

振盪培養法에 의한 양송이 菌糸體의 生產

李 正 淑 · 李 瑞 來 · 劉 太 鍾*

韓國原子力研究所 · *高麗大學校 農科大學

(1975년 1월 29일 수리)

Production of Mushroom Mycelium (*Agaricus campestris*) in Shaking Culture

by

Jeong-Sook Lee, Su-Rae Lee and Tai-Jong Yu*

Korea Atomic Energy Research Institute and *College of
Agriculture, Korea University, Seoul

(Received January 29, 1975)

Abstract

Conditions for submerged culture of *Agaricus campestris* var. *bisporus* and the chemical composition of its mycelium were investigated.

In shaking culture with TGY basal medium at 27~30°C, pH tended to increase upon culture period, mycelial growth was the highest on 12th day, with relatively high nitrogen content of 7% and sugar in the medium disappeared almost at the end of culture period. As a nitrogen source, ammonium phosphate (dibasic) gave relatively high mycelial yield and the addition of yeast extract gave rise to better results. As a carbon source, glucose was the best, fructose, maltose, lactose and sucrose gave the same results, and soluble starch was utilized slightly.

Mushroom mycelium contained 48% of protein, 8 free amino acids including arginine, histidine, lysine, isoleucine, leucine, phenylalanine, proline, tyrosine and its protein consisted of most essential amino acids, with relatively high contents of lysine and threonine. Therefore, mushroom mycelium deserves to be a high quality protein food.

서 론

양송이(*Agaricus campestris*)는 특유한 香味成分 때문에 歐美諸國에서 오래전부터 食用되어 왔다. 국내에서는 1965년경부터 수출품목으로서의 기대때문에 그栽培가 급속히 확장되어 왔고 栽培床堆肥를 이용한 固體배양에 의하여 생산되고 있다. 그러나 양송이 子實體는 수확 후 그 鮮度가 끈 저하되므로 바로 가공 공정에 옮

기지 않으면 안될 뿐 아니라 그 재배에 있어서는 많은 노동력이 요구되며 또한 그 작업이 번잡하다. 그러므로 技術的 및 經濟的인 면에서 液體배양에 의한 大量生產이 가능하게 된다면 양송이의 가공공정 및 재배상의 문제점이 해결될 것이며 다른 한편 액체 배양된 양송이 菌糸體는 단백질源으로서 또는 香味料로서 좋은 食品原料가 될 것이다.

양송이 菌糸體의 液浸배양(submerged culture)을 위한 시도는 1938년 Lambert⁽¹⁾에 의하여 시작되었으나 그

의 經濟的 生產可能性能을 시사한 것은 1948년 Humfeld 의 보고⁽²⁾가 최초라 할 수 있다. 이에 따라 양송이를 비롯한 여러 가지 버섯類의 液體 배양을 위한 연구가 활발하게 전개 되었다⁽³⁾.

Humfeld 및 Sugihara⁽⁴⁻⁶⁾는 양송이의 액체배양에 있어서 营養要求, 培養方法, 菌糸體의 영양성분 및 flavor 등에 관한 일련의 실험을 통하여 양송이 균사체는 값싸게 대량으로 생산될 수 있으며 soup, gravy, 香味料 및 種菌(spawn)으로서의 利用可能性能을 제시하였다. Reusser 등⁽⁷⁾과 Falanghe⁽⁸⁻⁹⁾는 천연배지를 이용한 液浸 배양에 의하여 단백질 및 유지 자원으로서의 양송이 菌糸體의 생산조건을 보고하였다. Moustafa⁽¹⁰⁾는 양송이 균사체의 생산 및 flavor 발생을 위한 배양기의 조건에 관한 일련의 실험을 수행하였다. 이들의 보고에 의하면 액체배양한 양송이 菌糸體는 단백질이나 비타민 B 함량이 많은 다른 식품과 비교될 수 있으나 양송이 子實體와 꼭 같은 flavor를 나타내기 어렵다는 것이 공통된 문제점으로 제기되고 있다.

본 연구는 양송이의 액체배양에 관한 국내에서의 보고가 별로 없는 점을 감안하여 영양가치 있고 향기좋은 양송이 菌糸體를 국내에서 생산하는데 필요한 자료를 얻고자 착수되었다. 그리하여 양송이의 몇 가지 균주 중 균사생산량 및 단백질함량이 많은 것을 선정하고 그의 배양조건을 설정하였으며 균사체의 영양적 가치를 판단하기 위한 예비적 실험을 수행하였으므로 이에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 供試菌株

본 실험에 사용한 균주는 全羅北道 裡里에 있는 南宮농장에서 분양받은 것으로의 *Agaricus campestris* var. *bisporus* 304, 305, 501, 503, 504, 703, 704의 7균주이다. 이들은 potato-dextrose-agar 사면배지에 보존하였다.

2. 優秀菌株의 選別방법

건열살균한 100ml 삼각후라스크에 TGY 배지(10g tryptone, 5g glucose, 5g yeast extract 및 1000ml 종류수) 30ml 씩 넣고 15lb에서 20분간 살균하였다. 이에 사면배양으로부터 0.5cm² 정도에서의 균사체를 따서 접종하고 25°C의 왕복식 진탕배양기에서 120 rpm으로 9일간 배양하였다. 이와같이 種培養한 菌糸體는 150ml의 살균수로 세번 수세한 후 Waring blender로 30초 동안 갈아 40ml의 혼탁액을 만들었다. 이 혼탁액 2ml 씩을 Table 1과 같은 組成의 합성배지 250ml 씩을 넣은 500ml 진탕배양용 후라스크에 접종하고, 27~30°C에서 120 rpm의 회전식 진탕배양기(Yanagimoto model M-24)에

서 15일간 배양하였다. 이와 같이 각 균주별로 2반복 배양한 균사체의 乾物量과 全窒素量을 정량하였다.

Table 1. Composition of synthetic culture medium I⁽¹¹⁾

Constituent	Amount/l
Glucose	25.0 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	4.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
Trace element solution*	10 ml
pH adjusted to 6.5	

* Trace element solution, contained per liter: 100g MgSO₄·7H₂O, 20g NaCl, 2.0g CaCl₂, 5.0g MnSO₄·H₂O, 0.5g FeCl₃·6H₂O, 0.005g CuSO₄·5H₂O, 0.15g ZnCl₂.

3. 培養 방법

보존용 사면배양에서 0.5cm² 크기의 균사체를 40ml TGY 배지가 담긴 250ml 삼각후라스크에 접종하고 25°C의 어두운 상태에서 7일간 진탕 배양시킨 것을 種 배양으로 하였으며, 이에 살균한 glass bead를 넣어 세게 혼들어 주므로써, 균사 혼탁액을 만들었다. 이 혼탁액 2.5ml 씩을 TGY 배지, Table 1 또는 2와 같은 배지 100ml 가 담긴 500ml 진탕배양용 후라스크에 접종하고 회전식 진탕배양기에서 27~30°C, 100 rpm에서 어두운 상태로 진탕배양하였다.

Table 2. Composition of synthetic culture medium II⁽⁴⁾

Constituent	Amount/l
Glucose	50 g
KH ₂ PO ₄	0.87 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.40 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.37 g
H ₃ PO ₄ (2N)	5.1 ml
Trace element solution*	20 ml
Nitrogen source**	1.4 g N

* Trace element solution, contained per liter: 0.5g FeCl₃·6H₂O, 0.36g MnCl₂·4H₂O, 0.20g ZnCl₂, 0.05g CuSO₄·5H₂O

** Nitrogen source as:

- a) L-Asparagine 7.50 g
- b) Monosodium glutamate (MSG) 16.90 g
- c) Peptone 8.75 g
- d) Urea 1.40 g
- e) NaNO₂ 6.89 g
- f) NaNO₃ 8.49 g
- g) NH₄NO₃ 4.00 g
- h) (NH₄)₂SO₄ 6.60 g
- i) (NH₄)₂HPO₄ 6.60 g

4. 분석 방법

1) 菌糸體의 乾物量

배양기간이 끝난 배양액은 Buchner 여두를 이용하여 균사체를 뻗어한 뒤 증류수로 세척하고 60°C vacuum oven에서 24시간 건조시킨 뒤 다시 105°C에서 2시간 건조시켜 균사체의 乾物量으로 하였다.

2) 一般成分

水分, 粗脂肪, 粗蛋白質, 粗섬유, 粗灰分은 常法⁽¹²⁾에 의하여 각각 정량하였으며, 還元糖은 Fehling-Lehmann-School 變法⁽¹³⁾에 의하여 정량하고 glucose 當量으로 표시하였다.

3) 遊離아미노산

乾物試料 4.0 g에 70% ethanol 150 ml를 가하고 homogenizer로 마쇄시킨 뒤, 2시간 reflux하여 Buchner여두로 여과하고 70% hot ethanol로 3회 세척하였다. 여과 세척액은 flash evaporator로 alcohol을 제거하고 Amberlite IR-120 column (200~400 mesh, I. D. 2.3×12 cm)을 통과시켜 아미노산을 흡착시키고, 수세후 1 N NH₄OH로 아미노산을 용출시켰다. 이 용출액을 농축

Table 3. Analysis condition of amino acids by liquid chromatography

	Neutral and acidic amino acids			Basic amino acids		
Sample No*	1	2	3	1	2	3
Samplesize(ml)	0.5	0.2	0.4	0.5	0.2	0.4
Column Resin	0.9×50 cm Hitachi custom ion exchange resin 2612			0.9×50 cm Hitachi custom ion exchange resin 2611		
Flow rate;						
Buffer soln.	60 ml/hr			60 ml/hr		
Ninhydrin reagent	30 ml/hr			30 ml/hr		
Column temp.	55°C constant			55°C constant		
Buffer soln.	pH 3.25 and 4.25			pH 5.28		
	0.2M citrate buffer			0.35M citrate buffer		
Buffer change time	70 min					
Analysis time	185 min			165 min		
Chart speed	12 cm/hr			12 cm/hr		

* Sample No. 1: Standard mixture of authentic amino acids containing 0.25 μmoles each from Calbiochem Co. AA-5

Sample No. 2: Protein hydrolyzate of mushroom mycelium

Sample No. 3: Free amino acids of mushroom mycelium

하여 10 ml로 定容하고 여기에서 일정량을 취하여 ninhydrin 반응에 의하여 유리 아미노산의 함량을 정량하였다. 또 아미노산 組成은 Hitachi model 034 Liquid chromatograph로 Table 3과 같은 조건하에서 吸光度를 자동기록하고 proline은 파장 440 mμ, 기타 아미노산은 570 mμ에서의 吸光度로부터 각개 성분의 농도를 계산하였다.

4) 蛋白質의 아미노산 組成

3) 에서와 같이 유리 아미노산을 제거한 건조 殘渣 100 mg에 6 N HCl 1ml를 가하고 질소캐스 존재하에 110°C에서 24시간 가수분해 시켰다. 이를 凍結乾燥 시킨 후 0.2 M citrate buffer(pH 2.2)에 녹여 Hitachi model 034 Liquid chromatograph로 Table 3과 같은 조건하에 아미노산 組成을 분석하였다. Cystine은 가수분해중의 分解율을 감안하여 분석치에 2배를 곱하였으며 tryptophan은 분해되므로 분석치를 얻지 못하였다.

결과 및 고찰

1. 優秀菌株의 選定

양송이의 7개 균주를 TGY 배지에서 種培養하는 경우 균사체의 형태는 모두 작은 pellet을 이루고 있었다. Glucose와 (NH₄)₂HPO₄를 주성분으로 한 액체배지 I에서 7균주를 진탕배양하고 생성된 균사체의 乾物量과 총질소량을 보면 Table 4와 같다.

이 결과에서 보면, 질소함량은 503이 가장 높은데 반하여 균사생성량은 305보다 낮음을 알 수 있었다. 따라서 균사체의 질소함량이 비교적 높으면서 균사의 대량 생산이 가능한 305를 선정하였고, 이 균주를 대상으로 실험을 계속하였다.

Table 4. Mycelial growth and its nitrogen content of various mushroom strains in the synthetic culture medium I

Strain	Mycelial dry weight (g/l medium)	Nitrogen content(%)
304	0.2	5.1
305	7.8	6.8
501	2.5	5.4
503	5.7	8.7
504	1.1	7.6
703	0.1	8.0
704	0.5	5.4

2. 振盪培養중의 成分변화

재료 및 방법 3에서와 같이 種培養하고 TGY 배지에서 14일간 진탕배양하였을 때 시간경과에 따른 成分변화를 보면 다음과 같다.

가) pH

TGY를 기본배지로 하였을 때 양송이의 배양일수에 따른 배양기의 pH 변화는 Fig. 1과 같다. 이 그림에서 볼 수 있듯이 배양일수가 증가함에 따라 pH는 완만하나마 약간씩 증가하였다.

나) 菌絲體 乾物量

균사체의 배양일수에 따른 乾物量의 변화는 Fig. 1과 같다. 이 그림에서 볼 수 있듯이 2일까지는 증가가 별로 없었으며 4일부터 증가하기 시작하여 12일에는 급격한 증가를 보여주었다. 10일에는 128 mg 이었던 것이 12일에는 거의 2배가 되는 250 mg의 균사체에 달했음을 알 수 있었다.

다) 鈀사체 및 배지의 질소함량

배양일수에 따른 균사체 및 배지중의 질소량의 변화

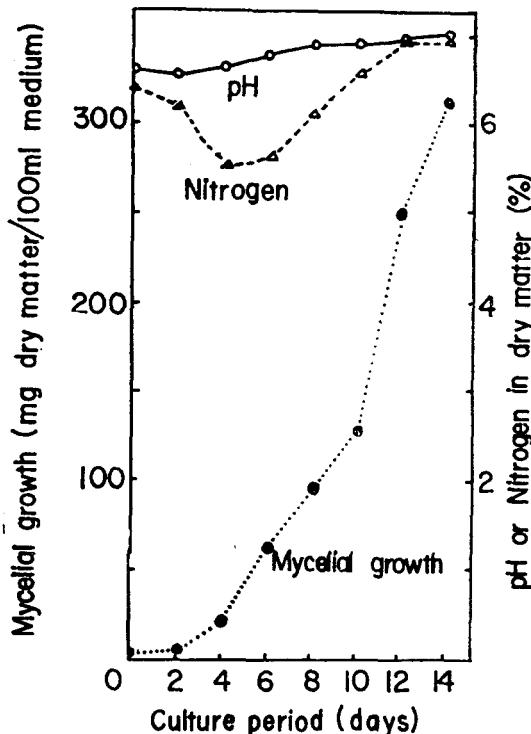


Fig. 1. Changes in pH of medium, mycelial growth and nitrogen content of mycelium in shaking culture of mushroom

는 Fig. 1, 2와 같다. 이 그림에서 볼 수 있듯이 乾物量에 대한 균사체의 질소함량은 접종일부터 4일까지는 감소 경향을 보여 주다가 그후부터는 증가함을 보여주었고 배양 12일에는 가장 높은 질소량을 보여주었다. 또 배지중의 질소량은 접종일부터 2일까지는 감소하였으며 그 이상의 배양일수에 있어서는 별 변화가 없음을 보여주었다.

라) 배지의 還元糖量

배양일수에 따른 배지내의 환원당량의 변화는 Fig. 2

와 같다. 이 그림에서 볼 수 있듯이 접종일로부터 2일까지는 급격한 변화를 보여 주었고 2일부터 6일까지는 완만한 감소를 보였으며, 그후 다시 급격히 감소하여 14일에는 환원당이 거의 다 소모되었음을 보여주었다. 이 결과로 보면 양송이 균사체의 발육은 환원당의 감소와 밀접한 비례관계에 있으며 다른 미생물과 비교할 때 그 성장이 매우 늦음을 알 수 있었다.

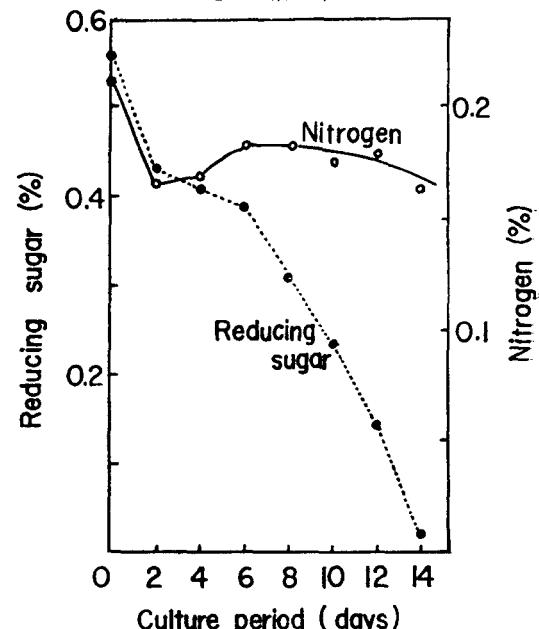


Fig. 2. Changes in nitrogen and reducing sugar contents of medium in shaking culture of mushroom

3. 菌絲발육에 미치는 培地組成의 영향

Table 1, 2에서와 같은培地組成에 있어서 탄소원으로 glucose를 사용하고 질소원을 달리하여 배양하였을 때와 또 이와 똑같은 조건에 yeast extract를 첨가하였을 때의 균사체 생성량을 비교하면 Fig. 3과 같다. 이에서 볼 수 있듯이 yeast extract를 첨가하지 않았을 때는 peptone을 넣은 배지에서 균사체가 가장 많이 자랐으며, yeast extract를 첨가하였을 때는 전반적으로 균사체가 증가하였음을 알 수 있다. 특히 MSG 또는 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (b)를 사용한 배지에서 현저한 균사체의 증가를 보여주었다. 여기에서 대량배양의 공업적 면을 생각하여 볼 때, MSG보다는 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (b)의 배지에 yeast extract를 첨가하고 탄소원을 달리하였을 때의 결과는 Fig. 4와 같다. 이에서 보면 균사체생성량은 glucose를 탄소원으로 하였을 때 가장 많았고 fructose, maltose, lactose, sucrose에 뛰는 거의 같았으며 가용성 전분에서는 매우 낮았다.

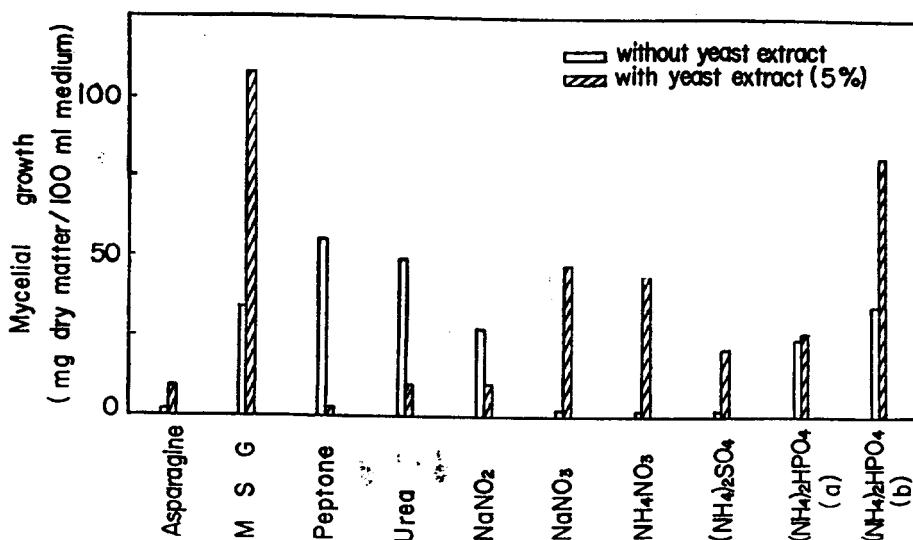


Fig. 3. Comparison of nitrogen sources for mycelial yield of mushroom in shaking culture (10 days growth) (all nitrogen sources added in culture medium II except $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (b) in culture medium I)

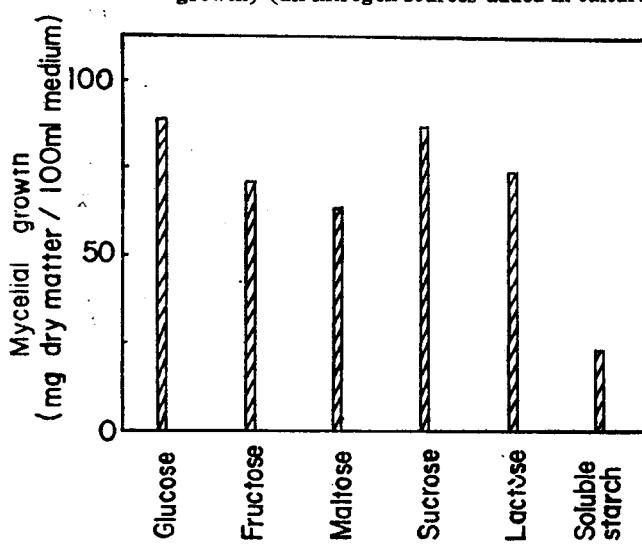


Fig. 4. Comparison of carbon sources for mycelial yield of mushroom in shaking culture (10 days growth)

4. 양송이 菌系體의 化學成分

가) 일반성분

TGY를 기본배지로 하였을 때, 선택된 최적 배양조건에서 배양된 균주 305의 균사체를 60°C 에서 風乾시킨 후 일반성분을 분석한 결과는 Table 5와 같으며 자실체의 일반성분과 비교하였다. 여기에서 양송이 균사체는 자실체보다 단백질 함량이 30~90% 더 많은 반면에 지방함량은 약간 적은 경향을 보여주었다. Reusser 등⁽⁷⁾과

Table 5. Proximate composition of mushroom mycelium in comparison with its fruiting body (%)

Constituent	Mycelium		Fruiting body	
	Air dried basis	Dry wt. basis	Dry weight basis (1)*	Dry weight basis (2)**
Moisture	8.0	0	0	0
Crude fat	2.6	2.8	1.8	8.0
Crude protein (Nx6.25)	44.4	48.1	37.5	24.2
Crude fiber	14.7	16.0	10.4	8.0
Crude ash	4.4	4.8	12.0	8.0
N-free extract	25.0	28.3	38.2	50.5

* Reference (14)

** Reference (15)

Falanghe⁽⁸⁾에 의하면 양송이의 菌株, 배지의 組成, 배양기간에 따라 균사의 단백질 및 지방함량이 달라지는 것으로 알려져 있으나 배양조건의 설정에 따라 단백질 함량이 높은 균사체를 얻을 수 있다고 생각된다.

나) 균사체의 遊離 아미노산

균사체의 유리 아미노산 함량은 風乾物 g 당 5.5 mg leucine 당량으로서 자실체의 1/5 정도였고 이들의 아미노산 組成을 automatic amino acid analyzer에 의하여 분석한 결과는 Fig. 5, Table 6과 같다.

이 결과에 의하면 균사체에서 8종의 유리 아미노산이 정량되었는 바 이들 중 상당량의 lysine이 있었고, tyrosine이 가장 적었다. 양송이 자실체의 유리아미노산 組成은 균사체의 그것과 상당히 다른 패턴을 나타냈

는데 이들 유리 아미노산의 차이가 呈味效果에 어떤 차이를 가져오는지는 앞으로 더追究되어야 할 것이다. 액침배양에 의하여 얻어진 양송이의 균사체는 고체배양에서 얻은 자실체의 full flavor를 나타내지 않는다고 하는 官能検査에 의한 지금까지의 보고^(4,6,10)를 감안할 때 흥미 있는 과제로 생각된다. 특히 균사체에서는 단백질

Table 6. Free amino acid composition of mushroom mycelium and fruiting body
(unit: mole%)

Amino acid	Mycelium	Fruiting body*
Alanine	—	29.7
Arginine	5.7	—
Aspartic acid	—	0.7
Glutamic acid	—	12.5
Glycine	—	4.5
Histidine	6.3	—
Isoleucine	2.5	0.8
Leucine	3.5	1.9
Lysine	60.6	2.0
Methionine	—	0.6
Phenylalanine	2.1	—
Proline	5.0	5.2
Serine	—	23.7
Threonine	—	15.2
Tyrosine	1.0	—
Valine	—	3.2
Unknown A (as leucine equiv.)	6.3	
Unknown B(〃)	7.0	
Total free amino acids (mg leucine equiv./dry matter)	5.5	26

* Reference (19)

아미노산이 아닌 未知의 염기성 아미노산이 2개 검출되었는 바 이의 同定도 이루어져야 할 것이다.

다) 균사체 단백질의 아미노산 組成

재료 및 방법 4,4)에서와 같이 前處理한 試料를 automatic amino acid analyzer에 의하여 정량한 결과는 Fig. 6, Table 7과 같다. 양송이 균사체에는 aspartic acid가 가장 많았고 alanine, glycine, glutamic acid, serine, leucine, lysine 등의 순서로 함유되었으며, cystine, methionine이 가장 낮은 농도를 나타내었다. 양송이 자실체에는 alanine이 가장 높은 농도로 함유되고 있는 반면 역시 methionine, cystine이 가장 낮은 농도를 나타내

Table 7. Amino acid composition of protein hydrolyzate of mushroom mycelium and fruiting body
(unit: mole %)

Amino acid	Mycelium	Fruiting body*
Alanine	11.2	12.3
Arginine	3.0	8.0
Aspartic acid	18.2	7.9
Cystine	0.5	0.5
Glutamic acid	10.0	11.3
Glycine	10.6	8.0
Histidine	1.9	2.1
Isoleucine	1.6	4.1
Leucine	9.0	6.6
Lysine	7.2	5.8
Methionine	0.5	0.7
Phenylalanine	1.9	3.0
Proline	6.0	10.5
Serine	9.6	6.1
Threonine	6.1	5.4
Tyrosine	1.0	2.5
Valine	1.7	5.1

* Reference (15)

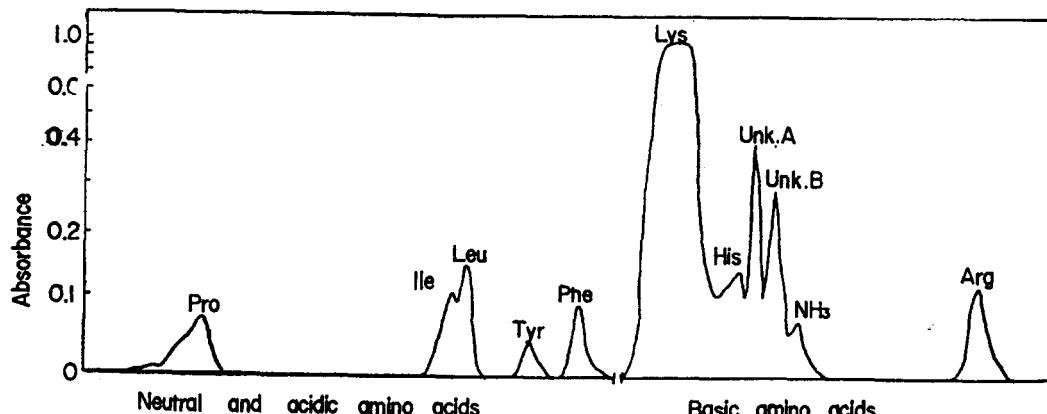


Fig. 5. Elution pattern of free amino acids in mushroom mycelium.

었다. 필수 아미노산으로서는 methionine 이 특히 부족한 반면 threonine, lysine 이 특히 많으므로 양송이 균사체를 단백질 원으로 사용하는 경우 곡류 단백질을補足하는 영양적 효과를 기대할 수 있을 것이다.

이러한 결과는 *Agaricus blazei*¹⁶⁾, *Tricholoma nudum*¹⁷⁾, *Morchella* 속¹⁸⁾ 버섯류의 균사단백질의 필수아미노

산組成과 비교할 때 상통되는 점이 있는 바 대체적으로 methionine이 부족한 반면 lysine이 많은 경향이 있으나 모든 필수아미노산을 함유하고 있었다. 따라서 양송이 균사체는 flavor 補充劑로서의 일차적 가치를 가지는 한편 특수 아미노산을 공급할 수 있는 부수적인 가치를 가지는 식품이 될 수 있다고 할 수 있다.

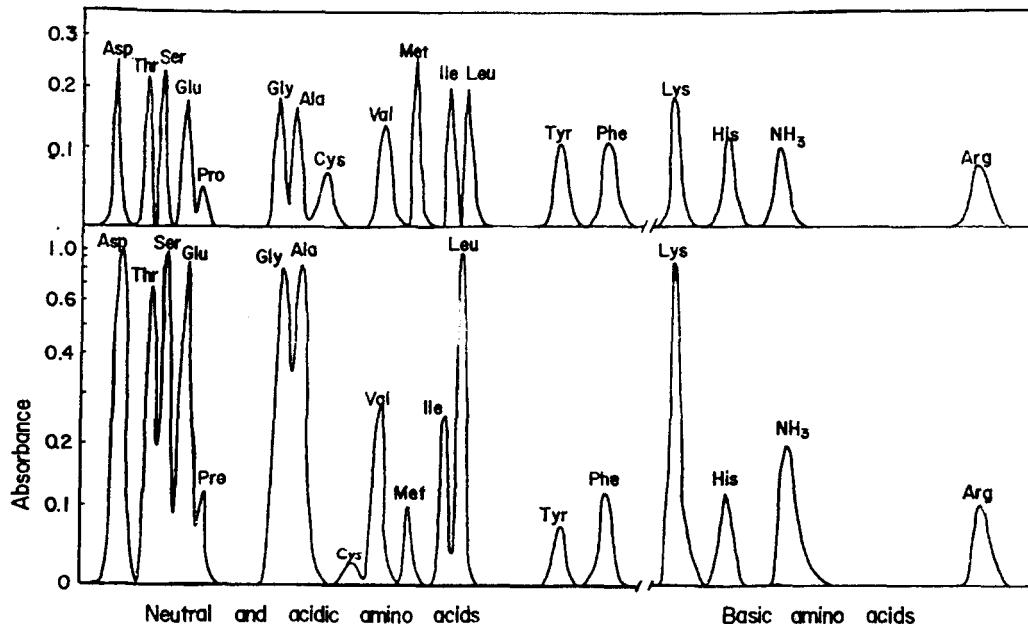


Fig. 6. Elution patterns of standard amino acids (upper curve) and protein hydrolyzate of mushroom mycelium (lower curve)

요 약

양송이(*Agaricus campestris* var. *bisporus*)의 액체배양을 위하여 TGY 培地에서의 배양조건을 보면 27~30°C 진탕배양에서 pH는 배양일수에 따라 증가하는 경향을 나타내었고, 培養 12 일에는 균체량의 생산도 많았고 질소함량도 7%를 유지하였으며, 배지중 탄소원은 거의 소실되었다. 배양기의 질소원으로는 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 에서 收率이 좋았고, yeast extract를 첨가하였을 때 균사체량이 더 증가하였다. 탄소원으로서는 glucose가 가장 좋았고 fructose, maltose, lactose, sucrose는 거의 비슷하였으며 가용성 전분은 거의 資化하지 못하였다.

양송이 菌絲體는 단백질 함량이 48%이고 遊離아미노산으로는 arginine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, proline, tyrosine의 8종이 검출되었으며 단백질에는 각종 必須아미노산 특히 lysine, threonine이 많이 포함되어 있으므로 高品質의 단백질 식품으로서 가치가 있음을 보여주었다.

신 南宮熙교수와 실험준비에 협조해준 金永培 碩士에게 謝意를 표한다.

참 고 문 헌

- 1) Lambert, E. B.: *Bot. Rev.*, 4, 397 (1938).
- 2) Humfeld, H.: *Science*, 107, 373 (1948).
- 3) Peppler, H. J. (ed.): *Microbial Technology*, Reinhold Pub. Corp., New York, Chapter 5 (1967).
- 4) Humfeld, H. and Sugihara, T. F.: *Food Technol.*, 3, 355 (1949).
- 5) Humfeld, H. and Sugihara, T. F.: *Mycologia*, 44, 605 (1952).
- 6) Sugihara, T. F. and Humfeld, H.: *Appl. Microbiol.*, 2, 170 (1954).
- 7) Reusser, F., Spencer, J. F. T., and Sallans, H. R.: *Appl. Microbiol.*, 6, 1 (1958).
- 8) Falanghe, H.: *Appl. Microbiol.*, 10, 572 (1962).
- 9) Falanghe, H.: *Food Technol.*, 21, 157 (1967).
- 10) Moustafa, A. M.: *Appl. Microbiol.*, 8, 63 (1960).
- 11) Litchfield, J. H., Overbeck, R. C. and Davidson,



- R. S.: *Agr. Food Chem.*, **11**, 158 (1963).
- 12) 京都大學 農學部 食品工學教室 編: 食品工學實驗書,
養賢堂, 東京, 上卷 p. 534-543 (1970).
- 13) 東京大學 農學部 農藝化學教室 編: 實驗農藝化學,
朝倉書店, 東京, 下卷, p. 587 (1959).
- 14) Anderson, E. E. and Fellers, C. R.: *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, **41**, 301 (1942).
- 15) U. S. Department of Health, Education, and Welfare and Food and Agriculture Organization of the United Nations: *Food Composition Table for Use in East Asia*, p. 218 (1972).
- 16) Block, S. S., Stearns, T. W., Stephens, R. L. and Mcandless, R. F. J.: *Agr. Food Chem.*, **1**, 890 (1953).
- 17) Reusser, F., Spencer, J. F. T. and Sallans, H. R.: *Appl. Microbiol.*, **6**, 5 (1958).
- 18) Litchfield, J. H., Vely, V. G. and Overback, R. C.: *J. Food Sci.*, **28**, 741 (1963).
- 19) 南宮熙: 全北大學校 博士學位論文 (1974).