

擔子菌類에 의한纖維質類分解에 관한 연구

金三純·金奇珠*

서울女子大學 農村發展研究所

*國立工業標準試驗所

Decomposition of Fiber by the Basidiomycetes

Sam Soon Kim, Ki Ju Kim*

Seoul Woman's College, Seoul, Korea

*National Industrial Standard Research Institute, Seoul, Korea

Abstract : Various enzymes produced by the Basidiomycetes, i.e. *Pleurotus ostreatus*, *Pholiota nameko* and *Flammulina velutipes* have been analysed.

The purpose of the analyses is to produce a nutritious fertilizer from saw dust, sweet potato stems, corn stems and barley stems which are known as the farm product waste materials.

The results of the analyses are as follows:

1. In order for *P. ostreatus*, *Pho. nameko* and *F. velutipes* to grow properly, the saw dust of broad-leaved trees, poplar and chestnut were mixed with sweet-potato stems, corn stems and barley straws at the ratio of 42~49 : 30, and then to this mixture was added rice bran at the ratio of 18~35 : 30

The following proved to be optimum conditions for the growth in this test: the percentage of water content 60~70%, 24~26°C degrees of temperature.

2. We analyzed the fiber contained in the above materials after 20 days growth in various media. We found out that the fiber was decomposed up to 47~50% and polysaccharified. Lignin was decomposed up to 20~25% and about three times as much protein was contained in the product as in the original materials.
3. Our analyses revealed the possibility of producing concentrated feed from the crude fiber.

緒 論

擔子菌類에 속하는 木材腐朽菌이 纖維素 또는 리그닌(Lignin)을 分解하여 木材組織을 崩壞시킨다는 事實은 잘 알려져 있다. 그러나 擔子菌類가 植物組織을 崩壞시키는가 하는 課題에 關해서는 外國에서 最近 3~4年間 研究된 程度이다. 遠藤(1966), 石井, 川村와 橫塚(1970), 및 梶(1966) 등은 糸狀菌과 植物病原菌에 의한 作用에 對하여 詳細히 報告한 바 있다.

梶와 大崎(1971)는 擔子菌中の *Corticium rolfisii*가 生成하는 耐酸性酵素에 關한 報告에서 植物組織 崩壞活性이 耐酸性 엔도폴리갈락트로나제(Endopolygalacturonase)가 pH 2.5에서 主役割한다는 것을 밝힌 바 있다.

이 외에 川畠(1972), 川畠(1973) 및 神田, 若林와 西澤(1970)의하여 擔子菌이 生成하는 植物組織崩壞와 셀룰라제(Cellulase)에 關하여 報告된 것이 數編이 있다. 이 셀룰라제도 C_x 活性이 主體인가 또는 셀룰라제 製劑에서와 같이 키실라나제(Xylanase) 活性을

Table 1. Composition of culture media

Media	Sugar (%)	Potato starch (%)	Yeast extr. (%)	Cellulose powder (%)	MgSO ₄ (%)	KH ₂ PO ₄ (%)	Saw dust (%)	Rice bran (%)	Remark
A	3	3	0.3	1	0.05	0.5			
B	4	3	0.5		0.05	0.5			
C	2						Broad leaved trees 80	18	
D	2						Poplar 80	18	
E	2						Chestnut tree 80	18	
F	3				0.05		Poplar 49	18	Sweet potato stem 30
G	3				0.05		Poplar 42	25	Corn stem 30
H	3				0.05		Poplar 42	25	

確認하는 것과 同一한 경우인가에 대하여 檢討된 바 擔子菌에서도 셀룰라제 生成과 키질라나제 生成능 높은 活性을 갖고 있음이 發表되었다. 川畠(1973)에 의하면 β-1,3-글루카나제 (Glucanase), 치티나제 (Chitinase), 푸르테아제, 아밀라제, 트레하라제 (Trehalase) 및 마세레이팅엔자임 (Macerating enzyme) 등 많은 酵素를 生産한다는 報告가 있어 本研究는 農産物의 廢物을 톱밥과 併用하여 擔子菌에 의한 纖維素를 비롯하여 各種 成分의 分解로 인한 糖類增加와 菌體 自體의 蛋白質을 飼料化 시키는 資源開發을 目的으로 着手하였다.

材 料 및 方 法

1. 供試菌株와 培養

여러가지 菌株中에서 一次的으로 버섯을 生産하는 다음과 같은 3種의 菌株에 對하여 檢討하였다.

PI; *Pleurotus ostreatus*. Ph; *Pholiota nameko*, F; *Flammulina velutipes*.

감자 蔗糖寒天培地에 保存했던 3種의 菌株를 表 1의 A, B 培地에서 生成된 酵素의 活性과 C, D, F, G, H 培地에서 23~26°C, 1주일간 生育한 菌에 대한 結果를 檢討하였다.

2. 生長試驗

가. 生長量比較

各菌株에 對한 培養日數를 달리하여 培養하였으며 培地는 A, B에 처음 pH 4.5와 6.0이 되게 만들고 培養이 끝난 후 菌體를 여벌하여 充分히 水洗한 後, 여지로서 表面의 水分을 除去하여 105°C에서 恒量되게 乾燥시켰다. 生長量은 培養液에 對하여 乾燥重量

(mg/ml)으로 表示하였다. 生長의 比較는 乾燥 重量이 제일 큰 것을 택하여 하였다.

나. 溫度에 따른 生長比較

培養溫度를 20, 24, 26 및 28°C로 달리하여 各種 培地에서의 生長을 調査하였다.

다. 水分含量變化에 따른 生長

表 1 中의 C, D, E, F, G, H 培地의 水分含量을 60, 67, 70 및 75 % 되게 만들어 生長을 調査하였다.

3. 酵素活性의 測定

가. Amylase 活性度

whologemuth 法의 若干 變法인 다음 方法에 準하였다. 1.2% 可溶性澱粉溶液 1 ml에 酵素液 2 ml를 加하여 40°C에서 15~20分間 反應시켰다. 그 液의 0.5ml에 1/3000N 沃度溶液을 넣어 沃度反應에 依한 呈色度를 觀察하였다. 活性은 反應 15分以內에서 淡黃色이 된것을 卍, 30分에서 赤紫色인 것을 卍로 하였다.

나. 多糖類糖化活性度

基質은 Na-CMC를 증유수에 녹여 2.5 % 溶液으로 해서 그 液 1 ml 0.1 M. McIlvaine buffer (pH 5) 3ml와 酵素液 1 ml를 混合하여 40°C에서 60分間 反應시켰다. 沸騰水中에서 5分間 浸漬시켜 反應을 停止하고 反應液 5 ml 中에 生成된 還元糖量을 Nelson-Somogii 法으로 포도당 測定을 하였다. 포도당量 (μmol/mg/60mins)

다. Cellulase 活性度

C₂ 活性은 L型 시험관 3개에 미리 pH 4.0으로 調節한 酵素溶液 7 ml와 McIlvaine 원충액 3 ml를 各 各 넣고, 다시 東洋여지 No. 51A의 濾紙(10×10 mm) 장을 넣어 가볍게 고무마개를 하였다. 이것을 Monod 식 항은 진탕기에 組立하여 45°C에서 振盪하면서(회

전수 55~60 rpm, 진폭 4cm) 여지편의 붕괴상태를觀察하여濾紙가 완전히 붕괴하는 시간을 측정하여 그活性單位를表示하였다.

Cx 活性는 C.M.C의 液化度에 準하였다. C.M.C를 0.1 M 초산인중액에 녹여서 4%의 겔(gel)로 만든후 직경이 똑 같은 눈금이 있는 試驗管에 10 ml씩 分注하여 그 위에 酵素液을 1 ml 넣어 40°C에서 反應시켰다.

18 時間 後에 液化層의 長이를 測定하여 液化層 長이가 全體長이의 3/4 以上인 境遇를 卍, 1/2 以上을 卍 1/4 以上을 卍, 1/4 以下를 +, 液化 않는 것을 0로 表示하였다.

4. 生長過程中 粗蛋白質, 纖維 및 리그닌變化

가. 粗蛋白質은 Kjeldahl 窒素定量法에 準하였으며 粗纖維는 一般法인 1.25% H₂SO₄ 및 1.25% NaOH 處理法에 準하였다.

나. 리그닌 定量法

試料 1 g를 Ethyl alcohol : Benzene (1 : 2)로 4時間 抽出하여 濾過하였다. 여과물은 알콜로 2回, Ether로 2回 씻었으며 45°C에서 Ether을 揮發시킨 後 250 ml의 三角플라스크에 試料를 옮겼다. 1% 펩신(Pepsin) 40 ml와 0.1 N HCl을 넣어 잘 混들어 40°C 부란

기에 넣어 1 夜 放置한 後 뜨거운 蒸溜水를 20~30 ml 넣어 여과하면서 2回 씻고 5% H₂SO₄ 溶液을 加하였다. 이를 石綿金屬網 위에 놓고 1時間 逆流시키면서 끓인 後 여과하고 뜨거운 물로 (20~30 ml) 3回 씻고 15~20 ml 알콜로 2回 씻은 後 15 ml 에틸(Ether)로 2回 씻었다. 殘渣를 플라스크에 옮기고 水浴槽中에서 加熱하였다. 72% H₂SO₄ 20 ml를 20°C에서 加하고 잘 攪拌하며 沈澱이 생기면 다시 여과하였다.

3% H₂SO₄ 150 ml를 使用하여 2時間 逆流냉각시키면서 加熱後 여과하고 酸이 없도록 뜨거운 물로 씻었다. 105~110°C에서 乾燥하여 測量하고 600°C에서 灰化시켜 灼熱減量을 測定하였다.

Table 2. Mycelial growth of 3 test fungi of Basidiomycetes in submerged culture of media A and B

Test fungi	Growth (mg. dry weight/ml)			
	more than 25	25~5	less than 5	no growth
Pl.	1	7	1	1
Ph.	—	6	3	1
F.	1	6	2	1

Remark : Numerals in the table indicate numbers of replicate

Table 3. Relative growth rate²⁾ of 3 test fungi on various media with different moisture content

Test fungi	Media	Moisture(%)															
		60				67				70				75			
		5	7	10	15	5	7	10	15	5	7	10	15	5	7	10	15
Pl.	C	+	+	卍	卍	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	±	±	+	+
	D	±	±	+	卍	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	±	±	卍	卍
	E	±	±	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	±	±	卍	卍
	F	±	±	+	卍	+	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	±	±	卍	卍
	G	—	±	±	+	±	±	卍	卍	+	+	卍	卍	—	±	±	卍
	H	—	±	±	+	±	±	+	卍	+	+	卍	卍	+	±	±	+
Ph.	C	±	+	+	卍	+	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	±	±	±	卍
	D	±	+	+	卍	+	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	±	±	卍	卍
	E	±	+	+	卍	+	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	±	±	+	卍
	F	±	+	+	±	+	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	±	±	±	卍
	G	+	±	±	+	±	+	卍	卍	±	+	卍	卍	—	±	±	+
	H	—	±	±	+	±	+	卍	卍	±	+	卍	卍	+	±	±	卍
F.	C	±	±	+	+	±	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	±	+	卍	卍
	D	±	±	+	+	±	卍	卍	卍	+	卍	卍	卍	±	±	+	卍
	E	±	±	+	+	±	+	卍	卍	+	卍	卍	卍	±	±	+	卍
	F	—	±	±	+	±	+	卍	卍	+	卍	卍	卍	±	±	+	卍
	G	+	±	±	+	±	+	卍	卍	±	+	卍	卍	—	±	+	卍
	H	—	±	±	+	—	±	卍	卍	±	卍	卍	卍	—	±	+	卍

a) Relative growth rate : — ; None, ± ; Weak, + ; Some, 卍 ; Good

Table 4. The effect of temperature on growth of 3 test fungi on potato starch agar

Temp. (°C)	20				24				26				28				
	Day	2	5	10	15	2	5	10	15	2	5	10	15	2	5	10	15
Pl.		+	+	‡	‡‡	‡	‡‡	‡‡	‡‡	+	‡	‡‡	‡‡	+	‡	‡	‡
Ph.		+	+	‡	‡‡	‡	‡‡	‡‡	‡‡	+	‡	‡‡	‡‡	+	‡	‡	‡
F.		±	+	‡	‡‡	‡	‡‡	‡‡	‡‡	+	‡	‡‡	‡‡	±	‡	‡	‡

± ; Weak, + ; Some, ‡ ; Good

Table 5. Polysaccharide decomposing activity and cellulolytic activities detected in the enzyme preparations of 3 test fungi of Basidiomycetes

Item	Test fungi		
	Pl.	Ph.	F.
Cellulolytic activity			
C ₂ activity (min.)	120	158	185
Cx activity ¹⁾	‡1, +3.0	+4.0	+3, 0;2
Saccharifying activity (μmol/mg/60mins)	415~615	327~450	298~384
Amylase activity ²⁾ (Iodine test)	‡‡	‡	‡

- 1) Cx was done in liquefaction of C.M.C.
- 2) Amylase activity: ‡ ; light yellow, ‡ ; redish violet

Table 6. The changes of the component of medium produced by growth of *Pleurotus ostreatus* (Dry basis)

Medium	Content	Crude protein (%)	Crude fiber (%)	Lignin (%)
C	Control	4.24	58.3	34.84
	After 20days	15.28	30.94	29.27
D	Control	4.29	52.11	31.96
	After 20days	13.98	29.18	28.12
E	Control	5.88	54.42	29.13
	After 20days	14.93	29.48	30.78
F	Control	5.41	43.97	30.78
	After 20days	13.98	21.73	27.08
G	Control	4.62	50.74	29.42
	After 20days	12.02	28.45	25.08
H	Control	4.93	40.48	31.73
	After 20days	14.08	30.27	28.37

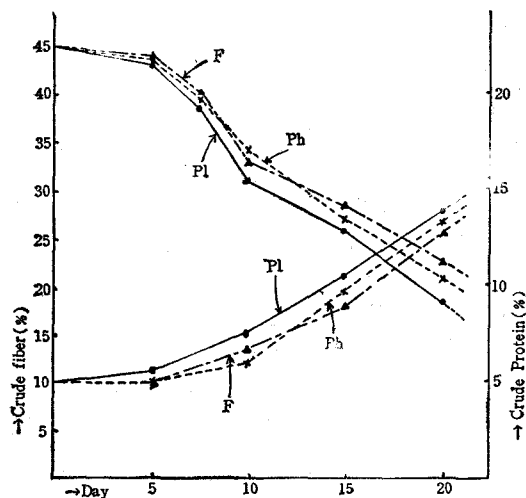


Fig. 1. The changes of protein and cellulose produced in medium F during the vegetative growth of 3 test fungi

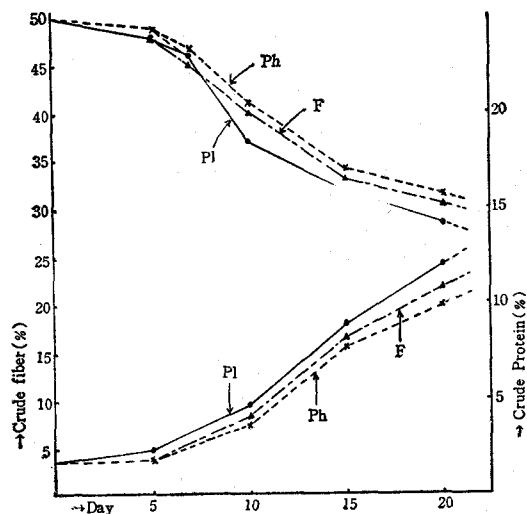


Fig. 2. The changes of protein and cellulose produced in medium G during the vegetative growth of 3 test fungi

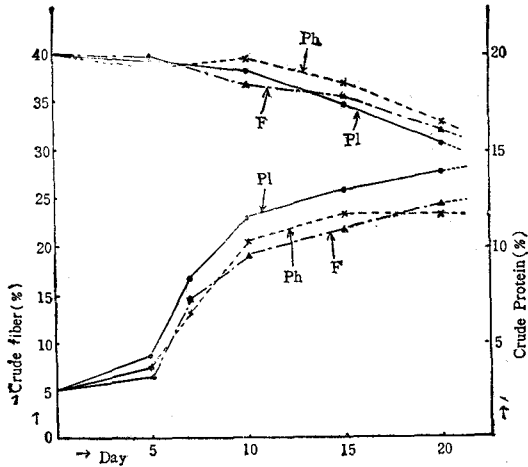


Fig. 3. The changes of protein and cellulose produced in medium H during the vegetative growth of 3 test fungi

結果 및 考察

A, B 培地에서 3 種 菌株를 培養한 結果를 觀察하면 그 生長菌量이 *P. ostreatus*와 *F. velutipes*가 배양액 ml 當 25mg 되는 試料區가 10% 되고 5 mg 以下가 20~30%였다. *Pho. nameko*는 25~5 mg인 區가 60%, 5 mg 以下가 40%였다. 即 前者 2菌株는 A, B 培地에서 生長力이 優秀함을 觀察하였다.

本試驗 菌株는 24~26°C가 生育에 적합하며 5日부터 잘 生長하는데 比하여 20°C에서는 時日을 要하며 發育이 不良하였다.

培地의 水分含量은 一般的인 人工버섯 培地의 境遇와 같이 67~70%가 적합하였다. 培地原料의 供給量關係로 榻榻미를 半量으로 調節하여 高구마순 줄기, 옥수수대 및 보리짚 등을 混合 試驗한 바 高구마순 줄기는 순 榻榻미만으로 했던 경우와 같은 結果로 生長이 優秀하였으나 옥수수대를 섞은 試驗區는 제일 不良하였다.

表 5에서 보는바와 같이 셀룰라제 活性은 糸狀菌類의 生産 酵素와 큰 差異가 없으며 川畠(1973)의 *Lampteromyces japonicus*와 *Irpex lacteus* 와도 큰 差異가 없으나 *Fomitopsis cytisina*보다 약간 優秀하였으며 3 菌株中에서 *P. ostreatus*가 모든 酵素의 活性度가 제일 높았다.

各種培地에서 供試菌株를 發育시켜 原培地 成分中の 많은 섬유를 分解시켜 可消化性 物質로 만들고 菌體增殖에 依한 蛋白質 增加를 目的한 本研究에서 培

地成分의 變化를 檢討한 結果 *P. ostreatus*에 의해서 纖維質은 大體적으로 47~50% 分解되었고 보리 짚을 섞은 區만이 25.3%의 낮은 分解率이었다. 리그닌의 分解率은 20~25%였다. 더욱이 蛋白質은 原料中에 含有한 量의 3倍程度로 增加되었는데 이는 飼料化의 可能性을 높여주는 結果라고 본다. 다만 擔子菌類 利用에 依한 섬유질 減少와 蛋白質 增加에는 長時間이 要함이 缺點이다.

高구마줄기 混合培地(F)에서 生成된 蛋白質은 *P. ostreatus*가 제일 優秀한 데, 7, 8日 培養後 부터 增加되고 있으며 옥수수대 混合培地(G)는 10日 經過後 부터 增加되었고 보리짚 混合培地(H)에도 蛋白質의 增加가 優秀하였다. 섬유의 分解率은 10日경부터 많은 편이며 가장 優秀한 區는 高구마줄의 混合區이고 보리짚 混合區가 가장 低調하였다.

總括해서 보면 擔子菌類인 *P. ostreatus*, *Pho. nameko*, *F. velutipes* 는 활엽수에서만 生長하는 것이 아니라 농산물의 폐물층의 섬유질이 많은데서도 잘 發育하며 그 基質을 分解하여 有用한 糖類까지 生産하는 同時에 發育함으로써 生成된 菌體 蛋白質은 이들의 飼料價値를 높이는 데 크게 기여하리라고 본다.

摘 要

擔子菌 *Pleurotus ostreatus*, *Pholiota nameko*, *Flammulina velutipes*가 生産하는 各種 酵素에 依한 榻榻미와 농산물 폐물인 高구마줄기, 옥수수대 및 보리짚의 榮養飼料에 關於하여 檢討한 結果는 다음과 같다.

1. 활엽수, 포플라 및 밤나무의 榻榻미와 高구마줄기 옥수수대 및 보리짚의 비율을 42~49 對 30으로 調節하고 쌀겨 18~25의 비율로 배합한 基質에서 水分含量 67~70%, 溫度 24~26°C가 發育에 適合하였다.

2. 20日間 各試驗區에서 生長시킨 後 原料基質中の 섬유를 調査한 바, 47~50% 分解하여 多糖類化시켰고 리그닌은 20~25% 分解하였고 단백질함량은 처음의 약 3倍量이었다.

3. 粗섬유의 濃厚飼料化가 可能하였다.

References

- A.O.A.C(1954) : Lignin test 52.
- 遠藤章(1966) : 糸狀菌に Pectin 分解酵素に關する 研究. 日農化 40 : R-89.
- 石井 茂孝, 川村 敏, 横塚 保(1970) : 植物組織の酵素的分解に 關する 研究. 日農化 44 : 279~311.

- 梶 明(1966) : Pectin 分解酵素に 關する研究(22報)
日農化 40 : 209.
- 梶 明, 大崎 武久(1971) : 酵素の 耐酸性 および低
pH活性に關する研究. 日農化 45 : 520.
- 川合 正允(1972) : 擔子菌による植物組織崩壞(第1報
~3報) 日農工. 50 : 685~703.
- 川合 正允(1973) : 擔子菌に關するおびび amylase,
cellulase 生産性の 分布, 日農化 47 : 533.
- 川合 正允(1973) : 擔子菌の 分類群間における 酵素生
成 ペタンの比較, 日農化47 : 633.
- 神田 鷹久, 若林 和正, 西澤 俊(1973) : *Irpex lacteus*
の 2種 Cellulase の 純化と その 性質, 日農工 48:
607.