

## 액침진탕 배양에 의한 *Monascus* sp. 가 생산하는 적색색소에 관한 연구

第 1 報 균주의 분리 및 색소생산 배양 조건

金炫洙, 金斗鉉, 梁鎬錫, 卞裕亮\*, 柳洲鉉\*

중근당 미생물 실험실, \*연세대학교 식품공학과  
(1979년 2월 18일 수리)

## Studies on the Red Pigment Produced by *Monascus* sp. in Submerged Culture.

Part I Isolation of Strain and Cultural Conditions of Pigment Produced

Hyun Su Kim, Doo Hyun Kim, Ho Suk Yang, Yu Ryang Pyun\*, Ju Hyun Yu\*

Microbiological Lab. Chong Kun Dang Co., \*Department of Food Engineering Yonsei Univ.  
(Received Feb. 18, 1979)

### Abstract

Fungi which produce red pigment were isolated from tapioca chips, Korean Koji, air, and plant leaves. Among the Fungi, T-1 strain was selected as test strain. This strain was identified as a *Monascus* sp. by the morphological properties.

Various culture conditions, and physical and physiological characteristics of red pigment were studied. According to the studies of culture conditions, optimum condition was found to be pH 6.5; 4 days of incubation; temperature, 32~33 c; 3.5% of Tapioca chips powder as carbon source, 0.2% of sodium nitrate as nitrogen source and 100 ml of medium in the 500 ml Erlenmeyer flask at a rotary shaker (rpm 180) as aeration condition.

Also effective levels of vitamins, amino acids and inorganic compounds was found to be 1 $\mu$ g/ml of folic acid and niacin; 0.3% of L-arginine, L-glutamic acid and L-proline; and 0.001% of manganese dioxide giving good results.

### 서 론

최근 식품분야에서는 일부 합성착색료를 천연착색료로 대체 사용하기에 이르렀고 이 분야에 개발

이 신장되고 있다.<sup>(1)</sup>

천연색소는 특수식물의 꽃, 잎, 뿌리, 과일 등으로부터 얻을 수 있고 동물계 색소는 많이 알려져 있지 않으나 미생물 색소는 옛부터 중국의 納酒(Ang-khak) 등이 음식물 착색에 이용되어 왔

다. (2,3)

미생물을 이용한 納麴색소는 1890년대 후반부터 연구되어 西川(4,5)이 액체배양으로부터 2종의 결정성 색소를 분리하여 Monascorubrin, Monascoflavin (Monascin과 동일명)으로 명명하였고 이후 Fielding, (6) Kumasaki 등(7)의 연구에 의하여 현재 까지 Rubropunctamin, Monascin, Monascorubrin, Ankraflavin, Rubropunctamin, Monascorubramine의 6점의 색소구조가 밝혀졌다. (8)

홍국색소 생산은 일본의 경우 월간 20 ton (1977년 8월 현재) 규모로 생산되고 있으며, Ching 등(9)은 액체배양에 의한 홍국색소를 강력히 생산하는 *Monascus* sp. F-2를 분리하고 변이주 *Monascus* sp. S-11를 분리하는 등의 연구가 있으나 우리나라에서는 송등(10)의 보고가 있을 뿐 아직 공업화를 이루지 못하고 있는 실정이다. 그러므로 발효원료로 수입된 Tapioca chips(태국산)와 곡자, 공기, 식물의 잎으로부터 히색계 색소를 다량 생산하는 미생물을 분리 동정하고 이 균주를 대량 생산이 가능한 액체배양조건과 그 성질을 검토하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 균주의 분리

Tapioca chips(태국산)와 곡자(koji) 중 홍색, 도색의 균락을 보이는 부분을 일정량씩 떼어 Saline TS액(11)이 걸지시킨 후 그 부유액을 고화된 분리용 배지에 0.5 ml씩 주입시켜 7일간 배양하였다.

공기로부터는 고화된 배지를 대기중에 30~60분 노출후 태양하였고 나무잎으로부터는 잎의 뒷면을 고화된 배지 상단(plate 뚜껑 안쪽)에 간격을 두고 부착시켜 낙화된 사상균을 각각 7일간 배양하여 붉은 균락을 나타내는 균을 분리하였다.

분리한 모든 사상균은 새로운 평면 배양기에 3회이상 분리 배양시킨 후 사면 보관하였다. (12,13)

분리용 배지는 Sabouraud Maltose agar(14,15)를 사용하였고 이 배지의 조성은 Neo peptone 10.0 g, maltose 40.0 g, agar 15.0 g, 증류수 1000 ml, pH 6.5이었다.

### 2. 균주의 선별

Czapek-Dox broth(16)와 Czapek-Dox broth 조성 분증 주탄소원으로 Tapioca chips 분말을 3.0% 첨가시킨 액체 배지에 분리한 균주를 1백금이씩 각

각 접종하여 32°C에서 4일간 진탕 배양시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여 가장 높은 흡광도를 나타내는 균주를 선별하여 본 실험에 사용하였다.

### 3. 균주의 동정

선별한 균주의 동정은 飯塚의 분류법(17,18)과 秦의 분류법(19)을 참조하여 동정하였으며 Slide culture法(20)으로 배양시킨 후 형태적 특성을 검정하였다.

### 4. 액체배양

배양용 삼각 flask 500 ml에 100 ml의 배지를 넣고 32~33°C에서 3~5일간 진탕배양(180 rpm)시켰다. 색소 생산용 액체배양의 기본 배지는 Table 1과 같은 배지조성을 사용하였다.

Table 1. Composition of the Medium for Production of Pigment.

Tapioca chips powder	30.0 g
NaNO <sub>3</sub>	3.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
KCl	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g
FeSO <sub>4</sub>	0.01 g
Distilled water	1000 ml
pH 6.5±0.2 after sterilization	

### 5. 색소의 추출과 측정

배양액에 60% ethanol을 1:1 되게 가하여 실온에서 4시간 진탕시키고 pH를 7.0으로 맞춘 후 membrane filter (Millipore: Type GS 0.45 μ)로 여과시킨 후 이 여액을 흡수 극대치인 500 nm에서 O. D를 측정(Beckman: Spectrophotometer ACTA C III)하여 색소량을 환산하였다. 균체내 색소는 균사체만을 모아서 증류수로 수회 세척한 뒤 Sonicator (Tony Seico Model UR-200 p)에 넣고 10 Hz에서 5분간 균체를 파괴하여 여과한 뒤 500 nm에서 O. D를 측정하였다.

### 6. 건조 균체량

배양액으로부터 여지상에 모인 잔사를 증류수로 3회이상 세척하여 105°C에서 1시간 건조한 다음 실온으로 냉각하여 건조균체량을 측정하였다.

Table 2. Production of Pigment by Various Type of Culture and Isolates.

Microorganisms	Production of Pigment (O. D 500 nm of broth)		Sources
	Czapek-Dox broth	Pigment producing Med.	
<i>Monascus pupureus</i> (IAM* 8010)	0.907	0.812	
<i>Monascus pupureus</i> <i>went</i> (HUT** 4012)	0.530	0.849	
<i>Monascus anka Nakazawa</i> <i>et Sato</i> (IAM 8001)	1.082	1.030	
<i>Monascus anka var</i> <i>rabellus Sato</i> (IAM 8081)	1.214	1.406	
<i>Monascus pilosus Sato</i> (IAM 8003)	0.413	0.537	
K-1	0.502	0.482	Korean koji
K-2	1.636	1.081	Korean koji
K-3	0.711	0.743	Korean koji
L-1	0.246	0.223	Cherry leaves
A-1	1.005	0.825	Air
A-2	0.430	0.710	Air
T-1	1.804	3.046	Tapioca chips

\* Institute of Applied Microbiology, Tokyo University.

\*\* Faculty of Engineering, Hiroshima University.

Med. : Medium

## 실험결과 및 고찰

### 1. 균주의 선별

보존균 5주와 Tapioca chips, 곡자, 공기, 식물의 잎으로부터 분리한 미생물 34주 중에서 홍색, 도색, 적색을 진하게 나타내는 미생물 7주를 선별하여 Czapek-Dox broth<sup>(16)</sup>와 색소생산용 기본배지 (Table 1)에서 액체 배양한 결과는 T-1이 가장 좋았다. (Table 2)

### 2. 균주의 동정

선별한 T-1균주를 Slide culture法<sup>(20)</sup>으로 배양시킨 후 형태적 특성을 조사하였다.

飯塚의 분류<sup>(17,18)</sup>에 따르면 Eumycetes 부문에는 균사의 격벽을 가지지 않는 Phycomycetes, 담자포자를 생성하는 Basidiomycetes, 자낭과 담자가 없고 무성포자만으로 번식하는 Fungi imperfecti 및 균사에 격벽을 가지고 자낭포자를 만드는 Ascomycetes의 4 과로 분류된다. 현미경으로 관찰한 사진 (Fig. 1, 2, 3)을 보면 Table 4에 표시된 것과 같이 균사에 격벽과 균사체 끝에 피자기를 가지고

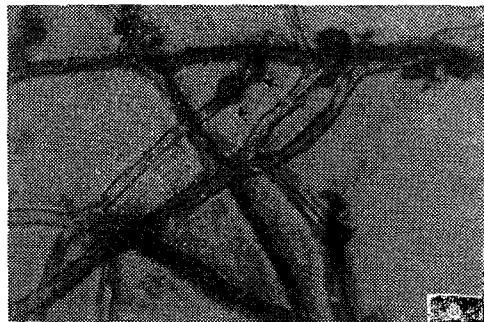
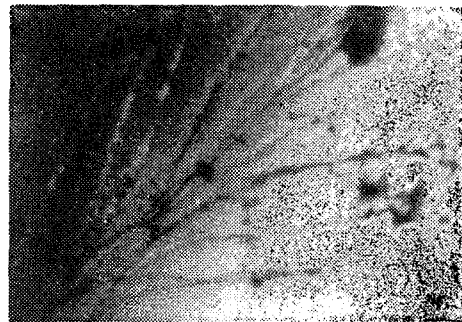


Fig. 1. Phosomicrographs of Strain T-1.

A: mycelium (×60), B: conidiospore (×600).

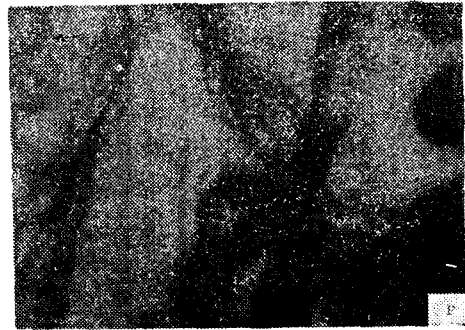
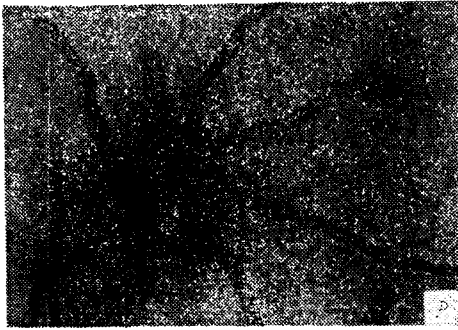
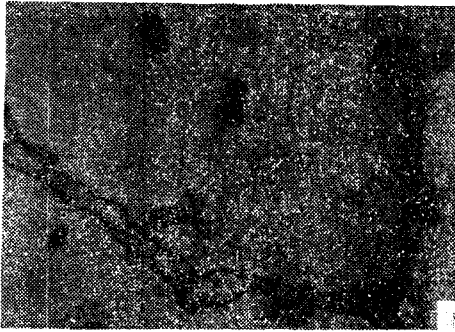


Fig. 2. Photomicrographs of Strain T-1.  
C: Peritheciium and chlamydospore ( $\times 600$ ),  
D: Spta and ascospore ( $\times 600$ ).

Fig. 3. Photomicrographs of Strain T-1.  
E, F: The conidiospore and chlamydospore  
( $\times 1500$ ).

자낭포자와 분생포자를 형성하고 특수구조인 후막  
포자가 있다. 그리고 병축세포, 가근, 결속사, 집

합포자 및 포 낭병이 없으므로 Ascomycetes에 속  
한다.

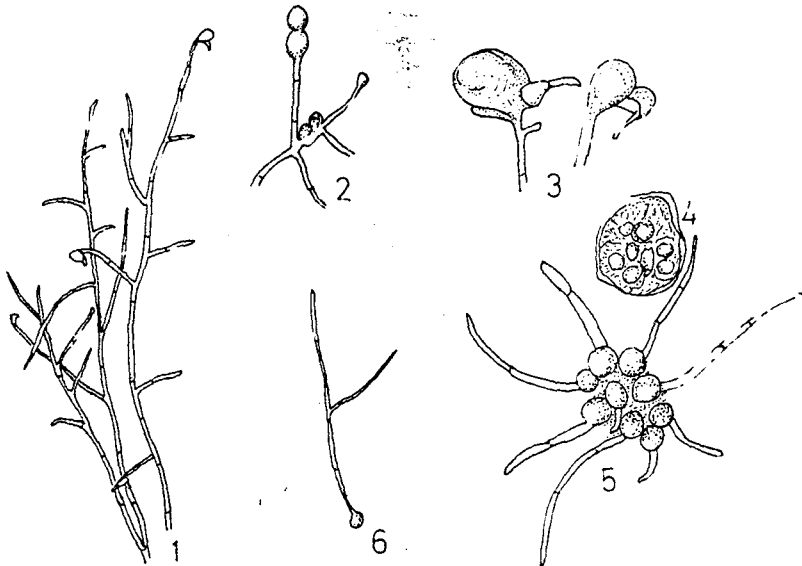


Fig. 4. Life cycle of the strain T-1.  
1, mycellium; 2, conidiospore; 3, 4, peritheciium and asscus; 5, 6, ascospore and mycelium.

선별한 T-1균주의 유성생식 생활사를 관찰한 결과는 Fig. 4와 같았다. 그리고 자낭과(Ascocarp) 형성이 불규칙하게 되어 있으므로 Plectascales목에 속하였다. 또한 Plectascales목의 7 과중 자낭이 피자기 벽으로 싸여있는 Aspergillaceae(黍의 분류<sup>19</sup>)에서는 자낭균류에 속할 때 Eurotiaceae로 분류)과에 속하였고 Aspergillaceae과의 3 속 중에서 T-1균주는 균사 맨끝에 1개의 피자기단을 착생하였으므로 *Monascus*로 동정할 수 있었다.

Table. 3. Morphological Properties of T-1 Strain.

	<i>Monascus</i> sp.*	T-1
Hyphae	+	+
Septa	÷	+
Ascospore	÷	+
Perithecium	+	+
Conidiospore	+	+
Oidia	—	—
Chlamydospore	+	+
Foot cell	—	—
Rhizoid	—	—
Coremium	—	—
Stolon	—	—
Zygospor	—	—
Sporangiophore	—	—

\* The typical *Monascus* sp.

### 3. *Monascus* sp.의 색소 생산조건

#### 1) 온도 및 pH에 의한 영향

분리 동정한 T-1균주의 배양온도와 pH에 대한 색소 생산의 영향을 검토한 결과 32~33°C에서 가장 높은 색소생성량을 보였고 40°C 이상에서는 생육이 되지 않았으며(Fig. 5) 초기 pH를 3에서 8까지 변화시켜 배양한 결과 pH 6.5 부근에서 가장 높은 색소생성량을 보여주었다. (Fig. 6)

#### 2) 탄소원에 의한 영향

탄소원의 종류를 달리하여 색소생성량의 영향을 본 결과 Fig. 7에서 보는 바와 같이 sucrose나 glucose, fructose 등의 단당류와 Maltose 등의 2당류보다 가용성전분, Tapioca chips분말의 다당류가 현저히 높은 색소생성량을 보였다.

Ching의 보고<sup>(21)</sup>에서 *Monascus* sp.의 탄소원 이용은 단당류보다 가용성 전분이 높은 색소생성을 나타낸 것과 유사하나 그 이유는 확실치 않다.

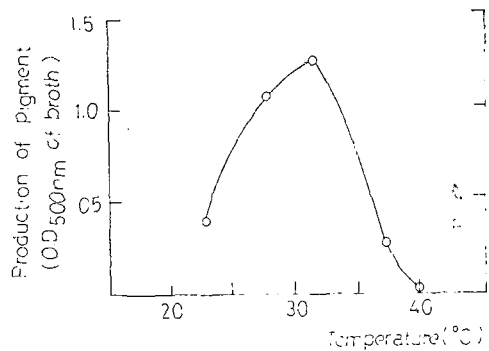


Fig. 5. Effect of Incubation Temperature on the Pigment Production.

Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) at the indicated temperatures for 3 days.

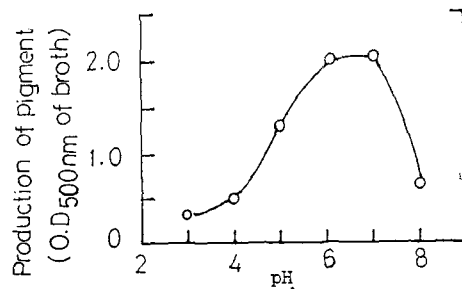


Fig. 6. Effect of pH on the Pigment Production.

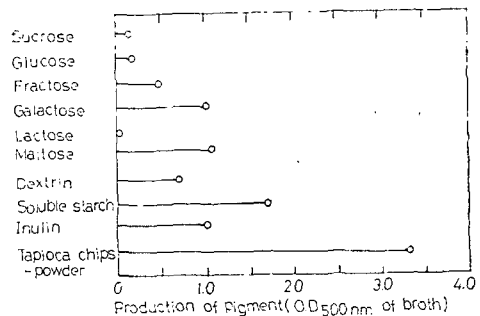


Fig. 7. Effect of Carbohydrates on the Pigment Production.

Each column indicates the effect of 3.0% of the indicated carbohydrate which was added to the pigment producing medium. Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) at 32-33°C for 5 days.

Tapioca chips 분말의 농도를 1.0%에서 5.0%까지 조절하여 배양한 결과 3.5%에서 가장 색소생

생량이 높았고 2.5% 이하의 농도에서는 색소생성량이 현저히 떨어지는 경향을 보여주었다. (Fig. 8)

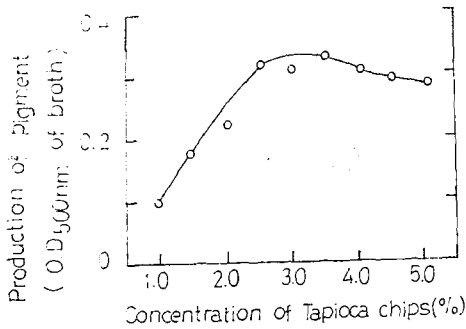


Fig. 8. Effect of the Tapioca Chips Powder concentration on the Pigment Production.

Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) at 32~33°C for 3 days.

### 3) 질소원에 의한 영향

질소원을 제외한 색소생산용 액체배지에 여러 종류의 질소원을 0.3% 첨가시켜 배양하였다.

Yeast extract와 peptone을 사용하였을 경우는 균체생성량이 높은 반면 색소생성량이 좋지 않았고 무기질소원에서는  $\text{NaNO}_2$ 가 제일 높은 색소생성율을 보였으며  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 에서 가장 낮았다.

Carels 등<sup>(3)</sup>은 *Monascus*의 색소생산 배지에서 ammonium이나 ammonium nitrate를 사용했을 때 orange색으로 되고 yeast extract나 질산염이 함유된 배지에서는 적색이 된다는 보고가 있고 柳 등<sup>(22)</sup>은 *Aspergillus*의 황색색소 생산배지 중 질소원에

Table 4. Effect of nitrogen Sources on the Pigment production.

Nitrogen sources	Dry weight of cell (g/100 ml)	Production of pigment (O. D 500 nm of broth)
Yeast extract	1.170	1.620
Peptone	1.250	1.935
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.904	1.024
$\text{NaNO}_3$	1.023	2.390
$\text{KNO}_3$	1.018	2.040
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	0.680	0.931

Each column indicates the effect of 0.3% of the each described nitrogen sources which were added to the pigment producing medium; pH was adjusted to 6.5.

Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) at 32~33°C for 5 days.

로 poly peptone과 yeast extract를 사용하는 경우 양호하다는 결과가 보고되어 있다.

그러나 본 연구에서는 유기태 질소원보다  $\text{NaNO}_3$ 나  $\text{KNO}_3$ 가 유효하였고 (Table 4) 색소생성에 있어서  $\text{NaNO}_3$ 의 농도는 0.2% 첨가가 좋았다. (Table 5)

Table 5. Effect of the Concentration of  $\text{NaNO}_3$  on the pigment production.

Concentration of $\text{NaNO}_3$ w/v	Production of pigment (O. D 5000 nm of broth)
0.05	0.237
0.10	0.537
0.15	3.135
0.20	3.210
0.25	3.184
0.30	3.131

Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) at 32~33°C for 3 days.

### 4) 통기효과에 의한 영향

진탕용 500 ml flask에 배지를 50 ml부터 175 ml 까지 단계별로 넣고 580 nm에서 투과도 25%의 inoculum을 고르게 희석하여 배지 50 ml당 0.5 ml 씩 비례적으로 접종하여 배양한 결과 100 ml의 배지용량에서 가장 효과가 좋았다. (Fig. 9)

### 5) Amino산에 의한 영향

유기태 질소인 18종의 Amino산(Tanbe Sgiyaku

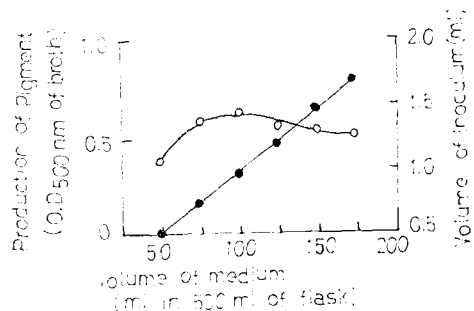


Fig. 9. Effect of Aeration on the Pigment Production.

○—○ : pigment, ●—● : Inoculum.

Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) at 32~33°C for 3 days in pigment producing medium. Varying the volume of medium contained in a 500 ml shaking flask.

제)을 액체배양용 배지에 0.3% 첨가하여 배양한 결과 L-proline, L-glutamic acid, L-arginine이 효과적이었다.

Ching, (21) Yoshimura (23) 등의 Amino산에 의한 효과와 유사한 점이 있으나 L-alanine이 무첨가와 비슷한 효과를 나타내는 것이 상이했고 L-phenylalanine, L-isoleucine, L-methionine, L-aspartic

**Table 6.** Effect of Amino Acids on the Pigment Production.

Amino acids	Production of pigment (O. D 500 nm)	Amino acids	Production of pigment (O. D 500 nm)
L-Try.	0.566	L-Pro.	1.717
L-Phe.	0.481	L-Ser.	0.966
L-Leu.	0.698	L-Glu.	1.485
L-Iso leu.	0.443	L-Asp.	0.481
L-Thr.	1.014	L-His.	0.593
L-Val.	0.924	L-Lys.	0.614
L-Met.	0.456	L-Cys.	0.884
Glycine.	1.081	L-Arg.	2.015
L-Ala.	0.896	L-Tyr.	1.021
		None	0.831

Each column indicates the effect of 0.3% of the each described amino acids which were added to the pigment producing medium: pH was adjusted to 6.5. Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) at 32-33°C for 3 days.

**Table 7.** Effect of Vitamins in the B group on the Pigment Production.

Vitamins	Production of Pigment (O. D 500 nm)
Biotin	2.146
Folic acid	2.431
Calcium-D-Pantothenate	2.204
Thiamine	2.094
Riboflavin	1.803
Niacin	2.644
Cyanocobalamine	1.318
Pyridoxine	1.519
None	2.084

Each column indicates the effect of 1 µg per ml of the vitamins which were added to the pigment producing medium. Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) at 32~33°C for 3 days.

acid 등은 색소생성을 저해하는 것으로 나타났다.

#### 6) Viitamin에 의한 영향

비교적 열안정성이 좋고 생육인자로서 영향이 큰 Vitamin B군을 첨가하여 배양한 결과 무첨가 배양보다 folic acid, niacin, calcium-D-pantothenate 등은 효과적인 반면 pyridoxine, cyanocobalamine, riboflavin은 색소생성이 좋지 않았다. (Table 7)

#### 7) 무기염류에 의한 영향

무기염의 농도를 0.001% 첨가시켜 배양한 결과 manganese dioxide가 첨가된 것이 가장 높은 색소생성을 나타내었으며 이들 각 무기염이 함유된 배지에서 배양된 색소액을 colorimeter에 의하여 적색, 황색 Unit를 측정된 결과 MnO<sub>2</sub>가 미량 첨가되어 배양된 색소액의 적색 Unit 비중이 황색 Unit 보다 높은 것은 MnO<sub>2</sub>가 적색색소 생성에 유효한 것으로 생각된다. (Table 8)

**Table 8.** Effect of Inorganic Compounds on the Pigment Production.

Inorganic Compounds	Red and Yellow units in 3 mm cell by Colorimeter.	Production of Pigment (O. D 500 nm)
NH <sub>4</sub> Cl	R 2.6 Y 2.2	2.318
Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	R 4.0 Y 2.6	3.104
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> R <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	R 2.5 Y 2.0	2.329
MnO <sub>2</sub>	R 4.4 Y 1.8	3.630
NaCl	R 3.6 Y 2.4	2.103
NaHSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	R 4.1 Y 2.4	3.018
None	R 3.2 Y 2.0	2.941

Each column indicates the effect of 0.001% of the indicated inorganic compounds which were added to the pigment producing medium. Cultivation was carried out on a rotary shaker (180 rpm) 32~33°C for 3 days. The value of red and yellow units were pigment broth in 3 mm cell by colorimeter.

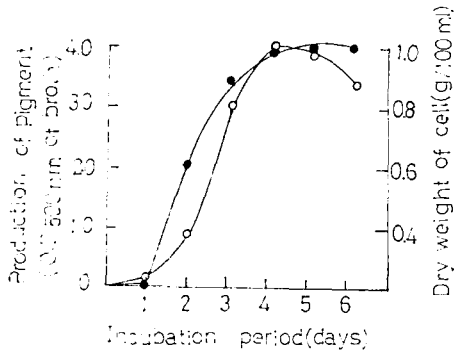
이상의 색소 생산조건의 검토결과 색소 생산의 최적 배지조성은 Table 9와 같았다.

#### 8) 배양기간에 의한 영향

Table 9의 배지를 사용하여 6일간 배양하여 경시적으로 검토한 결과 Fig. 10과 같았으며 4일간 배양된 것이 가장 색소생성율이 좋았고 4일 이후부터는 균체생성량에는 큰 변화가 없었으나 색소의 성상이 적갈색으로 변화하였다.

**Table 9.** Composition of the Medium for Production of Pigment.

Tapioca chips powder	35.0 g
NaNO <sub>3</sub>	2.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0 g
KCl	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g
FeSO <sub>4</sub>	0.01 g
MnO <sub>2</sub>	0.01 g
Distilled water	1000 ml
pH 6.5±0.2 after sterilization	



**Fig. 10.** Time course of the Pigment Production.

○—○ : pigment, ●—● : drycell weight.

Cultivation on a rotary shaker (180 rpm) at 32~33°C for 1 to 6 days, with the medium containing 3.5% of tapioca powder, 0.2% of NaNO<sub>3</sub>, 0.1% of K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.05% of KCl, 0.01% of MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.001% of FeSO<sub>4</sub>, 0.001% of MnO<sub>2</sub> pH was adjusted to 6.5; 100 ml of medium per 500 ml Erlenmeyer flask.

## 요 약

적색색소의 생산을 위하여 태국산 tapioca chips와 곡자, 공기, 식물의 잎으로부터 우수한 균주를 선별하였고 이의 형태적 특성을 조사 동정하였다.

배양조건으로 온도, pH, 탄소원, 질소원, 통기효과, amino산, vitamin, 무기염류 등이 색소생산에 미치는 영향을 조사하여 최적조건을 구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 선별된 균주는 형태적 특성을 근거로 균사에 격벽과 균사체끝에 피자기를 가지고 자낭포자와 분생포자를 만들며 특수구조인 후피포자가 있는 *Monascus* sp.로 동정되었다.

2) 최적 배양조건은 온도 32~33°C, pH 6.5, 탄소원으로 Tapioca chips 분말 3.5%, 질소원으로 NaNO<sub>3</sub> 0.2%, 금속이온은 MnO<sub>2</sub> 0.001% 첨가가 가장 좋았고 통기효과는 100/500 ml(v/v) 진탕배

양 (180 rpm)에서 4일 배양이 가장 효과적이었다.

## 참고문헌

- 1) 忠政博之 : 食品工業, **20**, 32 (1977).
- 2) 吉積智司 : 食品工業, **20**, 38 (1977).
- 3) Carels, M., and Shepherd, D.; *Can. J. Microbiol.*, **23** 1360 (1977).
- 4) 西川英次郎 : 日本農蘭化學會誌, **8**, 1007 (1926).
- 5) 西川英次郎 : 日本農藝化學會誌, **2**, 688 (1932).
- 6) Fielding, B. C., et al. : *Tetrahedron letters*, **5**, 24 (1960).
- 7) Kumasaki, S., et al. : *Tetrahedron letters*, **18**, 1171 (1962).
- 8) 尾上坦, 片山誠 : 食品工學, **20**, 52 (1977).
- 9) Ching, F. L., and Simon Joe, T. S. : *J. Ferment. Technol.*, **51**, 410 (1973).
- 10) 金昌混, 李叔熙, 金一 : 한국식품과학회지, **9**, 277 (1977).
- 11) Mack printing Co. : *The United States Pharmacopeia*, **XIX**, p. 67 (1975).
- 12) 정동효, 주현규, 유주현, 서정훈 : 미생물실험 p. 74 (1971).
- 13) 友田宣孝外 : 微生物 實驗法, p. 68~72 (1965).
- 14) Difco Lab. : *Difco Manual*, p. 240 (1974).
- 15) Merck, E. *Handbook of Microbiology*, p. 295 (1975).
- 16) Booth, C.; *Methods in Microbiology* (Booth, C., ed.), **IV**, Academic press, New York, p. 20 (1971).
- 17) 飯塚廣 : 微生物 Handbook, p. 665~669 (1967).
- 18) 飯塚廣 : 日本醱酵工學會大會講演要旨集, 101, p. 1 (1975).
- 19) 秦藤樹 : 微生物化學, 廣川書店, p. 20 (1975).
- 20) Booth, C.; *Methods in Microbiology* (Booth, C., ed.), **IV**, Academic press, New York, p. 66 (1971).
- 21) Ching, F. L. : *J. Ferment. Technol.*, **51**, 410 (1973).
- 22) 有馬啓, 柳洲鉉, 田村學造 : 日本農藝化學會誌 **42**, 571 (1967).
- 23) Yoshimura, M., and Yamanaka, S., et al. : *Agr. Biol. Chem.*, **39**, 1793 (1975).