

人蔘根腐病的 機構와 防除에 對한 生化學的 研究

金炳默, 金容煥*, 李德洵, 趙顯俊

中央大學校 食品加工學科, 三育農業專門大學 食品製造科*
(1982년 6월 4일 접수)

Biochemical Study on the Mechanism and Protection of Ginseng Root-Rot Disease

Byung-Mook Kim, Yong-Hwan Kim*, Duk-Soon Lee, and Hyun-Joon Cho

Dept. of Food Tech, Chung Ang Univ.
Dept. of Food Manuf., Korean Union Junior Coll.

(Received June 4, 1982)

Abstract

In this study it was found that the enzyme activities of diseased ginseng contributed greatly on the development of its root-rot disease.

The diseased ginseng showed higher activities of α -amylase, β -amylase, invertase, catalase, and cellulase than those of fresh one. The increased enzyme activities of diseased ginseng were originated in those from infected pathogens, which showed a proportional relationship between enzyme activities and root-rot power of them.

The increases of enzyme activities during incubation of inoculated ginseng could be considerably depressed by controlling culture environments as to temperature below 4°C, pH 8-9, and relative humidity about 60%. Some metal ions and organic reagents also inhibited the enzyme activities of diseased ginseng. But their inhibitory effects were not so great that they might be used to protect the disease.

I. 緒言

人蔘 根腐病은 腦症, 莖症, 은괴, 根腐, 赤銹, 赤腐 등으로 알려진 病害로서 우리나라 모든 人蔘産地에 널리 分布되어 있고 被害가 가장 커 蔘政上 대단히 문제시 되어 있는 病害中的 하나이다.

人蔘 根腐病에 대한 研究는 1899년 花井¹⁾가 日本 島根縣의 재배지에서 根腐病을 비롯한 4종의 病을 檢出した 이래 上田²⁾, Zinssmeister³⁾, 町田⁴⁾, 中田·龍元⁵⁾ 등의 報告가 나와 있다. 특히 根腐病의 病原菌에 대하여는 일찍이 中田·龍元⁵⁾ 등이 *Fusarium*屬에 의하여 發病된다고 報告한 이래 최근에는 松尾·宮泥⁶⁾ 등이 *Fusarium solani* f. sp. *pisae*와 *Fusarium solani* f. sp. *panacis* n. f.에 의하여 根腐가 일어난다고 하였다가 *Fusarium* f. sp. *panacis*를 *Cylindrocarpon panacis*로 정정한 바 있다. 우리나라에서는 金⁷⁾이 病原菌을 *Fusarium solani ginseng* Kim 이라 命名한 바 있으며 李⁸⁾ 등은 *Fusarium*屬에 의한 根腐病의 防除를 위하여 藥劑試驗을 실시한

바 있다. 또한 金⁸은 赤腐病菌의 生理·生態에 관하여 연구한 바 있으며 鄭⁹은 주요 人蔘病의 生態 및 防除法에 관하여 연구한 바 있다. 筆者는 이상의 여러 연구를 토대로 하여 根腐病의 生化学的 機構를 규명하고 이에 따른 防除策을 수립해 볼 목적으로 根腐病의 진전에 따른 病蔘中 酵素活性을 측정하고 그 酵素活性에 미치는 여러 환경요인을 검토하였다.

그 결과 根腐病의 진전과 밀접한 관계가 있는 몇몇 酵素活性이 측정되었고 그들의 活性低下를 가져올 수 있는 몇몇 要因을 얻어 根腐病의 機構와 防除研究에 중요한 資料를 얻었다.

II. 材料 및 實驗 方法

1. 材料

(1) 試料人蔘: 본 실험에 사용한 人蔘은 京畿道 江華産 4年生 水蔘이었으며 신선한 것과 癩病된 것을 각각 사용하였다.

(2) 菌分離用 培地: 根腐病의 病原菌을 分離하기 위하여 4% nutrient agar (DIFCO Co.) 에 人蔘Ex를 5% 첨가하여 사용하였다.

(3) 農藥 및 化学藥品: 본 실험에 사용한 農藥은 한국농약(株) 제품인 Difolatan(N-tetrachloroethyl thiotetrahydropyridinamide 80%+증량제 20%)와 Captan(N-trichloromethyl thio 4-cyclohexen-1,2-dicarboximide 50%+증량제 50%), 동양화학(株) 제품인 Benlate(methyl-1-butylcarbamoyl-2-benzimidazol carbamate 50%+증량제 50%) 그리고 전진산업(株) 제품인 Homai(1,2-bis-3-methoxycarbonyl-2-thiourea benzene 50%+bis-dimethyl thiocarbomoyl disulfide 30%+증량제 20%)였으며 기타 化学藥品은 모두 試藥用 1級을 사용하였다.

2. 方法

(1) 菌分離: 病蔘을 滅菌증류수에 현탁시켜 그액을 分離用 平板培地에 無菌의으로 첨가한 후 30°C에서 5일간 배양하였다. 生成된 colony를 각각 따로 배어 위와 同一한 조건하에서 平板培養을 數回 반복함으로써 純粹分離하였다.

(2) 酵素液 調製: 生蔘 또는 病蔘을 同量의 증류수로 각각 마쇄한 후 30°C에서 30分間 抽出한 다음 遠心分離하여 얻은 上澄液을 酵素液으로 사용하였다.

(3) α -amylase 활성 측정: Smith and Ree의 photometric method¹⁰에 의하여 측정된 후 Ezyme Unit를 다음식에 의하여 계산하였다.

$$\frac{B-A}{B} \times 600 = \alpha\text{-amylase Units} / 100\text{ml}$$

단 A...消化管의 吸光度

B...非消化管의 吸光度

(4) β -amylase 活性 측정: 常法¹¹에 의하여 一定量의 starch solution을 糖化시킨 후 生成된 還元糖을 Nelson과 Somogyi法^{12, 13}에 의하여 copper alkaline 액과 arsenomolybdate 액으로 発色시켜 540nm에서 吸光度를 측정하여 그 吸光度로부터 酵素活性을 算出하였다.

酵素活性은 1分間에 還元糖 1 μ mole을 生成하는 量을 1 Unit로 하였다.

(5) Invertase 活性 측정: Pressey法¹⁴에 의하여 측정하였으며 1分間에 還元糖 1 μ mole을 生成하는 量을 1 Unit로 하였다.

(6) Catalase 活性 측정: Von Euler and Josephson法¹⁵에 의하여 측정하였으며 1分間에 H₂O₂

1 μ mole을 分解시킨 酵素活性을 1 Unit로 하였다.

(7) **Protease** 活性 측정: Anson法¹⁸⁾에 의해 측정하였으며 1分間에 tyrosine 1 μ mole을 생성하는 量을 1 Unit로 하였다.

(8) **Lipase** 活性 측정: Dole法¹⁹⁾에 의하여 측정하였으며 1分間에 free fatty acid 1 μ mole을 생성하는 量을 1 Unit로 하였다.

(9) **Cellulase** 活性 측정: CMC 液化力은 Tadashi wakazawa法¹⁹⁾에 의하여 측정하였으며 單位時間에 液化되는 層의 길이(mm/h)로써 酵素活性을 표시하였다.

한편 Cellulose powder(CP) 分解力은 Koaze法²⁰⁾에 의하여 측정하였으며 單位時間에 生成된 還元糖의 量(mg/h)으로서 酵素活性을 표시 하였다.

(10) 還元糖 含量 측정: Miller法²¹⁾에 의하여 측정하였다.

(11) **Soluble protein** 含量 측정: Lowry et al法²²⁾에 의하여 定量하였다.

(12) pH 측정: pH meter (Fisher Accumet Model 325)를 사용하여 측정하였다.

(13) **Total acid** 定量: 試料 1ml를 取하여 증류수 10ml로 희석한 후 phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1N NaOH로 적정하여 acetic acid로 환산하였다.

Ⅲ. 結果 및 考察

1. 生蔘과 病蔘의 酵素活性 比較

根腐病의 進展에 關係되는 酵素를 分別하고자 生蔘과 病蔘의 酵素活性을 측정比較한 結果는 Table 1과 같다.

Table 1. Comparison of enzyme activities of fresh and diseased ginseng

Enzymes	Fresh	Diseased
α -amylase(units)	293.3(100.0)	328.8 (112.1)
β -amylase(")	16.9(100.0)	25.2 (149.1)
Invertase(")	107.0(100.0)	157.9 (147.6)
Protease(")	0.01(100.0)	0.01(100.0)
Catalase(")	0.65(100.0)	2.36(362.8)
Lipase(")	0.00(-)	0.00(-)
CMC-Liq. (mm/h)	0.05(100.0)	0.11(220.0)
CP-Decom. (mg/h)	0.56(100.0)	1.03(183.9)

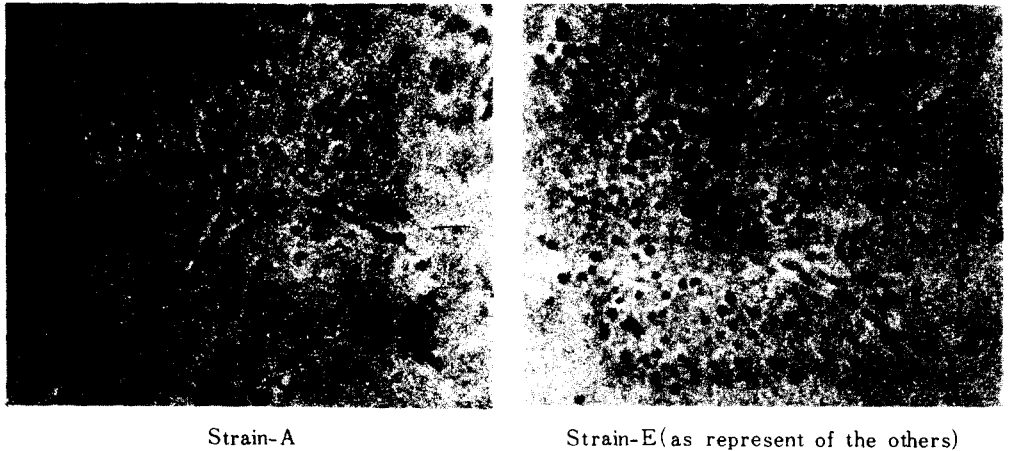
Table 1에서 보는 바와 같이 病蔘에서는 生蔘보다 α -amylase, β -amylase, invertase, catalase 및 cellulase의 活性이 현저히 컸으며 특히 glycosidase계통의 酵素活性이 컸다. cellulase는 CMC-액화력 및 C.P. 분해력에 있어 生蔘보다 약 200% 정도 활성이 크기는 하나 절대 酵素活性은 크지 못했다. protease 活性은 무시할 정도로 적었고 生蔘과 病蔘의 차이도 없었다. lipase 活性은 측정되지 않았다.

2. 病蔘에서 分離된 菌株와 酵素活性

(1) 分離菌株의 性状: 病蔘에서 分離된 菌株는 5種이었으며 그들의 性状은 Table 1 및 Fig. 1 같이 白色 또는 黄色 colony를 형성하는 세균이었다. 이들 세균은 모두 현미경 관찰에서 *Monococcus*로 보였으나 strain-A만이 *Streptococcus*로 보였다.

Table 2. Morphology of selected strains

Strains	Color of colony	Microscopic observation	Gram test
A	white	<i>Streptococcus</i>	negative
B	yellow	<i>Monococcus</i>	negative
C	yellow	<i>Monococcus</i>	negative
D	yellow	<i>Monococcus</i>	negative
E	white yellow	<i>Monococcus</i>	negative

Fig. 1. Microscopic observation of the selected strains ($\times 1500$)

(2) 分離菌株의 酵素活性: 分離菌株의 酵素活性을 측정 비교한 결과는 Table 3에서 보는바와 같이 Strain-A와 Strain-E가 비교적 酵素活性이 컸으며 특히 Strain-A가 모든 酵素에 있어 높은 活性을 나타내었다.

(3) 分離菌株의 人蔘腐敗力: 生蔘을 一定한 크기로 칼로 흠집을 낸 후 자외선 살균등으로 일정시간 살균한 다음 각각 分離한 菌株을 接種하여 恒溫培養하여 培養期間中 腐敗力을 관찰한 결과는 Table 4와 같이 人蔘腐敗力은 strain A와 strain E가 가장 컸으며 특히 strain A의 편이 더 현저하였다. 이는 Table 3과 잘 一致하는 경향이였으며 이로서 人蔘腐敗力은 酵素活性

Table 3. Relative enzyme activities from separated strains

Strains Enzymes	A	B	C	D	E
α -amylase	100.0	79.2	62.5	70.8	91.7
β -amylase	100.0	84.2	86.2	92.2	93.4
Invertase	100.0	70.0	40.0	27.5	90.0
Protease	-	-	-	-	-
Catalase	100.0	29.6	92.6	48.2	118.5
Lipase	-	-	-	-	-
CMC-Liq.	100.0	88.9	77.8	55.6	33.3
CP-Decom.	100.0	132.3	47.0	-	-

과 밀접한 관계가 있으며 酵素活性이 가장 큰 strain A가 根腐病의 主된 病原菌으로 보고 이 菌을 따로 분리 배양하여 酵素活性에 미치는 여러 因子의 영향을 고찰하였다.

Table 4. Rotting abilities of separated strains

Incub. Period (days)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Strains												
A		+	+	##	###	###	###	####	####	####	####	####
B			+	+	##	##	##	###	####	####	####	####
C			+	+	##	##	##	##	##	##	####	####
D			+	+	+	##	##	##	##	##	##	####
E		+	+	##	##	###	###	####	####	####	####	####

* + represents softening, ## rot-begin, ### rot-developed, #### almost-rot, and ##### perfect-rot, respectively

3. 病蔘의 腐敗時期에 따른 酵素活性 및 關聯成分의 變化

根腐病의 機構를 고찰하기 위하여 미리 紫外線殺菌한 生蔘에 위에서 分離한 高活性菌株인 Strain-A를 一定量씩 接種하고 30°C 恒溫에서 培養하여 腐敗를 일으키면서 培養期間中 酵素活性 및 몇몇 關聯成分의 變化를 測定한 결과는 Fig. 2 및 Fig. 3과 같다.

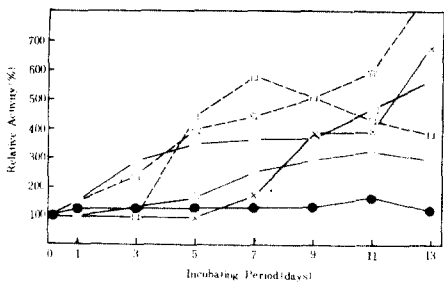


Fig. 2. Changes of enzyme activities of inoculated ginseng during incubation.
 ●—● α -amylase, \triangle — \triangle catalase,
 ○—○ β -amylase, ☆—☆ CMC-Liq,
 ×—× invertase, □—□ CP-Decom.

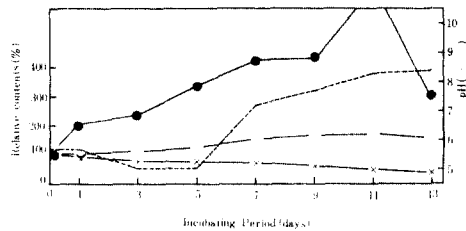


Fig. 3. Changes of component-contents of inoculated ginseng during incubation
 ●—● reducing sugar, ○—○ soluble protein, ×—× Total acid,
 — pH.

Fig. 1에서 보는바와 같이 α -amylase β -amylase는 菌接種후 1日만에 活性增加를 나타내었으며 α -amylase는 그 이후 11日까지 대단히 적은 증가율을 나타내다가 11日 이후에는 오히려 감소되는 경향을 나타내었으나 β -amylase는 接種 1日이후 계속적이고 현저한 증가율을 나타내었다.

Invertase와 catalase도 β -amylase와 마찬가지로 培養기간중 계속적이고 현저한 증가율을 나타내었으나 invertase는 培養初期에는 活性增加가 나타나지 않은 점이 특이하다. cellulase는 培養期間中 活性이 增加되었으며 活性增加率이 가장 높아 根腐病 進展에 큰 영향을 주는 것으로 思料된다. 또 CMC액화력은 계속적으로 增加되는데 비해 CP분해력은 培養

7일을 頂点으로 하여 그 이후에는 오히려 감소된 점이 특색으로 나타났다. 또 관련 성분의 변화를 보면 Fig. 2에서 보는데로 환원당과 soluble protein은 培養期間中 계속增加하다가 11일 이후에는 다소 감소되는 경향을 나타내었다. 여기서 환원당의 증가는 대단히 현저한데 이것은 glycosidase의 作用은 물론 CP분해력과도 관계된 것으로 보이며 soluble protein의 증가는 cellulase의 作用에 따른 遊離蛋白質의 溶解度增加에 관련되어 있고 한편 酵素蛋白質을 包含한 可溶性蛋白質의 生合成과도 관련되어 있는 것으로 해석된다.

Total acid함량은 培養期間中 지속적인 減小경향을 나타내었으나 菌에 의한 酸의 消耗로는 보이지 않고 pH변화의 결과로 보아 腐敗에 따른 塩基性 物質의 增加와 相關된 결과라고 해석된다.

4. 環境條件에 따른 病蔘의 酵素活性의 變化

(1) 溫度의 影響: 新鮮한 生蔘을 紫外線燈下에서 一定時間 殺菌한 다음 앞서 分離한 高活性菌株인 strain-A로 一定量씩 接種하여 各各 -20, 4, 20, 30°C로 11日間 培養한 후 酵素活性를 測定한 結果는 Table 5와 같다. Table 5에서 보는 바와 같이 室溫(20°C)에서의 酵素活性增加率을 100%로 하였을때 -20°C와 4°C에서는 20% 이하의 작은 酵素活性增大率을 나타냈으며 30°C에서는 120~200%의 높은 酵素活性 增大率을 나타내었다. 이 結果에서 人蔘根腐病의 進展과 關聯된 酵素活性 增大를 抑制하기 위해서는 低溫貯藏이 有利하나 -20°C는 組織凍結에 따른 惡變이 隨伴되어 일단 解凍한 후에는 腐敗가 加速되므로 不利하다.

Table 5. Relative increase rate of nzyme activities of diseased ginseng during 11 day incubation under different temperature

Enzymes \ Temp.	-20°C	4°C	20°C	30°C
α -amylase	2.3	12.3	100.0	159.0
β -amylase	3.7	10.5	100.0	181.1
Invertase	4.4	14.4	100.0	201.2
Catalase	8.6	16.8	100.0	149.1
CMC-Liq.	4.4	4.4	100.0	147.8
CP-Decom.	4.6	14.5	100.0	129.7

(2) pH의 影響: 紫外線殺菌한 生蔘切片을 pH가 다른 各各의 buffer液에 4時間 浸漬시켜 生蔘細織의 pH를 調節한 후 高活性分離菌株인 Strain-A를 一定量씩 接種시켜 30°C에서 11日間 培養한 후 酵素活性 增大率을 測定한 結果는 Fig. 4와 같다.

Fig. 4에서 보는바와 같이 대체로 培養中 酵素活性 增大는 酸性쪽이 현저히 컸으며 alkali 性 쪽에서는 酵素活性 增大가 抑制되었다.

이러한 增大幅의 크기는 β -amylase와 CP分解力의 경우가 가장 컸으며 invertase는 pH의 영향이 나타나지 않았다.

(3) 濕度의 影響: 앞서와 같은 요령으로 菌接種한 生蔘을 各各 60, 70, 80, 90, 100%의 相對 濕度下에 30°C에서 11日間 培養한 후 酵素活性 增大率을 測定한 結果는 Fig. 4와 같다.

Fig. 4에서 보는바와 같이 대체로 濕度가 增大함에 따라 酵素活性 增大는 컸으나 cellulase

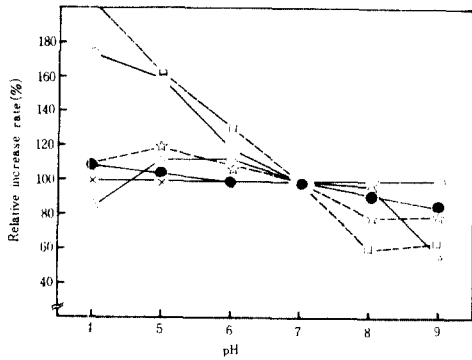


Fig. 4. Effect of pH on the increase of enzyme activities of diseased ginseng during 11 day-incubation ●-● α -amylase, Δ - Δ catalase, ○-○ β -amylase, ☆-☆ CMC-Liq., ×-× invertase, □-□ CP-Decom.

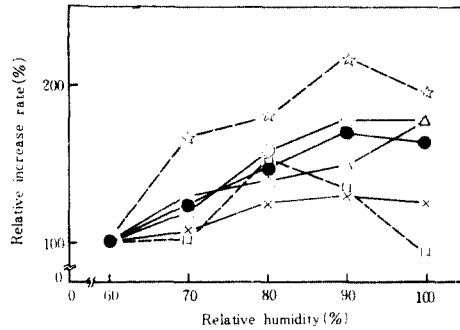


Fig. 5. Effect of humidity on the increase of enzyme activities of diseased ginseng during 11 day-incubation. ●-● α -amylase, Δ - Δ catalase, ○-○ β -amylase, ☆-☆ CMC-Liq., ×-× invertase, □-□ CP-Decom.

活性的 경우는 CMC-液化力은 90%, CP 분해력은 80%를 各各 頂点으로 하여 그 以上에서는 오히려 酵素活性 增大가 다소 抑制되었다.

(4) 金屬ion의 영향: 病蔘에서 얻은 酵素溶液에 10^{-1} moles의 金屬 ion을 添加하여 酵素活性를 測定해 본 結果는 Table 6에서 보는 바와 같이 대체로 金屬 ion은 모든 酵素活性에 阻害效果를 나타내었으며 catalase와 cellulase 그리고 α -amylase의 경우 현저하였다. 金屬 ion의 阻害效果는 2價 ion의 경우가 비교적 높은 편이었고 Ca^{++} , Cu^{++} , Mn^{++} 등이 현저하였다. Fe^{++} , K^+ 의 경우도 invertase를 제외한 모든 酵素에 현저한 阻害效果를 나타내었다. Ag^+ , Hg^{++} 등은 阻害效果를 나타내었으나 일반적으로 알려진 바와 같이 큰 阻害效果를 나타내지는 못하였다.

한편 몇몇 金屬 ion을 混合하였을때 酵素活性 阻害에 相剩效果는 발견되지 못하였다.

Table 6. Relative enzyme activities of diseased ginseng influenced by metal ions

Metals	Enzymes					
	α -amylase	β -amylase	Invertase	Catalase	CMC-Liq.	CP-Decom.
none	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
NaCl	93.6	124.6	113.3	46.9	100.0	53.4
KCl	84.4	77.1	123.3	87.5	80.0	50.6
AgNO ₃	87.2	77.4	-	59.4	70.0	97.2
CaCl ₂	89.0	57.4	53.3	85.9	90.0	53.4
MgCl ₂	88.1	108.2	53.3	85.9	100.0	74.6
CdCl ₂	93.6	100.0	103.0	81.3	90.0	78.8
CuCl ₂	84.4	91.8	93.3	82.8	60.0	57.7
ZnCl ₂	99.1	83.6	130.0	89.1	90.0	61.9
MnCl ₂	89.0	95.1	63.3	85.9	70.0	53.4
HgCl ₂	20.0	6.5	-	34.4	70.0	57.7
FeCl ₂	89.0	86.9	116.7	62.5	50.0	49.2

(5) 有機藥品 및 農藥의 영향: 病蔘에서 얻은 酵素溶液에 0.01%의 有機藥品 및 農藥을 添加하고 酵素活性을 測定해 본 결과는 Table 7에서 보는바와 같이 cellulase에 현저한 阻害效果를 나타내었으며 glycosidase와 catalase의 경우는 阻害效果가 현저하지 못하였다. 또한 使用된 有機藥品中 ethanol, methanol, phenol 등 -OH基를 가진 alcohol類가 현저한 阻害效果를 나타내었으며 農藥類는 酵素活性阻害에 큰 영향을 주지 못하였다. 또 몇몇 有機藥品 및 農藥을 混合하였을 때의 阻害 相乘效果는 나타나지 않았다.

Table 7. Relative Enzyme activities of diseased ginseng influenced by organic germicides

Enzymes Metals	α -amylase	β -amylase	Invertase	Catalase	CMC-Liq.	CP-Decom.
none	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
EtOH	84.8	98.4	87.1	56.3	90.0	45.0
MeOH	97.4	93.5	73.0	70.3	90.0	52.0
E. Ether	101.8	124.6	76.7	95.3	80.0	47.8
Acetone	89.0	83.6	130.0	100.0	90.0	61.9
HCHO	98.2	100.0	80.0	90.6	90.0	46.4
CH ₃ CHO	100.0	95.1	106.7	93.8	80.0	63.3
Phenol	97.1	77.1	83.3	78.1	80.0	47.8
Difolatan	89.8	95.2	260.0	96.9	90.0	45.0
Captan	89.3	114.8	146.7	103.1	80.0	52.0
Benlate	93.0	77.1	113.3	96.9	80.0	70.4
Homai	96.5	37.7	386.7	96.9	70.0	98.6
Ca-Bordeaux mix.	96.5	113.1	83.3	115.6	80.0	50.6

要 約

人蔘 根腐病의 生化学的 機構를 규명하고 그의 防除에 대한 基礎的 資料를 얻기 위하여 根腐病 進展에 따른 酵素活性과 關聯成分의 變化를 測定하고 또 培養中의 환경조건에 따른 病蔘의 酵素活性變化를 측정해 본 결과 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 病蔘의 경우 生蔘에 비해 α -amylase, β -amylase, invertase, catalase, cellulase 등의 活性이 현저히 컸다.
2. 病蔘에서 分離한 菌株의 酵素活性과 人蔘腐敗力은 比例하였다.
3. 人蔘根腐病이 進展됨에 따라 酵素活性이 계속 增加되었으며 초기부터 cellulase, β -amylase, catalase 등의 活性이 급격히 增加되다가 중기 이후부터 invertase, α -amylase 등의 活性도 함께 增加되었다.
4. 人蔘根腐病이 進展되면서 환원당이 현저히 增加되었고 可溶性 蛋白質도 다소 增加되었으나 總酸은 減少되었다.
5. 病蔘의 酵素活性 增大는 4℃ 이하의 低温, pH 8~9의 alkali성 및 60% 정도의 低温度下에서 현저히 抑制되었다.
6. 病蔘의 酵素活性에 미치는 金屬 ion의 영향은 catalase, cellulase 및 α -amylase에 현저한 阻害效果를 나타내었고 Ca^{++} , Cu^{++} , Mn^{++} 등의 2價 ion이 높은 阻害效果를 나타내었다.

7. 病蔘의 酵素活性에 미치는 有機藥品의 影響은 ethanol, methanol, phenol 등의 -OH基를 가진 物質이 顯저한 阻害效果를 나타내었으며 특히 cellulase 活性을 阻害하였다.

8. 病蔘의 酵素活性에 미치는 몇몇 農藥의 影響은 顯저하지 못하였다.

이 研究는 産學協同財團의 學術研究費에 의하여 이루어졌음을 감사히 여기며 또 本 研究를 위해 도와준 中央大 食品加工學科 大學院生 여러분께 감사를 드린다.

參 考 文 獻

1. 中田覺五郎, 瀧元清透: 勤模報告, 第5号, 60(1922)
2. 上田次郎: 農試報告, 第35号, 35(1909)
3. Zinssmeister, G. L.; *Phytopathology* 8, 557(1918)
4. 町田咲吉: 勤模報告 第2号 (1909)
5. 松尾卓見, 宮沢洋一: 日植病報 33(5), 346 (1967)
6. Kim, J. H.; The eleventh pacific Sci congress Tokyo, plant protection. (1966)
7. 이성환, 정후섭, 최승윤, 라용준: 문교부연구보고서농학제 117, 1-35(1968)
8. 金竹熙: 韓國微生物學會誌 6(4), 150 (1968)
9. 정후섭: 문교부학술연구보고서 25 (1969)
10. Smith, H. T. and Ree, J. H.; *J. Biol. Chem.* 179(1), 53(1949).
11. 日東大農化教室編: 實驗農芸化學(下) p622 朝倉書店 (1960)
12. Nelson; *J. Biol. Chem.* 153, 375(1944)
13. Phillip, B. H., Bernard, L. O. and William, H. S.; Practical physiol. Chem. p573. The Blanton Co. Inc. New York (1954)
14. Somogyi; *J. Biol. Chem.* 160, 62(1945)
15. Pressey, R.; *Arch. Biochem. Biophys.* 113, 667(1966)
16. H. Von Euler and K. Josephson.; *Ann* 452, 158 (1927)
17. Anson, M. L.; *J. Gen. physiol.* 22, 79(1938)
18. Dole, V. P.; *J. Clin. Invest.*, 35, 150(1956)
19. Tadashi Wakazawa et al., ; *J. of Ferment Technol.* 40,(2)89(1962)
20. Yoshihisa Koaze and Yujiro Yamada, ; *J. of Ferment. Tecgnol.* 42,(3)115(1964)
21. Miller, G. L.; *Analytical Chem.* 31, 426(1959)
22. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J. Fair, A. L. and Randall, R. T.; *J. Biol. Chem.* 193, 265(1951)