSO ₄ ·2H ₂ O 2.0	123	122	104	123	122	120

* relative acitivity

였고 이들 鹽類중에서 cellulase에는 $CaCO_3$ 와 $CaSO_4$ 가 良好하였으며 xylanase에는 $(NH_4)_2 HPO_4$ 와 CO $(NH_2)_2$ 가 protease에는 KH_2PO_4 가 월등하게 効果的이었다. 禹⁽³⁰⁾ 등은 *Asp. niger*의 培養에서 NaNO₃와 CO $(NH_2)_2$ 을 添加함으로써 양겨 分解酵素가 增加한다고 報告한바 있고 李⁽²⁷⁾ 등은 *Asp. niger*와 *Trichoderma viride*의 cellulase 生産에 $(NH_4)_2HPO_4$ 와 KH_2PO_4 등이 効果的이라고 報告한 것과는 다소의 差異가 있었으나 兩菌株의 菌絲生育은 $CaCO_3$ 와 $CaSO_4$ 가 제일 빠르고

나머지 無機鹽類는 일반적으로 菌絲生育이 늦은 傾向이 있었는데 *P. ostreatus* 301에서는 KH_2PO_4 MgSO₄가 *L. edodes* 3-1에서는 CO $(NH_2)_2$, $(NH_4)_2 HPO_4$ 이 특히 不良하였다. 이상에서와 같이 鹽類를 酵素生産과 菌絲生育에 미치는 影響을 관련시켜 본다면 $CaCO_3$ 와 $CaSO_4$ 의 添加가 무난한것 같다.

9. $CaCO_3$ 와 $CaSO_4$ 添加量의 影響

無機鹽類중에서 비교적 酵素生産이 良好하고 菌絲生育이 旺盛했던 $CaCO_3$ 와 $CaSO_4$ 의 添加量의 效

Table 9. Effect of the amount of calcium carbonate added to rice straw media on the production of enzymes* from *Basidiomycetes*

CaCO ₃ (%)	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase	Xylanase	Protease	Cellulase	Xylanase	Protease
None	640	777	67.5	1367	2220	22.5
1	672	732	72.0	1472	2553	22.9
3	735	888	76.5	1600	2775	24.3
5	800	999	82.3	1663	2664	27.4
7	768	888	78.7	1536	2493	25.6

* relative acitivity

Table 10. Effect of the amount of calcium sulfate added to rice straw media on the production of enzymes* from *Basidiomycetes*

CaSO ₄ ·2H ₂ O (%)	<i>Pleurotus ostreatus</i> 301			<i>Lentinus edodes</i> 3-1		
	Cellulase	Xylanase	Protease	Cellulase	Xylanase	Protease
None	640	722	58.5	1312	2442	24.7
1	672	777	63.0	1472	2664	29.2
2	825	899	60.7	1600	2886	27.5
3	736	832	54.0	1440	2664	22.5

* relative activity

果를 檢討한 結果는 9, 10과 같다.

CaCO₃添加는 *L. edodes* 3-1의 xylanase에서 3%를 제외하고는 添加量의 增加에 따라 兩菌株의 酵素生産이 漸進的으로 增加하여 5%의 添加가 最高의 生産을 보였고 그 이상의 添加에서는 다소 減少하였다. CaSO₄의 添加는 兩菌株에서 cellulase와 xylanase의 生産은 2%, protease의 生産은 1% 添加가 가장 良好하였고 이보다 낮거나 높은 添加量에서는 減少의 傾向이 있었다.

要 約

몇개의 擔子菌類중 벗짚培地에서 酵素生産이 良好하고 菌絲生育이 빠른 菌株로 *P. ostreatus* 301과 *L. edodes* 3-1을 選定하여 이들 菌株의 酵素生産에 대한 最適培養條件 및 培地에 副原料와 無機鹽類를 添加했을때 酵素生産에 미치는 影響을 檢討하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

- 1) Cellulase와 xylanase의 生産은 *L. edodes* 3-1이 protease는 *P. ostreatus* 301이 우수하였다.
- 2) 酵素生産의 最適條件은 培養溫度가 cellulase는 30°C, xylanase와 protease는 25°C, 水分含量은 75%, pH 5.0~6.0이었다.
- 3) 培養期間은 *P. osreatus* 301이 30日 *L. edodes* 3-1은 35日 培養했을때가 酵素生産이 良好하였다.
- 4) 副原料중에서는 大豆粕, 油菜粕, 찧갯묵을 添加했을때가 酵素生産은 良好하였으나 菌絲生育은 오히려 不良하였으며 米糠添加量은 30%添加에서 좋았다.
- 5) 無機鹽類의 添加는 대체적으로 酵素生産에 効果的이었으며 CaCO₃는 5%, CaSO₄는 2% 添加區에서 좋았다.

參 考 文 獻

1. 杉森恒藏, 大山義朗, 大道妙子: 釀工. 49: 4 35~446 (1971)
2. R.E. Koske; Mycologia, 66: 398~317 (1974)
3. 小川眞, 川合正允: 日菌報, 17: 492~498 (1976)
4. 藤正夫, 河村のり子: 日菌報. 19: 151~160 (1978)
5. 中澤敬止, 秋山龍可, 加藤明, 佐藤正已, 樋川和子: 日菌報. 20: 499~503 (1979)
6. 尹貞求: 韓國微生物學會誌. 12: 156~179 (1974)
7. 洪載植: 韓國農化學會誌, 21: 150~184(1978)
8. 金成源: 韓國菌學會誌, 7: 9~11 (1979)
9. 川合正允: 日農化, 47: 467 (1973)
10. 川合正允: 日農化, 47: 523 (1973)
11. 川合正允: 日農化, 47: 529 (1973)
12. 川合正允: 日農化, 47: 633 (1973)
13. 川合正允: 醱酵と工業, 34: 834~842 (1976)
14. 金三純, 金奇珠: 韓國菌學會誌, 3: 1~6 (1975)
15. 若林和正, 西澤一俊: 日醱酵工學雜誌, 42: 34 7~255 (1964)
16. 若林和正, 西澤一俊: 日醱酵工學雜誌, 43: 7 39~749 (1965)
17. 洪載植, 南宮熙: 全北大學校 農大 論文集, 6: 101~105 (1975)
18. 洪載植, 南宮熙: 全北大學校 農大 論文集, 6: 107~110 (1975)
19. 洪載植: 韓國微生物學會誌, 14: 99~104 (1976)
20. 洪載植: 全北大學校 農大 論文集, 9: 97~100 (1978)

21. 洪載植 : 全北大學校 論文集, 21 : 215~218 (1979)
22. 川合正允, 阿部重雄 : 日釀酵工學雜誌, 50 : 619~697 (1972)
23. 川合正允 : 日釀酵工學雜誌, 50 : 619~697 (1972)
24. 川合正允 : 日釀酵工學雜誌, 50 : 698~703 (1972)
25. 馬田三夫, 平緒一曉, 木村義夫, 野田試彥 : 日農化, 44 : 393~400 (1970)
26. 金三純, 李址烈, 朴性五, 金寄珠 : 韓國菌學會誌, 1 : 15~23 (1973)
27. 李啓瑚, 高正三, 朴性五 : 韓國農化學會誌, 9 : 130~138 (1976)
28. 南宮熙, 梁熙天, 金鏞揮, 洪載植 : 과학기술처 사업보고서, E 67-GOIR-11 (1967)
29. 金燦祚, 崔宇永 : 韓國農化學會誌, 11 : 83~88 (1969)
30. 禹昌命, 李瑞來 : 韓國食品科學會誌, 4 : 300~308 (1972)