

버섯부산물유래 가수분해효소분비 박테리아의 분리 및 동정

김영일 · 정세형 · 석준상 · 양시용 · 허정원 · 곽완섭

건국대학교 자연과학대학 생명자원환경과학부 축산학전공

Isolation and Identification of Hydrolytic Enzyme-producing Bacteria from Spent Mushroom Substrate

Young Il Kim, Se Hyung Jeong, Joon Sang Seok, Si Yong Yang, Jung Won Huh and Wan Sup Kwak

Animal Science, School of Life Resource and Environmental Sciences College of Natural Sciences,

Konkuk University, Danwol-dong 322, Chung-Ju, Chung-Buk, 380-701, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to isolate and identify xylanase- and cellulase-producing thermophilic bacteria from stacked spent mushroom substrates and to determine the optimal medium conditions for their growth. Bacteria with the highest xylanase and CMCase activities were strain 3 and 201-7. Both of them were identified as *Bacillus* spp. and named *Bacillus subtilis* KU3 and *Bacillus subtilis* KU201-7. The optimal medium condition of *Bacillus subtilis* KU3 was obtained when 3% (w/v) of yeast extract and 1% (w/v) of maltose were used as nitrogen and carbon sources, respectively. That of *Bacillus subtilis* KU201-7 was obtained when 0.5% (w/v) of yeast extract and 0.5% (w/v) of CMC were used as nitrogen and carbon sources, respectively.

(Key words : Xylanase, CMCase, Spent mushroom substrates, Enzyme activity)

I. 서 론

버섯부산물(버섯폐배지)이란 버섯을 생산하기 위해 조성된 배지에서 버섯을 생산하고 남은 부산물 또는 폐배지를 말하며, 버섯 재배방식에 따라, 그리고 버섯농가에 따라 배지의 조성이 다양하기 때문에 배출되는 버섯부산물 또한 다양한 형태로 배출된다. 김 등(2007b)의 연구에 의하면 2004년도에 전체 버섯부산물 발생량은 167만 MT이며, 이 중 97 MT이 사료로의 이용이 가능한 것으로 보고하고 있다. 버섯농

가에서 배출된 버섯부산물은 저장하는 과정에서 높은 수분함량(60~70%)과 자체적으로 발생하는 열로 인해 쉽게 부패가 되는 특징이 있다 (Kwak 등, 2008).

버섯 재배단계별 화학적 성분의 변화에 관한 연구에서 최초단계보다 버섯부산물 단계에서 난분해성 섬유소의 함량 비율이 증가 하였다는 보고(김 등, 2007a) 등을 고려하면, 배지 내 이용성이 높은 물질들은 버섯에 의해 1차적으로 이용이 되었기 때문에 lignocellulose와 같은 난분해성 물질들은 분해가 된다 하더라도 버섯부

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호:20070201080012)의 지원에 의해 이루어진 것임.

Corresponding author : Prof. Wan-Sup Kwak, School of Life Resource and Environmental Sciences, College of Natural Sciences, Konkuk University, Chung-Ju, Chung-Buk, 380-701, Korea.

Tel : +82-43-840-3521, E-mail : wsk@kku.ac.kr

산물로 배출 시에는 상대적 비율은 높아질 가능성이 크다. 버섯부산물을 가축 사료로 활용 시 버섯부산물 내 난분해성 물질들은 소화율 및 이용성을 저하시키기 때문에 반드시 고려해야 할 대상이다.

정 등(2003)과 양 등(2001)은 *Bacillus* spp. 중 xylanase와 CMCase의 활성이 높은 균주를 선발하여 가축사료용 생균제로 사용 하였을 때 효과가 있다고 하였다. Xylan은 hemicellulose의 주요 구성성분이며, lignin complex에서 xylan 골격을 형성(Ha, 2005)함으로 xylanase의 활성이 높은 균을 섬유소 함량이 높은 버섯부산물에 적용시 소화율 향상에 효과가 있을 것으로 추정된다. 버섯부산물에 선발균주를 접종하여 퇴적발효 후 면양에 급여 한 저자의 선행된 연구(김 등, 2007c)에서 섬유소와 광물질 소화율이 증가하는 경향을 보였으므로, 본 연구에서 동정된 균주들은 버섯부산물을 효과적으로 사료화 하는 데에 도움이 된다고 판단된다. 백색부후균에 의해 lignocellulose가 어느 정도 분해된 버섯부산물에 cellulase인 CMCase (carboxymethyl cellulase, Endo- β -1,4-glucanase)와 xylanase를 동시에 이용하면 식물세포벽 주요 구성성분인 cellulose와 xylan을 동시에 분해 할 수 있어서 그 효율이 증대될 것으로 기대 된다. 또한, 버섯부산물에는 다양한 균주들이 공존하고 있기 때문에 버섯부산물에서 이미 우점하여 생존하고 있는 균주를 선발하여 발효균주로 활용 시 그 효과가 클 것으로 판단된다.

따라서, 본 연구는 톱밥주원료 버섯부산물의 효과적 사료화를 위해 고온에서도 생존이 가능하며, 섬유소 분해력이 높은 버섯부산물 전용 발효균주의 개발을 목적으로 버섯부산물로부터 섬유소분해력이 높은 고온성 균주를 분리 동정하고 균주 생산을 위한 배지의 최적화 조건을 도출하기 위하여 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 균주 분리 및 동정

버섯부산물의 퇴적저장시 50℃ 이상의 고온

의 열이 발생됨에 따라 고온에서 생존이 가능하며 우점 할 수 있는 고온성 미생물을 버섯부산물로부터 분리하기 위하여, 충북 충주시 새송이버섯 농장에서 수집한 버섯부산물의 퇴적간 50℃ 이상 온도가 상승하였을 때 중심부에서 버섯부산물 시료를 채취하여 xylan이 1% 첨가된 PCA (Plate count agar) 배지에 도말하고 50℃에서 24시간 배양하여 clear zone을 형성하는 균주를 선발하고, xylanase의 활성을 측정하였다. 선발진행과정에서 바람직하지 않은 가스를 발생하는 균주는 선발에서 제외하였다. 선발균주의 동정은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Claus, 1986), 생리 및 생화학적 특성은 API (50CHB) kit (Bio-Merieux, France)를 이용하여 당 발효/이용성을 조사하였다. Cellular fatty acid composition은 Miller(1982)의 방법에 따라 Gas chromatography (Agilent technologies 6890, USA)를 이용하여 분석하였다. 16S rDNA sequence ABI PRISM 3700 DNA Analyzer를 이용하여 염기서열을 분석 하였다. 그 결과는 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK의 ribosomal DNA sequence와 비교하였으며, sequence의 상동성은 Clustal X와 Mega 2 program을 이용하여 비교분석하였다.

2. CMCase, Xylanase, MnP, Laccase 활성 측정

효소활성 측정 기질로 새송이버섯부산물 2%, urea 0.5%를 증류수에 넣어 121℃ 1.5 기압에서 30분간 멸균하여 broth로 사용하였다. 250 ml 삼각플라스크에서 총 36시간 배양동안 0, 6, 12, 24, 36시간에 효소의 활성을 측정하였다. Xylanase의 활성도는 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 방법 (Miller, 1959)을 사용하여 xylan으로부터 유리된 xylose 함량을 측정하여 분석하였다 (Khasin, 1993). 증류수에 녹인 1.0% (w/v) xylan 500 μ l, PBS (pH 7.0) 250 μ l와 효소용액 250 μ l을 넣고 50℃에서 15분 동안 반응시킨 후, DNS 시약 3 ml을 첨가하여 반응을 정지시키고 5분 동안 끓인 다음, 찬물에서 냉각 후 575 nm에서 흡광도를 측정하였고, D-xylose를

표준시료로 사용하여 동일 조건하에서 발색시켜 조사한 흡광도와 비교함으로써 유리된 환원당의 양을 결정하였다. 효소의 활성도 1.0 unit는 위의 조건하에서 1분 동안 xylan으로부터 1 μmol 의 xylose에 상응하는 환원당을 생성하는 효소의 양으로 정의하였다. CMCase의 활성도 측정방법은 xylanase 역가 측정방법 중 기질로 xylan 대신에 CMC (carboxymethyl cellulose)를 사용하는 것과 표준시료로 glucose를 사용하는 것 이외에는 동일한 방법을 사용하여 측정하였다. Laccase 활성은 조효소액 1.9 ml과 PBS (pH 7.0) 1.7 ml을 혼합하여, 5 mM의 p-phenylenediamine 0.3 ml을 첨가한 즉시 525 nm에서 흡광도를 측정하고, 이후 매분마다 흡광도를 측정하여 활성을 계산하였다 (Korohoshi, 1985). MnP (Manganese Peroxidase) 생산성은 0.1 M guaiacol 수용액 1.0 ml, PBS (pH 7.0) 1.0 ml, 조효소액 1.0 ml를 혼합한 다음 30 mM H₂O₂액을 0.027 ml을 첨가해서 반응을 개시한 직후 매분마다 470 nm에서 흡광도를 측정하여 unit를 계산하였다 (Ha, 2001).

3. 배지조건 최적화

선발된 균주 4종을 각각 다양한 질소원과 탄소원이 첨가된 배지에 접종하여 배양 (50°C, 150RPM, 12시간) 후 serial dilution을 하여 PCA 배지에 접종 후 배양 (36°C, 12시간) 하여 균수를 측정하였다. 질소원 측정 간 glucose를 1% 수준에서 첨가하였다. 질소원, 질소원 농도, 탄소원, 탄소원 농도의 순으로 균수를 측정하였으며, 질소원으로는 ammonium chloride의 16종 (Table 5)을 분석하였다. 선정된 질소원과 농도에 탄소원으로 CMC의 10종을 분석하였다. 농

도는 질소원과 탄소원 모두 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0%로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 버섯부산물로부터 xylanase 생산성이 높은 균주 분리

버섯부산물에서 분리된 균들 중 50°C의 배양 조건에서 생존하는 균들의 xylanase의 활성은 Table 1에 제시하였다. 7번과 7-1번 균주는 생육패턴 및 형태학적 성상이 매우 유사하여 7번 균주를 선발하였다. A균주는 xylanase의 활성은 좋으나 성장 간 바람직하지 않은 냄새를 발생하여 선발에서 제외하였다. 6번 균주는 clear zone의 면적은 넓지 않았으나, 가장 선명한 특징이 있어서 선발하였다. 최종적으로 xylanase의 활성이 우수한 3, 7, 201-7번 그리고 clear zone이 가장 선명한 6번을 선발하였다.

2. CMCCase, Xylanase, Laccase, Mnp 활력

선발균주를 버섯부산물 퇴적저장 (발효)간 발효균주로 활용할 목적으로 버섯부산물을 기질로 하여 측정된 효소 활성은 Table 2에 제시하였다. CMCCase(endo- β -1,4-glucanase)의 활성은 6번균주가 배양 24시간에서 가장 높았다. Xylanase 활성은 3번 균주가 배양 30시간에서 330.2 unit/ml로 가장 높았고, 201-7번 균주는 203.4 unit/ml로 다음으로 높았다. xylanase는 β -glucan과 함께 hemicellulose의 구성성분인 xylan을 분해하는 효소로서 xylan 이용성을 증대시킬 뿐만 아니라 xylan 구조에 결합되어 있는 잔기들 (arabinose, phenolic acid, glucuronic acid, p-

Table 1. Xylanase activities of 1st-selected thermophilic microorganisms

Item	Strain							
	A	B	3	6	7	8	7-1	201-7
Xylanase activity (50°C)	+++	++	+++	++	+++	+	+++	+++

¹⁾ Xylanase activities were evaluated after 24 hr of incubation on plate count agar with 1% xylan.

²⁾ +++ represents excellent clear zone formation on the screening medium; ++ good; + fair; - negative.

Table 2. Enzyme activities of 2nd-selected thermophilic microorganisms^{1),2)}

Enzyme activity (50°C)	Strain			
	3	6	7	201-7
CMCase (unit/ml)	24.1	71.4	12.9	14.2
Xylanase (unit/ml)	330.2	69.2	165.3	203.4
Laccase (unit/min)	4.5×10^{-2}	4.6×10^{-2}	1.8×10^{-2}	7.5×10^{-2}
MnP (unit/sec)	5.3×10^{-5}	2.6×10^{-5}	2.6×10^{-5}	5.4×10^{-5}

¹⁾ Basal medium: 2.0%(w/v) Spent mushroom substrates + 0.5%(w/v) urea.

²⁾ Highest enzyme activity during 0~36hr of incubation period.

coumaroyl acid 등) 및 lignin과 cellulose 등의 이용성을 증대(Campbell, 1992) 시킬 수 있기 때문에 섬유소가 높은 버섯부산물 발효용 균주 선발에 있어서 xylanase를 우선선발 기준으로 하였다. Laccase 활력은 201-7번 균주가 배양 30시간에서 7.5×10^{-2} unit/min으로 가장 높았다. MnP 활력은 3, 201-7번 균주가 각각 5.3×10^{-5} , 5.4×10^{-5} unit/sec으로 균주 중에서 높은 활력을

Table 3. Biochemical characteristics (carbohydrates) of strain 3 and strain 201-7

Characteristics	Strain		Characteristics	Strain	
	3	201-7		3	201-7
Glycerol	+	+	Salicine	+	+
Erythritol	-	-	Cellobiose	+	+
D-Arabinose	-	-	Maltose	+	+
L-Arabinose	+	+	Lactose	+	-
Ribose	+	+	Melibiose	-	-
D-xylose	+	-	Saccharose	+	+
L-xylose	-	-	Trehalose	+	+
Adonitol	-	-	Inuline	-	+
β Methyl-xyloside	-	-	Melezitose	-	-
Galactose	-	-	D-Raffinose	+	+
D-Glucose	+	+	Amidon	+	+
D-Fructose	+	+	Glycogen	+	+
D-Mannose	+	+	Xylitol	-	-
L-sorbose	-	-	β Gentiobiose	+	-
Rhamnose	-	-	D-Turanose	+	+
Dulcitol	-	-	D-Lyxose	-	-
Inositol	+	+	D-Tagatose	-	-
Mannitol	+	+	D-Fucose	-	-
Sorbitol	+	+	L-Fucose	-	-
α Methyl-D-mannoside	-	-	D-Arabitol	-	-
α Methyl-D-glucoside	+	+	L-Arabitol	-	-
N Acetyl glucosamine	+	-	Gluconate	-	-
Amygdaline	+	+	2 ceto-gluconate	-	-
Arbutine	+	+	5 ceto-gluconate	-	-
Esculine	+	+			

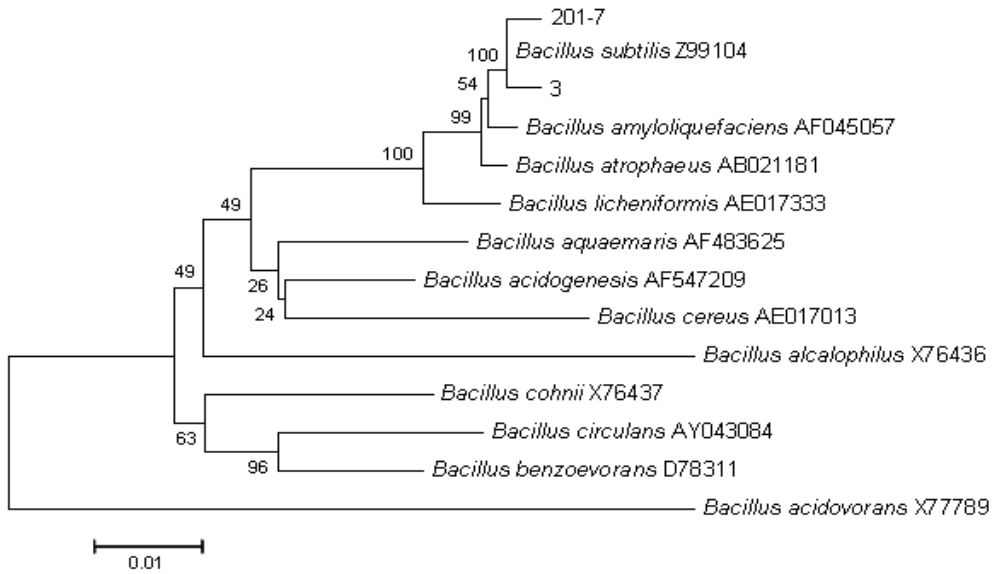


Fig. 1. Phylogenetic tree of strain 3 and strain 201-7 (*Bacillus subtilis*).

보였다. Xylanase 활력이 가장 높은 3번과 xylanase 활력이 높으면서 laccase와 MnP 활력이 가장 높은 201-7번 균주를 최종적으로 선발하였다.

3. 선발균주의 특성 및 동정

분리균주의 생리 및 생화학적 특성과약을 위해 API 50 CHB kit (Bio-Merieux, France)를 이용하여 당 발효/이용성을 조사한 결과는 Table 3에 제시하였다. 3번 균주는 201-7번 균주가 이용하지 못하는 D-xylose, N acetyl glucosamine, lactose, β gentiobiose를 이용하여 산을 생성하였으며, 201-7번은 3번 균주가 이용하지 못하는 inuline을 이용하여 산을 생성하였다. 간이동정 결과 3과 201-7번 균주 모두 *Bacillus subtilis*에 속하는 것으로 나타났다. 세포질 지방산 조성은 Table 4에 제시하였다. 3, 201-7번 모두 C_{15:0} ISO, C_{15:0} ANTEISO의 함량이 가장 많은 특징이 있었다.

선발균주들의 16s rDNA sequence를 분석 후 genebank인 NCBI (National center for biotechnology information)에 등록하였다. 3번, 201-7번 균주의 accession number는 각각 EU557029,

Table 4. Cellular fatty acid composition of strain 3 and strain 201-7

Fatty acids	Strain	
	3	201-7
 %	
C _{11:0} ISO	0.12	
C _{13:0} ISO	0.47	
C _{13:0} ANTEISO	0.76	0.16
C _{14:0} ISO	1.88	1.30
C _{14:0}	0.51	0.23
C _{15:0} ISO	31.97	20.64
C _{15:0} ANTEISO	38.10	44.20
C _{16:1} w7c alcohol	0.28	0.65
C _{16:0} ISO	3.92	3.57
C _{16:1} w11c	0.60	1.00
C _{16:0}	3.69	2.44
C _{17:1} ISO w10c	0.69	1.48
C _{17:0} ISO	9.74	9.95
C _{17:0} ANTEISO	6.79	12.90
C _{18:0}	0.21	0.37
C _{19:0} ANTEISO		0.13

EU557030이다.

선발 균주의 계통수는 Fig. 1에 제시되어져 있다. 이들의 결과를 분석 종합한 결과 두 균주 모두 *Bacillus subtilis*로 동정되어 *B. subtilis* KU3, *B. subtilis* KU201-7로 각각 명명하였다.

4. 질소원 및 농도가 균 성장에 미치는 영향

다양한 질소원 및 질소농도에 따른 총균수의 변화는 Table 5에 제시하였다. 3, 201-7번 균주 모두 yeast extract가 질소원으로 가장 우수하였다. Yeast extract는 복합물질이며, 효모의 대사 산물이 bacteria에 의해 이용성이 높기 때문인 것으로 사료된다. 두 균주 모두 비단백태질소(non-protein nitrogen) 보다는 단백질질소원(true protein)에서의 성장이 더 좋았다. 201-7번 균주의 skim milk와 대두박과 같은 단백질원에서도 잘 자라는 특성은 대량생산에 있어서 유리하게 작용될 것으로 판단된다. 3번 균주는 3.0%(w/v)에서 7.38 Log₁₀ cfu/g으로 최적의 성장을 보였으나 1.0, 1.5%(w/v)와 큰 차이가 없으므로 생산단가를 고려할 때에는 1.0% 수준도 양호하다고 하겠다. 201-7번은 0.5%(w/v)에서 8.24 Log₁₀ cfu/g으로 최적의 성장을 보였다(Table 미제시).

5. 탄소원 및 농도가 균 성장에 미치는 영향

다양한 탄소원 및 탄소농도에 대한 총균수 변화는 Table 6에 제시하였다. 3번 균주는 탄소원으로 maltose, 201-7번은 CMC에서 가장 성장이 좋았다. 균주의 대량 배양 시에 3번 균주는 당밀, 201-7번 균주는 밀가루를 이용하면 저가로 효과적 배양이 가능한 것으로 예상된다. 3번 균주는 maltose 1.5% (w/v)에서 8.43 Log₁₀ cfu/g으로 성장이 가장 우수하였으며, 201-7번 균주는 CMC 0.5%에서 8.88 Log₁₀ cfu/g로 가장 좋은 생육을 보였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 3번 균주는 질소원으로 yeast extract 3% (w/v), 탄소원으로 maltose 1.5% (w/v)에서 성장이 가장 우수하였으며, 201-7번 균주는 질소원으로 yeast extract 0.5% (w/v), 탄소원으로 CMC 0.5% (w/v)에서 성

Table 5. Effect of nitrogen sources and concentration on total bacterial counts^{(1),(2),(3)}

Item	Strain 3	Strain 201-7
Nitrogen sources(1%)	... Log ₁₀ cfu/g ⁴⁾ ...	
Ammonium chloride	—	—
Ammonium citrate	—	—
Ammonium nitrate	—	—
Ammonia solution	—	—
Ammonium sulfate	—	—
Beef extract	4.46	6.65
Casamino acid	5.81	—
Casein	4.36	—
Malt extract	—	—
Peptone	—	7.07
Skim milk	5.04	7.78
Soybean	—	—
Soybean meal	6.23	7.61
Soytone	6.14	7.00
Tryptone	6.18	7.67
Urea	—	—
Yeast extract	7.38	8.17

1) Basal carbon source : 1.0%(w/v) glucose.
 2) The rate of growth was measured after 12hr of incubation on plate count agar.
 3) Culture : casein peptone 5g, yeast extract 2.5g, dextrose 1g, agar 15g /ℓ; “—” : no growth.
 4) Colony-forming unit per gram of wet sample.

장이 가장 우수하였다. 균주의 대량 생산시 질소원으로 가공부산물인 대두박을, 탄소원으로 당밀과 밀가루의 사용을 고려하는 것은 경제적 측면에서 의미가 있을 것으로 사료된다. 정 등(2003)의 연구에서 토양시료에서 분리 동정한 *Bacillus* spp.도 대두박과 당밀을 기질로 사용하였을 때 xylanase의 활력이 높았다고 보고하였다.

Table 6. Effect of carbon sources and concentration on total bacterial counts^{1),2),3)}

Item	Strain 3	Strain 201-7
Carbon sources(1%)	... Log ₁₀ cfu/g ⁴⁾ ...	
CMC	7.60	8.75
Dextrose	7.49	8.57
Fructose	7.95	8.54
Glucose	7.30	8.32
Maltose	8.33	8.18
Molasses	8.30	6.76
Starch	7.88	8.34
Sucrose	6.70	8.08
Wheat flour	—	8.40
Xylan	6.49	7.52
Xylose	7.85	7.79

¹⁾ Basal nitrogen source was yeast extract and nitrogen concentration were 3% for strain 3 and 0.5% for strain 201-7.

²⁾ The rate of growth was measured after 12hr of incubation on plate count agar.

³⁾ Culture : casein peptone 5g, yeast extract 2.5g, dextrose 1g, agar 15g / ℓ; “-” : no growth.

⁴⁾ Colony-forming unit per gram of wet sample.

IV. 요약

본 연구는 톱밥주원료 버섯부산물의 효과적 사료화를 위한 균주개발을 목적으로 버섯부산물로부터 섬유소분해력이 높은 고온성 균주를 분리 동정하고 균주생산을 위한 배지의 최적화 조건을 도출하고자 실시하였다. Xylanase와 CMCase 활성이 상대적으로 우수한 것으로 선발된 고온성 균은 3, 201-7번으로서 동정한 결과 *Bacillus* spp.에 속하는 균주로 *B. subtilis* KU3, *B. subtilis* KU201-7로 각각 명명하였다. 균주생산을 위한 최적 액상배양조건에 있어서 *B. subtilis* KU3은 질소원으로 yeast extract 3%(w/v)에서, 탄소원으로 maltose 1%(w/v)에서

성장이 가장 좋았다. *B. subtilis* KU201-7은 질소원으로 yeast extract 0.5% (w/v)에서, 탄소원으로 CMC 0.5% (w/v)에서 성장이 가장 좋았다.

V. 인용 문헌

- Campbell, G. L. and Bedford, M. R. 1992. Enzyme applications for monogastric feeds: A review. *Can. J. Anim. Sci.* 72:449.
- Claus, D. and Berkeley, R. C. W. 1986. Genus *Bacillus*, PP1105-1139. In Sneath, P. H. A. (ed), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
- Ha H. C. 2001. Purification and characterization of manganese peroxidase from *Pleurotus ostreatus*. *Proc. Asian Mycol. Symp.* 209-214.
- Ha, J. K., Lee, S. S., Moon, Y. S. and Kim, C. H. 2005. *Ruminant Nutrition and Physiology*. Seoul National Univ. Press.
- Khasin, A., Alchanati, I. and Shoham, Y. 1993. Purification and characterization of a thermostable xylanase from *Bacillus stearothermophilus* T-6. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:1725-1730.
- Kwak, W. S., Jung, S. H. and Kim, Y. I. 2008. Broiler litter supplementation improves storage and feed-nutritional value of sawdust-based spent mushroom substrate. *Bioresour. Tech.* 99:2947 - 2955.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.
- Miller, L. T. 1982. Single derivatization method for routine analysis of Bacterial whole-cell fatty acid methyl esters. including hydroxy acid. *J. Clin. Microbiol.* 18, 861-867.
- Morohoshi, N., Nakamura, T. and Haraguchi, T. 1985. Degradation of lignin by the extracellular enzymes of *Trametes versicolor* (I). *Tokyo Univ. of Agri. and Tech.* 21:101-105.
- 김영일, 배지선, 정세형, 안문환, 곽완섭. 2007b. 버섯폐배지의 발생량 조사 및 새송이, 느타리, 팽이 버섯 폐배지의 버섯종류별과 재배방식별의

- 물리화학적 특성 평가. 한국동물자원과학회지. 49(1):79-88.
11. 김영일, 배지선, 허정원, 곽완섭. 2007a. 버섯의 봉지재배 및 병재배 시 재배단계별 배지의 사료 영양적 성분, 독성중급속 및 잔류농약 모니터링. 한국동물자원과학회지. 49(1):67-78.
 12. 김영일, 정세형, 양시용, 허정원, 곽완섭. 2007c. 버섯부산물 퇴적발효 시 섬유소 분해균 접종이 섬유소 분해성 효소 활력과 면양의 영양소 이용성에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지. 49(5): 667-676.
 13. 양시용, 송민동, 김언현, 김창원. 2001. Probiotics 용 복합효소 분비 *Bacillus* sp.의 분리 및 원료사료를 이용한 균주 생산을 위한 배지 조건의 최적화. 한국미생물생명공학회. 29:110-114.
 14. 정원형, 양시용, 송민동, 하종규, 김창원. 2003. Xylanase, Cellulase의 생산성이 높은 *Bacillus* sp.의 분리 및 효소생산을 위한 배지조건의 최적화. 한국미생물생명공학회. 31:383-388.
- (접수일자 : 2008. 5. 13. / 수정일자 : 2008. 9. 16. / 채택일자 : 2008. 9. 21.)