

ε-Caprolactam 利用性 細菌의 分離 및 그 性質

崔 宣 澤 · 李 麟 九

慶北大學校 農科大學 農化學科

Isolation and Characteristics of ε-Caprolactam Utilizing Bacteria

Choi, Sun Taek · Rhee, In Koo

Dept. of Agricultural Chemistry, Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

Summary

A bacterium which utilizes ε-caprolactam as a sole source of carbon and nitrogen was isolated from sludge of Shinchun river in Taegu and identified as *Arthrobacter globiformis* N-2-1.

The growth medium for the optimum culture condition was composed of 0.4% ε-caprolactam, 0.02% K_2HPO_4 , 0.05% KH_2PO_4 , 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.01% $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ and 0.05% yeast extract. The optimum pH and temperature for growth were 7.0 and 30°C respectively. The bacterial growth on the ε-caprolactam medium did not require any other organic nitrogen source such as yeast extract, although it was remarkably stimulated by the yeast extract. The bacteria utilized wide range of sugars and organic acids such as α-ketoglutarate, adipate and p-hydroxybenzoate. The bacteria could use all kind of amino acids. ε-Caprolactam in the medium was consumed completely in the timecourse culture at 30°C for 60 hr on the shaker by the bacteria. Decomposition product of ε-caprolactam by *Arthrobacter globiformis* N-2-1 was ε-aminocaproic acid.

緒 論

현재 인류는 産業廢棄物 및 生活廢棄物의 축척에 유래하는 環境汚染이라는 중대한 問題에 직면하고 있다. 近年에 重化學工業의 發展과 함께 微生物에 의해서도 分解되기 어려운 物質들이 大量 배출되어지고 있다.

특히 化學적으로 合成되는 物質에는 非天然物도 있다.

ε-caprolactam은 合成섬유 nylon-6의 合成原料로

널리 使用된다. 이들 工場의 廢水中에는 ε-caprolactam, 6-aminohexanoic의 直鎖 및 cyclic oligomer가 流出된다. 이들 化合物들은 人爲적으로 合成된 物質로써 20世紀 以前의 自然界에서는 매우 희귀한 物質들이었다. 따라서 종래의 微生物들은 이들 合成물이 存在하는 環境에서 서식할 機會이 거의 없었으므로 이 化合物를 分解할 수 있는 微生物을 용이하게 찾아보기는 힘들다. 그러므로 이들 物質들의 分解는 類綠 化合物

을 代謝하는 機能에 依해 分解되거나 또는 微生物이 變異나 進化課程을 거쳐 分解機能을 獲得하여야만 分解가 可能했을 것이다.¹⁾ 實在로 微生物들은 進化의 可能性이 매우 크며, 또한 自體內에 잠재적인 能力을 많이 보유하고 있으므로 이들 物質들이 微生物에 依해 自然狀態에서 완전히 分解 可能할 것으로 생각된다.

Tosa와 Chibata¹³⁾는 微生物에 依해 ϵ -caprolactam으로부터 ϵ -aminocaproic acid가 生成된다는 사실을 報告한 것으로 보아 微生物이 ϵ -caprolactam을 炭素源 및 窒素源으로 利用할 수 있다는 可能性을 시사하였다. 또한 Fukumura^{3,5)}, Kinoshita⁷⁾ 등이 ϵ -caprolactam을 炭素源 및 窒素源으로 利用할 수 있는 微生物을 分離하여 報告한 바 있다. 韓國에는 nylon 製造 技術이 정착한지 상당한 期間이 지난 現在까지도 ϵ -caprolactam을 分解할 수 있는 微生物의 分離 및 性質에 對한 報告가 전혀 없는 실정이다. 따라서 國內 nylon 生産業體 三個會社 中的 하나인 株式會社 코오롱 대구공장의 廢水가 流入되는 大邱 新川에서 ϵ -caprolactam을 利用할 수 있는 菌 1株를 分離하여 이들 微生物의 性質과 培養條件 및 分解代謝 一部를 調査하였기에 報告하고자 한다.

材料 및 方法

1. 培地

ϵ -caprolactam 利用性 菌의 分離 및 培養條件을 검토하기 위하여 培地로는 0.4% ϵ -caprolactam, 0.2% K_2HPO_4 , 0.05% KH_2PO_4 , 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.01% $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 0.05% yeast extract를 1ℓ의 蒸溜水에 녹여 120°C에서 10分間 加熱 殺菌한 液體培地(이하 CL培地라 略함)를 使用하였다. stock culture는 CL培地에 1.5% 汗천을 加한 固體培地를 使用하여 繼代培養하면서 5°C에서 보관하였다.

2. ϵ -caprolactam 利用性 細菌의 分離

100 ml 삼각플라스크에 CL培地 20 ml를 넣고 大邱 新川 河床의 汚泥 및 土壤에서 채취해온 試料 0.1g을 接種하여 30°C에서 1週日間 ϵ -caprolactam利用性 菌을 集殖시킨 후 平板培養法에 의해 순수분리를 했다.

3. 分離菌의 同定

分離菌의 形態學的 性質 및 生理學的 性質을 檢討한

것을 基礎로 하여 주로 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8版²⁾에 따라 分類同定했다.

4. 生育度 測定

生育度は Bausch & Lomb社의 Spectronic 20으로 600 nm에서의 吸光度를 測定하였으며 培養液의 洗滌 菌體를 105°C에서 恒量이 될 때까지 乾燥한 菌體量과 吸光度로부터 生育度を 환산하였다. OD_{600} 1.0이 0.44 mg/ml에 상당한다.

5. 培養方法

種菌培養은 100 ml 삼각플라스크에 CL培地 20 ml를 넣고 CL汗천사면으로부터 1白金耳의 菌을 接種하여 30°C에서 20時間 振盪培養하여 使用하였다. 本培養은 種菌培養液 0.1 ml를 CL培地 20 ml를 넣은 100 ml 삼각플라스크에 接種하여 30°C에서 40時間에서 48時間동안 振盪培養하였다.

6. ϵ -caprolactam의 定量

培養液 中の 殘存 ϵ -caprolactam은 Kinoshita⁷⁾ 등이 변형시킨 Dragendorff 試藥을 使用하여 比色 定量하였다. 즉 1g의 bismuth subnitrate를 6N-HCl 60 ml에 녹인 후 10%-KI 용액 30 ml를 加하고 증류수로 全容量을 100 ml로 되게 하여 使用하였다. 上記의 試藥 1 ml에 菌體를 除去한 培液液 1 ml를 넣은 직후 dichloromethane 5 ml로 추출하여 Shimadzu UV 200 spectrophotometer로 365nm에서 吸光度를 測定하여 ϵ -caprolactam을 定量하였다.

7. ϵ -caprolactam의 加水分解 生成物의 檢定

培養液 中の 菌體를 고속저온 원심분리기(Hitachi 20 PR-52D)로 8,000 rpm에서 10分間 원심분리한 菌體를 0.85% NaCl 용액으로 洗滌한 후 冷 acetone으로 乾燥시켰다. 이 乾燥菌體 80mg에 1.0% ϵ -caprolactam 1.0 ml와 0.1M phosphate buffer (pH 7.0) 1.0 ml를 넣어 40°C에서 0, 2, 4, 8, 時間 反應시켜 냉각시킨 후 원심분리하여 그 上澄液을 試料로 使用하였다. 試料 中の ϵ -caprolactam의 가수분해 生成物은 paper chromatography^{7,11)}을 통하여 확인하였다. 이때 전개용매로는 n-butanol : acetic acid : water (4:1:2 V/V/V)를 使用하였으며, 發色劑로는 0.2% ninhydrin 용액을 使用하였다.

8. 試藥

本實驗에 使用된 ϵ -caprolactam은 和光純藥의 製品이며, ϵ -aminocaproic acid는 片山化學社의 것을

使用하였고, 그외의 試藥은 市販特級을 使用하였다.

結 果

1. ϵ -caprolactam 利用性 菌의 分離

大邱 新川의 대봉교로부터 新川橋 사이의 10개 지점으로부터 각 1點씩 試料를 채취하여 集積培養法에 의해 ϵ -caprolactam을 窒素源 및 炭素源으로 利用할 수 있는 菌 10株를 分離하여 그 중에서 ϵ -caprolactam利用性이 우수하고, 增殖速度가 빠른 1株(N-2-1)를 택하여 供試菌으로 하였다. 實在 分離된 菌이 ϵ -caprolactam을 炭素源 및 窒素源으로 利用할 수 있는가에 對한 여부를 알기 위하여 CL培地와 CL培地에서 yeast extract를 除外한 培地에서 48時間동안 培養하여 그 生育 여부로부터 ϵ -caprolactam의 利用性を 확인한 結果는 Table 1과 같다.

Table 1. Screening of ϵ -caprolactam-utilizing bacteria.

Strains	Cell growth (OD 600 nm)	
	with yeast ext.	without yeast ext.
N-1-3	4. 1	2. 3
N-2-1	5. 4	2. 0
N-3	3. 3	1. 4
N-4-1-1	4. 7	2. 7
N-4-2-3	4. 8	2. 5
N-7	4. 2	2. 3
N-7-1	4. 5	2. 4
N-8-1-3	4. 1	2. 0
N-8-2-2	4. 2	2. 1
N-8-2-3	3. 6	1. 6

The bacteria were cultured in ϵ -caprolactam medium for 48 hr at 30°C on the shaker.

CL培地가 yeast extract를 除外한 CL培地에서 보다 菌의 生育度가 우수하였지만 yeast extract가 결여된 培地에서도 ϵ -caprolactam을 利用하여 生育할 수 있었다.

2. ϵ -caprolactam 利用性 細菌의 菌學的 性質

供試菌(N-2-1)은 Gram染色에서 양성을 나타내며 對數增殖期의 菌의 형태는 불규칙한 桿菌이나 靜止期에는 球形이다. 半固體 培地에서 運動性이 없고 색상은 CL培地에서 黃色을 띄며 그 색소가 培地內로 확산하지 않았다. gelatin과 전분은 分解하나 tween-80은 分解할 수 없었다. nitrate를 還元시킬 수 없으며 catalase를 生産하나 oxidase는 生産하지 않았다. 그 외

Table 2. Morphological and physiological characteristics of the isolated strain N-2-1.

Gram staining	+
Motility	-
Morphology	irregular rod to coccoid
Pigment	yellow(not diffusible)
Gelatin hydrolysis	+
Starch hydrolysis	+
Tween 80 hydrolysis	-
Nitrate reduction	-
OF test	oxidative
MR test	-
VP test	-
Indole production	-
Citrate utilization	+
Oxidase	-
Catalase	+
Nutrient broth	turbid

+, positive ; -, negative

供試菌의 여러가지 特性은 Table 2와 같다.

이상의 性質을 綜合하여 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8版에 따라 分類한 結果 *Arthrobacter gobiformis*로 同定하였다.

3. 菌의 培養條件 檢討

1) yeast extract의 영향

本 菌의 生育에 있어 yeast extract가 ϵ -caprolactam의 利用에 필수적인 物質인가를 調査하기 위하여 CL培地에 yeast extract의 濃度를 다르게 하여 菌의 生育度를 調査하였다. 그 結果 菌이 ϵ -caprolactam을 利用함에 있어 yeast extract가 필수불가결한 요소는 아니

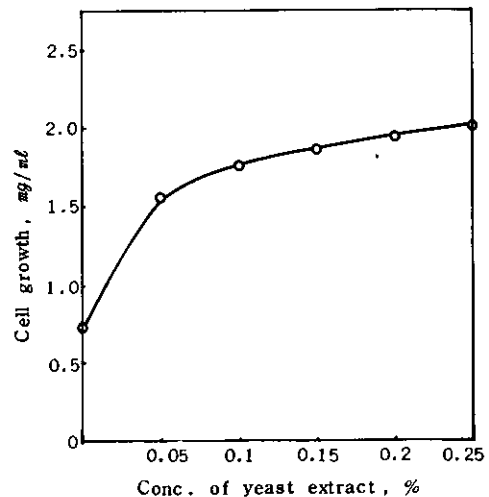


Fig. 1. Effect of yeast extract on cell growth.

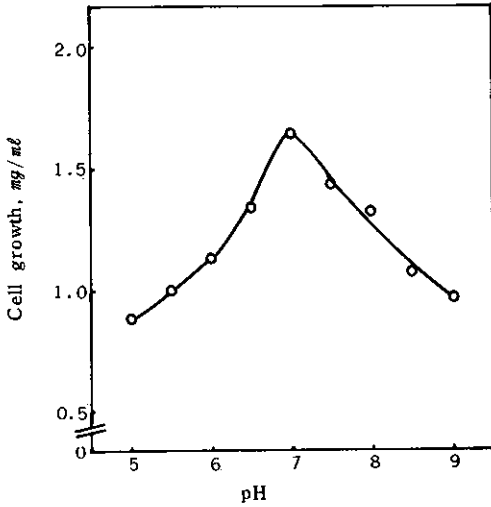


Fig. 2. Effect of pH of the medium on cell growth.

지만 N-2-1 菌株은 yeast extract를 첨가했을 때 생육이 크게 촉진되었다. CL培地에서 0.05% 이상의 yeast extract를 가했을 경우에도 0.1%를 가했을 때와 거의 유사한 생육상태를 나타내었다(Fig.1).

2) pH의 영향

菌의 생육에 미치는 pH의 영향을 조사하기 위하여 CL培地의 pH를 5.0에서부터 9.0까지調節하여 그 생육도를檢討했다. 최적 pH는 7.0 부근이었다(Fig. 2).

3) 溫도의 영향

菌의 생육에 미치는 溫도의 영향을 조사하기 위하여 培養溫度를 15°C에서 40°C로 조절하여 CL培地에서

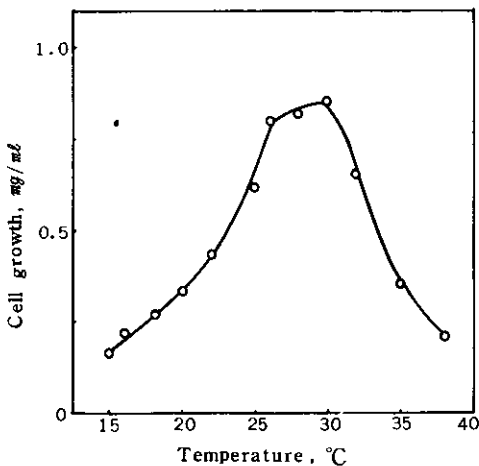


Fig. 3. Effect of temperature on cell growth.

30時間 培養시킨 후 각 溫度에서의 생육도를 比較檢討했다. 最適溫度는 25°C에서 32°C 사이에서 잘 생육했으며 특히 30°C에서 가장 높은 생육도를 나타내었다(Fig.3).

4) ϵ -caprolactam 濃도의 영향

菌의 생육에 미치는 ϵ -caprolactam 濃도의 영향을 조사하기 위하여 ϵ -caprolactam을 除外한 CL培地에 ϵ -caprolactam을 1.6%까지 濃度別로 加하여 菌의 생육도를 調査하였다. 48時間 培養시킨 結果 0.4% 濃度에서 가장 왕성한 생육상태를 나타내었다(Fig. 4).

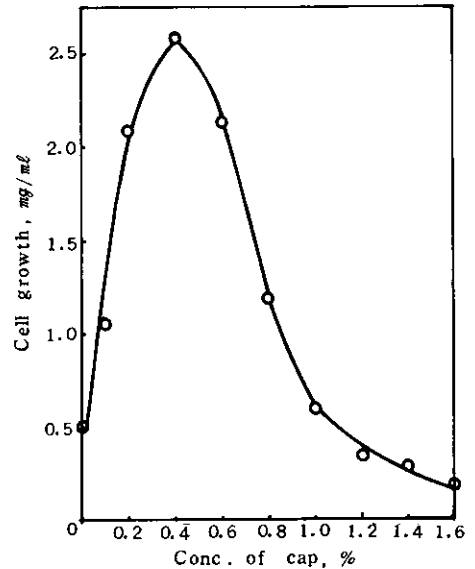


Fig. 4. Effect of ϵ -caprolactam concentration on cell growth.

5) 菌의 생육에 미치는 ϵ -caprolactam의 feeding 效果

초기의 CL培地에 ϵ -caprolactam을 0.2% 넣고 24時間 간격으로 ϵ -caprolactam을 0.2%씩 넣어주면서 24, 48, 72, 96시간까지 培養시켜 본 結果 ϵ -caprolactam 0.6% 농도까지 첨가한 72時間 培養에서 菌의 생육도가 가장 높게 나타났다(Fig.5).

6) 培養時間에 따른 *Arthrobacter globiformis* N-2-1의 增殖

培養時間에 따른 本 菌의 增殖과 ϵ -caprolactam의 分解 과정을 調査하기 위하여 0.4% ϵ -caprolactam을 함유한 CL培地에서 振盪培養하면서 菌의 생육과 ϵ -caprolactam의 감소량을 測定하였다(Fig.6).

菌의 생육은 대수증식기를 거친 다음 60時間 培養

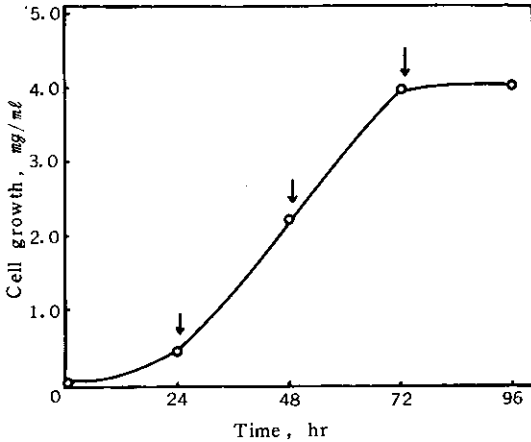


Fig. 5. Growth pattern with feeding of ϵ -caprolactam.

The bacteria were cultured in the liquid medium containing 0.2% ϵ -caprolactam at the beginning. 0.2% ϵ -caprolactam were added to the culture broth at 24, 48 and 72 hr. Arrows indicate the addition time of ϵ -caprolactam.

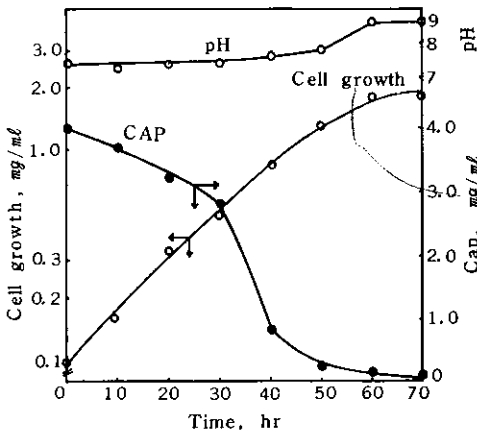


Fig. 6. Timecourse of the bacterial growth.

후부터 정지기에 도달하였다. 이때 ϵ -caprolactam의 소모는 菌의 增殖에 비례하여 감소하였으며 60時間 후에는 완전히 소모되었다. 培養過程 중 pH의 變化는 초기의 pH에서 점차 상승하여 60時間 후에는 pH 8.6으로 되었다.

4. *Arthrobacter globiformis* N-2-1에 의한 各種基質의 利用性 檢討

CL 培地에 炭素源인 ϵ -caprolactam 대신에 各種基質을 넣고 *Arthrobacter globiformis* N-2-1의 生育度를 調査하였다. CL 培地에서 ϵ -caprolactam 대신에 0.1%

(NH_4)₂SO₄와 0.1% NaNO₃를 加하고 炭素源으로 1.0% 糖을 넣어서 48時間 培養에서 maltose, rhamnose, trehalose, raffinose, mannose 를 특히 잘 利用하였고, xylose, lactose, galactose, fructose, glucose, sucrose 도 利用할 수 있는 것으로 나타났다 (Table.3).

Table 3. Utilization of sugars by the bacteria

Sugars (1.0%)	Cell growth (mg/ml)
None	0.2
Xylose	0.9
Lactose	0.8
Maltose	1.9
Galactose	0.8
Rhamnose	2.1
Trehalose	2.4
Fructose	0.6
Raffinose	1.5
Glucose	1.0
Mannose	2.0
Sucrose	1.1

Sugar was added to liquid media containing 0.1% ammonium sulfate and 0.1% sodium nitrate instead of ϵ -caprolactam.

또한 CL 培地에서 ϵ -caprolactam 대신에 0.4% 有機酸과 0.1% (NH_4)₂SO₄, 0.1% NaNO₃를 加하고 40時間 培養에서 α -ketoglutarate, adipate, p-hydroxybenzoate는 잘 利用하였고 citrate, succinate 도 利用하나 gluconate는 거의 利用할 수 없었다.(Table 4).

CL 培地에서 ϵ -caprolactam 대신에 0.1% 농도의 각종 amino acid를 加하여 40時間 培養한 結果 대부분의 amino acid를 잘 利用하는 것으로 나타났다 (Table 5).

Table 4. Utilization of organic acids by the bacteria

Organic acid (0.4%)	Cell growth (mg/ml)
None	0.03
ϵ -caprolactam	1.54
Citrate	0.97
α -ketoglutarate	1.47
Succinate	0.75
Adipate	1.65
Gluconate	0.13
P-Hydroxybenzoate	1.71

Organic acid was added to liquid media containing 0.1% ammonium sulfate and 0.1% sodium nitrate instead of ϵ -caprolactam

Table 5. Utilization of amino acids by the bacteria

Amino acids (0.1%)	Cell growth (mg/ml)
None	0.03
Valine	0.37
Glutamate	0.40
Arginine	0.42
Leucine	0.44
Histidine	0.40
Threonine	0.37
Asparagine	0.42
Amino caproate	0.29
Glycine	0.35
Lysine	0.37
Methionine	0.20

Amino acid was added to liquid media instead of ϵ -caprolactam.

5. ϵ -caprolactam의加水分解生成物同定

供試菌 *Arthrobacter globiformis* N-2-1의 炭素源 및 窒素源인 ϵ -caprolactam이 ϵ -amino caproic acid로 轉換되는지 檢討하기 위하여 CL培地에 48時間 培養한 菌體를 遠心集菌하여 洗滌한 後 乾燥시킨 菌體 80mg을 1.0% ϵ -caprolactam 1.0 ml와 0.1M phosphate buffer (pH 7.0) 1.0 ml를 넣어 40°C에서 0, 2, 4, 8時間 反應시킨 後 paper chromatography^{5,7}로 그 生成物을 調査하였다 (Fig. 7).

ninhydrin으로 發色시켰을 때 ϵ -aminocaproic acid

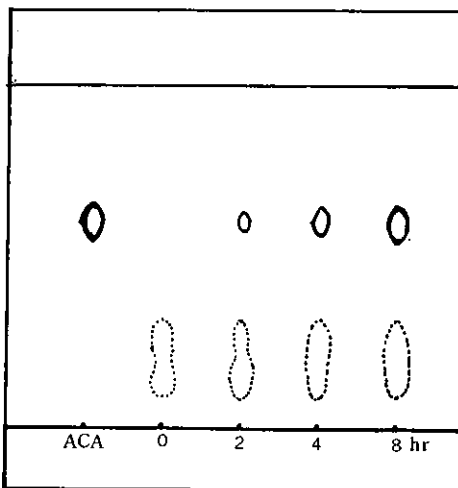


Fig. 7. Detection of product of ϵ -caprolactam hydrolysis.

solvent system, BuOH : HAC : W = 4 : 1 : 2 (V/V/V); ACA, standard ϵ -aminocaproic acid; Dotted spots, unknown ninhydrin positive substance.

와 Rf 值(0.57)가 같은 反應生成物이 反應時間이 경과할수록 分明하게 확인되었다. 그러므로 本 菌에 의해서 ϵ -caprolactam이 ϵ -aminocaproic acid로 轉換된다는 것을 알 수 있었다.

考 察

大邱 新川에서 分離된 *Arthrobacter globiformis* N-2-1은 炭素源 및 窒素源으로 ϵ -caprolactam을 잘 利用할 수 있었고 新川의 nylon 工場 廢水의 합류지점 부근에서 ϵ -caprolactam 利用能이 우수한 菌株가 많이 分離되었다. 이 菌은 이미 報告된 *Pseudomonas aeruginosa*^{3,13}, *P. desmolylica*³, *P. ovalis*¹³, *Achromobacter delmarvae*¹³, *A. cycloclastes*³, *A. guttatus* KF 71⁷, *Corynebacterium aurantiacum*²³, *C. roseum*³, *Mycobacterium smegatis*¹³ 와 ϵ -aminocaproic acid linear oligomers와 cyclic dimer을 利用할 수 있는 Kinoshita 등^{8,9,10}에 의해 報告된 *Achromobacter guttatus* KI72⁹와는 다른 種이었다. 菌의 生育에 있어서는 최적溫度와 yeast extract에 依해 촉진되는 현상은 지금 까지 分離 報告된 菌들과 유사하였고 Kinoshita^{7,9} 등은 pH 6 부근에서 生育이 가장 좋은 것으로 나타내었으나 本 菌株는 pH 7 부근에서 生育이 가장 좋은 것으로 나타났으며, Fukumura³, Kinoshita⁷ 등은 48時間 培養時 각각 ϵ -caprolactam 0.6%, 0.5% 농도에서 가장 生育이 좋은 것으로 報告되었으나 本 菌株에서는 0.4% ϵ -caprolactam 농도에서 가장 生育이 좋은 것으로 나타났다. 時間 경과에 따른 菌의 增殖은 60時間 以後 最高에 달했다. 또한 本 實驗에서는 微生物에 의한 ϵ -caprolactam의 代謝過程의 일부를 調査해 본 결과 ϵ -caprolactam으로부터 ϵ -aminocaproic acid가 生成되어 진다는 것을 확인하였다. Fukumura와 Teramura⁶에 의하면 ϵ -caprolactam의 분해가 細菌性 plasmid 依存性 이라는 事實을 報告하였다. 또한 Negoro 등²²에 의해서도 ϵ -aminohexanoic acid cyclic dimer 분해가 細菌性 plasmid 依存性이라는 事實이 報告된 바 있다. 앞으로 ϵ -aminocaproic acid의 代謝過程과 아울러 이에 대한 事實도 계속 확인해 보고자 한다.

摘 要

大邱 新川 河床 汚泥로부터 ϵ -caprolactam利用能이 우

수한 菌을 分離하여 *Arthrobacter globiformis* N-2-1로 同定했다.

Arthrobacter globiformis N-2-1의 培養을 위한 最適 培地의 組成은 ϵ -caprolactam 0.4%, K_2HPO_4 0.2%, KH_2PO_4 0.05%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02%, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.01%, yeast extract 0.05%이었다. 이 菌의 生育을 위한 最適 pH는 7.0, 溫度는 30°C 附近이었다. 本 菌은 무기염 培地에서 yeast extract 를 加하지 않고서도 ϵ -caprolactam을 잘 分解하여 增殖할 수 있었으나, ye-

ast extract 를 加하면 生育이 더욱 촉진되었다. 또한 本 菌은 대부분의 糖을 잘 利用할 수 있었고 有機酸으로는 α -ketoglutarate, adipate, p-hydroxybenzoate는 잘 利用하였으나 gluconate는 잘 利用할 수 없었다. 그리고 amino acid는 대부분 잘 利用하는 것으로 나타났다. 0.4%의 ϵ -caprolactam을 함유한 培地에서 60時間 培養으로 ϵ -caprolactam을 완전히 分解할 수 있었다. 分離 菌 N-2-1에 의한 ϵ -caprolactam의 分解 生成物은 ϵ -aminocaproic acid로 확인되었다.

參 考 文 獻

1. 木下晋一 1982, ナイロンオリコマーの 微生物分解とその 酵素. 醱酵工學, 60:363-375.
2. Buchanan, R. E., and N. E. Gibbons. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., Williams and Wilkins Co, Baltimore.
3. Fukumura, T. 1966. Bacterial breakdown of ϵ -caprolactam and its cyclic oligomers. *Plant & Cell Physiol.* 7 : 93-104.
4. Fukumura, T. 1966. Hydrolysis of cyclic and linear oligomers of 6-aminocaproic acid by a bacterial cell extract. *J. Biochem.* 59 : 531-536.
5. Fukumura, T. 1966. Splitting of ϵ -caprolactam and other lactams by bacteria. *Plant & Cell Physiol.* 7 : 105-114.
6. Fukumura, T., and Y. Teramura. 1982. Loss of ϵ -aminocaproate metabolism in *Corynebacterium auranticum*. *J. Ferment. Technol.* 60 : 469-472
7. Kinoshita, S., E. Kobayashi, and H. Okada. 1973. Degradation of ϵ -caprolactam by *Achromobacter guttatus* KF 71. *J. Ferment. Technol.* 51 : 719-725
8. Kinoshita, S., M. Muranaka, and H. Okada. 1975. Hydrolysis of ϵ -aminocaproic acid and cyclic dimer by cells entrapped in acrylamide gel. *J. Ferment. Technol.* 53 : 223-229.
9. Kinoshita, S., S. Kageyama, K. Iba, Y. Yamada, and H. Okada. 1975. Utilization of a cyclic dimer and linear oligomers of ϵ -aminocaproic acid by *Achromobacter guttatus* KI 72. *Agr. Biol. Chem.* 39 : 1219-1223.
10. Kinoshita, S., S. Negoro, M. Muramatsu, V. S. Bisaria, S. Sawada, and H. Okada. 1977. 6-aminohexanoic acid cyclic dimer hydrolase. A new cyclic amide Hydrolase produced by *Achromobacter guttatus* KI 72. *Eur. J. Biochem.* 80 : 489-495.
11. Moore, S., and W. H. Stein. 1954. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J. Biol. Chem.* 211 : 907.
12. Negoro, S., H. Shinagawa, A. Nakata, S. Kinoshita, T. Hatozaki, and H. Okada. 1980. Plasmid control of 6-aminohexanoic acid cyclic dimer degradation enzymes of *Flavobacterium* sp. KI 72. *J. Bacteriol.* 143 : 238-245.
13. Tosa, T., and I. Chibata. 1965. Utilization of cyclic amides and formation of ϵ -amino acids by microorganisms. *J. Bacteriol.* 89 : 919-920.