

팽나무버섯 액체 종균 배양시 이산화탄소 농도와 균사 생장량 변화

심규광^{1*}, 유영진², 구창덕³, 김영석⁴, 김명곤⁵

¹(주)팔오테크, ²전북농업기술원, ³충북대학교 산림학과, ⁴전북대학교 농화학과, ⁵전북대학교 바이오식품공학과

Changes in the CO₂ and amount of mycelium growth of the liquid spawn on *Flammulina velutipes*

Kyu-Kwang Shim^{1*}, Young-Jin Yoo², Chang-Duck Koo³, Young-Seok Kim⁴ and Myung-Koon Kim⁵

¹ParoTech, Deokjeol-ri Jeongnam-myeon, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 445-960, Korea

²Jeollabuk-do Agricultural Research and Crop-Management, Iksan, 570-704, Korea

³Chungbuk National Univ., Gaesin-dong, Heungdeok-gu, Cheongju, Chungbuk 631-763, Korea

⁴Jeonbuk National Univ., Department of Agriculture, Agrochimie., Jeonju, Jeonbuk 561-756, Korea

⁵Jeonbuk National Univ. Iksan Campus, Bio Food Technology, Iksan, 570-704, Korea

(Received March 4, 2012, Revised March 18, 2012, Accepted March 21, 2012)

ABSTRACT: In this study, to produce *Flammulina velutipes* mushroom liquid spawn efficiently and effectively the effects of explosive aeration (supplying air with tiny bubbles) of the liquid culture medium on carbon dioxide concentration and residual sugar content in the medium on carbon dioxide concentration and residual sugar content in the medium were measured. Carbon dioxide concentrations were measured at the outlet of the incubator. On the third day the explosive aeration greatly increased mycelial growth of the liquid spawn, and carbon dioxide concentration also greatly increased but decreased after 5 days. Free sugar contents in the liquid culture constantly decreased up to 7 days and thereafter was not detected. The weight of the mycelia were maintained similar levels after 3 days. Total nitrogen content in the liquid medium constantly decreased during the 11 days of explosive aeration. The content of free sugars in 7 days of culture was the lowest level, thus the inoculum incubated for 6~7 days was thought to be the most effective. Carbon dioxide concentration measurement at the outlet of the container during the liquid spawn incubation required low cost but was efficient to estimate the degree of mycelial growth to be used as a simple indicator.

KEYWORDS : Carbon dioxide, *Flammulina velutipes*, Liquid Spawn, Mycelium growth, Reducing sugar, Total nitrogen

서론

팽나무버섯(*Flammulina velutipes*(Curt. ex Fr.) Singer)은 담자균류 주름버섯목(Agaricales) 송이과(Tricholomataceae)에 속하는 백색목재부후균(Donk, 1971)의 일종으로 자실체는 자연 상태에서 늦가을부터 초겨울까지 활엽수의 그루터기에 발생되어 winter mushroom이라고도 하며(김, 1995; 성 등, 2000), 야생에서 자실체 형태는 대가 짧고 갓이 큰 특징을 가지고 있으나(古川, 1992) 온도가 낮은 곳에서 인공재배를 할 경우 생육에서 이산화탄소 농도를 높이고 광량을 줄여주면 야생종과는 달리 대가 길어지고 갓이 매우 작아지는 분화특성을 갖고 있다(Stamets, 1993).

식용버섯 균사의 액체배양은 Lambert(1933)에 의해 시작되었고, Hunfeid(1948)는 새로운 형태의 종균으로 균사 현탁액인 액체종균(liquid spawn)을 이용하여 버섯을 재배할 수 있음을 제안하였다. 우리나라 버섯재배에서 액체종균

의 산업적 이용은 1990년대 초에 시도된 후 1995년부터 액체종균의 제조와 이용에 관한 연구가 시작되었고, 농업과학기술원에서는 팽나무버섯 병재배 농가에서의 자가 종균 생산에 액체종균의 이용에 관하여 검토 되어왔으며 이후 액체종균에 대하여 다양한 연구가 이루어져 왔다.

본 연구는 버섯을 생산하는 농가에서 균일한 액체종균의 제조 생산에 수치화된 지표를 설정하여 비용이 저렴하고 시간 절약적인 방법인 균사의 호흡 반응량의 간이 측정으로 폭기 진행 중에 이산화탄소 농도 측정이 유용한지를 평가하였다.

재료 및 방법

액체종균 제조

시험에 사용된 품종은 팽나무버섯(일명 고사 품종) 균주를 사용하였다. 종균계대에서 petri dish에 PDA(potato dextrose agar) 42g/1l의 비율로 조제하여 고압 살균 후에

* Corresponding author (microgaba@naver.com)

사면이나 평면 배지를 만들었다. 삼각플라스크 배양은 1ℓ에 설탕 30g, 탈지대두박 3g, 펩톤 2g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.8g, $KH_2PO_4 \cdot 12H_2O$ 0.8g, peptone 0.8g, 목초액(상품명:유기칼) 농도 1/1,500배액, antiform 204(Sigma, A-6426)를 2~3방울 첨가하여 면전하고 autoclave로 고압살균을 실시하고 살균 시간 60~80분간 유지한 후 방랭하였고 접종원은 petri dish에서 8~9개 조각을 접종하였다. 초기에는 정치 배양하고 후반기에는 진탕(90rpm)하면서 8~12일간 균사를 배양하였다. 대용량 배양은 140ℓ에 설탕 3.45kg, 대두박 0.98kg, $MgSO_4$ 70g, K_2HPO_4 70g, 목초액 농도 (1/1500배액), antiform 204 5ml를 넣었고 pH는 조정하지 않았다. 밀폐한 다음 고압살균 처리하였고 방랭은 밤새도록 냉각수를 흘려보내면서 실시하였다. 접종원량은 액용량 350ml를 고속 균질기로 12,000rpm에서 40~60초 동안 파쇄하여 접종하였다. 배양실 온도는 20~22°C, 폭기 압력 2.0kg.f/cm²의 공기압, 직경 50mm×0.2μm의 필터(Pall Co.)를 3개 직렬로 배열하여 공기를 여과하면서 폭기 배양을 실시하였다. 액통의 구조는 밀면*높이의 비율이 1:3 정도의 비율이며, 폭기 구조는 내경 지름 13~15mm에 내경 1mm의 가느다란 관을 10개로 분지시킨(10구로 토출되는 폭기구)를 사용하였다. 이와 같은 폭기 구조는 최종 분지된 구멍이 작고 폭기 압력을 높여서 공기 압력을 분산하였으며 액체중균의 균사와 공기(산소)와의 접촉 비율이 높아지도록 하고 액의 순환 비율을 높이도록 하였다. 폭기 진행 중의 배출구에서 상대적인 이산화탄소농도의 측정은 IAQ-CALC(TSI Co.)를 이용하였다

액체중균의 폭기 배양 중 균사량 측정

매일매일 1ℓ 용량을 분획한 후 부유된 균사를 침전하기 위하여 1시간 동안 방치시켜 부유된 균사를 침전시켜서 폭기 중의 증가되는 균사량(ml/ℓ)을 확인하였다. 폭기가 진행되는 상태에서 상당량을 분획한 후 곧바로 1ℓ의 메스실린더로 정용하고 1시간 후에 사진 기록으로 정리하였으며, 이때 균사가 부유된 양을 상대적으로 평가하였으며, 이후 또 다른 분석을 위하여 균사의 생리활성을 정지시키고자 곧바로 냉동하였고, 이를 해빙한 후 원심분리하여 상층액과 침전균사로 분리하여 분석에 사용하였다. 침전된 균사량은 분석을 위하여 습윤 균사 중량(g/ℓ)으로 측정하였다.

액체 중균 배양시 균사체의 습윤 중량

폭기가 진행되는 기간 동안에 분석을 진행하기 위하여 매일 1리터 용량을 분획하여 생리기작을 정지시키기 위하여 이를 -10°C에 냉동하였고 이를 해빙하여 원심분리하여 상층액과 침전 균사체를 분리하여 실험에 사용하였다. 침전균사는 습윤 상태로 균사 생성량을 비교하였다.

액체중균의 일별 폭기 배양 중의 균사 활력 평가에 의한 최적 접종일 검사

폭기가 진행되는 과정에서 매일 접종할 때의 배지는 동일한 조건으로 입병을 진행되게 하고 동일한 액통으로 각각의 폭기 일(4일째~8일째, 그리고 16일째)에 접종하였으며 배지의 균사 배양 일수는 27일로 동일하게 연속적으로 진행하였다. 수량은 4바구니(64병)씩을 이용하였으며, 접종 후 다음날인 1일째에 배지병에 오염방지를 위하여 크린 벤치 내에서 뚜껑을 열어 활착상태를 상대적으로 평가하고 재배과정 중의 오염빈도를 검토하였으며, 수확은 접종 후 63일째에 일괄 수확하였으며 수확량(g)을 백분율(%)로 비교 검토하였다.

접종 전 오염검사

통상 폭기 배양 4일째 이후부터는 오염검사가 가능하며 진한 giemsa sol.에 의한 현미경검정에서 대물렌즈 100X에서 유침하여 슬라이드를 확인하여 세균류(원균, 간균)를 동정하여 오염이 없는 상태에서 액체중균을 사용하였다.

액체중균의 화학적 특성 분석

총질소는 경기도 농업기술원 토양 및 퇴비 분석법(2008)의 시험방법을 준용하여 Kjeldahl 증류법으로 분석하였다. 팽나무버섯 균사체 0.1g과 H_2SO_4 25ml, 황산염 촉매제를 가하여 350°C에서 30분간 분해한 시료를 냉각시킨 후, 45% NaOH 60ml, conc. H_2SO_4 2~3방울을 가하여 증류하였다. 증류한 $0.5NH_2SO_4$ 로 적정하여 총질소 함량을 계산하였다.

환원당은 Lunchsinger와 Cormesky가 제시한 Somogyi-Nelson(1944) 시험방법을 준용하여 정량하였다. 팽나무버섯 액체중균을 원심분리(3,000rpm, 10min)하여 상층액 10g에 증류수 40ml를 가하여 50ml로 정용하였다. 시료액 1ml에 혼합시약(A:B=25:1, A= H_2O 1L in anhydrous $NaHPO_4$ 25g, $C_4H_4O_6KNa \cdot 4H_2O$ 25g, $NaHCO_3$ 20g, anhydrous Na_2SO_4 200g, B: H_2O 200ml in $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 30g, concentrate H_2SO_4 4 drop)을 0.5ml 첨가하여 20분간 가열, 냉각 후 C액(total 500ml store at 37°C/day (NH_4) $6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ 25g in d3 H_2O 450ml including, concentrate H_2SO_4 21ml + $Na_2HSO_4 \cdot 7H_2O$ 3g in d3 H_2O 25ml)를 1ml 첨가, 실온에 반응 후 H_2O 5ml를 혼합하여 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당 함량은 glucose로 검량선을 작성하여 시료의 환원당 함량을 산출하였다.

chitin 분석은 현(2006)의 시험방법을 준용하였다. 동결된 시료 0.16g을 칭량하여 6N HCl 5ml를 넣고 100°C water bath에서 4시간 동안 가수분해 시켰다. 실온에서 30분간 방치 후 110mm filter paper(No2)로 여과한 액을 증류수를 사용하여 50ml로 정용하였다. 5N NaOH을 사용하여 pH

5.75~5.79범위까지 조정된 다음 시험관에 피검물 2ml와 4% acetylacetone 0.5ml를 혼합하였다. 혼합액이 들어있는 시험관을 90℃ shaking water bath(110rpm)에서 1시간 반응시켰다. 시험관을 실온에서 10분간 방치 한 후 95% ethanol 4ml, ehrlich reagent 0.5ml와 증류수 3ml를 첨가하여 530nm에서 흡광도를 측정하였다.

유리당은 Im (1998), 정 (2004)의 시험방법을 준용하여 분석하였다. 팽나무버섯 시료를 분쇄한 후 20g을 칭량하여 80% 에탄올 100ml를 넣은 후 85℃ 수욕조에서 30분간 초음파 추출을 실시하였다. 그 후 80% 에탄올 100ml를 가하여 0.45µm membrane filter로 여과한 후 fructose, glucose, maltose, sucrose, lactose를 HPLC로 분석하였다.

결과 및 고찰

액체 종균 배양시 이산화탄소의 농도

Fig. 1.과 Fig. 2.는 폭기 배양 중에 배출구(솜통 부위)에서 상대적인 이산화탄소 농도와 1시간 방치한 걸보기 균사량과 비교한 그림이다. 그림에서와 같이 균사의 증가는 배출되는 이산화탄소 농도와는 완전히 일치하지는 않았다. 폭기 5일째까지는 이산화탄소 농도가 증가하다가 5일 이후부터는 감소하였다. 걸보기 균사량은 폭기 3일부터 큰 변화가 없는 것으로 나타났으나 이는 부유상태의 부력이 존재하기 때문으로 판단되었다. 액체종균의 균사량은 투입되는 영양원량, 배양 온도, 폭기되는 공기량과 온도, 폭기구 구조, 액통의 구조, 접종원의 상태와 투입량 등의 영향을 받는다(성 등, 1999, 홍 등, 2003). 이산화탄소 농도 측정 결과는 유 등(1998)이 액체 배양시 접종 후 6~7일경에 PDB(potato dextrose broth), YPD(yeast extract peptone dextrose) 액체배지에서 균 총수가 최대치에 달한다고 보고한 결과와 유사한 경향을 보였다. 지금까지 대량 배양시 외관상 균사량만을 판단하여 액체종균을 제조하는 것보다는 균사 세포 호흡량의 부산물인 이산화탄소 농도를 상대적으로 측정함으로써 간단하고 시간과 분석 비용을 절약하면서도 폭기 배양의 기준을 정할 수 있는 방법이 될 것으로 판단되었다.

액체종균 배양시 습윤 균사량

액체종균의 분석을 위하여 분획물을 원심분리로 침전된 균사량을 확인한 것은 Fig. 3의 그래프와 같이 폭기 배양 11일째까지의 균사량은 지속적으로 증가하며 걸보기 균사량처럼 급격하게 증가된 양은 아니므로 Fig. 2과 같이 1시간 동안 방치하여 걸보기로 보는 균사는 서로간의 활력에 의한 부유 상태의 것으로 균밀도가 높은 것으로 판단해서는 않된다. Fig. 3에서 첫째 날의 침전물에는 투입된 고형분인

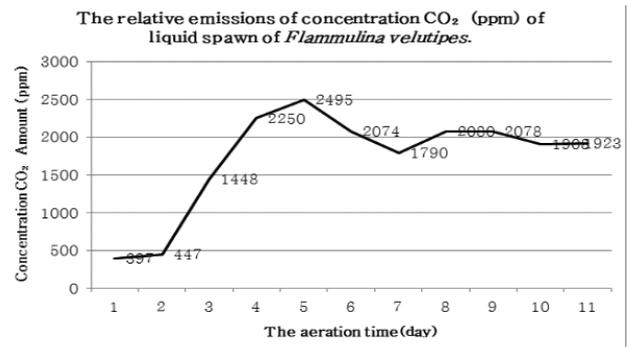


Fig. 1. The measuring of relatively emissions of concentration carbon dioxide(ppm) during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

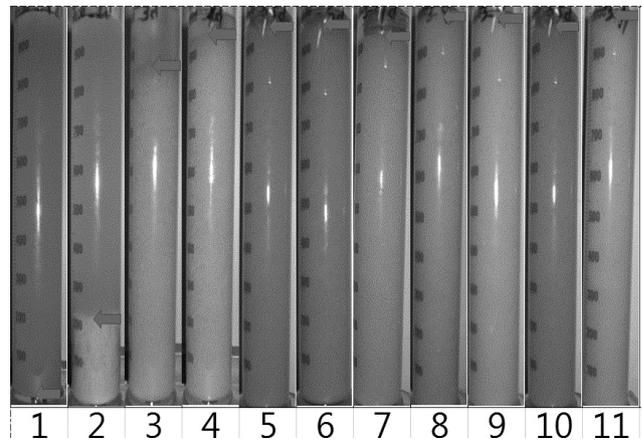


Fig. 2. The measuring of apparent volume(ml/l) of mycelium to leave 1 hour stationary after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

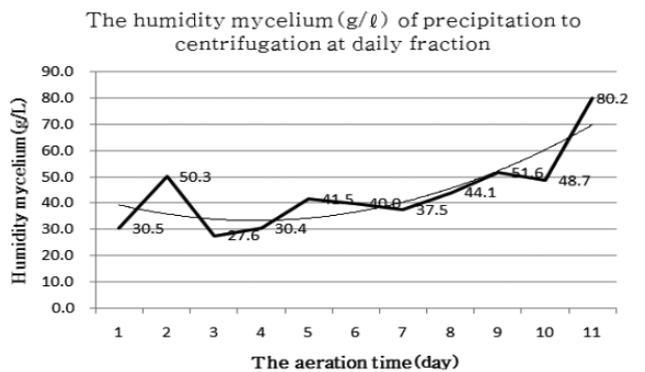


Fig. 3. The humidity mycelium weight(g/l) of precipitation to centrifugation after daily 1l fraction during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

대두박 량이 많이 함유되었기 때문이며, 이후의 균사 평가에서는 걸보기 평가에 의한 것보다는 원심분리에 의한 균사의 습윤 상태의 균사 중량에 의한 평가가 더욱 신뢰성이 있

Table 1. The activity of mycelium and mild contamination ratio after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*

Airratoin days of liquid spawn	4th	5th	6th	7th	8th	16th
Relative rooting of after 1st day of inoculation	+	++	++++	++++	+++	+
Contamination ratio of mold(%)	1.6	0	0	0	0	1.6
Harvest of fruit body mean(g)	153	157	165	162	155	0
Harvest ratio of fruit body(%)	92.7	95.2	100.0	98.2	93.9	0

는 것으로 판단되었다.

액체종균의 일별 폭기 배양 중의 균사 활력 평가에 의한 최적 접종일 검사

Fig. 2와 같이 액체종균의 폭기 배양 중 상대적인 균사량을 확인 한 바에 의하면 폭기 배양 3일째에 급격한 균사량이 증가되었지만 입자는 비교적 작고 균일하게 분산되어 있었고 현미경 검경에 의하여 확인한 바 첨가된 대두박의 덩어리가 존재하였고 상층액은 뿌영게 남아 있었다. 폭기량이 적다든지, 대두박 량이 너무 많아서 접종시에 남아있는 경우에는 병에서의 오염 원인이 되기도 하므로 대두박의 잔량이 없어지는 때까지 폭기 배양하여 접종하도록 하는 것이 좋다. Fig. 3에서 1일째 량이 다소 많았던 것은 투입된 대두박 양이 침전물로 나타난 것이다. 특히 대용량의 액체 배양 용기에서 폭기량이 약하거나 폭기 구조가 불량하여 용액과 균사체 등이 잘 순환 되지 못하는 경우도 있다.

접종 후 배양병의 활착 상태를 위주로 평가할 수 밖에 없는 상황이므로 접종 후 다음날인 1일째에 크린벤치 내에서 뚜껑을 열어 접종균을 육안으로 확인하였다. Table 1에서와 같이 각각의 입자는 표면 접종위치에서 습윤상태에서 벗어나 흰색의 균사 활착상태 상대적으로 확인하였다. 폭기 배양 4~5일째의 접종은 작은 입자 등의 원인으로 활착이 늦어 보였고 폭기 8일째에는 입자가 크더라도 활착은 다소 느려 보였으며, 폭기 6~7일째에 접종에서 균사활착은 가장 양호하게 보였다. 또한 16일째까지 폭기가 진행된 종균은 세포 내 영양원 고갈과 노화현상 등으로 아주 느린 활착을 보였고 배양 병에서 오염은 없었지만 균사 증식은 거의 진행되지 않았다. 폭기 일별 접종에 의한 수량은 활착이 잘 유지되었던 6~7일째의 접종이 가장 높은 수량을 나타내었다.

접종 전 오염검사

현미경 검경에 의하여 폭기 배양 4~5일째까지는 불용성 인 잔존 대두박을 확인할 수 있었으며 접종 전일 또는 당일에 세균 등에 의한 오염 여부의 동정이 가능하였다. 액체종균의 제조과정에서 감염원의 침입 경로, 시간, 밀도 등의 정도에 따라 다르겠지만 단 1개의 살아있는 세포로도 미생물

의 특성상 증식 대수기가 있어서 빠르게 증식되고 용액에 폭기하여 분산시키므로 배양이 종료되었을 때에는 이들의 세포를 반드시 동정해 낼 수 있는 농도로 존재하고 giemsa 용액에 의한 단일 염색으로도 현미경의 검경이 가능하였다. 접종 전의 검경에 의하여 오염원이 전혀 없을 때에 접종원으로 사용하였다.

팽나무버섯 액체 종균 시료의 분석

팽나무버섯 액체종균의 폭기 배양 중 일별 분획의 시료를 원심분리하여 침전물의 균사에서의 전질소량을 조사한 결과는 그림과 같다. 초기에는 투입된 량의 대두박 등에 의하여 높게 검출되다가 균사가 증가하면서 점진적으로 증가하는 양상은 Fig. 4의 균사 습윤 중량의 경향과 거의 일치하였다. 팽나무버섯은 질소요구량이 크고, 질소원으로서의 유기태, 무기태의 암모늄염을 이용하지만 대부분 유기태 질소를 분해 이용한다(Block, 1958).

환원당 변화는 배양 5일째 까지 완만하게 감소하다가 6일째부터 급격히 감소하여 배양 8일째 환원당의 함량은 9.3g/l로 거의 소비되었다. 이 등(1992)은 운지버섯 균사체에서는 배양 6일째 환원당 함량이 거의 소비되는 것으로 보고된 것과는 다소 차이가 있었다. 이는 투입되는 영양원과 접종 비율 등의 다양한 조건에 따라서 다르게 나타날 수 있으며

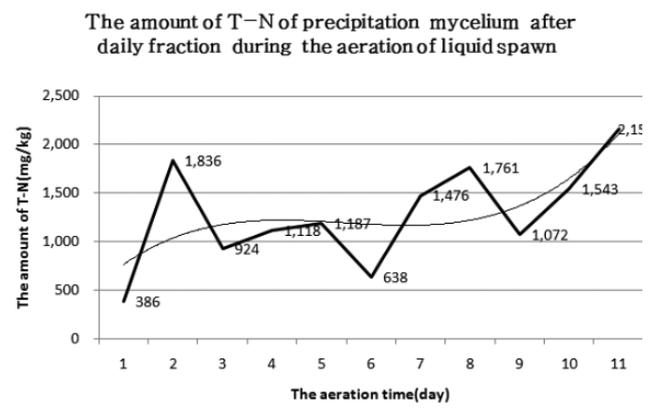


Fig. 4. The amount of T-N of precipitation mycelium after daily fraction during the aeration of liquid spawn of *Flammulina velutipes*.

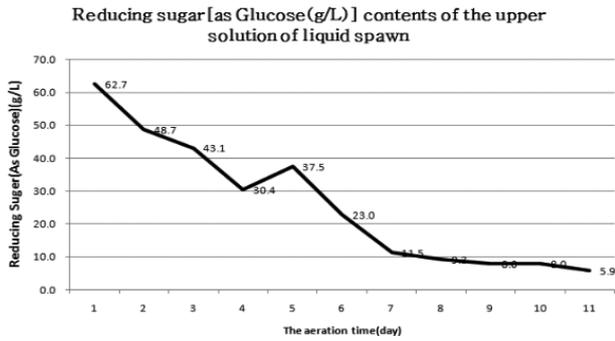


Fig. 5. Changes in reducing sugar contents of upper solution after daily fraction during the aeration of liquid spawn

로 같은 조건에서의 비교가 필요할 것이다. 침전 균사에서 총질소원의 감소와 액체중균의 상층액에서의 환원당은 폭기 진행 중에 균사의 호흡반응 그리고 균사의 증가에 따라 투입된 영양원량은 점점 감소되었다(Fig. 5).

Fig 6.에서와 같이 팽나무버섯 액체중균의 폭기 배양 중에 일변 분획된 chitin 분석에 의하면 왕성한 균사의 증식 대수기(4일째)와 폭기 9일째에 높게 나왔다. 이는 영양분이 많이 존재하고 왕성한 증식기에서 키틴 함량이 높았으며 이후 영양원이 감소함에 따라 줄어들다가 균체 내에 축적된 영양원을 소모시키면서 균체량이 증식되는 현상일 것으로 판단되었으나 추정일 뿐이며 폭기 진행 중의 이산화탄소 농도의 배출 패턴과는 달랐다.

유리당은 Fig.7에서와 같이 폭기 7일째까지 지속적으로 감소하였지만 이후에는 생성된 균사량이 많아지면서 후기에는 약간 증가하였다. 5종의 당류에서 fructose와 glucose의 량이 총량에 더 많은 영향을 주었다. 여러 가지 분석에서 얻은 결과는 서로가 완전히 일치하는 패턴을 없었으나 환원당 변화량과 균사활착의 결과로 볼 때 폭기 배양 6~7일 정도에 집중하는 것이 가장 좋은 것으로 평가되었다. 하지만 농가에서 균일성을 위한 수치화된 지표를 설정하기 위하여 균사의 호흡 반응량의 간이 측정으로는 비용이 저렴하고 시간 절약적인 방법으로 상대적인 이산화탄소 농도를 측정하는 것도 유용할 것으로 판단되었다.

적 요

본 연구에서는 효율적으로 팽나무버섯 액체중균을 생산할 때에 폭기(공기방울을 매우 작게하여) 배양의 효과에 대하여 액체 배지 내 이산화탄소 농도와 잔류 유리당 함량 변화로써 측정하였다. 이산화탄소 농도는 폭기 진행 중 배양 용기의 배출구에서 측정하였다. 액체중균은 폭기 배양 3일

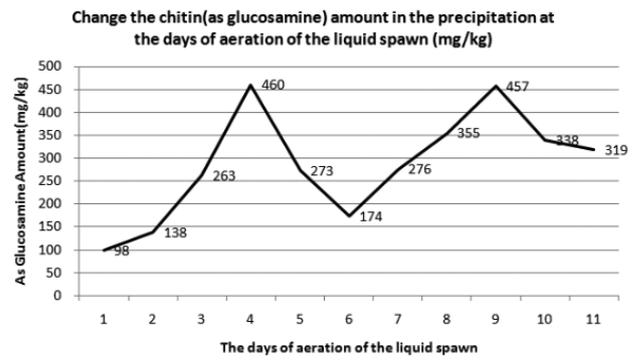


Fig. 6. Change the chitin(as glucosamine) amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

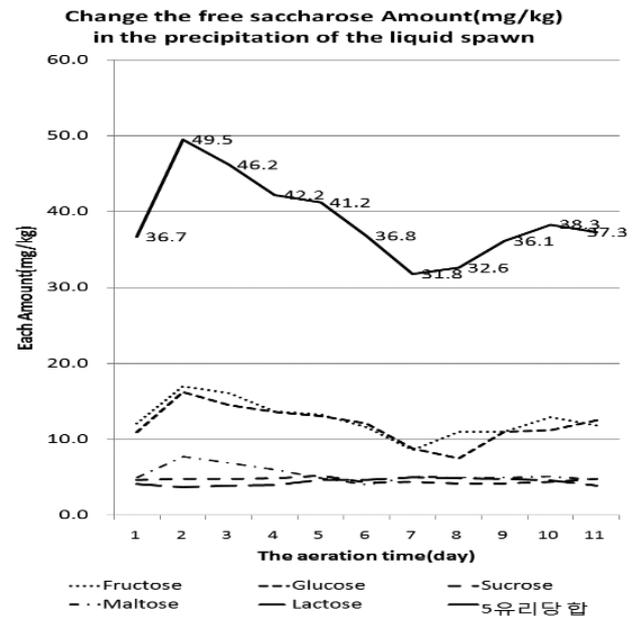


Fig. 7. Change the free sugar amount in the precipitation at the days of aeration of the liquid spawn.

째에 균사생장이 급격히 증가하였으며, 이산화탄소 농도(CO₂)도 급증하였으나 폭기 5일째에는 정점을 나타낸 후 감소하였다. 액체배지 내 환원당은 배양 7일째까지 일정 속도로 감소되었고 이후에는 검출되지 않았고, 침전 균사체의 중량은 3일째 이후 비슷한 수준으로 유지되었다. 총질소(T-N)량은 폭기 11일째까지 일정한 수준으로 감소되었다. 유리당의 함량은 폭기 배양 7일째에 가장 낮았으므로 폭기 배양 6~7일째에 집중원으로 사용하는 것이 가장 효과적인 것으로 생각되었다. 그리고 액체중균의 배양 중에 배출구에서의 이산화탄소 농도 측정은 저비용으로 액체중균의 균사배양 정도를 추정하는 간이 지표로 이용할 수 있을 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산물식품 기술기획평가원(IPET)의 2009년 4월~2012년 4월까지 수행된 결과로서 이를 수행할 수 있도록 지원하여 주신 모든 분께 감사드립니다.

참고문헌

- 김병각. 1995. 버섯 건강요법, 가람출판사.
- 류영현, 윤영석, 조우식, 박선도, 최부술, 김중국. 1998. 팽이버섯 재배시 액체종균 사용 효과. 한국 균학회지. 26(1) : 20-24.
- 성재모, 유영복, 차동열. 2000. 버섯학. 교학사.
- 이병우, 이명섭, 박기문, 김창한, 안창욱, 최춘언. 1992. 운지 버섯 균사체 추출물의 항암효과에 관한 연구. 한국산업미생물학회지 20 : 311-315.
- 장학길. 1976. 톱밥 培地에 對한 營養添加가 팽이버섯의 生長 및 培地의 化學的 成分變化에 미치는 影響. 한국균학회지. 4(1) : 31-44.
- 정민욱. 2004. Fomitella fraxinea 균사체의 대량생산과 기능성 연구. 영남대학교 식품가공학과 석사.
- 현국현. 2006. Mode of expression of cell wall-related genes under cell wall stress condition in *Saccharomyces cerevisiae*. 충남대학교대학원 미생물학과 석사학위논문.
- 홍성준, 이원호, 신범수, 성재모. 2003. 느타리·팽나무버섯 재배에서 액체종균 배양 및 접종시스템 적용방법의 구명. 한국균학회지. 31(1) : 22-27.
- 古川久彦, 1992.きのこ學. pp450, 公立出版株式會社.
- Block, S. S., Tsao, G. and Han, L. 1958. Production of mushroom from sawdust. J. Agric. Food. Chem. 6(12) : 923-927.
- Donk, M. A. 1971. Progress in the study of classification of the higher Basidiomycetes. An international Symposium. 3-25.
- Edmund B. Lambert. 1933. Effect of excess carbon dioxide on growing mushrooms. Journal of Agricultural Research, Washington, D.C. 47 : 599-608.
- Hunfeid, H. 1948. The production of mushroom mycelium (*Agaricus campestris*) in submerged culture. Mushroom Sci. 107 : 373.
- Im, M. H., Choi, J. D., Chung, H. C., Lee, S. H., Lee, C. W., Choi, C. and Choi, K. S. 1998. Improvement of *Meju* Preparation Method for the Production of Korea Traditional *Kanjang* (Soy Sauce), Korean J. Food Sci Technol. 30 : 608-614.
- Luchsinger, W. W. and Cornesky, R. A. 1982. Reducing sugar by the dinitrosalicylic and method. *Anal. Biochem.* 4 : 346-351.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaption of the somogy method for determination of glucose. J. Biol. Chem. 153 : 375.
- Paul Stamets. 1993. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten speed press. pp146-150.
- Sung, J. M., Moon, H. W. and Park, D. S. 1999. Growth condition of liquid culture by . Kor. J. Mycol. 27(1) : 1-9