

## 麴菌의 生育 및 酶素生産에 미치는 마늘成分에 관한 研究

李錫健·李澤守·南成熙\*\*

忠南大學校 農科大學·Samsung Food Research Institute\*·株式會社 一和 研究室\*\*

(1978년 7월 5일 수리)

## Studies on the Effect of Garlic on the Enzyme Production and Growth of *Aspergillus oryzae*

Suk-Kun Lee, · Taik-Soo Lee\* · Sung-Hee Nam.\*\*

College of Agriculture, Choong Nam National University.

Lab. of Sampyo Food Ind. Co. Ltd.\* Ilwha Pharmaceutical Co. Ltd.\*\*

(Received July, 5 1978)

### SUMMARY

*Asp. oryzae* D and H strains were cultured in the wheat bran and Czapek-Dox liquid media containing garlic powder in order to investigate the effect of garlic on the enzyme production and growth of *Asp. oryzae*. The results obtained were as follows;

1. Wheat bran media containing 0.5 to 2% garlic powder yielded increased in acid protease activity of the *Asp. oryzae* D strain while the best activity appeared at 2 to 6% in alkaline protease and 0.5% in neutral protease.
2. The protease activities of *Asp. oryzae* H strain was similar to that of the control in wheat bran media containing 0.5 to 8% garlic powder, but the peak appeared at the garlic powder concentration of 30%.
3. Garlic powder increased the  $\alpha$ -and Glucoamylase activities of *Asp. oryzae* H strain.
4. Garlic powder inhibited the both *Asp. oryzae* strains from the cellulase production.
5. Czapek-Dex liquid media containing 0.5 to 6% garlic powder yielded increase in dry mycelial weight in comparison with the control, and the increment was much more in case of the *Asp. oryzae* H strain.
6. As the amount of the garlic powder added to the Czapek-Dox liquid media increased, the pH of the cultured media of *Asp. oryzae* D strains was on the decrease while the media of H strain increased.
7. As the amount of the garlic powder added increased, the acidity of the cultured Czapek-Dex media increased.
8. The growth rate of the two *Asp. oryzae* strains were remarkably inhibited and no growth appeared in wheat bran and Czapek-Dox media containing garlic powder more over 10%.
9. The utility rate of reducing sugar was the highest in the Czapek-Dox liquid media containing 1 to 2% garlic powder.

본 연구는 1977년 문교부 연구조성비로 이루어진 것임. 문교부 당국자에게 심심한 사의를 표한다

## 序 論

마늘은 食慾을 增進시키고 血液循環을 활성하게 하며 장력한 살균작용을 가진 香辛料로서 우리나라 고유의 식품인 김치, 마늘쫑, 양념 등에 제조에 필수적인 첨가원료인 것이다. 뿐만 아니라 약용, 육류가공, 냉동식품 등 그 이용도가 매우 광범위하여 歐美各國에서는 garlic powder로써 输出되고 있는 실정이다. 이처럼 마늘은 우리의 日常食品 및 식탁에 중요한 위치를 차지하고 있으나 마늘에 대한 연구는 마늘의 형태<sup>(1,2)</sup>, 재배<sup>(3-10)</sup>, 특성<sup>(11)</sup>, 성분<sup>(12,13)</sup> 등 주로 마늘自體에 관한 연구 뿐이며 마늘이나 마늘성분이 미생물에 미치는 영향에 대하여는 별로 연구된 바 없다. 따라서 저자 등은 마늘 또는 마늘성분이 麴菌, 酵母, 乳酸菌等, 미생물의 酵素生產 및 生育에 미치는 영향과 그 機作은 料明할 목적으로 本 연구에 착수하였으며 第1報로써 마늘가루의 添加濃度가 *Asp. oryzae*(長毛菌과 短毛菌)의 酵素生產 및 生育에 미치는 영향에 대하여 검토하였으며 그 결과를 보고하는 바이다.

## 材料 및 方法

### 1. 試料마늘가루

市中에서 마늘을 구입하여 뿌리와 外皮 및 內皮를 제거한 후 칼로 切斷한 다음 45°C로 조정된 還風乾燥機內에서 4日間 乾燥하여 mortar에 넣어 80~100mesh 정도로 粉粹한 마늘가루를 試料로 사용하였다. 本 실험에 사용한 試料마늘가루의 一般成分은 Table 1과 같다.

Table 1. Chemical composition of sample garlic power

Moisture	Crude Protein	Fat	Sugar	Fiber
18.67	4.8	0.9	37	1.4

(Unit : %)

### 2. 供試菌株

충남대학교 농과대학 식품가공학과 연구실에 보관중인 *Asp. oryzae* D(短毛菌) 및 *Asp. oryzae* H(長毛菌) 균주를 사용하였다.

### 3. 菌菌의 培養

① 固體培養: 麴菌의 固體培養은 對照區와 試

驗區로 大別하고 對照區는 밀기울만 10g, 試驗區는 각각의 마늘가루농도(%)로 마늘가루와 밀기울을 혼합한 것 10g씩을 동일한 size의 삼각 flask에 种하고 100%씩의 물을 가하여 120°C에서 20分間 살균하여 放冷하고 5日間 前培養한 塞天斜面으로부터 *Asp. oryzae* D 및 H 균주의 胞子 1白金耳식을 接種하여 30°C에서 4일간 培養하였다.

② 液體培養: glucose 5%를 함유하는 Czapek-Dox液體培地 50ml에 마늘가루를 각각 달리 添加하여 120°C에서 20분간 살균하고 *Asp. oryzae* D 및 H 균주의 胞子 1白金耳식을 접종한다음 30°C에서 5일간 배양하였다.

### 4. 酵素液의 調製

마늘가루含有 밀기울배지上에서 4일간 배양된 固體菌을 각각 5g씩 秤取하여 물을 가해 50ml로 한 후 1시간동안 鎮盪抽出하여 여과하고 그 濾液을 酵素液으로 하였다.

### 5. 酵素力價의 측정

① protease: 0.6% casein액을 基質로 하여 Anson<sup>(14)</sup> 改良法<sup>(15,16)</sup>에 準하여 30°C에서 10분간의 반응조건으로 활성을 측정하였다. 반응 pH는 3.0, 7.0, 9.0으로 하여 편의상 산성, 중성, alkal性 protease로 大別하였으며 배양濾液 1ml當의 吸光度( $OD 660m\mu = (\text{시료의 } OD - \text{blank의 } OD) / \times \text{酵素希釋倍率}$ )로 나타난 값에 固體菌의 수분함량을 補正한 乾物 1g當의 力價로 환산하여 표시하였다.

②  $\alpha$ -amylase: Blue value法의 改良變法<sup>(17,18)</sup>에 의하여 측정하였으며 活度는 0.1% soluble starch액을 基質로 사용하여 1분간에 沃度呈色度를 10% 抵下시키는 酵素量을 1單位로 표시하였다.

③ Glucoamylase: 1.2% soluble starch액을 基質로 하여 hypoiodide法에 準하여 환원당을 定量하고 酵素液 1ml가 40°C에서 10분간 1%可溶性澱粉液에 작용하여 1mg의 glucose에 상당하는 환원당을 생성하는 活성을 1單位로 하였다.

④ Cellulase: CMC용액을 基質로 하는 환원당의 增加力法<sup>(19)</sup>에 準하여 측정하고 酵素液 1ml가 40°C에서 10분간에 glucose 1mg에 상당하는 환원당을 생성하는 活성을 1單位로 하였다.

### 6. 菌體量의 측정

마늘가루를 함유한 Czapek-Dox액체배지상에 麴菌을 접종하여 5일 배양후 培養物을 濾別하고 濾紙上의 菌體를 잘 洗滌한 다음 10°C에서 4시간

乾燥하여 배양액 100ml當의 乾燥菌體重量으로 환산하여 표시했다.

#### 7. pH, 酸度 및 활원당의 측정

마늘가루함유 Czapek-Dox액체 배지상에 麴菌을 접종하여 5일간 배양한 培養物의 pH, 酸度 및 활원당을 常法<sup>(20)</sup>에 의하여 측정했다.

#### 結果 및 考察

##### 1. 마늘가루添加濃度가 酶素活性에 미치는 영향

배지중의 마늘가루농도가 각각 0, 0.5, 1, 2,

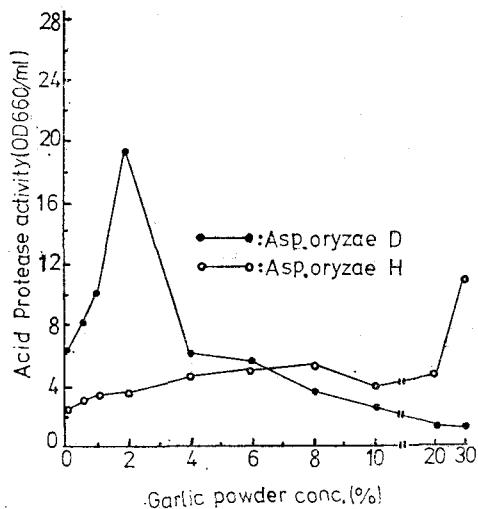


Fig. 1. Effect of garlic powder concentration on the production of acid protease by *Aspergillus oryzae*.

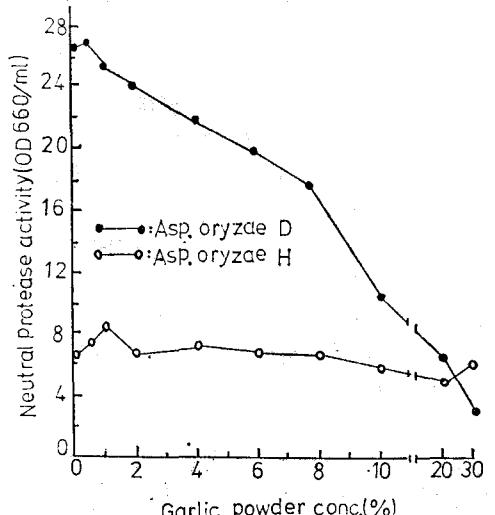


Fig. 2. Effect of garlic powder concentration on the production of neutral protease by *Aspergillus oryzae*.

4, 6, 8, 10, 20 및 30%가 되게 밀기울과 마늘가루를 혼합하고 100%量의 물을 가하여 잘 혼합한 다음 常法으로 살균하고 *Asp. oryzae* D 및 H 균주를 접종하여 30°C에서 4일간 배양한 후 각종 酶素活性을 측정한 결과는 Fig. 1~6과 같다.

##### (1) Protease

Fig. 1~3에서 보는 바와 같이 *Asp. oryzae* D 균주의 경우 산성 protease의 활성은 밀기울단독구(이하 대조구)에 비하여 0.5~2%의 마늘가루첨가구가 더 높았고 또한 alkali性 protease의 活

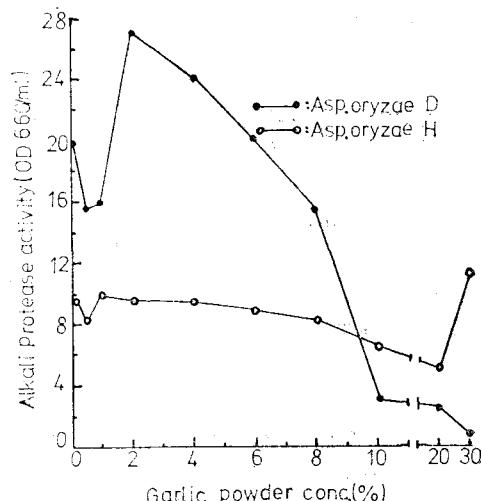


Fig. 3. Effect of garlic powder concentration on the production of alkali protease by *Aspergillus oryzae*.

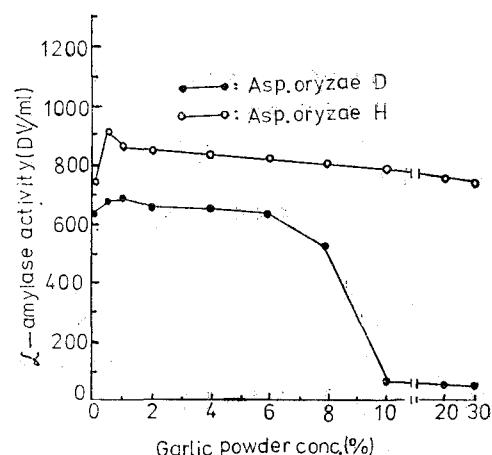


Fig. 4. Effect of garlic powder concentration on the production of  $\alpha$ -Amylase by *Aspergillus oryzae*.

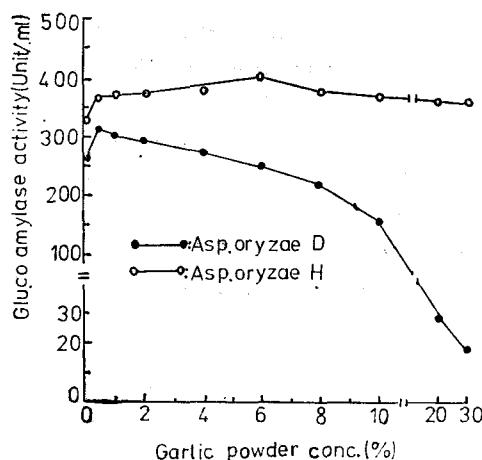


Fig. 5. Effect of garlic powder concentration on the production of gluco-amylase by *Aspergillus oryzae*.

性도 대조구에 비하여 2~6%의 마늘가루첨가구에서 활성도가 높았으나 그 이상의 마늘가루첨가구에서는 마늘가루의 첨가농도가 증가함에 따라 각 protease活性은 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 특히 중성 protease의 활성은 0.5%마늘가루첨가구를 제외하고는 모두 대조구에 비하여 낮았다. 한편 *Asp. oryzae* H 균주의 경우 산성 protease의 활성은 대조구에 비하여 배지중의 마늘가루첨가농도가 증가함에 따라 약간씩 상승하는 경향을 보이다가 30%의 마늘가루첨가구에서는 peak를 나타내었고 중성 protease 활성은 0.5~1%마늘가루첨가구에서 대조구에 비하여 높았으나 그 이상의 첨가구에서는 전반적으로 대조구와 비슷한 경향을 보이다가 30%마늘가루첨가구에서는 다소 상승하였다. 또한 alkali性 protease의 활성은 0.5%마늘가루첨가구를 제외하고는 모두 대조구와 비슷한 경향을 나타내었으나 30%첨가구에서 다시 상승하여 peak를 나타냈다. 이상의 실험결과로 보아 일정한도의 마늘가루의 첨가는 protease 활성의 증진에 기여하는 것으로 생각되며 특히 *Asp. oryzae* H 균주(長毛菌)의 경우固體培地上에서 30% 마늘가루첨가구의 균의 생육상태가 불량하였음에도 불구하고 오히려 protease 활성이他の 시험구에 비하여 높은 것은 앞으로 흥미 있는 연구과제라 생각된다.

#### (2) Amylase

Fig. 4~5에서 보는 바와 같이 *Asp. oryzae* D 균주의 경우 마늘가루첨가농도가 0.5~4%일 때에는  $\alpha$  및 glucoamylase의 활성은 모두 대조구에

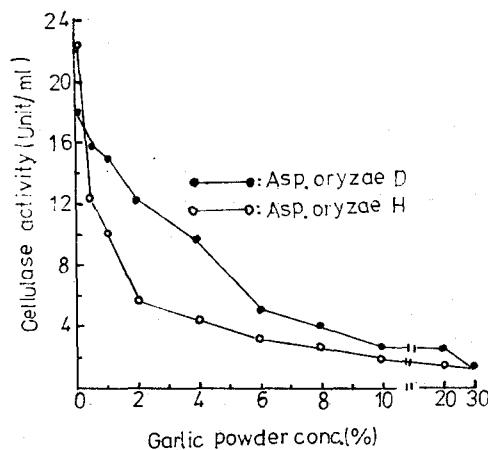


Fig. 6. Effect of garlic powder concentration on the production of cellulase by *Aspergillus oryzae*.

비하여 다소 높게 나타났으나 큰 차이는 인정할 수가 없었고 첨가농도 6%이상에서는 어느 区에서나 마늘가루의 첨가농도가 증가함에 따라 酶素活性은 대조구에 비하여 저하하는 경향을 나타냈다. 한편 *Asp. oryzae* H 균주의 경우  $\alpha$  및 glucoamylase의 활성은 마늘가루첨가구가 대조구에 비하여 모두 높은 경향을 나타냈으며  $\alpha$ -amylase 활성은 마늘가루첨가농도 0.5~2%범위에서 peak를 나타냈고 glucoamylase는 6%일 경우에 peak를 이루었다. 이상의 실험결과로 볼때 마늘가루가 短毛菌의 amylase 생산에는 큰 영향이 없으나 長毛菌株의 경우 마늘가루첨가가 amylase 활성의增進에 기여하는 것으로 고려된다.

#### (3) Cellulase

Fig. 6.의 결과와 같이 *Asp. oryzae* D 및 H 균주 모두 마늘가루첨가구는 대조구에 비하여 cellulase 활성은 抑下하였고 마늘가루첨가농도가 증가함에 따라 활성의 抑下는 현저하였다. 本 실험의 결과로 보아 마늘가루의 첨가가 cellulase 활성의增進에는 효과가 없으며 오히려 저해작용을 하는 것으로 고려된다.

#### 2. 마늘가루 첨가농도가 균체량의 생성에 미치는 영향

마늘가루의 첨가농도가 麴菌의 生育에 미치는 영향을 알기 위하여 Czapek-Dox액체 배지에 마늘가루의 농도를 달리하여 0~30% 첨가한 배지에 麴菌을 배양한 후 乾燥菌體重量을 측정한 결과는 Fig. 7와 같다.

Fig. 7에서 보는 바와 같이 麴菌의 菌體生成量

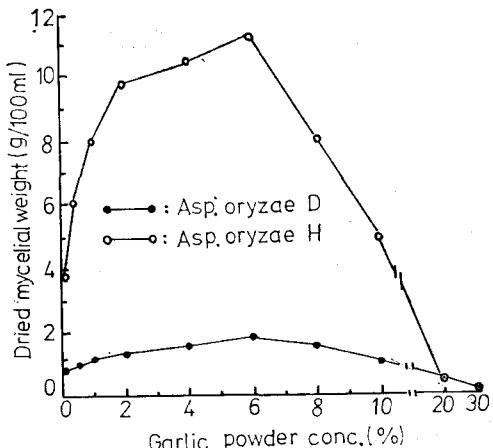


Fig. 7. Effect of garlic powder concentration on the production of mycelial weight by *Aspergillus oryzae*.

은 마늘가루첨가농도가 0.5~6% 범위내에서 *Asp. oryzae* D 및 H균주 모두 대조구에 비교하여 乾燥菌體重量은 증가하는 경향이며 6%첨가구에서 乾燥菌體重量은 최대 peak를 이루었으나 10%이상의 마늘첨가구에서는 乾燥菌體重量의生成은 현저히 감소되었다. 또한 마늘가루가 균체생성에 미치는 효과는 *Asp. oryzae* D균주에 비하여 H균주가 훨씬 컸다. 즉 5일 배양후 배양액 100ml當의 乾燥菌體重量을 비교해 보면 *Asp. oryzae* H균주의 경우 마늘가루無添加區(대조구)에서 3.72, 마늘가루 0.5%첨가구에서 6g, 6%첨가구에서 11.3g, 마늘가루 20% 첨가구에서 0.4g의 乾燥菌體生成을 보였으며 *Asp. oryzae* D균주의 경우는 대조구에서 0.78g, 0.5%첨가구에서 1g, 6%첨가구에서 1.8g, 20%첨가구에서는 菌體가 거의 없는 것으로 나타났다. 이상의 사실로 미루어볼때 일정한도의 마늘가루첨가는 麴菌의 生육에 좋은 효과를 나타내며 특히 *Asp. oryzae* H균주의 경우에는 현저한 효과를 부여하는 것으로 생각된다.

### 3. 마늘가루 첨가농도의 培養物의 pH 및 滴定酸度에 미치는 영향

Czapek-Dox액체 배지에 마늘가루 농도를 달리하여 0~30%첨가하고 麴菌을 배양하여 pH 및 滴定酸度의變化를 관찰한 결과는 Fig. 8~9와 같다.

Fig. 8. 에서보는 바와 같이 Czapek-Dox액체培養物의 pH는 *Asp. oryzae* D균주의 경우 대조구에서 pH 6.4이든 것이 0.5% 마늘가루첨가구에서 pH는 7.5로 상승되었으나 마늘가루첨가농도

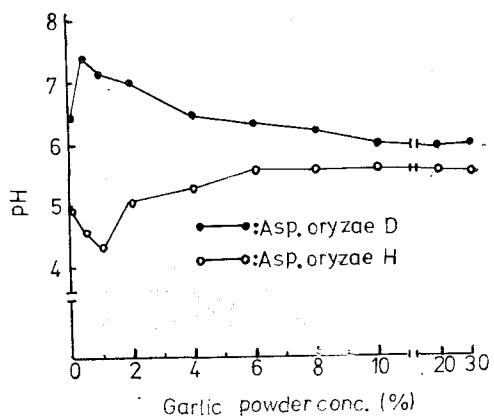


Fig. 8. The change of pH value in Czapek-dox liquid broth containing garlic powder during the *Aspergillus oryzae* cultivation.

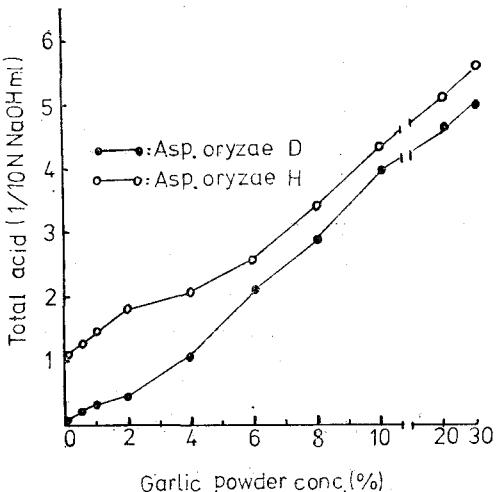


Fig. 9. The change of total acid in Czapek-Dox liquid broth containing garlic powder during the *Aspergillus oryzae* cultivation.

가 증가함에 따라 pH는 서서히 抵下현상을 나타내어 6.4~5.9를 유지하였다. *Asp. oryzae* H균주의 경우는 대조구에서 pH 5 정도로 나타났으나 마늘가루첨가농도가 2%이상인 경우에는 pH가 서서히 상승되어 평균 pH 5.5 정도의 범위를 유지하였다. 前項의 결과에서 麴菌의 菌體生成量은 *Asp. oryzae* H균주(pH 5~5.5)가 D균주(pH 6.4~5.9)에 비하여 많은 것으로 나타났는데 本실험의 결과로 볼때 과도한 pH의 상승은 麴菌의 生育에 큰 효과가 없는 것으로 고려된다. 한편 Fig. 9. 에서 보는 바와 같이 滴定酸度는 *Asp. oryzae*

Table 2. Effect of garlic powder concentration on growth of the *Aspergillus oryzae* H in the Czapek-Dox liquid medium.

Cultivation time (days)	Garlic powder conc. (%)									
	0	0.5	1	2	4	6	8	10	20	30
1	+	#	+	±	+	-	-	-	-	-
2	#	#	#	±	+	±	-	-	-	-
3	#	#	#	+	#	+	+	±	-	-
4	#	#	#	#	#	#	#	+	-	-
5	#	#	#	#	#	#	#	#	+	-

- : none growth. + : scanty growth. # : moderate growth. ## : abundant growth.

Table 3. Effect of garlic powder concentration on growth of the *Aspergillus oryzae* D in the Czapek-Dox liquid medium.

Cultivation time (days)	Garlic powder conc. (%)									
	0	0.5	1	2	4	6	8	10	20	30
1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2	#	#	#	#	+	+	-	-	-	-
3	#	#	#	#	#	+	-	-	-	-
4	#	#	#	#	#	+	+	-	-	-
5	#	#	#	#	#	+	+	-	-	-

Table 4. Effect of garlic powder concentration on growth of the *Aspergillus oryzae* H in the wheat bran medium.

Cultivation time (days)	Garlic powder concentration(%)									
	0	0.5	1	2	4	6	8	10	20	30
1	#	+	+	+	+	+	+	-	-	-
2	#	#	#	#	#	#	#	+	+	-
3	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+
4	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#

Table 5. Effect of garlic powder concentration on growth of the *Aspergillus oryzae* D in the heat bran medium.

Cultivation time (days)	Garlic powder concentration(%)									
	0	0.5	1	2	4	6	8	10	20	30
1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
2	#	#	#	#	#	#	#	-	-	-
3	#	#	#	#	#	#	#	-	+	-
4	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+

D 및 H균주 共히 대조구에 비하여 마늘가루첨가 농도가 增加함에 따라 증가현상을 보였고 H균주 (長毛菌)는 *Asp. oryzae* D균주(短毛菌)에 비하여 그 증가현상은 커다. 특히 마늘가루첨가농도 6% 이상에서 각구의 滴定酸度의 증가현상은 현저하게 나타났다.

#### 4. 마늘가루첨가농도가 麴菌의 外觀生育度에 미치는 영향

*Asp. oryzae* D균과 H균 1白金耳색을 밀기울 固體배지와 Czapek-Dox액체배지에 접종하여 經時的으로 麴菌의 生育狀態를 肉眼的으로 관찰한 결과는 Table 2~5와 같다.

Table 2~5에서 나타난 바와 같이 固體培地上에서 *Asp. oryzae* D 및 H균주 共히 마늘가루첨가 농도가 0.5~8% 범위내에서는 대조구와 마찬가지로 麴菌의 生育은 양호하였으나 마늘가루첨가농도가 10% 이상인 경우에는 대체로 생육이 불량하였고 菌系의 번식속도가 완만하였으며 부분적으로 菌系의 生育을 인정할 수 있었다. 한편 Czapek-Dox액체배지상에서 배양 5일후 麴菌의 生育상태는 *Asp. oryzae* H균주는 마늘가루첨가농도 0.5~6% 범위내에서, *Asp. oryzae* D균주는 마늘가루첨가농도 0.5~4% 범위내에서 각각 대조구와 大差없이 생육이 양호하였으나 그 이상의 농도에서는 菌의 생육은 불량한편이었다. 특히 *Asp. oryzae* D균주의 경우 마늘가루첨가농도 10% 이상에서는 麴菌의 생육은 거의 억제되는 경향을 나타냈다. 마늘중에 함유되어 있는 휘발성 sulfides의 precursor인 alliin이나 그의 分解產物인 allicin<sup>(21)</sup>은 모두 antibacterial action을 가지고 있고 菌體量의 측정 및 外觀生育度에 관한 실험 결과로 미루어 볼 때 과량의 마늘가루 첨가구에서는 마늘가루성분에 의한 강력한 antibacterial action을 받는 것으로 추정된다.

#### 5. 마늘가루첨가농도가 培養物의 환원당의 變化에 미치는 영향

glucose 5%를 함유하는 마늘가루첨가 Czapek-Dox 액체배지에 *Asp. oryzae* D 및 H균주를 접종하여 5일 배양한 후 培養物中の 환원당을 측정한 결과는 Fig. 10와 같다.

Fig. 10에 나타난 바와 같이 *Asp. oryzae* D 및 H균주 共히 마늘가루첨가농도 1~6% 범위내에서 糖을 거의 소모하여 營養源으로 이용하였으나 대조구와 마늘가루첨가농도 10%에서는 환원당이

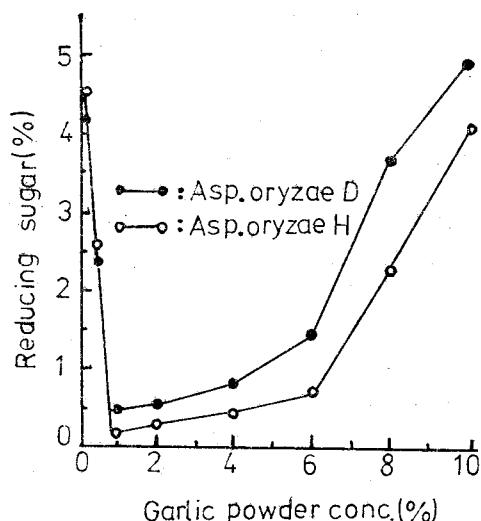


Fig. 10. The change of reducing sugar contents in Czapek-Dox liquid broth containing garlic powder during *Aspergillus oryzae* cultivation.

많이 검출되었다. 즉 마늘가루첨가농도 1~6% 범위내에서는 培養物中의 환원당은 0.17~1.5%정도로써 이는 최초 첨가된 全糖量의 약 70~96% 정도를 영양원으로 이용한 것으로 판단된다. 반면에 대조구나 마늘가루 첨가농도 10%의 경우에는 残存환원당은 약 4~5%로써 全糖量의 0~20%밖에 영양원으로 이용하지 못한 것으로 판단된다. 본 실험에 사용된 麴菌은 생육과정중 糖을 영양원으로 소모시키는데 있어서 마늘가루첨가농도 1~6% 범위내에서 환원당의 소모율이 많았고 동시에 균체생성량도 대조구에 비하여 많이 나타났으며 이는 일정한도의 마늘가루첨가가 麴菌의 생육에 促進的인 역할을 하는 것으로 고려된다.

#### 要 約

마늘가루 添加가 麴菌의 各種 酶素生產 및 生育에 미치는 영향을 細明할 목적으로 *Asp. oryzae* D(短毛菌)와 *Asp. oryzae* H(長毛菌) 균주를 마늘가루를 함유하는 밀기울배지 및 Czapek-Dox액체배지에 배양하여 각종酶素力, 菌體生成量, pH, 滴定酸度, 환원당 等을 측정한 결과는 다음과 같다.

1. *Asp. oryzae* D균주의 경우 산성 protease는 마늘가루첨가농도 0.5~2% 범위내에서, 중성 protease는 0.5%, alkali性 protease는 2~6% 범위내에서 각각 대조구에 비하여 활성이 높았다.

2. *Asp. oryzae* H균주의 경우 각 protease의

활성은 마늘가루첨가농도 0.5~8% 범위내에서는 대조구와 큰차이가 없었으나 30%에서는 peak를 나타냈다.

3. *Asp. oryzae* H균주의 경우 마늘가루첨가는  $\alpha$  및 glucoamylase생성을 증가시켰다.

4. 마늘가루첨가는 麴菌의 cellulase 생성을 저해하였다.

5. 麴菌의 菌體生成量은 마늘가루첨가농도 0.5~6% 범위내에서 대조구에 비하여 증가하는 경향을 나타냈고 長毛菌은 短毛菌에 비해 증가현상이 현저하였다.

6. 마늘가루첨가농도가 증가함에 따라 *Asp. oryzae* D균주는 Czapek-Dox액체배양물의 pH를 하하시키는 경향을 나타냈으나 *Asp. oryzae* H균주는 배양물의 pH를 상승시켰다.

7. 마늘가루첨가농도가 증가함에 따라 Czapek-Dox 액체배양물의 定滴酸度는 대체로 증가하였다.

8. 마늘가루첨가농도가 10% 이상인 밀기울固體 배지 및 Czapek-Dox액체 배지에서는 麴菌의 생육은 거의 억제되었다.

9. Czapek-Dox액체배양時 환원당의 이용율은 마늘첨가농도 1~2% 범위에서 가장 양호하였다.

## 参考文獻

1. 李甲淑：楊麟錫 博士 頌壽紀念論文集 pp. 177-194(1969).
2. 千景福·李相來：光州教育大學論文集 pp. 371-377(1972).
3. 韓昶烈·李重元·宋基元：서울大學校 農科大學 紀念文集(六十週年) pp. 29-32(1966).
4. 李重浩：農村振興廳 試驗局農事試驗研究報告 12, 2 pp. 77-81. (1969).
5. 具英書·盧承杓·李起全·鄭東植·姜在哲：농촌진흥청 農事시험 연구보고 16, pp. 99-106(1974).
6. 李愚升：慶北大學校 論文集(自然科學篇) 11, pp. 99-104(1967).
7. 김병환：興農種苗株式會社 出版部，農業研究 40, pp. 41-45(1965).
8. 尹德秀：인천 원예협동조합, 원예와생활, 26, p. 29-30(1965).
9. 姜淮：晋州農科大學 研究報告, 2, p. 24-26 (1963).
10. 安鶴洙：農化學會誌, 11, 167(1969)
11. 李重浩：興農種苗株式會社 出版部，農業研究 80, p. 53-58(1968).
12. Seo Yeol Chun: Korean J. Food Sci. Technol., 5, 1, 55(1973)
13. Jin-Young Yoo, Byong-Yong Min, Kee-Bong Suh, Duk-Mo Hah: Korean J. Food Sci. Technol., 10, 124(1978)
14. Ansou, M.L.: J. Gen. Physiol., 22, p. 79 (1938).
15. 萩原·赤堀編·酵素研究法 第2卷 p. 240(1938)
16. 萩原, 江上編·標準生化學實驗 p. 207(1953).
17. 山田翠洋：Agr. Biol. Chem., 37, 633(1966)
18. 長谷川忠男·相澤存亮·片岡榮子：食品酵素 高分子學概論 下卷, 他人書館 p. 45(1975).
19. 長谷川忠南·相澤存亮·片岡榮子：ibid p. 154 (1975).
20. 基準しようゆ分析法：日本醬油技術會編 p. 16 (1966)
21. Bernhard, R.A.: Food Technol. 19, 1757 (1965).