

Pleurotus sajor-caju가 生產하는 纖維素 分解 酶素의 性質에 관한 研究

洪載植·李址烈*·金東翰·柳根錫

全北大學校 食品加工學科 · *全州教育大學

Studies on Characteristics of the Cellulolytic Enzymes Produced by *Pleurotus sajor-caju*

Jai Sik Hong, Ji Yul Lee*, Dong Han Kim and Gun Sok Lyu

Department of Food Science Technology, Chonbug National University, Chonju 520 and

*Chonju College of Education, Chonju 520, Korea

Abstract: Some properties of cellulolytic enzymes produced by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017 during its growth in synthetic medium were investigated. The optimum pH of avicelase, CMCase, and β -glucosidase was pH 5.5, pH 4.5 and pH 6.0, respectively. Avicelase and CMCase were stable within pH 5.0 to 6.0 and 4.0 to 6.0, respectively, and β -glucosidase was within pH 5.5 to 6.5. The optimum temperature of avicelase, CMCase and β -glucosidase was the same of 40°C. The enzymes were stable below the optimum temperature, but the enzymes were unstable over the temperature of 50°C, and avicelase was losing about 91.7% of activity at 70°C for 10 min. The enzyme activity of avicelase and CMCase was increased in proportion to the substrate concentration within 1% and 0.7%, respectively, and β -glucosidase was within 0.1%. The Michaelis constants (K_m) of avicelase and CMCase were 30.77mg avicel/ml and 14.64m Na-CMC/ml, respectively and β -glucosidase was 5.13mg salicin/ml. The reducing sugar production of avicelase was proportionally increased until 120 min. and CMCase and β -glucosidase were until 60min. The activity of three cellulolytic enzymes were increased by Ca^{2+} at the concentration of $10^{-2}M$, but were inhibited by Hg^{2+} , Ag^+ .

Keywords: *Pleurotus sajor-caju*, Cellulolytic enzymes, Avicelase, CMCase, β -Glucosidase.

纖維素는 地球上에 제일 많이 存在하는 有機物質로 太陽이 存在하는 한 每年 1,000億 ton以上이 生產되고 하며 再生産이 可能한 資源으로 6,000~10,000개 정도의 無水 glucopyranose가 주로 β -1.4結合에 의해 연결되고 약간의 cross-linkage로 축합된 高分子化合物이다. Cellulase (1.4- β -D-glucan-4-glucanohydrolase)는 纖維素를 加水分解하는 酶素로 重合度에 따라 이에 作用하는 cellulase의 種類가 달라진다고 하며 Reese 등 (1950)은 cellulase는 天然纖維素 즉 어느정도 重合度를 가진 β -1.4-glucan을 分解하는 C₁-cellulase (exo- β -1.4-cellobiohydrolase)와 부분적으로 分解된 glucan이

나 再生纖維素와 같이 結晶성을 잃은 纖維素에 作用하는 C_x-cellulase (endo- β -1.4-glucanase)와 최후에 glucose까지 分解하는 β -glucosidase의 3種의 酶素가 연속적으로 作用한다고 報告한바 있다. 이러한 纖維素分解酶素의 生產에 관한 研究는 無脊椎動物의 cellulase (Yokoe, 1966)를 비롯하여 *Trametes sanguinea* (Katsuharu et al. 1966), *Aspergillus* sp. (李等 1977), Thermophilic fungi (Jain et al. 1979), *Pyricularia oryzae* (Sirgh et al. 1980)에 대하여, Kawai (1973 a, b)는 擔子菌類間 · 酶素生産의 比較와 分布에 관하여 報告한바 있다. 또한 이들 纖維素分解酶素의 性質에 대하여는

Matsumura 등 (1963, a, b, c, d)은 *Aspergillus saitoi*가 生產하는 cellulase의 性質에 대하여 보고한 바 있고 *Trichoderma* sp.의 cellulase 중 灑紙崩壊活性에 대한 Koaze 등 (1964)과 Ogawa 등 (1964)의 報告, avicelase에 대한 Yoshimi 등 (1974)의 研究, *Trametes sanguinea*에 대한 Nara 등 (1965)의 研究와 *Aspergillus aculeatus*에 관한 Jinshu 등 (1979)과 Sakamoto 등 (1982)의 研究를 비롯하여 魏等 (1982) 등은 *Rhizopus* sp. 魏 (1971)은 *Myriococcum albomyces*가 生產하는 cellulase의 生產과 性質에 대하여, Wakabayashi 등 (1966)과 Kanda 등 (1970)은 *Irpex lacteus*가 生產하는 cellulase에 관하여 報告한 바 있다. 한편 Toyama 등 (1966)은 이러한 cellulase를 이용한 緑茶成分의 抽出에 관하여, Imai 등 (1966)은 *Trichoderma viride*, Kawai 등 (1972 a, b, c)은 擬子菌을 利用한 植物細胞膜의 分解에 대하여 研究 報告한 바 있다. 著者は 느타리버섯中에서 纖維素分解力이 높고 비교적 高溫에서 cellulase를 生產하는 *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017(李 1984)을 合成培地에서 振盪培養하고 纖維素 分解酵素를 抽出하여 이의 作用最適 pH, pH安定性, 作用最適 游度, 热安定性, 이의 活性에 미치는 基質濃度, 反應時間 및 金屬 ion의 影響을 檢討하여 그 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

供試 菌株

全北大學校 農科大學 酵酶微生物學 研究室에서 保管하고 있는 *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017을 供驗菌株로 使用하였다.

培地의 組成

Cellulose powder 1.0g, urea 0.2g, KH₂PO₄ 0.2g, MgSO₄·7H₂O 0.04g, CaCl₂·2H₂O 0.03mg, folic acid 3μg, thiamine-HCl 0.05mg을 蒸溜水 100ml에 녹인 다음 pH5.5로 조정하여 使用하였다.

培養 方法

상기 培養液 50ml을 250ml 삼각 flask에 넣어, 25°C에서 7日間 前培養한 供驗菌株를 Waring blender (15, 000rpm)로 1分間 磨碎한 懸濁液을 3ml씩 接種하여 shaking incubator를 使用하여 250°C에서 100rpm의 속도로 10日間 培養하였다.

酵素液의 調製

10日間 培養한 培養液을 遠心分離(6,000rpm 20min)한 후 上澄液에 (NH₄)₂SO₄를 0.8飽和度가 되게 加한 다음 遠心分離하였다. 생성된沈澱을 소량의 McIlvaine

buffer (pH 5.5)로 溶解시킨 후 동일한 緩衝液으로 3°C에서 8時間마다 緩衝液을 갈아주면서 24時間 半透性膜 (Fisher Co, U.S.A.)을 使用하여 透析하고 粗酵素液으로 使用하였다.

酵素의 活性度 測定

1) Avicel 糖化 活性(Avicelase)

1% avicel 懸濁液 2ml에 McIlvaine 緩衝液(pH 5.5) 2ml를 往復振盪器用 L形 试管에 취하고 粗酵素液 1ml를 加하여 40°C 水槽에서 2時間 反應시킨 후 離離된 還元糖을 Somogyi-Nelson法 (Nelson, 1944; Somogyi, 1952)에 의하여 比色定量하고 酵素液 1ml로 生成된 還元糖(glucose)의 μg을 活性의 比較單位로 하였다 (Matsumura et al., 1963 a; 魏 1971, Wakabayashi et al., 1966).

2) CMC 糖化 活性(CMCCase)

0.5% Na-CMC 溶液 2ml에 McIlvaine 緩衝液(pH 4.5) 2ml, 粗酵素液 1ml를 가하고 40°C水槽에서 60分間 反應시켜 離離하는 還元糖을 avicelase 活性測定에 서와 同一하게 測定하였다.

3) β-Glucosidase

0.1% salicin溶液을 基質로 하여 pH 6.0에서 CMCase 活性測定方法과 同一하게 測定하였다 (李, 1984).

結果 및 考察

作用最適 pH

McIlvaine buffer를 使用하여 pH3.5~7.0에서 酵素活性의 相對活性度를 比較 檢討한 結果는 Fig. 1과 같다.

Fig. 1에서의 結果와 같이 酵素의 作用最適 pH는 avicelase는 pH5.5, CMCase는 pH4.5, β-glucosidase는 pH6.0으로 이 pH범위를 벗어나면, 이들 酵素의 活性이 급격히 떨어졌다. 李(1984)의 *Pleurotus sajor-caju*의 酵素生産은 C₁-cellulase에서 pH5.5, C_x-cellulase는 pH 5.0, β-glucosidase는 pH 6.5부근에서 제일 良好하였다는 報告와 比較하여 볼 때 avicelase는 잘一致하나, CMCase와 β-glucosidase는 다소 差異가 있으며, pH는 酵素生産보다 酵素活性에서 더 敏感하게 影響을 미칠 수 있음을 알 수 있었다. *Asp. saitoi* (Masumura et al. 1963a)가 生產하는 酵素의 作用最適 pH가 膨潤 cellulose 分解酵素는 pH 3.0, CMCase는 pH4.0, β-glucosidase는 pH 5.0이었으며 *Myriococcum albomyces* (魏 1971)의 酵素인 경우 avicelase가 pH4.0~4.5, CMCase는 pH 4.5로 報告된 바 있는데 本 實驗結果에서는 作用最適

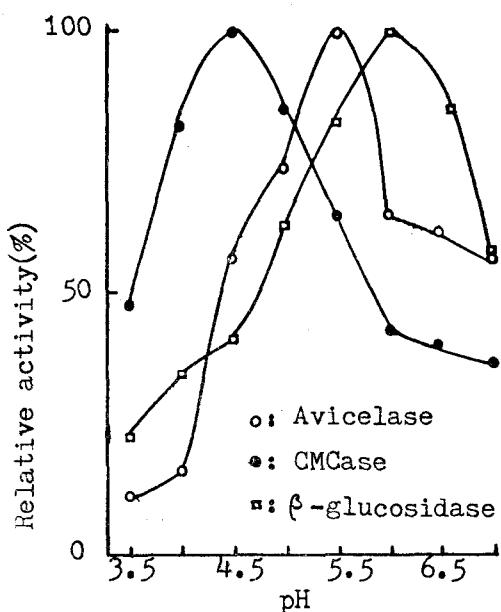


Fig. 1. Effect of pH on activity of cellulolytic enzymes by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

pH가 이보다 높았다.

pH 安定性

酵素液을 각 pH의 緩衝液 2倍量과 混和하여 소정의 pH로 한 다음 30°C에서 120分間 放置한 후 다시 緩衝液으로 作用最適 pH로 再調整하여 一定量으로 하고 酵素의 残存한 相對活性度를 測定한 結果는 Fig. 2와 같다.

Fig. 2에서와 같이 avicelase는 pH 5.0~6.0, CM Case는 pH 4.0~6.0, β -glucosidase는 pH 5.5~6.5의 범위에서 90%以上の 安定性을 維持하였으며 avicelase는 pH 4.5~6.5, CMCase는 pH 4.5~7.0의 범위에서 80%以上の 安定性을 보였다. 그리고 CMCase가 avicelase와 β -glucosidase보다 pH 安定범위가 약간 넓었으며 이들 범위를 벗어나면 酵素의 安定性은 급격히 減少하였다. 이는 *Asp. saitoi* (Masumura et al., 1963a)의 膨潤 cellulose分解酵素가 pH 3.5~6.2, CMCase가 pH 2.9~6.5, β -glucosidase가 3.0~6.0의 범위에서 定定하였고, *Myriococcum albomyces*(鄭, 1971)의 avicelase가 pH 3.5~7.5, CMCase가 pH 3.0~8.0, *Trametes sanguinea* (Nara et al., 1965)의 hydrocellulose比濁活性이 pH 3.0~9.0, *Fomitopsis cytisina*와 *Irpex lacteus* (kawai, 1972b)의 경우 각각 pH 4.0~7.0과 pH 2.6~8.2에서 macerating activity가 安定하다고 報告하였는

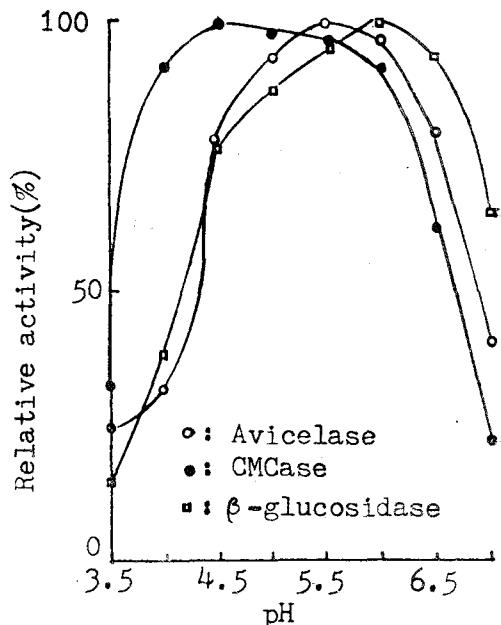


Fig. 2. Effect of pH on stability of cellulolytic enzymes by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

데, 이에 比하면 本 酵素는 좁은 범위에서 pH安定性을 보였다.

作用最適溫度

本 酵素의 作用最適溫度를 알아 보기 위하여 反應液의 pH를 作用最適 pH로 조절하여 30~70°C 범위의 各 溫度에서 酵素活性을 測定한 結果는 Fig. 3과 같다.

Fig. 3에서와 같이 이들 cellulase 作用最適溫度가 모두 40°C이었으며 이 溫度를 벗어난 溫度 범위에서의活性을 比較하여 보면 β -glucosidase가 30~50°C의 溫度에서 83%以上 酵素活性을 보인 반면, avicelase는 30°C에서 30.9%, 50°C에서는 71.5%로 현저히 減少하였으며, 50°C 이상의 溫度에서는 酵素活性이 현저히 減少함을 알 수 있었다. 이러한 結果는 *Asp. saitoi* (Matsumura et al., 1963a)의 膨潤 cellulose分解酵素가 50°C, CMCase가 45°C, β -glucosidase가 60°C로 비교적 넓은 溫度범위에서活性을維持하였고, *Myriococcum albomyces*(鄭, 1971)의 avicelase가 55~60°C, CM Case와 β -glucosidase가 65°C에서 最高의活性을 보였다는 報告에 比하면 本酵素의 作用最適溫度는 상당히 낮았다. 그리고 *Irpex lacteus* (Wakabayashi et al., 1966)의 CMCase가 40~50°C였다는 報告와는 類似한 結果를 보였으며 李(1984)의 *Pleurotus sajor-caju*에서 酵素生產

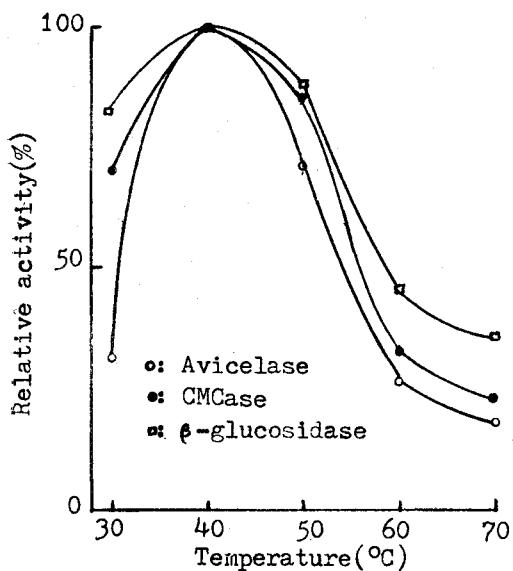


Fig. 3. Effect of temperature on activity of cellulolytic enzymes by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

이 C_1 -cellulase는 25°C C_x -cellulase와 β -glucosidase가 30°C 이었던 것으로 미루어 보아 酵素生產과 酵素의 作用溫度는 서로相異함을 알수 있었다.

熱安定性

本 酵素의 热安定性을 보기 위하여 酵素液을 $30\sim70^{\circ}\text{C}$ 의 溫度에서 10分間 放置한 후 残存酵素活性을 测定한 結果는 Fig. 4와 같다.

Fig. 4에서와 같이 이들 酵素는 40°C 以下에서는 安定하였으나 그 以上의 溫度에서는 酵素活性을 잃었고 失活程度는 avicelase, CMCase, β -glucosidase順으로 즐어 들었으며 50°C 以上에서는 급격한 減少를 보여 avicelase는 70°C , 10分에 거의失活하여 8.3%程度의 残存活性을 보였다. *Trametes sanguinea* (Nara et al., 1965)의 hydrocellulase 比濁活性과 *Asp. aculeetus* (Jin-shu, 1979)의 CMCase는 40°C 에서 별다른 영향이 없다가 70°C , 10分에 80%程度失活하였다는 報告와類似하나 *Rhizopus sp.*(盧等, 1982)와 *Irpex lacteus*(Wakabayashi et al., 1966)의 CMC cellulose hydrolyzing enzyme이 70°C , 10分間의 热處理로 60%程度失活하였다는 報告와는 다소 差異가 있었다 그리고 *Asp. saitoi* (Matsumura et al. 1963 a)의 膨潤 cellulose分解酵素가 60°C , 10分에 50%, CMCase가 20%까지失活했다고 하였고, *Myriococcum albomyces*(鄭, 1971)의 경우 60°C , 2時間까지는 avicelase, CMCase가 거의 安

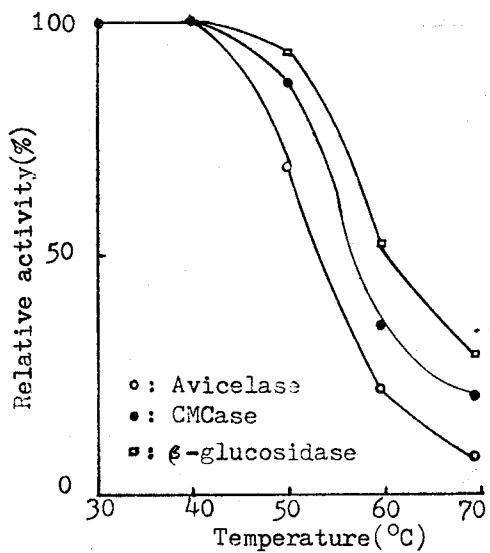


Fig. 4. Effect of temperature on stability of cellulolytic enzymes by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

定하였다는 報告와는 상당한 差異가 있었다.

基質濃度의 影響

酵素의 濃度를 固定하고 基質의 濃度를 avicel은 0.2~1.4%, Na-CMC는 0.1~1.3%, salicin은 0.02~0.14%의 各濃度別로 조절하여 酶素活性을 测定한 結果는 fig. 5와 같다.

Fig. 5에서와 같이 基質의濃度가 높아질수록還元

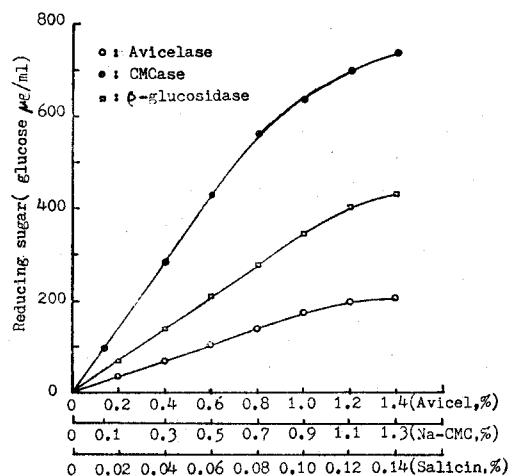


Fig. 5. Relationship between substrate concentration and enzymes activity by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

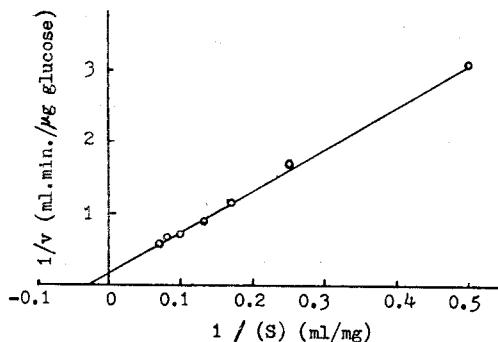


Fig. 5-1. Lineweaver-Burk plot for the action of Avicelase by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

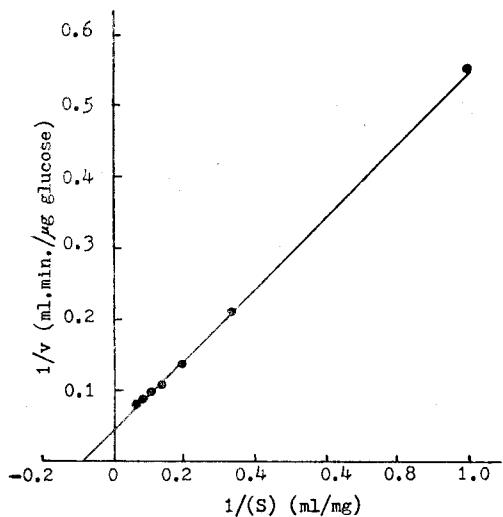


Fig. 5-2. Lineweaver-Burk plot for the action of CMCCase by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

糖이增加되었으나 avicelase는 1%, CMCCase는 0.7%, β -glucosidase는 0.1%以上の濃度에서는直線적으로增加하지는 않았다. *Myriococcum albomyces*(鄭, 1971)의 경우 avicelase는 12時間의作用에서는 0.5%, CMCCase 10分間に 0.5% CMC가 7ml 될때까지는直線적으로增加하였다는報告와比較하여 볼때 *Pleurotus sajor-caju*에서 生産하는 cellulase가 *Myriococcum albomyces*에 比해 avicelase活性은 높으나 CMCCase는 낮음을 알 수 있고 以上의結果로 酶素의活性度測定時 基質의濃度는 avicelase는 avicel 1%, CMCCase는 Na-CMC 0.5%, β -glucosidase는 0.1% salicin濃度에서に行하였다. 또한 基質濃度와活性度의關係를 Lineweaver-Burk의 方法으로 plot한結果 Fig. 5-1, 2, 3에서

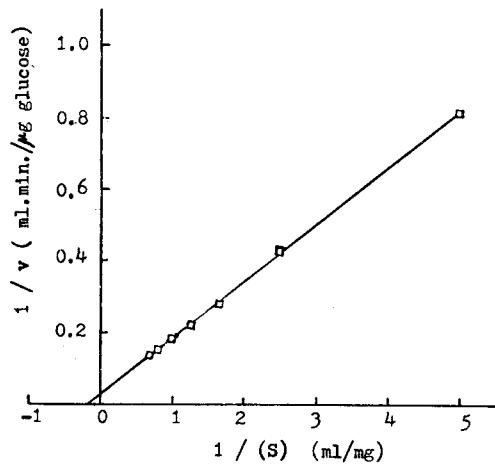


Fig. 5-3. Lineweaver-Burk plot for the action of β -glucosidase by *Pleurotus sajor-ju* JAFM 1017.

와 같이 avicelase의 km 值는 30.77mg avicel/ml, V_{max} 值는 5.46 μg g/ml·min이었고, CMCCase는 Km 值가 14.64mg CMC/ml, V_{max} 值는 26.95 μg /ml, min이며, β -glucosidase는 Km 值 5.13mg salicin/ml(1.179×10^{-2} Mol), V_{max} 值는 33.33 μg /ml·min이었으며 *Asp. saitoi*(Matsumura et al., 1963 d)의 CMCCase에서 Km 值가 6,575mg/ml였다는報告보다는 km 值가 큰 값을 나타내었으나 *Pellicularia filamentosa* (Tanaka et al., 1979)의 cellulase가 crystalline cellulose를 分解할 때의 Km 值가 33mg/ml이었다는報告와는 本實試의 avicelase에서類似한結果를 보였다.

反應時間의影響

酶素活性에 미치는反應時間의影響을 檢討하기 위하여反應時間を 10~120分間으로 하여 經時的으로反應시킨結果는 Fig. 6과 같다.

Fig. 6에서와 같이反應時間의 경과에 따라 糖의生成은 점진적으로增加되었고 avicelase는 120分, CMCCase와 β -glucosidase는 60分까지는比例의인關係를 나타내었으나 그 이후부터는比例의인關係를 볼 수가 없었는데 이는酶素反應時分解產物인 glucose에 의해 feed back inhibition作用을 받는 것이 아닌가 생각된다.

金屬 이온의影響

酶素反應液에各鹽類의最終濃度를 10^{-2}M 되게加하여 이들 ion이酶素의活性에 미치는影響을 檢討한結果는 Table I과 같다.

Table I에서와 같이 Ca^{2+} 은 3가지酶素 모두에서

摘要

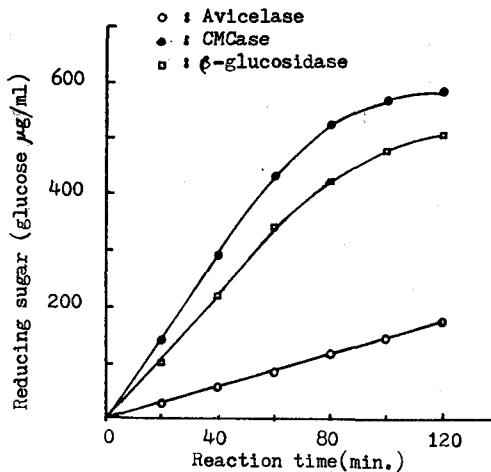


Fig. 6. Relationship between reaction time and enzymes activity by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

Table I. Effect of on relative activity of cellulolytic enzymes by *Pleurotus sajor-caju* JAFM 1017.

Salts	Avicelase	CMCCase	β-glucosidase
None	100	100	100
AgNO ₃	—	22.5	32.5
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	111.3	113.6	112.1
CuSO ₄ ·5H ₂ O	89.7	94.0	92.3
FeSO ₄ ·7H ₂ O	86.0	94.6	90.4
HgCl ₂	—	7.2	—
KCl	99.5	102.3	100.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	98.0	99.0	97.2
Pb(CH ₃ COO) ₂ ·3H ₂ O	102.4	102.2	103.1

약간의 酶素活性을 增加시키었으나, Hg²⁺, Ag⁺등은 이들 酶素의活性을 크게 沮害하였다. *Asp. Saitoi* (Matsumura et al., 1963 d)는 CMCCase에서 Cu²⁺는 10⁻³M에서 1.7倍, Co²⁺는 10⁻⁴M에서 1.6倍 活性시켰고 Cd²⁺, Fe²⁺, K⁺도 活性效果가 있었으나, Hg²⁺, Ag⁺은 沮害의이라고 報告하였는데 이는 Hg²⁺ Ag⁺을 제외하고는 큰 차이가 있었으나 *Myriococcum albumoces*(鄭, 1971)의 CMCCase를 Ca²⁺, Mg²⁺는 10⁻³M濃度에서 活性시키었으나, Hg²⁺, Hg⁺, Cu²⁺는 강하게 沮害하였다는 報告와는 Mg²⁺을 제외하고는 本實驗結果와 類似點이 많았다.

Pleurotus sajor-caju JAFM 1017을 合成培地에 培養하여 培養中에 生成된 纖維素 分解酵素의 性質을 檢討한 結果, 作用最適 pH는 avicelase가 pH 5.5, CMCCase는 pH4.5, β-glucosidase는 pH6.0이었고, pH安定범위는 avicelase는 pH5.0~6.0, CMCCase는 pH4.0~6.0, β-glucosidase는 pH5.5~6.5이었다. 最適溫度는 avicelase, CMCCase β-glucosidase 모두 40°C이었고 热安定性은 最適溫度以下에서 安定性을 보였으나 50°C以上에서는 不安定하여 avicelase는 70°C, 10分에 8.3%程度의 残存活性을 보였다. 酶素의活性은 基質濃度가增加함에 따라 增加하여 avicelase는 1%, CMCCase는 0.7%, β-glucosidase 0.1%까지 比例的으로 增加하였으며 이들의 Km值는 avicelase가 30.77mg·avicel/ml, CMCCase는 14.64mg CMC/ml, β-glucosidase는 5.1 3mg salicin/ml이었다. 反應時間에 따른 還元糖의 生成은 Avicelase는 120分 CMCCase와 β-glucosidase는 60分까지 比例的으로 增加하였다. 金屬 ion의 影響은 Ca²⁺은 10⁻²M濃度에서 酶素의活性을 增加시켰으나 Hg²⁺, Ag⁺은 크게 沮害하였다.

文獻

- Imai, T. and Kuroda, A. (1966): Decomposition of plant cell membrane with cellulase. *J. Ferment. Technol.* 44:854-857.
- Jain, M.K., Kapoor, K.K., Mishra, M.M. (1979): Cellulase activity, degradation of cellulase and lignin, and humus formation by thermophilic fungi. *Trans. B. Mycol. Soc.* 73:85-89.
- Kanamoto, J., Sakamoto, R., Arai, M. (1979): Enzymatic properties of two carboxymethyl cellulose hydrolyzing enzymes from *Aspergillus aculeatus*. *J. Ferment. Technol.* 57:163-168.
- Kanda, T., Wakabayashi, K. and Nisizawa, K. (1970): Purification and properties of two cellulase components obtained from *Irpex lacteus* (*Polyporus tulipiferae*) (1970): *J. Ferment. Technol.* 48:830-834.
- Katsuharu, Y., Masahiro, O., Masayoshi, T. (1966): Studies on the enzymes produced by *Trametes sanguinea* (III) Solubilization of yeast and soybean meal by the enzymes from *Trametes sanguinea*. *J.*

- Ferment. Technol.* 44:849-853.
- Kawai, M. (1973a): A comparison of the productivity of some hydrolases among systematic groups of the *Basidiomycetes*. *J. Agri. Chem. Soc. Japan* 47:633-637.
- Kawai, M. (1973b): Productivity of amylolytic, cellulolytic and xylolytic enzyme among the *Basidiomycetes*. *J. Agri. Chem. Soc. Japan* 47:529-534.
- Kawi, M. and Abe, S. (1972a): Maceration of plant tissues by *Basidiomycetes*. (1) Screening tests of *Basidiomycetes* on the production of macerating enzymes. *J. Ferment. Technol.* 50:685-690.
- Kawai, M. (1972b): Maceration of plant tissues by *Basidiomycetes*. (2) On some sorts of polysaccharide decomposing activities of crude enzyme preparations. *J. Ferment. Technol.* 50:691-697.
- Kawai, M. (1972c): Maceration of plant tissues by *Basidiomycetes*. (3) Fractionation of crude enzyme preparations. *J. Ferment. Technol.* 50:698-703.
- Matsumura, C., Maejima, K. (1963a): Studies on cellulolytic enzymes produced by *Aspergillus saitoi*. Action of partially purified cellulase(I). *J. Ferment. Technol.* 41:154-158.
- Matsumura, C., Maejima, K. (1963b): Studies on cellulolytic enzymes produced by *Aspergillus saitoi*. Purification of *Aspergillus saitoi* cellulase(II). *J. Ferment. Technol.* 41:158-163.
- Matsumura, C., Maejima, K. (1963c): Studies on cellulolytic enzymes produced by *Aspergillus saitoi*. A few properties of the purified carboxymethyl cellulase (III). *J. Ferment. Technol.* 41:164-168.
- Matsumura, C., Maejima, K. (1963d): Studies on cellulolytic enzymes produced by *Aspergillus saitoi*. Inhibition and activation of carboxymethyl cellulase (IV). *J. Ferment. Technol.* 41:168-173.
- Nara, K., Fugono, T. and Yoshino, H. (1965): Studies on the enzymes produced by *Trametes sanguinea*. (V) Partial purification and fractionation of the cellulolytic enzyme system of *Trametes sanguinea*. *J. Ferment. Technol.* 43:653-660.
- Nelson, H.A., (1964): Photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 153:375-380.
- Ogawa, K., Toyama, N., (1964): Resolution of *Trichoderma viride* cellulolytic complex. (1) Isolation of cellulolytic component capable of degrading filter paper. *J. Ferment. Technol.* 42:199-206.
- Reese, E.T., Siu, R.G.H., and Levinson, H.S. (1950): The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulase hydrolysis. *J. Bacteriol.* 59:485-497.
- Sakamoto, R., Hayashi, H., Moriyama, K., Arai, M. and Murao, S. (1982): Enzymatic hydrolysis of cellulose substances by the cellulase from *Aspergillus aculeatus*. *Soc. Ferment. Technol. Japan, Osaka* 60:333-341.
- Sirgh, N. and Kumene, I.S. (1980): Cellulose decomposition by four isolates of *Pyricularia oryzae*. *Mycologia* 72:182-190.
- Somogyi, M. (1952): Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.* 159:12-23.
- Tanaka, M., Taniguchi, M., Morita, T., Matsuno, R., and Kamikubo, T. (1979): Effect of chemical treatment of solubilization of crystalline cellulose and cellulosic wastes with *Pellicularia filamentosa* cellulose. *J. Ferment. Technol.* 57:186-190.
- Tomita, Y., Suguki, Y. and Nisizawa, K. (1974): Further purification and properties of "Avicelase" a cellulase component of less-random type. *J. Ferment. Technol.* 52:233-246.
- Toyama, N. and Owatashi, H. (1966): Extraction of green tea components from manufactured tea leaves using cellulase and cell separating enzyme. *J. Ferment. Technol.* 44:830-834.
- Wakabayashi, K., Kanda, T., Nisizawa, K. (1966): Separation of two cellulase components from a culture filtrate of *Irpea lacteus* and some of their properties. *J. Ferment. Technol.* 44:669-681.
- Yokoe, Y. (1966): Cellulase in *Invertebrates*. *J. Ferment. Technol.* 59:858-867.
- 盧惠媛, 金相達, 鄭在浩, 姜成浩(1982): 人蔘腐敗菌中 *Rhizopus* Sp. G-211의 生產하는 cellulase에 관한 研究. 韓產微誌 10:1-7.
- 李永祿, 朴龍根(1977): 한국산 *Aspergillus*의 cellulase 활성에 관한 研究(第二報) 菌株의 系統과 酶素活性. 韓微誌. 15:113-121.
- 李種培 (1984): 合成培地에서 *pleurotus* sp.가 生產하는 纖維素 分解酶素에 관한 研究 全北大學校 大學院

Kor. J. Mycol. Vol. 12, No. 4, 1984

碩士學位論文

鄭東孝(1971): *Myriococcum albomyces* 由 生產하는

cellulase에 관한 研究. 韓農化誌 14:59-97.

(Received August 31, 1984)