

農産物 廢物을 利用한 濃厚飼料 製造에 關한 研究

金三純 · 李址烈 · 朴性五 · 金奇珠

서울女子大學

Studies on the Manufacture of Concentrated Feed by the Use of Farm Product Waste Materials

Sam Soon Kim, Ji Yul Lee, Sung Oh Park and Ki Joo Kim

Seoul Woman's College

Abstract: Mold producing cellulase were isolated from rotten woods, and identified as the three species: *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus schiemanni* Thom and *Trichoderma viride* Pers. In this paper, culture conditions in the media and characteristics of these strains were investigated. Using these strains, we have conducted a research concerning the utilization of farm product waste materia's.

1. Optimum conditions for the cellulase formation were as follows.

KM 10-1; pH 5.2-5.5, 35°C, incubation time 6 days.

OL 11-1; pH 5.5, 30-35°C, incubation time 6 days.

SH 9-2; pH 5.5, 30°C, incubation time 6 days.

2. Their cellulase activities in their optimum condition were as follows:

KM 10-1; CMC-LP 78.5%

CMC-SP 4.0 glucose mg/gm of the cultures/min.

OL 11-1; CMC-LP 89.9%, CMC-SP 4.9 glucose mg/gm of the cultures/min.

SH 9-2; CMC-LP 77.4%, CMC-SP 3.9 glucose mg/gm of the cultures/min.

3. Hydrolysis of animal feed containing a large quantity (23-30%) of cellulose by means of the crude enzyme in the selected strains resolved 30% of the cellulose contained in the animal feed.

緒 論

産業面에 利用度가 넓은 섬유소 分解酵素에 對하여는 많은 研究가 있으며, 이 酵素를 生産하는 菌에 對해서도 여러가지로 研究가 되어 있다. 特히 糸狀菌類

에는 植物의 섬유소 및 paper, CMC, 와 같은 人造섬유를 分解하는 活性이 있으므로 醫藥品, 食品加工, 飼料 및 公害要因分解劑로서 細菌보다 有用하므로 이 糸狀菌類를 分離하여 利用價値가 없는 纖維質로된 왕겨, 볏짚을 除外한 모든 農産物 廢物 즉 고구마순, 옥수수대 등에 纖維素分解 酵素系 酵素를 作用사

켜 植物의 細胞膜을 柔軟하게 또는 崩壞 除去시켜 消化性 및 食感을 向上시키고져 하며, 그 後에 飼料酵母를 添加하면 더욱 蛋白質과 vitamin의 含量이 많은 濃厚飼料가 되므로 이를 제조하기 위하여 첫 段階로 섬유소 분해 酵素 生成菌을 純粹 分離하였으며, 動物의 視覺과 嗜好를 참고하여 菌體없는 粗酵素를 調製하여 作用시켜 飼料의 製造試驗을 하였다. 양겨는 多量의 硅酸結合으로 酵素分解가 不完全하여 이들은 利用하지 않하였다.

研究史

纖維素를 分解하는 酵素를 生産하는 微生物에는 反芻動物의 위장, 다른 動物의 消化器官에 있는 cellulase 이외에 植物의 纖維素를 分解하는 糸狀菌類가 수백여 種이나 研究되어 왔다. 特히 織物, 綱, 木材 및 紙製品 등에 損傷을 입히는 糸狀菌類의 cellulase劑를 利用하여 실제로 食品加工, 農産物 廢物의 活用, 消化로서의 醫藥 등에 利用하는 研究가 많다. (Chandra-sekaran and Shanthamma, 1969, 田崎等, 1962; 千葉等, 1966; 金野等, 1963; 松材等, 1963; 西澤等, 1966; Somogy, 1945; 外山, 1966; 外山等, 1966) 이 중에도 *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*(kon- ingi)(金等, 1969; 若澤等, 1963)등이 이報告되고 우리 나라에서도 김기주(金等, 1967, 1968, 1969) 등은 植物組織을 崩괴하여 水溶性 蛋白質 抽出 및 海藻의 寒天製造 方法의 改良, 可能性과 飼料應用 可能性을 報告한 바 있으며 또 고무마 전분 제조에서 收率을 높이기 위한 고무마 전분粕으로 부터 澱粉回收를 報告하였다. 또 飼料에 이용하기 위한 豫備시험에서 큰 效果는 거두지 못하였으나 *Aspergillus niger* van Tieghem 의 2 균주를 얻은 바 있는 김찬조(金等 1969) 등의 報告도 있다.

實驗方法

1. Cellulase 生成菌株의 分離

1-1) 試料

全南光陽, 담양, 全北完州, 鎭安, 서울洪陵, 泰陵, 京畿安養, 水原, 忠南天安 等地에서 木材腐朽物, 堆肥, 古木의 버섯, 土壤 및 腐朽枯葉 등 60여種을 採取하였다.

1-2) 菌株分離法

分離方法은 一般法에 準하였다.

1-3) 培地

Czapek의 無糖培地[NaNC₂O₃ 대신 (NH₄)₂SC₄트 바

꿈]에 麩抽出液을 10% 添加하여 使用하였다(pH5.6). 菌의 純粹分離에는 2%寒天인 固體培地를 使用하였다.

1-4) 選別

純粹分離한 mold 菌株를 1-3) 液體培地에 1×2cm 의 東洋濾紙 No. 2를 넣어 30°C에서 3~7日間 培養하여 濾紙의 崩괴程度를 觀察하였다. 濾紙崩괴후 Bertrand試藥 A,B를 各各 1ml씩 加하여 3分間 끓인 後 液이 還元되어 糖生成에 依한 色相이 赤色, 朱黃, 淡靑 및 靑色の 順으로 簡易力價를 測定 一次 screen 하였다. 二次 screen은 100ml 三角 50ml에 前記 培養液을 50ml씩 넣고 여지 1×5cm, 0.2g 脫脂綿을 같이 넣어 30°C, 10日間 培養하면서 여지 崩괴력을 測定하고 C.M.C糖化力은 Somogyi,(1945), Nelson(1944)에 依하여 測定하였다.

2. Cellulase 生成 最適條件

2-1) 液體培地 및 固體培地의 種類에 따른 變化(鄭, 1971; 金等 1969) 液體培地는 1-3)과 같다. 固體培地는 麩 2와 톱밥(aceton에 抽出되는 것을 除外한 것을) 1을 基本培地로 하여 無糖 Czapek 배지에 麩抽出物 10%, corn steep syrup, 脫大豆抽出液 및 peptone을 5%용액으로 하여 混合한 培地 또는 CMC avicel 및 cellulose粉末 等을 10%, 20%, 30% 添加한 培地를 pH 5.6으로 調整하고 滅菌하여 선정菌株를 接種하였다. 30°C에서 5日間 培養하여 酵素力價를 對照區와 比較하여 檢討하였다.

※酵素液의 調製; 各 培養物을 3倍 증류수에 浸出하여(30°C 1時間 振盪) 여과, 濾液에 對한 C.M.C糖化力 및 粘度低下力을 測定하였다.

※C.M.C粘度低下力 測定法(金, 1969); 1% C.M.C 溶液 9ml를 넣은 直徑 18mm의 시험관을 40°C 水槽中에서 5分間 豫熱시킨 後에 酵素液 1ml를 넣어 15分間 作用시킨 다음 沸騰浴中에서 3分間 처리하여 20°C로 冷却후 그 7ml를 Ostwald粘度計에 注入, 20°C로 保存하면서 그 5ml의 流下速度를 測定하였다(Vt). 한편 基質을 沸騰浴中에서 3分間 처리하여 不活性化시킨 酵素液을 加하여 같은 方法으로 測定하고(Vo), 또 증류수에 酵素液을 加한 것의 流下速度(Vs)를 測定하여 下式과 같이 粘度低下度를 %(A)로 表示하였다.

$$A = \frac{V_0 - V_t}{V_0 - V_s} \times 100$$

※C.M.C糖化力測定法(金, 1967, 1968, 1969; 金等, 1969) 100ml 三角 flask에 緩衝 C.M.C-Na鹽인 pH 4.5의 0.5% C.M.C液(0.1M citric acid 緩衝液에 0.5% C.M.C調製)를 5ml를 넣어 40°C 水槽中에서 5分

間 豫熱시켜 여기에 各 酵素板 0.5m를 加하여 즉시 Somogyi, Nelson法으로 그還元糖을 定量하고 다시 20分間 作用시킨 후 그還元糖을 定量하여 전후의 差를 glucose mg으로 환산하여 表示하였다(glucose mg 固體試料(건물)gr/分).

2-2) pH 및 溫度; 滅菌 後에 밀기울, 톱밥培地の pH가 3.0~6.0사이에서 일정한 差를 갖도록 調製하고 3日間 1-3) 液體培地에서 培養된 選定菌株를 接種하여 觀察하고 溫度는 20°, 25°, 30° 및 40°C에서 各 各 5日間 培養한 것의 酵素液을 調製하고 C.M.C粘度 低下力을 測定 比較하여 最適 pH 및 溫度를 檢討하였다.

2-3) 培養數; 各菌株에 따라 最適pH의 밀기울, 톱밥 基本培地에 無糖 Czapek液으로 配合한 該當 菌株를 接種하고 그 菌株의 最適溫度에서 3, 5, 및 7日間 培養後 酵素液을 調製하여 C.M.C粘度低下力 및 糖化力을 測定하여 最適培養日數를 檢討하였다. 또 液體無糖 Czapek培地에 濾紙 1×2cm를 넣어 pH 3.5~6.0과 25°~40°C에서 3, 5, 7日間 培養하여 濾紙붕괴 정도를 檢討한 바 표 3과 같다.

3. 選定한 菌株의 同定(Barron, 1968; Bieby, 1939; Gilman, 1959; Lee, 1972)

形態學的 分類方法에 依하여 Czapek agar plate; 孢子形成, colony 특징을 調査하였다.

4. 粗酵素 調製

最適의 固體培地(기본培地에 5%脫脂大豆粕을 混合)를 滅菌하여 各種 菌을 移植하고 最適溫度인 30°C~32°C에서 5日間 培養한 것을 5倍수로 抽出하여(실온에서 2時間 振盪하여) pH를 6.2~6.8로 조절하여 低溫 減壓濃縮시켜 容重이 1/3로 되게 한 후 다시 pH를 7.2~7.8로 調節하여 生成된 沈澱物을 濾過 除去한 것을 粗酵素液으로 使用하였다.

4-1) 粗酵素의 關係酵素力價(金等1967, 1968, 1969)
Cellulase : 2-1) 方法에 準하였다(CMC-糖化力).
Amylase : 1% 可溶性 澱粉液 0.5ml에 0.1M醋酸緩衝液(pH4.0) 1ml와 酵素液 0.5ml를 加하고 40°C, 60分間 作用시키고 이 反應液 1ml에 對한 환원력 增加를 Somogyi法으로 定量하여 glucose 1mg에 상당한 還元糖을 生成하는 酵素力價로써 1單位로 하였다.

Protease: Fluid method에 準하였다.

4-2) 粗酵素劑의 耐熱性(金等, 1967, 1968, 1969): 溫度 50°~75°C와 이 溫度에서 時間의 耐久性을 檢討하였다. 即 최저 pH 5.5인 緩衝液으로 調整한 酵素液

10ml를 各 溫度에서 1, 2, 3, 4시간 처리한 後 2-1) 方法에 準하여 還元糖을 測定하고 최저온도에서의 最高力價를 100으로하여 相對力價로 計算하였다.

4-3) 粗酵素劑의 金屬ion에 對한 影響(鄭1971):

各種의 金屬鹽化物을 pH 4.5 McIlrain buffer에 濃도가 10⁻³M이 되게 溶解시킨 溶液 1ml, 0.5% C.M.C 溶液 1ml 및 粗酵素 溶液 1ml를 加하여 C.M.C 糖化 活性을 測定하였다. 對照區는 粗酵素液을 100으로 하여 比較하였다.

5. 醱酵飼料製造

싸겨, 밀기울, 옥수수澱粉粕, 고구마澱粉粕, 브리저 및 脫脂大豆粕 등을 다음 表 1과 같이 配合하였으며 이 粗飼料 2種과 粗酵素劑 및 우물분의 比率를 10 : 0.2~0.5 : 5로 調節하여 40°C에서 3時間 攪拌처리하여 섬유소의 分解生成物을 얻었다. 飼料酵母를 添加하여 飼育하는 것은 다음에 계속 研究코져 한다.

Table 1. Disposition of the experimental groups
A group: Corn starch waste 20%, Wheat bran 30%, Sweet potato starch waste 10%, Barley barn 40%

B group: Corn starch waste 20%, Wheat bran 30%, Sweet potato starch waste 18%, Barley bran 30%, Nonfat soy bean waste 2%.

但 고구마순, 옥수수대 등은 收集하기 困難하여 여기서 除外하였으며, 왕겨는 成分들이 硅酸結合關係 등으로 因하여 酵素作用을 바礙이 받지 않으므로 除外하였다.

實驗結果 및 考察

1. Cellulase 生成菌株의 分離 및 選定

一次 screen에서 130菌株의 cellulase生成力이 있는 菌을 分離하고 이 중에서 二次 screen에 依해 C.M.C 分解力이 강한 洪陵 腐朽古木에서 KM 10-1, 全北完州의 腐朽枯葉에서 OL 11-1 및 水原의 堆肥로부터 SH 9-2의 3菌株를 選定하였다.

2. Cellulase 生成의 各種最適條件

2-1) 培地條件: 各種 有機物을 添加하였을 경우는 다음 表 2와 같으며 纖維素源을 加하였을 경우의 結果는 表 3과 같다.

基本培地인 無糖Czapek 培地에 10%麩抽出液을 添加한 液體培地에서는 5日間 培養으로 3菌株 모두 CMC

Table 2. Effect of various organic compounds upon the cellulase producing

Kind	Strain No	CMC-Saccharifying acidity (glucose mg/g)		
		KM 10-1	OL 11-1	SH 9-2
Non-sugar Czapek's media+10% Wheat bran ex.		3.55	3.92	3.65
5% Corn steep syrup		3.01	3.01	2.90
5% Nonfat soy bean waste		3.89	4.54	4.03
5% Polypeptone		2.91	2.97	2.85
※ Non-sugar Czapek's sol.+10% Wheat bran ex.		1.05mg/ml	1.45mg/ml	0.96mg/ml

Table 3. Influence of additional CMC, avicel and cellulase powder to wheat bran media on cellulase production (Base medium: Wheat bran 2:saw dust 1)

Kind	CMC-Lp, Sp.	Strain No.	KM 10-1		OL 11-1		SH 9-2	
			CMC-Lp	CMC-Sp	CMC-Lp	CMC-Sp	CMC-Lp	CMC-Sp
CMC	10%		62.8	2.4	68.4	2.4	64.2	2.2
	20%		71.2	3.3	75.3	3.1	71.7	2.9
	30%		77.9	3.9	80.1	3.8	79.2	3.2
Cellulose powder	10%		57.6	2.18	57.1	2.82	74.5	3.15
	20%		72.1	4.05	74.9	3.52	79.2	3.92
	30%		71.9	3.98	78.2	3.87	78.4	3.82
Avicel	10%		68.8	3.89	81.2	4.12	72.4	3.09
	20%		79.9	4.30	90.1	4.87	78.0	3.78
	30%		86.5	4.97	91.2	5.13	86.9	4.08

※ CMC-Lp; CMC liquefying power % of viscosity change
 CMC-Sp; CMC saccharifying power glucose mg/g of the cultures/min.

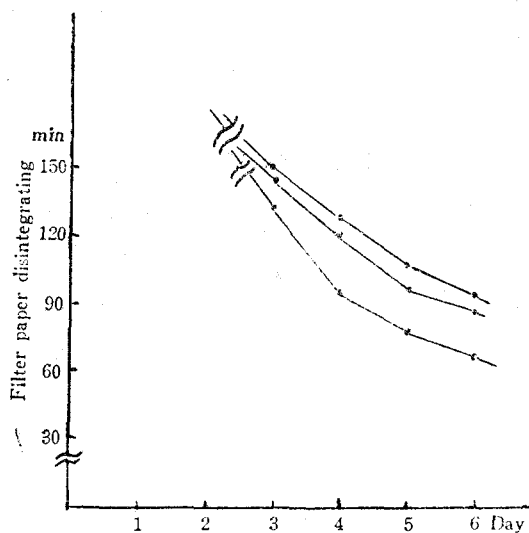


Fig 1. Change of cellulase for filter paper disintegrating activity in the cultivation (KM 10-1)

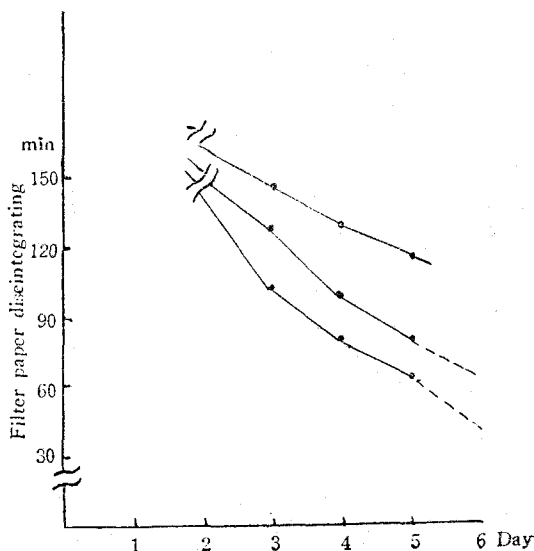


Fig 2. Change of cellulase for filter paper disintegrating activity in the cultivation (OL 11-1)

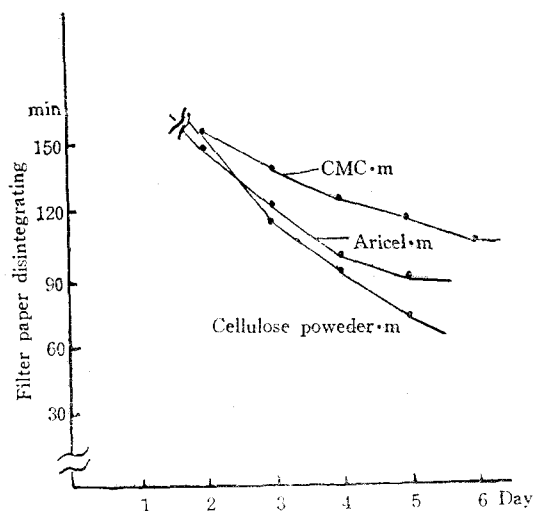


Fig 3. Change of cellulase for filter paper disintegrating activity in the cultivation (SH 9-2)

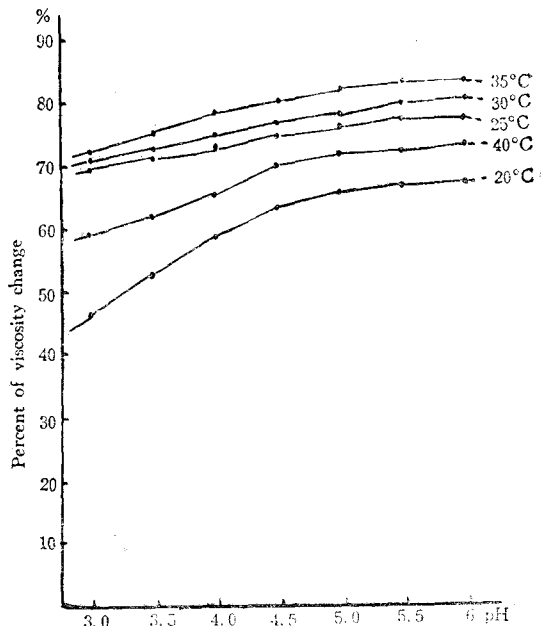


Fig 4. CMC-liquefying powder of KM 10-1 in various incubation temp. and initial pH of base media

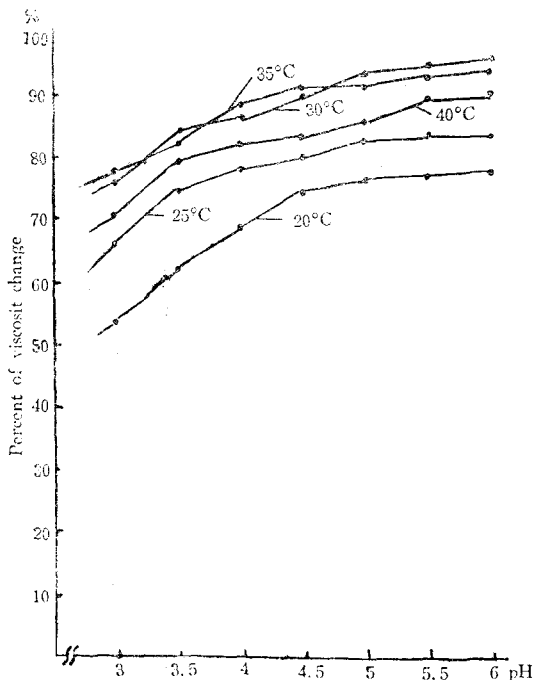


Fig 5. CMC-liquefying powder of OL 11-1 in various incubation temp. and initial pH of base media.

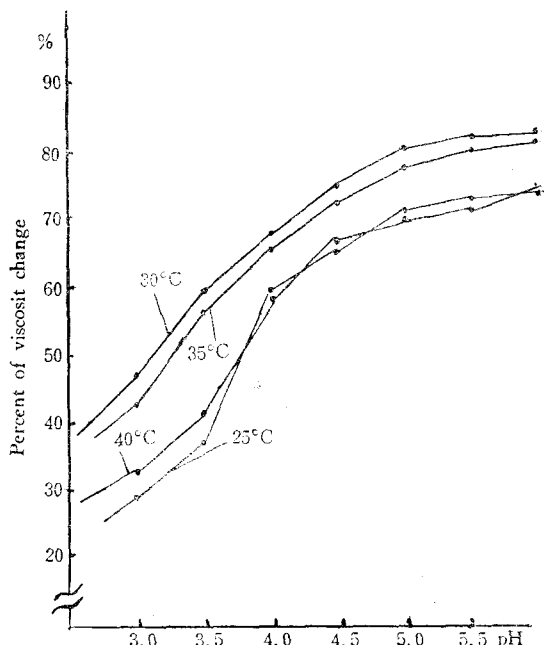


Fig 6. CMC liquefying powder of SH 9-2 in various incubation temp. and initial pH of base media.

糖化力이 0.96~1.45mg/ml이며 脫脂大豆를 5% 添加한 固體培地에서는 3.89~4.54mg/g로 높은 比率이었다. 特히 OL 11-1 菌株는 外觀이 *Asp. niger*와 비슷

하며 제일 우수하였다.

섬유소源인 CMC, avicel 및 cellulose powder등을 10, 20, 30%씩 基本培地에 混合하여 酵素生成能을 調

Table 4. Cellulase acidity in process of incubation time in wheat bran cultures

Strain No.	Days	3		5		6	
		CMC-Lp	CMC-Sp	CMC-Lp	CMC-Sp	CMC-Lp	CMC-Sp
KM 10-1		64.0	2.2	75.1	3.5	78.5	4.0
OL 11-1		66.8	2.8	78.2	3.94	89.9	4.9
SH 9-2		59.1	1.9	75.8	3.60	77.4	3.9

※ CMC-Lp; CMC liquefying power, percent of viscosity
 CMC-Sp; CMC saccharifying power, glucose mg/g of the cultures/min.

Table 5. Relationship between the cultivated temp. and filter paper disintegrating

Strain No.	Day	Temp. (°C)	3				5				7			
			25	30	35	40	25	30	35	40	25	30	35	40
KM 10-1			-	+	+	±	-	‡	‡	+	±	‡‡	‡‡	‡
OL 11-1			-	+	+	±	-	‡‡	‡‡	‡	±	‡‡	‡‡	‡
SH 9-2			-	+	+	±	-	‡	‡	‡	±	‡‡	‡‡	+

※ - ; None ± ; Weak + ; Good ‡ ; Very good

査한 結果는 avicel이 제일 優秀하였고, 그 中에서도 30% 混合한 것이 더 좋다. 脫脂大豆 5%를 混合한 培地로부터 生産된 酵素力 4.54mg/g보다 높은 5.13mg/g이었다. peptone보다 酵母生源을 培地로 한 것에서 酵素生産이 優秀함을 규명하였다. 이들의 濾紙붕괴 성을 보면 그림 1, 2, 3과 같다.

2-2) 最適溫度와 最適 pH:

最適溫度와 最適 pH의 CMC粘度變化의 關係를 보면 그림 4, 5, 6과 같다.

KM 10-1은 35°C, pH5.5에서 粘度가 最高值이며 30°, 25°, 40°C의 順序였다. pH는 5.5가 最適이며 6.0까지 비슷하다. OL 11-1菌株 역시 pH5.5가 最適이고, 溫度는 30°C가 最適이다. 35°, 40°, 25°C 및 20°C의 順序였다. SH 9-2는 pH 5.7程度이며 30°C가 最適이며, 35°, 25°, 40° 및 20°C의 順序이다.

2-3) 培養日數: 培養日數에 따른 CMC糖化力과 CMC粘度는 表 4와 같다.

배체로 3일부터 5일 사이에 크게 增加하고 5일부터 점차 완만한 增加를 보였다.

濾紙崩壞程度로서 培養日數와 溫度 및 pH 關係를 觀察한 結果는 表 5에서와 같이 3日 後 30°C부터 약간 붕괴를 볼 수 있고 5日에는 30°C에서 OL 11-1은 거의 모두 붕괴되었다. 40°C에서는 良好하였다. 7日 後 25°C에서도 붕괴되어 가며 40°C에서 良好하였다. 3菌株 모두 7日 後에는 pH 4.5에서부터 良好하였다. 5日 培養이면 最少限의 酵素力이 維持됨을 알 수 있었다.

3. 菌株의 同定

同定 結果는 다음 기재와 같다.

Description of the strains

Stain KM 10-1; *Aspergillus niger* van Tieghem, Colonies on Czapek's agar rapidly growing with abundant submerged mycelium, aerial hyphae scanty produced.

Conidiophores arise directly from the substratum septate or nonseptate, varying in length and diameter, 200 ~ 380 × 7 ~ 9.5 μ. Conidial heads fuscous blackish-brown; vesicles globose, 25 ~ 50 μ, up to 95 μ in diameter; phialides in two series, primary varying in length, secondary 7 ~ 10 × 2.5 μ. Conidia globose, spinulose, 2.6 ~ 4 μ in diameter.

Strain OL 11-1; *Aspergillus schiemanni* Thom, Colonies on Czapek's solution agar growing slowly basal mycelium dark brown; conidiophores 1 to 3 mm. in length; conidial heads subglobose 7.5 ~ 22.8 × 80 ~ 230.6 μ; sterigmata 3.19 ~ 3.81 × 6.51 ~ 12.8 μ; conidia globose, smooth, 2.55 ~ 3.19 μ in diameter.

Strain SH 9-2; *Trichoderma viride* Pers.; Colonies on Czapek's agar spreading, floccose, white at first, becoming light green in five days; reverse colorless. Vegetative hyphae septate, hyaline. Conidiophores erect, frequently aggregated,

Table 6. Several enzyme activities of crude enzyme solution

Strain No.	Enzyme	Amylase (glucose mg)	Cellulase (glucose mg/ml)	Protease (Unit/pluid. M)
KM 10-1		62.8	16.1	48
OL 11-1		75.8	21.9	36.5
SH 9-2		10.2	15.4	2

into floccose, tufts hyaline, septate, branching irregularly. Conidial heads up to 10 μ in diameter. Conidia globose to ovate, smooth, hyaline or green. 3.5~3 μ in diameter.

4. 粗酵素 調製

4-1) 粗酵素的 關係酵素에 對하여 :

粗酵素를 調製하였으나 微生物의 性質에 따라 amylase, protease를 共有할 것이므로 이에 對하여 검토한 바 表 6과 같다.

濃縮한 酵素液이었으므로 cellulase力價도 높으며 amylase力價도 60mg以上이었으나 SH 9-2 *Trichoderma*類는 102mg이며 단백질分解酵素도 弱하였다.

4-2) Cellulase의 耐熱性 :

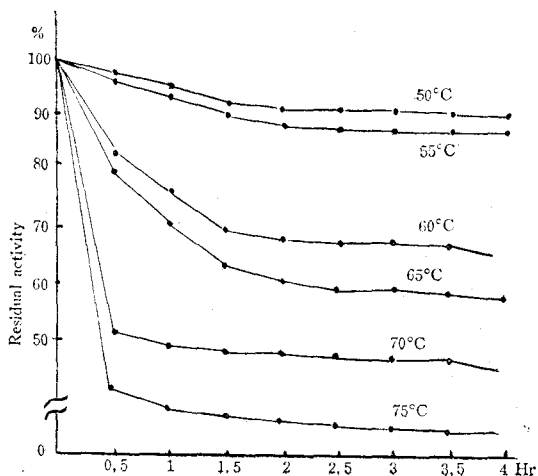


Fig 7. Thermal stability of crude cellulase (KM 10-1) for CMC-saccharifying activity

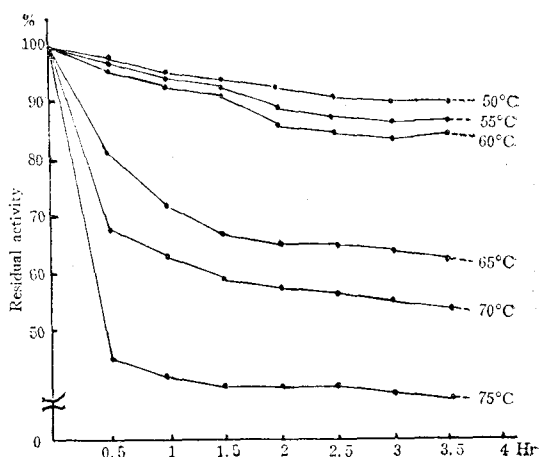


Fig 8. Thermal stability of crude cellulase (OL 11-1) for CMC saccharifying activity

Table 7. The Effects of metal on CMC-saccharifying activity

No.	Metal ions	Concentration	Relative activity		
			KM 10-1	OL 11-1	SH 9-2
1	Crude cellulase	—	100	100	100
2	Ca ⁺⁺	10 ⁻³ M	103	108	101
3	Mg ⁺⁺	10 ⁻³ M	109.5	112	104
4	Co ⁺⁺	10 ⁻³ M	92	97	89
5	Cu ⁺⁺	10 ⁻³ M	19.8	25	24
6	Fe ⁺⁺	10 ⁻³ M	94.5	96	95.6
7	Zn ⁺⁺	10 ⁻³ M	87	85	80
8	Hg ⁺⁺	10 ⁻³ M	4.2	1.8	2.4
9	Ag ⁺	10 ⁻³ M	11.0	11.5	10.7

Table 8. Composition of combination feed

Group	Item	Moisture(%)	Crude protein(%)	Starch value	Ash(%)	Crude cellulose(%)
A		13.8	10.1	29.8	8.9	30.6
B		13.1	12.9	35.64	7.2	23.2

Table 9. Effect of crude cellulases treating combination feed

Strain No.	Group	Item	Moisture(%)	Crude protein(%)	Starch value	Ash(%)	Crude cellulose(%)
KM 10-1	A		12.9	10.9	37.4	9.2	23.3
	B		12.5	13.3	42.2	7.9	16.7
OL 11-1	A		13.7	10.3	39.8	8.8	20.8
	B		13.4	12.7	43.4	7.1	16.3
SH 9-2	A		12.8	10.9	35.7	9.4	24.8
	B		12.7	13.1	49.1	7.9	18.6

酵素劑 利用處理上 耐熱性を 調査한 結果 그림 7, 8와 같다.

熱에 對한 安定度는 KM 10-1菌株가 55°C, 1.5時間까지 90%로서 10% 失活됨을 볼 수 있으나 70°C에서는 30분에 약 50%의 失活을 볼 수 있었다. 대체로 50%정도 失活되던 時間의 經過에 큰 影響이 없었다. OL 11-1은 50°, 55°, 60°C에서 2時間부터 약 18% 失活되고 역시 70°C에서는 30분부터 30% 以上 失活되었다. KM 10-1에 比하여 전체적으로 失活率이 높음을 알 수 있다. SH 9-2는 50°, 55°C에서는 90%로서 약 10%가 1時間 후부터 失活되고 60°, 65°C에서는 30분에 20%, 1時間 후에 30% 失活되었음을 알았다. 3菌株 모두 失活率이 50% 부근이 된 後에는 時間의 경과에 큰 影響이 없고 70°C以上은 上記 모든 粗酵素劑에 좋지 못 함을 뜻하고 있다.

4-3) 粗酵素劑의 金屬ion에 對한 영향 :

金屬ion中에서 Ca⁺⁺, Mg⁺⁺는 3菌株 모두 培養時 添加해 주어도 된다는 結果이므로 硬水를 固體培地製造 및 酵素 利用 처리時 使用해도 良好함을 알 수 있고 Ag⁺, Cu⁺⁺, Hg⁺ 金屬은 이들 酵素劑에 阻害物임을 밝혔다.

5. 醱酵飼料 製造

表 1의 配合比에 依해 만든 粗飼料의 一般成分을 보면 表 8과 같다.

表 8과 같은 成分을 가진 表 1의 配合飼料를 粗酵素劑로 處理하였던 바 表 9와 같은 成分으로 變化하였다.

上記 表를 보면 菌株 KM 10-1은 A群 粗飼料中

의 섬유질을 24%分解하였고 B群은 28%, 菌株 OL 11-1은 A群 粗飼料의 섬유질을 32%, B群은 30% 分解하였으며 菌株 SH 9-2는 A群의 섬유소를 19% B群의 섬유소를 20% 分解시켰다. 즉 amylase와 protease力價에 관계되어 脫脂大豆粕을 混合한 B群을 많이 分解시킨 KM 10-1 菌株는 그 理由가 一致하며 SH 9-2 菌株는 모든 力價에 比例하여 섬유소를 分解하는 힘이 弱한듯 하였다.

要 約

各地에서 蒐集한 木材腐蝕物, 堆肥, 古木의 버섯, 土壤 및 腐朽枯葉 등 60餘種 試料中에 cellulase 生成菌을 130菌株 分離하여 CMC分解力과 濾紙분괴력이 比較的 強한 菌株 3種을 選定하여 이에 對한 特性을 調査하고 同定, 粗酵素劑 利用 등을 檢討한 結果는 다음과 같다.

1. 選定된 菌株는 洪陵의 腐朽古木에서 KM 10-1, 全北完州의 腐朽枯葉에서 OL 11-1 水原의 堆肥로부터 얻은 SH 9-2이다.
2. Cellulase 生産에 있어서의 最適外의 條件은 KM 10-1 ; pH 5.2~5.5, 35°C, 培養日數 6日 OL 11-1 ; pH 5.5, 30~35°C, 培養日數 6日 SH 9-2 ; pH 5.5, 30°C, 培養日數 6日
3. Cellulase力價는 最適培養條件下에서 KM 10-1 ; CMC粘度低下力 78.5%, CMC糖化力은 4.0 glucose mg/培養物乾物 g/分 OL 11-1 ; CMC 粘度低下力 89.9%, CMC糖化

力은 4.9 glucose mg/培養物乾物 g/分

SH 9-2 : CMC粘度低下力 77.4%, CMC糖化力
은 3.9 glucose mg/培養物乾物 g/分

4. 培地組成은 被과 톱밥의에 蛋白質을 添加 時에 大豆粕이 가장 良好하였으며, KM 10-1, OL 11-1은 avicel 30%를 添加하는 것이 優秀하고 SH 9-2는 cellulose powder 20%를 添加한 것이 優秀하였다.

5. 選定菌의 同定結果는

KM 10-1 ; *Aspergillus niger* van Tieghem
OL 11-1 ; *Aspergillus schiemanni* Thom
SH 9-2 ; *Trichoderma viride* Fers. 등과 近緣의 菌株이었다.

6. 選定 菌株의 粗酵素劑에 依하여 多量의 纖維質을 含有한 飼料에 처리 작용시킨 結果 約 30%의 섬유소를 分解하였다.

本研究은 1973年度 文敎部 研究助成費의 補助에 의하여 이루어진 것으로, 이에 깊은 謝意를 表하는 바이다.

References

Barron, G. L. T. (1968) : The Genera of Hyphomycetes from soil. Williams & Wilkins Co. Baltimore

Bisby, G.R.(1939) : *Trichoderma viride* Pers, Ex Fries and Note on Hypocrea 149~168.

Chandrasekaran, A.and M.S. Shanthamma (1969) : A new technique for the economic production of cellulase. *J.Food Sci. Technol.* 6 : 12.

鄭東孝(1971) : *Myriococcum albomyces*에 있어서 cellulase 유도생성에 관한 연구. *Kor. J. Food Sci.Tech.* 3 : 1.

田崎龍一등(1962) : 脫脂大豆에對する cellulase의 作用. *J.Ferment. Tech.* 40 : 49.

竹西 繁行(1969) : 酵素活性 測定法(2). 科學と工業 40 5B

千葉悟郎 等(1966) : 셀로스, 헤미셀로로스分

解酵素 "collulosin"について. *J. Food Tech.* 9 : No.7.64.

Gilman J.C.(1959):A manual of soil fungi, Iowa State Univ. Press. Ames, U.S.A.

金奇珠 等(1967,1968,1969) : Cellulase生成菌에 관한 研究(第1報). 國立工業研究所. 17輯155. 第2報(1968) 18輯, 第3報(1969) 19輯

金野 範之 等(1963) : *Penicillium variable*에 關する 研究. *J.Ferment. Tech.* 41 : 385.

金燦祚 等(1969) ; Cellulase生成菌에 關한 研究(第1,2報). *J.Kor.Agi. Chem* 11 : 38~94.

Lee Ji Yul (1972) : Soil mycoflora in larch forest in Sugadira, *Bul. Sugadaira Biol. Lab. Tokyo Kyoiku Univ.* No. 5. 35~71.

松村 親等(1963) : *Aspergillus Saitoi*에 關する 研究 *J.Fement. Tech.* 41 : 154, 158, 169.

西澤一俊(1966) : わが國における セルラゼン ポジウムの歩み(第1~6回) 9 : 8, 46.

Nelson, N.(1944) : A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J.Biol Chem.* 153 : 357.

Raper, K.& Fennel, D.(1965) : The Genus *Aspergillus.* Baltimore.

Somogyi,M(1945) : Notes on sugar determination of sugars. *J. Biol. Chem.* 160 : 61.

外山信男(1966) : 農産物加工への セルラーゼと細胞分離酵素의 應用 : *J.Food. Tech.*(Japan) 9 : 64(8)

外山信男 等(1966) : 셀ラーゼ와 細胞分離酵素による綠茶成分의 抽出について *J. Ferment. Tech.* 44 : 830.

若松靖弘 等(1962) : Cellulase의 工業生産에 關する 2,3의 知見. *J. Ferment. Tech.* 40 : 48.

若澤正 等(1963) : Cotton cellulase 及び wood cellulase 에對する *Trichoderma koningi* 의 cellulase 作用について. *J. Ferment. Tech.* 41 : 40.