

Roseofomes subflexibilis로부터 Cellulase 생산을 위한 배양학적 성질

장 형 수*

상지대학교 이공과대학 식품영양학과

Studies on the Cultural Characteristics of Cellulase Production by *Roseofomes subflexibilis*

Hyung Soo Chang*

Department of Food and Nutrition, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

(Received June 9, 2003)

ABSTRACT: For the purpose of utilizing cellulose resources by cellulolytic enzymes of *Roseofomes subflexibilis*, its cultural conditions for the production of cellulolytic enzymes in synthetic media were investigated. The results obtained were summarized as follows : The optimum temperature and pH for the enzyme production were 30°C and pH 4.0, respectively. Among the carbon sources, glucose was good for the production of cellulase. The optimum concentration of saccharose as 1.2%. As a organic nitrogen source, yeast extract was good for the mycelial growth. The optimum concentration of yeast extract as 1.5%. As a inorganic nitrogen source, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ was good for the mycelial growth. The optimum concentration of $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ were 1.1%. The mineral salt of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ was effective and the optimum concentration was 0.1 M.

KEYWORDS: Cellulase, *Roseofomes subflexibilis*

천연의 cellulose계 자원은 지구상에서 가장 많이 존재하는 biomass 자원으로 옛부터 펄프 등의 연료를 시작으로 건축자재, 종이, 의류 등에 널리 이용되어 왔다. 최근 인구의 증가에 기인한 energy 소비의 증가와 관련한 세계적인 자원 난으로 각종 섬유소자원을 포도당으로 전환시켜 식량과 energy원으로 이용하려는 노력이 활발히 진행되고 있다(Reese *et al.*, 1972). 현재 연구된 바에 따르면 cellulase를 이용한 섬유소의 가수분해에 있어서 glucose 생산 총비용의 60% 정도가 섬유소 가수분해를 위한 효소 생산에 사용되고 있으며, 이것이 cellulase를 이용한 포도당 생산이 공업적으로 이루어지지 못하는 가장 큰 원인이다(Wilkie *et al.*, 1976).

Cellulose가 섬유소분해효소에 의해 분해되는 과정에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으나(Mendels *et al.*, 1975; Brown *et al.*, 1975) 천연 cellulose는 구조가 복잡한 고차구조를 이루고 있어(Yamanaka *et al.*, 1989) 섬유소의 분해과정이 단순한 가수분해 만이 아니라는 것이 알려져 있다. 섬유소 분해에는 C_x enzyme, C_1 enzyme, β -glucosidase 등에 의해 단계적으로 이루어지며 미생물 균주에 따라서 3종의 cellulase 생성차이와 성질이 다르며 많은 연구가 되어 있다(Nishizawa *et al.*, 1972; Okada *et al.*, 1966; Wood *et*

al., 1972). 섬유소 분해효소는 세균, 방선균, 사상균 등에 의해 생산되어 실용적인 면에서 *Trichoderma* 속에 관한 것이 많고, 특히 *Trichoderma reesei* QM6a 및 효소생산성을 높인 돌연변이주에 관한 연구가 주류를 이루고 있다(Lee *et al.*, 1983; Montenecourt *et al.*, 1977; Sternbrong *et al.*, 1979; Teeri *et al.*, 1983).

현재 세계적으로 에너지 자원의 부족 내지는 고갈이 예견됨에 따라서 인류에게 가장 풍부한 자원인 섬유소를 에너지원으로 이용할 수 있는 방법에 있어서 섬유소 분해효소의 중요성은 더욱 중요시되고 있다(Gilbert *et al.*, 1993).

본 연구에서는 섬유소를 분해하는 효소를 생산하기 위한 기초조사의 일환으로 cellulase계 효소의 생산력이 강한 *Roseofomes subflexibilis* 균주의 배양학적 조건을 알아 보기 위하여 실험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용한 균주는 원주권 산약으로부터 채집한 균주 및 상지대학교 생명과학과에서 보관중인 12종의 담자균류 중 CMCase의 활성도가 높은 *Roseofomes subflexibilis* 균주를 선발하여 공시균주로 사용하였다.

*Corresponding author <E-mail: hschang@mail.sangji.ac.kr>

Table 1. Composition of various media (g/l)

Ingredient	Media ^a															
	Cz's	Gp	YM	MY	Leoniam	Hennerberg	Hoppkins	Lilly	ACM	CVM	HAM	LEM	MCM	MYG	PDM	PIM
Potato																20
Hyponex											0.2					
Starch									2.0			2.0				
Bacto soytone									0.4							0.3
Glucose		10		10	25	50	10									
Sucrose	30															
Maltose								10								
Peptone		10	5							0.4			0.2			
Yeast extract		10	3	5					0.6	0.6	0.2	0.6	0.2	0.4		0.2
Malt extract		15	3	3										1.0		7.0
DL-Asparagine						2		2								
Dextrose			10							2.0	2.0	2.0	2.0		2.0	
NH ₄ NO ₃														0.4		
NaNO ₃	3					2										
(NH ₄) ₂ HPO ₄																
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5				0.5	0.5	0.5	0.5	0.05	0.05		0.05	0.05			
KCl	0.5															
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01				0.02											
CaCl ₂ · 2H ₂ O						0.1										
ZnSO ₄ · 7H ₂ O																
MnSO ₄ · 5H ₂ O					0.01											
CuSO ₄ · 5H ₂ O																
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄																
K ₂ HPO ₄	1								0.1	0.1		0.1				
KH ₂ PO ₄	1				1	1	0.1	1	0.046	0.046		0.046	0.05			
KNO ₃						2	2									
pH	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

^aCz's : Czapek dox, GP : Glucose peptone, YM : Yeast malt peptone, MY : Malt yeast extract, ACM : *Agrocybe cylindracea* medium, CVM : *Coriolus versicolor* medium, HAM : Hamada medium, LEM : *Lentinus edodes* medium, MCM : Mushroom complete medium, MYG : Malt yeast glucose medium, PDM : Potato dextrose medium, PIM : *Phellinus igniarius* medium.

사용배지 및 시약

R. subflexibilis 균주의 균사체 배양 최적배지를 조사하기 위하여 16종의 배지를 사용하였으며 사용한 배지의 조성은 Table 1과 같다. 그의 균사체 배양에 미치는 각종 영양인자인 탄소원 및 질소원을 조사하기 위한 기본배지의 조성은 MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, NaNO₃ 3 g, KCl 0.5 g, FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g, K₂HPO₄ 1 g을 증류수에 녹여 1,000 ml로 한 후 pH를 6.0으로 조정하고 121°C에서 20분간 살균하여 사용하였다. 사용한 배지는 DIFCO사에서 생산된 배지를 사용하였고, 기타 시약은 특급시약을 사용하였다.

배양방법 및 효소활성의 측정

CMCase의 활성은 *R. subflexibilis* 균주를 250 ml용 Elenmeyer flask에 50 ml을 분주하여 멸균하고 PDA 배지에서 전배양한 균사체를 접종하여 30°C에서 15일간 진탕 배양(100 stroke/min)하여 여과지(Toyo paper No. 2)로 여과한 후 여액을 조효소액으로 사용하였다. 1% CMC 용액을 함유한 0.2 M sodium acetate buffer(pH 5.0) 0.5 ml에 조효소액 0.5 ml을 가하여 50°C 항온 수조에서 30분간 반응시킨 후 Somogyi 법을 이용하여 520 nm에서 비색정량

하여 비활성 값으로 나타냈다.

CMC-test

0.1 M acetate buffer(pH 5.0)에 bacto agar 1.5%를 첨가하여 만든 bottom agar에 top agar인 1% CMC agar를 첨가하여 증충배지를 만든 후 멸균된 stainless steel cup을 올려 놓고 공시균주의 배양액을 각각 150 μl씩 넣어 30°C에서 24시간 반응시켰을 때 나타난 clear zone의 크기를 확인하였다.

최적배지 선발

*R. subflexibilis*의 균사체 배양을 위한 최적 배지를 조사하기 위하여 PDA 배지에 1차 접종하여 30°C에서 15일간 배양하였다. 이 균주를 5 mm cork borer로 균사체를 절단하여 각종 배양용 액체배지에 접종한 후 15일간 배양하여 건조균사체량을 측정하였다.

결과 및 고찰

균주의 선발

Stropharia rugosoannulata(독청버섯 아재비)외 11종

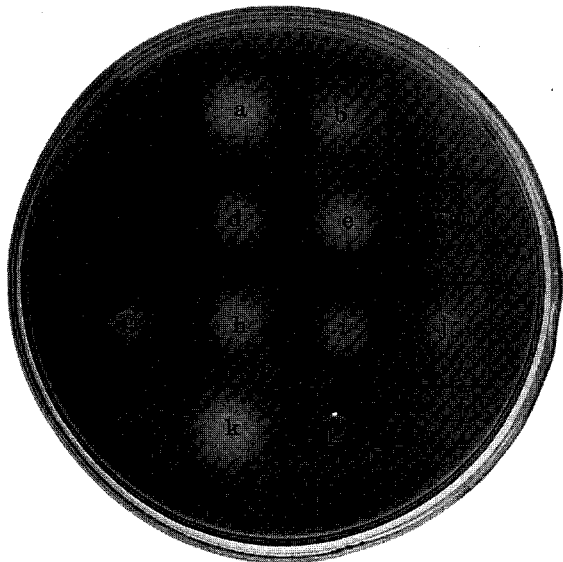


Fig. 1. CMCase activity of each mushroom on the CMC medium. Enzyme reaction was carried out at 30°C for 24 hrs. a: *Roseofomes subflexibilis*, b: *Macrolepiota alborubescens*, c: *Exidia uvapassa*, d: *Agrocybe praecox*, e: *Psathyrella velutina*, f: *Agaricus visporus*, g: *Macrolepiota procera*, h: *Phallus impudicus*, i: *Lepiota clypeolaria*, j: *Coprinus comatus*, k: *Stropharia rugosoannulata*, l: *Collybia dryophilla*.

의 균사체를 배양한 배양액을 사용하여 섬유소분해능을 조사하기 위하여 CMC-test한 결과 Fig. 1에서와 같이 *R. subflexibilis*가 섬유소 분해효소의 생산능이 가장 우수한 것으로 나타났으므로 본 실험에서 사용균주로 선발하여 배양학적 특성을 조사하였다.

최적배지의 선발

*R. subflexibilis*의 균사체배양에 적합한 인공배지를 선발하기 위하여 Czapek dox 배지 이외 15종류의 배지를 대상으로 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 균사체의 생장은 potato dextrose(PD) 배지에서 가장 잘 자랐으며, malt yeast extract 배지, yeast malt peptone 배지 등에서도 비교적 잘 자랐다. 그러나 malt yeast glucose 배지, mushroom complete 배지, Hoppkins 배지 등에서는 균사체의 생장이 극히 저조하게 나타났다.

탄소원에 대한 영향

16 종류의 탄소원을 대상으로 *R. subflexibilis*의 섬유소 분해효소의 생산 및 균사체 생산에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 3과 같다. CMCase의 활성에는 glucose를 사용했을 때 가장 높았고 그 밖에 saccharose, raffinose, xylose 등에서도 비교적 높게 나타났다. 균사체의 성장에서는 saccharose에서 가장 잘 자랐으며 전체적으로 당류에 대하여 광범위한 적응성을 나타냈으나 Na-CMC, ethanol 등에서는 균사체의 생장이 극히 저조하였다. 한편 균사체

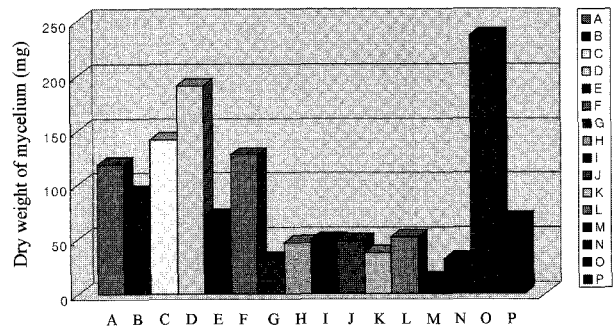


Fig. 2. Mycelial growth of *R. subflexibilis* in different culture media. A: Czapek dox, B: Glucose peptone, C: Yeast malt prptone, D: Malt yeast extract, E: Leonian, F: Hennerberg, G: Hoppkins, H: Lilly, I: *Agrocybe cylindracea* medium (ACM), J: *Coriolus versicolor* medium (CVM), K: Hamada medium (HAM), L: *Lentinus edodes* medium (LEM), M: Malt yeast glucose medium (MYG), N: Mushroom complete medium (MCM), O: Potato dextrose medium (PDM), P: *Phelinus igniarius* media (PIM).

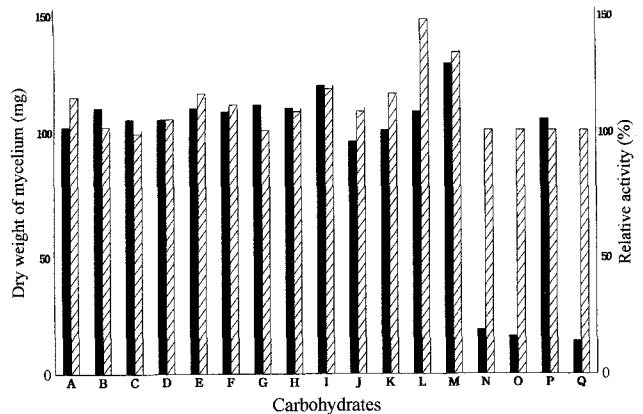


Fig. 3. Effect of carbone sources on the CMCase activity and mycelial growth by *R. flexibilis*. A: Raffinose, B: Fructose, C: Cellobiose, D: Inositol, E: Xylose, F: Galactose, G: Maltose, H: Lactose, I: Mannose, J: Dextrine, K: Starch, L: Glucose, M: Saccharose, N: Na-CMC, O: Ethanol, P: Glycerol, Q: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

배양에 미치는 saccharose의 농도에 대한 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같이 1.2% 농도를 첨가했을 때 균사체의 생장이 가장 좋았다.

이런 결과는 Hong 등(1986)이 *Ganoderma lucidium*의 경우 cellobiose에서 가장 활성이 양호한 것으로 보고 하였고, Kim 등(1997)은 *Trametes trogii*에서는 Na-CMC 및 cellulose에서 섬유소분해효소의 생성이 좋은 것으로 보고 되었으며, Mandels 등(1960)은 cellulolytic Fungi에 의한 cellulase생산에 관한 연구에서 glucose를 탄소원으로 했을 때 생육이 양호한 것으로 보고하였으며, Ishikawa (1967)가 발표한 *Lentinus edodes*에 관한 연구 및

Table 2. Effect of different concentrations of saccharose on the mycelial growth of *R. subflexibilis*

Concentrations of carbon source (%)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	97	5.5
0.2	98	5.5
0.3	99	5.2
0.4	112	5.6
0.5	114	5.4
0.6	116	5.4
0.7	119	5.5
0.8	121	5.5
0.9	131	5.4
1.0	140	5.5
1.1	144	5.4
1.2	179	5.4
1.3	143	5.4
1.4	134	5.6
1.5	133	5.3
1.6	128	5.4
1.7	121	5.4
1.8	119	5.5
1.9	111	5.4
2.0	103	5.4

Kanayama 등(1983)이 발표한 *Poria cocos*의 배양학적 특성에 관한 연구에서 glucose의 이용이 가장 양호하다는 결과와 유사한 경향을 나타냈다. 한편 탄소원의 농도에 관한 연구에서 Kim 등(1997)은 *T. trogii*의 경우 3% Na-CMC에서 효소의 생산성이 높았으며 Hong 등(1986)은 *G. lucidum*의 경우 1% CMC에서 효소생산성이 높았다고 보고하였다.

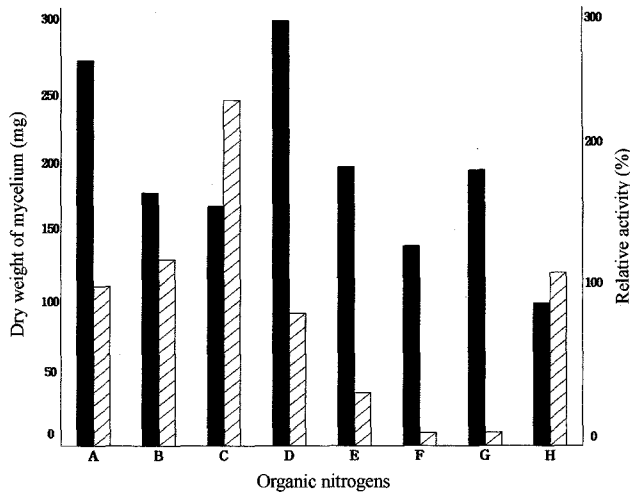


Fig. 4. Effect of organic nitrogen sources on the CMCase activity and mycelial growth by *R. subflexibilis* in basal medium. A: Peptone, B: Tryptone, C: Soytone, D: Yeast extract, E: Malt extract, F: Urea, G: Casamino acid, H: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

질소원의 영향

각종 질소원이 *R. subflexibilis*의 균사체 성장 및 cellulase 생산에 미치는 영향을 조사하기 위하여 기본배지에 질소원별로 첨가하여 검토한 결과 유기질소원은 Fig. 4에서와 같이 soytone에서 가장 높은 효소활성을 나타냈으며 peptone 첨가시에도 효소활성이 양호한 것으로 나타났다. 반면 균사체의 생장은 yeast extract 첨가시에 가장 양호한 것으로 나타났으며 peptone 첨가시에도 균사체 생장이 양호한 것으로 나타났다. 또한 yeast extract의 농도가 균사체의 성장에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3에서와 같이 1.5% 첨가시 균사의 생장이 가장 양호한 것으로 나타났다. 한편 무기질소원의 영향을 조사한 결과는 Fig. 5와 같이 섬유소분해 활성은 sodium nitrate 첨가시 가장 높았으며, 균사체의 성장에는 $NH_4H_2PO_4$ 첨가시 가장 잘 이용하는 것으로 나타났다. 그리고 무기질소원 중 $NH_4H_2PO_4$ 가 균사체의 성장에 미치는 최적 농도는 Table 4에서와 같이 1.1% 첨가시 가장 양호한 것으로 나타났다.

이런 결과는 무기질소원의 경우 Kim 등(1982)이 피코리버섯의 질소원 및 농도에 따른 연구결과와 Kim 등(1997)의 *T. trogii*를 대상으로 한 실험에서 ammonium tartarate를 첨가했을 때 효소생산성이 좋았다는 보고와는 다르게 나타났으며, Shim 등(1998)이 발표한 *Sparasis crispata*와 *Griofola umbellata*(1997)를 대상으로 한 연구에서 ammonium phosphate가 좋았다는 결과와는 같게 나타났다. 유기질소원의 경우 Kim 등(1994)이 느타리버섯 등을 대상으로 한 실험에서 peptone이 양호하였다는 결과와 민

Table 3. Effect of different concentrations of yeast extract on the mycelial growth of *R. subflexibilis*

Concentrations of yeast extract (%)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	106	6.6
0.2	118	4.3
0.3	133	4.5
0.4	158	4.8
0.5	187	4.3
0.6	188	4.4
0.7	192	4.5
0.8	197	4.7
0.9	202	4.8
1.0	212	4.5
1.1	224	5.0
1.2	269	4.6
1.3	297	4.3
1.4	324	4.5
1.5	429	4.3
1.6	302	4.8
1.7	280	4.9
1.8	271	4.2
1.9	249	4.5
2.0	244	4.3

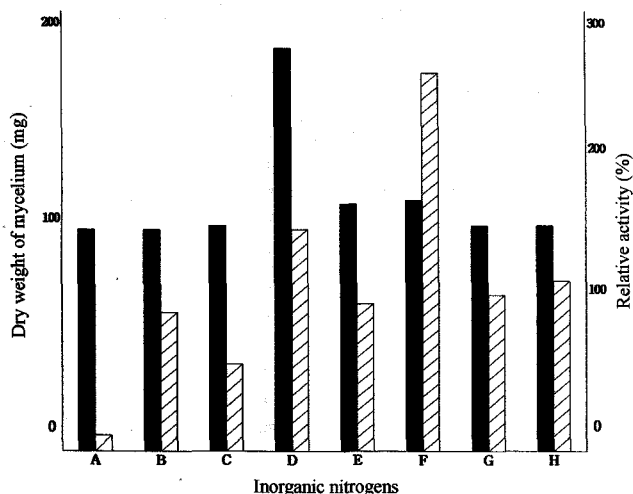


Fig. 5. Effect of inorganic nitrogen sources on the CMCase activity and mycelial growth by *R. subflexibilis*. A: Ammonium chloride, B: Ammonium oxalate, C: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, D: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, E: Ammonium nitrate, F: Sodium nitrate, G: Ammonium sulfate, H: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

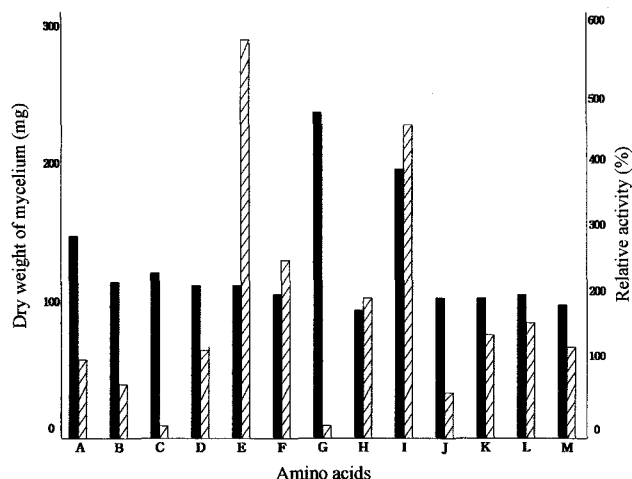


Fig. 6. Effect of amino acids on the production of CMCase activity and mycelial growth by *R. subflexibilis* in basal medium. A: L-asparagine, B: L-glutamine, C: Arginine, D: Methionine, E: Valine, F: Histidine, G: Aspartic acid, H: Proline, I: Cysteine, J: Leucine, K: Glutamic acid, L: Threonine, M: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

Table 4. Effect of different concentrations of $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ on the mycelial growth of *R. subflexibilis*

Concentrations of $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (%)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	87	2.9
0.2	91	2.9
0.3	93	3.0
0.4	99	3.0
0.5	125	3.1
0.6	128	3.1
0.7	155	3.0
0.8	166	3.1
0.9	182	3.1
1.0	251	3.0
1.1	333	3.3
1.2	324	3.1
1.3	302	3.6
1.4	292	3.6
1.5	219	3.4

Table 5. Effect of different concentrations of aspartic acid on the mycelial growth of *R. subflexibilis*

Concentration of glutamine (%)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	288	4.2
0.2	275	4.0
0.3	249	3.7
0.4	247	3.7
0.5	247	3.5
0.6	241	3.5
0.7	217	3.5
0.8	210	3.4
0.9	200	3.4
1.0	199	3.4
1.1	199	3.3
1.2	158	3.3
1.3	158	3.3
1.4	143	3.3
1.5	132	3.2

등(1998)의 송이버섯 배양에 있어서 yeast extract가 가장 양호하였다는 결과와 같게 나타났다.

아미노산의 영향

각종 아미노산이 *R. subflexibilis*의 효소생산 및 균사체 생성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 6에서와 같이 valine 첨가시 섬유소분해 효소의 생산성이 가장 좋았으며, cystein 첨가시에도 생산성이 좋은 것으로 나타났다. 한편 균사체의 성장에는 aspartic acid 첨가시에 가장 좋은 것으로 나타났으며 cysteine의 경우는 효소생산성 및 균사체 성장 두가지 측면 모두에서 양호한 것으로 나타났다.

Aspartic acid의 농도에 따른 균사체 성장에 미치는 영

향을 조사한 결과는 Table 5와 같이 0.1% 첨가했을 때 가장 양호하였으며, 0.2% 첨가에서도 비교적 양호하게 나타났다. 이런 결과는 Shime 등(1998)의 glycine과 Kim 등(1996)의 alanine이 균사체의 성장에 좋았다는 결과와 상이하였으며 균주에 따라서 아미노산 이용에 있어서 차이가 많은 것으로 판단된다.

무기염류의 영향

각종의 무기염류가 *R. subflexibilis*의 섬유소분해효소 및 균사체 성장에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 7과 같이 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ 가 균사체 성장에 가장 양호한 것

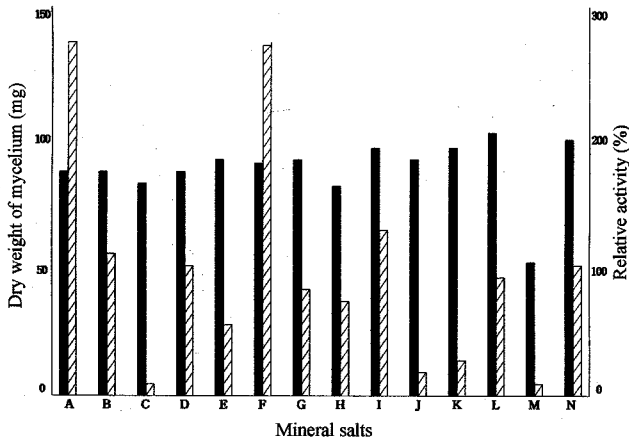


Fig. 7. Effect of minerals on the CMCase activity and mycelial growth by *R. subflexibilis* in basal medium. A: KCl, B: BaCl₂, C: CaCl₂, D: CoCl₂, E: ZnSO₄, F: LiSO₄, G: MnSO₄, H: ZnSO₄, I: FeSO₄, J: MgSO₄, K: AgNO₃, L: Al₂(SO₄)₃ · 14H₂O, M: Na₂MoO₄ · 2H₂O, N: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

Table 6. Effect of different concentrations of Al₂(SO₄)₃ · 14H₂O on the mycelial growth of *R. subflexibilis*

Concentrations of Al ₂ (SO ₄) ₃ · 14H ₂ O (M)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	241	3.2
0.2	206	3.1
0.3	196	3.3
0.4	188	3.2
0.5	176	3.2
0.6	151	3.1
0.7	144	3.1
0.8	136	3.2
0.9	115	3.0
1.0	103	3.0
1.1	97	3.0
1.2	92	2.9
1.3	88	2.9
1.4	84	3.0
1.5	75	3.0

으로 나타났으나 모든 무기염류에 대하여 균사체 생장에는 큰 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 한편 섬유소분해효소의 생성은 KCl, LiSO₄ 첨가시 다른 무기염류에 비하여 월등히 좋게 나타났다. 무기염류의 최적 농도를 조사한 결과는 Table 6과 같이 0.1 M Al₂(SO₄)₃에서 균사체의 생장이 가장 좋은 것으로 나타났다. 강 등(2000)은 *Pleurotus eryngii* 균사배양에서 CaCl₂ 첨가시 균사체의 생장이 좋았다는 보고와 Shim 등(1997)은 *Griofola umbellata*의 균사체배양에서 FeSO₄이 효과가 좋은 것으로 보고한 것과 상이한 것으로 나타났다.

배양온도의 영향

*R. subflexibilis*의 배양에 미치는 온도의 영향을 조사하

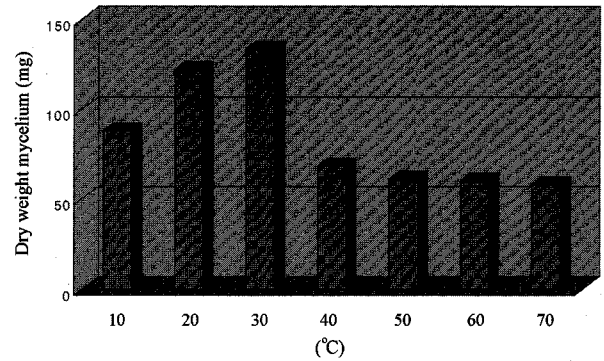


Fig. 8. Effect of temperature on the mycelial growth of *R. subflexibilis*.

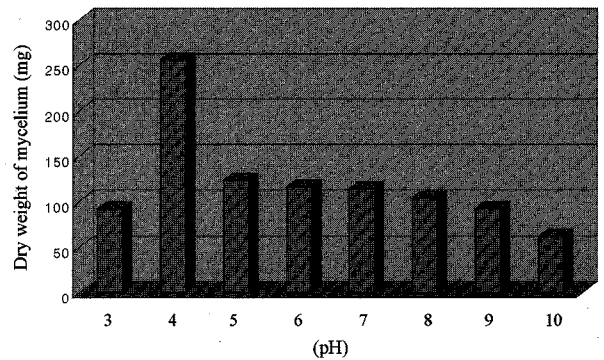


Fig. 9. Effect of pH on the mycelial growth of *R. subflexibilis*.

기 위하여 10°C 간격으로 각 온도별 영향을 조사한 결과 Fig. 8과 같이 30°C에서 균사체의 생장이 가장 좋은 것으로 나타났으며 20°C에서도 생장이 좋은 것으로 나타났다.

이런 결과는 다른 연구자들 장 등(1999), 강 등(2000)에서 최적온도가 25°C이었다는 결과와 정 등(2000), 성 등(1999)에서 30°C이었다는 결과와 유사한 것으로 나타났다.

pH의 영향

*R. subflexibilis*의 균사체배양에 미치는 pH의 영향을 조사하기 위하여 각 pH별로 조정된 배지에서 배양한 결과 Fig. 9와 같이 pH 4에서 가장 양호한 것으로 나타났으며 반면 pH 5 이상으로 갈수록 균사체의 생장이 저조한 것으로 나타났다.

이런 결과는 유 등(1999)의 *Stropharia rugosoannulata*에서 pH 4.0이었다는 보고와 Eriksson 등(1978)의 *Sporotricum pulverulentum*에서 pH 4.7이라는 보고와 유사하였으며, 홍 등(1984)의 *Pleurotus sajor-caju*에서 pH 5.0이었다는 보고와는 상이했다.

적 요

천연자원인 cellulose를 이용하기 위하여 섬유소분해효소의 생산성이 강한 *Roseofomes subflexibilis*의 배양학적

특성을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 섬유소분해효소의 생산 및 균사체 생장에 적합한 탄소원은 glucose인 것으로 나타났으며, 균사체배양의 탄소원은 saccharose로 최적농도는 1.2%였다.
2. 균사체배양의 유기질소원은 yeast extract이었으며, 최적농도는 1.5%이었다. 또한 무기질소원은 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 를 잘 이용하는 것으로 나타났고, 최적농도는 1.1% 첨가시 균사체의 생장이 좋았다.
3. 균사체배양의 아미노산의 영향을 조사한 결과 aspartic acid가 가장 좋았으며, 최적농도는 0.1%이었다. cysteine 첨가시 효소생산과 균사체의 성장 모두에서 효과적이었다.
4. 무기염류의 영향은 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 첨가시 효과적이었으며 최적농도는 0.1 M이었다.
5. 배양온도는 30°C 였으며, 최적 pH는 4.0인 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2001학년도 상지대학교 교내연구비의 지원으로 수행된 것으로 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- 강미선, 강태수, 강안석, 손형락, 성재모. 2002. 큰느타리버섯 (*Pleurotus eryngii*)의 균사배양 및 인공재배에 관한 연구. 한국균학회지 **28**: 73-80.
- 김한경, 박정식, 신관철. 1982. 담자균류를 이용한 단백질생산에 관한 연구. 농기연보. 512-514.
- 김한경, 정종천, 장현유, 김광포, 차동열, 문병주. 1997. *Pleurotus eryngii*(큰 느타리버섯)균의 인공재배. 한국균학회지 **25**: 305-310.
- 민응기, 정광교, 한영환. 1998. 송이(*Tricholoma matsutake* DGUM 26001) 균사의 생육에 미치는 복합 질소원의 영향. 한국균학회지 **26**: 361-364.
- 유관희, 장형수. 1999. 합성배지에서 *Stropharia rugosoannulata*가 생산하는 섬유소분해효소에 관한 연구. 한국균학회지 **27**: 94-99.
- 장현유, 노문기. 1999. 노루궁뎅이버섯의 종균 배양학적 특성. 한국균학회지 **27**: 252-255.
- 홍재식, 이지열, 김동한, 유근석. 1984. *Pleurotus sajorajju*가 생산하는 섬유소분해효소 성질에 관한 연구. 한국균학회지 **12**: 133-140.
- 홍재식, 최윤희, 윤세익. 1986. 합성배지에서 불로초가 생산하는 섬유소분해효소에 관한 연구. 한국균학회지 **14**: 121-130.
- Brown, D. E., Halsted, D. J. and Howard, P. 1975. Proc. SITRA Symp. on Eyzymatic Hydrolysis of Cellulose, Aulanko, Finland, p. 137.
- Cheong, J. C., Kim, G. P., Kim, H. K., Park, J. S. and Chung, B. K. 2000. Cultural characteristics of veiled lady mushroom, *Dictyophora* spp. *Kor. J. Mycoligy* **28**: 165-170.
- Eriksson, K. E. and Hamp, S. G. 1978. Regulation of endo-1,4- β -glucanase production in *Sporotricum pulverulentum*. *Eur. J. Biochem.* **90**: 183-190.
- Gilvert, H. J. and Hazlewood, G. P. 1993. Bacterial cellulases and xylanases. *J. Gen. Microbiol.* **139**: 187-194.
- Hong, J. S., Lee, K. S., Choi, D. S. 1981. Studies on Basidiomycetes(1) on the mycelial growth of *Agaricus bitorquis* and *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **9**: 19-24.
- Ishikawa, H. 1967. Physiological and ecological studies on *Lentinus edodes* (Berk). *Sing. J. Agric. Lab.* **8**: 1-53.
- Kanayama, H., Adachi, N. and Togami, M. 1983. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos*. *Wolf. Chem. Pharm. Bull.* **31**: 1115-1118.
- Kim, M. S., Hong, J. S., Kim, M. K., Yoon, S. and Choi, Y. H. 1997. Effects of carbon and nitrogen sources in the production of cellulolytic enzymes by *Trametes trogii*. *Kor. J. Mycol.* **25**: 68-76.
- Lee, J. Y., Kim, J. H. and Ryu, D. Y. 1983. Cellulase production by immobilized mycelia of *Trichoderma reese*: QM9414. *Kor. J. Appl. Microbiol Bioeng.* **11**: 105-110.
- Mandels, M. and Reese, E. T. 1960. Induction of cellulase in fungi by cellobiose. *J. Bacteriol.* **79**: 819-826.
- _____, Sternberg, D. and Andreotti, R. E. 1975. Proc. SITRA Symp. on Enzymatic Hydrolysis of Cellulose, Aulanko, Finland, p. 81.
- Montenecourt, B. S. and Eveleigh, D. E. 1977. Preparation of mutants of *Trichoderma reese* with enhanced cellulase production. *Appl. Environ. Microbiol.* **34**: 777-782.
- Nisizawa, K., Tomita, Y., Kanda, T., Suzuki, H. and Wakabayashi, K. 1972. Substrate specificity of C_1 and C_X -cellulase component from *Trichoderma viride* and some of its properties. *J. Ferment. Technol.* **44**: 682-690.
- Okada, G. T., Niwa, H., Suzuki, H. and Nisizawa, K. 1966. Purification of a cellulase component from *Trichoderma viride* and some of its properties. *J. Ferment Technol.* **38**: 546-553.
- Reese, E. T., Mandels, M. and Weiss, A. N. 1972. Cellulose as a novel energy source, 2Ed. Springer Verlag. 181-200.
- Shim, J. O., Son, S. G., Kim, Y. H., Lee, Y. S., Lee, T. S., Lee, S. S. and Lee, M. W. 1997. The cultural conditions affecting the mycelial growth of *Griofola umbellata*. *Kor. J. Mycol.* **25**: 209-218.
- _____, Yoon, S. O., Lee, Y. S., Lee, T. S., Lee, S. S., Lee, K. D. and Lee, M. W. 1998. The optimal factors for the mycelial growth of *Sparasis crispa*. *Kor. J. Mycol.* **26**: 39-46.
- Sternbrong, D. and Mandels, G. R. 1979. Induction of cellulolytic enzyme in *Trichoderma reesei* by sophorose. *J. Bacteriol.* **139**: 761-769.
- Teeri, T., Salivuori, I. and Knowles, J. 1983. The molecular cloning of the major cellulase gene from *Trichoderma reesi*. *Bio/technology* **1**: 696-699.
- Wood, T. M. and McCrae, S. I. 1972. The purification and properties of the C_1 component of *Trichoderma koningii* cellulase. *J. Bioeng.* **128**: 1183-1192.
- Yamanaka, S., Watanabe, K., Kitamura, N., Iguchi, M., Mitsuhashi, S., Nishim, Y. and Uryu, M. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulase. *J. Mat. Sci.* **24**: 3141-3145.