

*Candida parapsilosis*에 의한 Xylitol 생산시 Xylose와 Glucose가 미치는 영향

오덕근 · 김상용*

우석대학교 식품공학과, *동양제과(주) 기술연구소

Effect of Xylose and Glucose on Xylitol Production by *Candida parapsilosis*

Deok-Kun Oh and Sang-Yong Kim*

Department of Food Science and Technology, Woosuk University

*Tong Yang Confectionery Co., R&D Center

Abstract

Effects of xylose and glucose on the xylitol production were investigated with *Candida parapsilosis* KFCC 10875. With increasing the ratio of glucose to xylose, xylitol production decreased but ethanol and glycerol production increased. The maximum concentrations of ethanol and glycerol were 21.5 g/l and 3.6 g/l, respectively, in a medium consisting of 10 g/l xylose and 40 g/l glucose. No xylitol was formed in the glucose medium without xylose since xylitol could not be produced from glucose alone. The inhibitory effect of ethanol, a major by-product, on xylitol production was also studied. As the added ethanol concentration was increased, xylitol production decreased. When cells were inoculated in a xylose medium after removing the by-product (ethanol), xylitol production was not inhibited. The concentrated cells grown on xylose or glucose were inoculated in a fermentor containing the xylose medium. The total activities (specific activities \times cell concentration) of xylose reductase and xylitol dehydrogenase in concentrated cells grown on glucose were the same as those in a normal fermentation; the specific activities of the above enzymes in the cells grown on xylose were the same as those in a normal fermentation. It indicates that the xylitol productivity of concentrated cells grown on xylose could be increased with increasing the cell concentration. By using concentrated cells of 20 g/l grown on xylose, the final xylitol concentration of 40 g/l was obtained for 18 h fermentation from 50 g/l xylose.

Key words: xylitol, xylose, glucose, *Candida parapsilosis*

서 론

Xylitol은 1891년 화학자 Emil Fisher에 의하여 발견되어, 1960년부터 감미료로서 사용되고 있는 5탄당 알코올이다. 또한, xylitol은 과일, 채소 및 버섯 등의 자연에서 소량 존재하고 포유동물의 탄수화물 대사과정 중에 존재한다⁽¹⁾. Xylitol은 당도가 설탕과 같고 용해될 때 열 감소가 일어나는 특성으로 인하여 입안에서 느끼는 청량감이 커서 제과제품의 무설탕 원료로 사용되고 있고 섭취 후의 대사과정이 insulin과 무관하기 때문에 당뇨병 환자의 대용당으로 이용할 수 있

다. Xylitol은 충치발생과 관련된 *Streptococcus mutans*의 생육을 저해하여 충치발생을 억제한다고 보고되고 있어 치약 등에 사용되고 있다^(2,3).

지금까지 xylitol은 목재, 벗짚이나 수수속 등을 가수분해하여 얻어진 xylose를 환원하는 화학적 방법으로 생산하여 왔으나, 화학적 방법은 분리정제가 어렵고 다량의 유기용매를 이용한 고온 고압의 반응이므로 위험성과 폐기물이 존재하는 문제점을 가지고 있다⁽⁴⁾. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 미생물에 의한 xylitol의 생산방법에 대한 많은 연구가 주로 효모인 *Candida*속을 중심으로 진행되고 있다⁽⁵⁻¹⁰⁾.

Xylitol을 생산하는 효모의 경우 xylose와 glucose의 대사경로가 각각 분리되어 있기 때문에 glucose로부터 xylitol을 생성하는 것은 불가능하고⁽¹¹⁾, 실제로

Corresponding author: Deok-Kun Oh, Department of Food Science and Technology, Woosuk University, Cheonbuk 565-800, Korea

128종류의 효모를 이용하여 glucose로부터 xylitol의 생산을 시도하여 보았으나 실패하였다⁽¹²⁾. 그러므로 glucose를 이용하여 xylitol을 생산하기 위해서는 glucose를 xylose 배지에 첨가하여 균체증식은 glucose로부터 얻고 xylitol은 xylose로부터 얻는 방법을 사용하고 있다^(13,14).

미생물에 의한 xylitol의 생성은 효소 xylose reductase에 의하여 xylose가 환원되어 xylitol로 전환되어 일어난다. 생성된 xylitol의 일부는 xylitol dehydrogenase에 의하여 xylulose로 산화된 후 대사경로를 거쳐 세포구성 성분이 된다. 이때 xylose reductase의 조효소로는 NADH와 NADPH가 관여하고, xylitol dehydrogenase의 조효소로는 NAD⁺가 관여한다^(11,15). 그러므로 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 역할을 분석한다면 간접적으로 xylitol 생산을 설명할 수 있을 것이다.

따라서, 본 연구에서는 효모 *Candida parapsilosis* KFCC-10875^(16,20)를 사용하여 xylose와 glucose 혼합배지에서의 발효양상과 xylose와 glucose의 함량차이에 따른 발효산물인 xylitol, ethanol 및 glycerol의 생산량 변화를 살펴본다. 또한 xylose에서 배양된 균체와 glucose에서 배양된 균체를 이용하여 각각의 발효의 차이점을 조사하고 이러한 차이점을 효소역가 측정을 통하여 규명하고자 한다.

재료 및 방법

미생물 및 사용배지

본 연구에서는 냉동보관(-70°C)중인 균주 *Candida parapsilosis* KFCC-10875를 사용하였다. 성장배지로는 glucose 20 g/l, peptone 5 g/l, yeast extract 3 g/l, malt extract 3 g/l로 구성된 YM배지를 사용하였고, 발효배지로는 총당 50 g/l (xylose 와/또는 glucose) yeast extract 5 g/l, (NH₄)₂SO₄ 5 g/l, KH₂PO₄ 5 g/l, MgSO₄·7H₂O 0.2 g/l로 구성된 최적배지⁽¹⁷⁾를 사용하였다.

배양조건

종배양은 냉동보관 균주를 YM배지 50 ml가 들어있는 250 ml 플라스크에 접종하여 진탕배양기에서 240 rpm, 30°C로 균체농도가 3-4 g/l (약 14-16시간)로 성장할 때까지 수행하였다. 50 ml의 발효배지가 들어있는 250 ml의 플라스크에 접종하여 당(xylose와 glucose)이 완전히 소모될 때까지 배양하였다. 플라스크 배양의 경우 교반속도는 190 rpm, 온도는 30°C와 초기 pH는

5.0으로 하였고 배양과정 중에 pH는 조절하지 않았다.

농축균체를 사용하지 않는 일반배양에서는 발효배지가 3 l 첨가된 5 l 발효조(한국발효기)를 사용하였다. 이때, 교반속도는 배양초기에는 400 rpm으로 하였고 배양 10시간에서 교반속도를 180 rpm으로 변화시켰다. 농축균체를 사용하는 배양에서는 종배양액을 glucose 또는 xylose 30 g/l의 발효배지가 2 l 함유되어있는 5 l 발효조에 접종하였다. pH는 발효 전과정동안 일정하게 5.0으로 조절하였고, 온도는 30°C로 하고, 통기량을 1.0 vvm으로 하였고 교반속도를 400-800 rpm으로 조절하여 용존산소를 20% 이상 유지시켜 균체농도가 약 10 g/l까지 성장시킨 후 원심분리하고 xylose 50 g/l의 발효배지가 1.5 l 함유된 2.5 l 발효조에서 교반속도 230 rpm (산소전달속도계수 30 h⁻¹에 해당)으로 유지하여 xylose가 완전히 소모될 때까지 배양하였다.

효소역가 분석

배양액으로부터 세포를 8,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 회수한 후, 0.5 M phosphate buffer로 두 번 세척하였다. 세척과정 중 적당히 조절하여 ependorf tube내에 세포중량이 약 2.5 mg이 되게 하여 0.5 ml의 phosphate buffer를 첨가하여 녹인 후 0.3 g의 glass bead를 넣고 4°C cold room에서 vortex mixer로 3분간 분쇄하였다. 세포분쇄액을 12,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후, 상정액으로 효소역가를 분석하였다. Xylose reductase의 역가는 xylose 첨가 후 NADPH의 산화에 의한 흡광도 감소를 340 nm에서 측정하였다. Xylitol dehydrogenase의 역가는 xylitol 첨가 후 NAD⁺의 환원에 의한 흡광도 증가를 340 nm에서 측정하였다⁽²¹⁾. 이때, 영점은 기질(xylose 또는 xylitol)을 첨가하지 않은 것으로 보정하였고, specific enzyme activity는 1분동안 단백질 1 mg 당 1 mmol의 산화된 NADPH (xylose reductase의 경우) 또는 환원된 NAD⁺ (xylitol reductase의 경우)로 정의하였고 total enzyme activity는 1분동안 발효액 1 ml 당 1 mmol의 산화된 NADPH (xylose reductase의 경우) 또는 환원된 NAD⁺ (xylitol reductase의 경우)로 정의하였다.

분석방법

Xylose, glucose, xylitol, glycerol과 ethanol의 농도는 Sugar-Pak I column (Millipore, USA)이 장착된 HPLC (Shimadzu C-R6A, Japan)의 refractive index detector (Shimadzu RID-6A, Japan)를 이용하여 측정하였다. 이때, 용매는 물을 사용하였고, 온도는 70°C이고, 유속은 0.6 ml/min 이었다. 균체농도는 OD (600 nm)에서 측정

하여 미리 측정된 표준곡선을 이용하여 건조중량으로 전환하였다. 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로하여 Lowry법으로 측정하였다⁽²²⁾.

결과 및 고찰

Xylose와 Glucose의 혼합배지에서의 발효

성장배지 (glucose함유 배지)에서 종배양을 한 후 xylose와 glucose의 혼합배지(20 g/l의 glucose와 30 g/l의 xylose함유 배지)를 사용하여 발효조에서 당이용과 산물생성을 살펴보았다(Fig. 1). 당은 glucose의 catabolite repression에 의하여 glucose가 이용된 후 xylose가 이용되었다. 이때, glucose의 이용속도는 xylose의 이용속도보다 빨랐다. Glucose의 존재는 부산물로 ethanol의 생성을 유발시켰고 xylitol 생성감소가 초래되어 20 g/l의 glucose와 30 g/l의 xylose로부터 약 16 g/l의 ethanol과 11 g/l의 xylitol이 생성되었다. 이때 xylose에 대한 xylitol 생산수율을 살펴보면 0.36으로 glucose를 첨가하지 않을 때의 0.60보다 현저히 감소하였다. *Candida parapsilosis*의 xylose와 glucose의 대사경로를 살펴보면^(11,16) xylose에서 xylitol이 생성되는 반응은 환원반응으로 NADPH가 관여하고 ethanol이 생성되는 반응 역시 환원반응으로 NADPH 사용되어 산화-환원 전위에서 경쟁적인 관계임을 알 수 있다. 또한 glucose가 존재할 때 xylose에서 xylitol이 생성되는 과정에 관여하는 xylose reductase의 역할은 나타나지 않았고 glucose 고갈 후의 역할은 glu-

cose를 첨가하지 않을 때보다 감소하였다. 그러므로 고농도의 glucose가 존재하면 ethanol의 생성이 촉진되어 NADPH가 사용되고, 그 결과 xylitol로 전환될 환원력(NADPH)이 감소되므로 xylose로부터 생성되는 xylitol의 양도 감소된 것으로 생각된다.

*C. shehatae*의 경우 glucose함유 배지에서 종배양을 한 후 xylose와 glucose의 혼합배지에서 배양하면 catabolite repression에 의하여 xylitol의 생산이 감소하였으나, xylose함유 배지에서 종배양을 하면 catabolite repression이 해제되어 xylitol의 생산이 증가된 보고가 있어⁽¹³⁾ *C. parapsilosis* KFCC-10875를 xylose함유 배지에서 종배양을 한 후 xylose와 glucose의 혼합배지(20 g/l의 glucose와 30 g/l의 xylose함유 배지)에서 배양하였다. 그 결과 *C. parapsilosis* KFCC-10875 경우는 *C. shehatae*와 달리 glucose에 의한 catabolite repression이 해제되지 않았고 발효 양상도 glucose함유 배지에서 종배양을 한 경우와 차이점이 없었다.

Xylose와 Glucose가 산물생산에 미치는 영향

Xylose와 glucose가 xylitol의 생성과 부산물인 ethanol과 glycerol의 생성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 플라스크에서 총당을 50 g/l로 하여 xylose와 glucose의 함량을 변화시키면서 실험을 수행하였다(Table. 1). Xylose만 존재하는 배지에서 배양하면 xylitol이 최대로 생성되었고 부산물인 ethanol과 glycerol이 생기지 않았으나 xylose에 glucose를 첨가하여 배양하면 xylitol 외에 부산물로 ethanol과 glycerol이 생성되었다. Glucose 함량이 높을수록 xylitol 수율은 감소하였지만 ethanol과 glycerol 양은 증가하여 xylose 10 g/l와 glucose 40 g/l일 때 그 양이 각각 21.5 g/l와 3.6 g/l로 최대값을 나타내었으나 glucose만 첨가하여 배양한 경우는 최대치보다 약간 감소하였다. Glucose에서는 xylitol이 생성되지 못하므로 glucose만 존재하는 배지에서는 xylitol이 전혀 생성되지 않았다⁽¹¹⁾. 그러므로

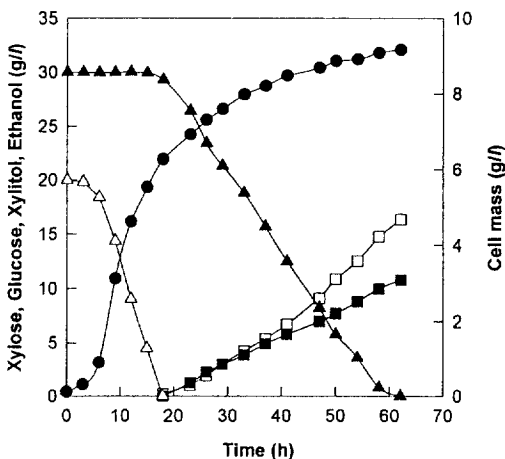


Fig. 1. Simultaneous fermentation of xylose and glucose by *Candida parapsilosis* in the medium with 30 g/l xylose and 20 g/l glucose Cell mass ●—●, xylose ▲—▲, glucose △—△, xylitol ■—■ and ethanol □—□

Table 1. Effect of xylose and glucose on xylitol and by-products production

Medium (xylose+glucose)	Xylitol (g/l)	Ethanol (g/l)	Glycerol (g/l)	$Y_{X/XS}^{11}$ (g/l)
0 g/l + 50 g/l	0.0	18.0	2.8	0.00
10 g/l + 40 g/l	0.8	21.5	3.6	0.08
20 g/l + 30 g/l	4.5	20.5	3.1	0.23
30 g/l + 20 g/l	10.8	16.4	1.5	0.36
40 g/l + 10 g/l	18.2	11.8	0.8	0.46
50 g/l + 0 g/l	30.0	0.0	0.0	0.60

¹¹Xylitol yield from xylose

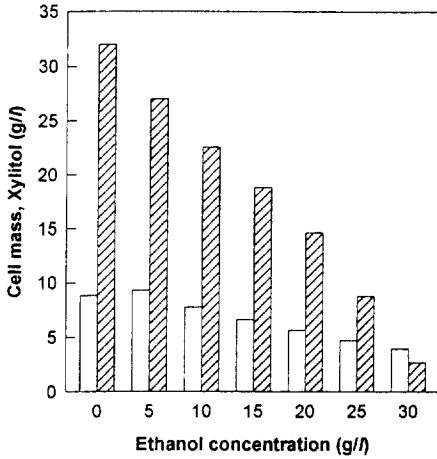


Fig. 2. Effect of ethanol concentration on xylitol production Cell mass □—□, and xylitol ▨—▨

이용된 xylose로부터 생성된 xylitol의 수율에 대하여 조사하였다. Xylose에 대한 glucose 비율이 높을수록 xylose에 대한 xylitol의 수율이 감소하였다.

Ethanol의 농도가 xylitol 생산에 미치는 영향

Xylose에 대한 glucose 비율이 높을수록 xylose에 대한 xylitol의 수율이 감소하는 이유를 살펴보기 위하여 부산물인 ethanol이 xylitol 생산에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 2). Xylose 50 g/l의 배지에서 여러 가지 농도의 ethanol을 xylitol이 생성되는 시점인 배양시간 12 시간(균체농도 약 3.5 g/l)에 첨가하였다. 균체농도는 5 g/l의 ethanol을 첨가한 경우는 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 ethanol의 농도가 증가할수록 감소하였고 ethanol 농도 30 g/l에서는 ethanol의 첨가 시점과 비교하여 거의 증가하지 못하였다. Xylitol의 생성은 ethanol의 농도가 증가할수록 감소하여 ethanol의 농도 30 g/l에서는 xylitol의 농도가 2.5 g/l까지 감소하였다. Ethanol의 첨가는 xylitol 생산을 감소시키므로 glucose 농도가 증가할수록 xylitol 생산감소가 초래되는 것은 glucose첨가시 생성된 ethanol에 기인된다고 생각된다.

Ethanol 30 g/l가 첨가되어 xylitol의 생산이 저해된 발효액을 원심분리하여 ethanol을 제거한 후 균체를 xylose 50 g/l가 함유된 발효배지에 접종하였을 때 xylitol이 33 g/l가 생성되었다. 이것은 ethanol의 존재가 xylitol 생성에 영향을 준다는 것을 의미한다.

Xylose와 glucose배지에서 배양된 균체가 xylitol 생산에 미치는 영향

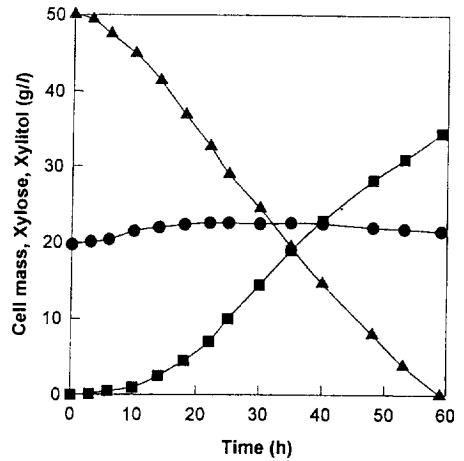


Fig. 3. Xylitol production using the concentrated cells grown on glucose by *Candida parapsilosis* Cell mass ●—●, xylose ▲—▲ and xylitol ■—■

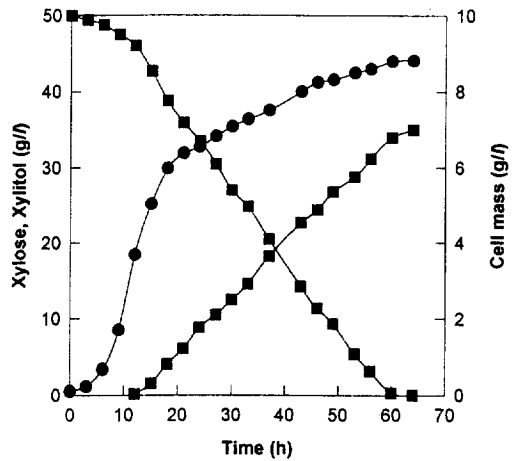


Fig. 4. Xylitol production using the not concentrated cells by *Candida parapsilosis* Cell mass ●—●, xylose ▲—▲ and xylitol ■—■

Xylose와 glucose에서 성장한 각 균체의 차이점을 구별하기 위하여 xylose 또는 glucose에서 성장한 균체를 약 20 g/l로 농축하여 xylose 50 g/l가 포함된 발효배지에 접종하여 배양하였다. Glucose에서 성장한 균체를 사용하여 교반속도 230 rpm (산소전달속도계 수 30 h⁻¹)으로 배양한 결과 균체증식은 거의 없었고 발효시간 60시간 정도에 약 34 g/l의 xylitol이 생성되었다(Fig. 3). 이 xylitol의 생산량 및 속도는 농축균체를 사용하지 않는 일반배양과 거의 비슷한 결과이었다. 일반배양에서는 발효시간 64시간에서 50 g/l로부터 35 g/l의 xylitol이 생성되었다(Fig. 4). 이러한 결과

Table 2. Activities of xylose reductase and xylitol dehydrogenase of the normal cells, concentrated cells grown on glucose, and concentrated cells grown on xylose

Cells	Not-concentrated cells ¹⁾	Concentrated cells grown on glucose ²⁾	Concentrated cells grown on xylose ³⁾
Xylose reductase			
Total activity ⁴⁾	1.47	1.49	4.82
Specific activity ⁵⁾	0.46	0.13	0.47
Xylitol dehydrogenase			
Total activity	1.22	1.10	3.49
Specific activity	0.38	0.10	0.34

¹⁾Data obtained from Fig. 4

²⁾Data obtained from Fig. 3

³⁾Data obtained from Fig. 5

⁴⁾Total enzyme activities are expressed in mmol/ml-min

⁵⁾Specific enzyme activities are expressed in mmol/mg-min

를 설명하기 위하여 농축균체를 사용하지 않은 일반 배양, glucose에서 성장한 농축균체를 사용한 배양과 xylose에서 성장한 농축균체를 사용한 배양에서의 효소역가를 각각 측정하여 Table 2에 나타내었다. 효소역가는 xylitol이 생성된 후 약 10시간 경과된 시간에서 분석하였다. Fig. 3의 glucose에서 성장한 농축균체를 사용한 발효에서의 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 역가는 낮게 나타났지만 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 총역가는 Fig. 4에서 측정된 일반배양의 총역가와 비슷하였다. 이러한 결과로 인하여 glucose에서 성장한 농축균체를 사용한 배양에서의 xylose의 이용속도와 xylitol의 생성속도가 일반배양의 xylose의 이용속도와 xylitol의 생성속도와 비슷하게 나타났고 그 결과 최종 xylitol의 농도와 xylose의 고갈시간이 비슷하였다. 또한 glucose에 의하여 성장된 농축균체는 xylitol을 생산할 수 있는 능력이 없어 접종후 배지 중에 존재하는 xylose에 의해서만 xylitol이 생산되어 xylose의 이용속도와 xylitol의 생성속도가 일반배양과 유사한 것으로 생각된다. 그러므로 *C. parapsilosis*에서 glucose 첨가는 xylitol 생산에 큰 도움을 주지 못한다.

Xylose에서 성장한 농축균체를 사용한 발효에서의 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 역가는 비교적 높게 나타나 일반배양의 역가와 비슷하였고 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 총역가는 균체농도에 비례적으로 증가하였다. 그러므로 xylose에서 성장한 농축균체를 사용한 발효에서의 xylitol 생산성은 균체농도를 증가시킬수록 비례적으로 증가하여 xylose에서 성장한 농축균체를 사용하여 발효시간 18시간에 50 g/l의 xylose로부터 40 g/l의 xylitol을 얻

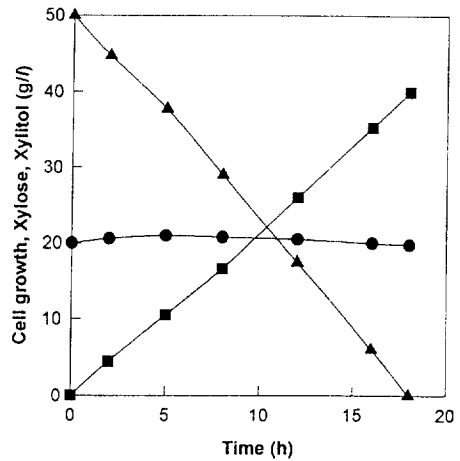


Fig. 5. Xylitol production using the concentrated cells grown on xylose by *Candida parapsilosis* Cell mass ●—●, xylose ▲—▲ and xylitol ■—■

을 수 있었다(Fig. 5). xylose에 대한 xylitol의 수율 80%와 xylitol 생산성은 일반발효의 3-4배인 2.22 g/l-h에 해당되는 것이다.

요 약

Candida parapsilosis KFCC-10875를 사용하여 xylose와 glucose가 xylitol 생산에 미치는 영향을 조사하였다. Xylose만 50 g/l 함유하는 배지에서 배양하면 xylitol만 생성되었고 xylose에 glucose를 첨가하여 배양하면 부산물로 ethanol과 glycerol이 생성되었다. Glucose 함량이 높을수록 xylitol 생성량은 감소하였지만 ethanol과 glycerol의 양은 증가하여 xylose 10 g/l와 glucose 40 g/l일 때 최대값 각각 21.5 g/l, 3.6 g/l의 최대값을 나타내었다. Glucose에서는 xylitol이 생성되지 못하기 때문에 glucose만 존재하는 배지에서는 xylitol이 전혀 생성되지 않았다. Xylose에 대한 glucose의 비율을 증가시키며 배양한 결과 glucose 비율이 높을수록 이용된 xylose에 대한 생성된 xylitol의 수율이 감소하였다. 첨가하는 ethanol의 농도를 변화시키면서 배양한 결과 첨가된 ethanol의 농도가 증가할수록 xylose에 대한 생성된 xylitol의 생산이 감소하였고 부산물을 제거한 후 배양할 경우 xylitol생산이 저해되지 않았다. 이것은 xylose에 대한 생성된 xylitol의 수율이 ethanol과 같은 부산물에 의한 것이라는 것을 의미한다. Xylose 또는 glucose에서 성장한 균체를 약 20 g/l로 농축하여 xylose 50 g/l가 포함된 발효배지에 접종하여 배양하였다. Glucose에서 성장한 균체를 사용한

xylitol 생산에서 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 총역가는 농축균체를 사용하지 않는 일반 배양의 그것과 거의 비슷하였다. 그러나, xylose에서 성장한 농축균체를 사용한 발효에서의 xylose reductase의 역가와 xylitol dehydrogenase의 역가는 비교적 높게 나타나 일반배양의 역가와 비슷하였다. 그러므로 xylitol 생산성은 균체농도를 증가시킬수록 비례적으로 증가하여 xylose에서 성장한 농축균체로 발효시간 18시간에 50 g/l의 xylose로부터 40 g/l의 xylitol을 얻을 수 있었다.

문 헌

- Makinen, K. K. and Soderling, E.: A quantitative study of manitol, sorbitol, xylitol, and xylose in wild berries and commercial fruits. *J. Food Sci.*, **45**, 367 (1980)
- Pepper, T. and Olinger, P. M.: Xylitol in sugar-free confections. *Food Technol.*, **42**, 98 (1988)
- Emodi, A.: Xylitol, its properties and food applications. *Food Technol.*, **32**, 20 (1978)
- Hyvonen, L. and Koivistoinen, P.: Food technological evaluation of xylitol. *Adv. Food Res.*, **28**, 373 (1982)
- Gong, C. S., Claypool, T. A., McCracken, L. D., Maun, C. M., Ueng, P. P. and Tsao, G. T.: Conversion of pentoses by yeasts. *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 85 (1983)
- Horitsu, H., Yahashi, Y., Takamizawa, K., Kawai, K., Suzuki, T. and Watanabe, N.: Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: Optimization of production rate. *Biotechnol. Bioeng.*, **40**, 1085 (1992)
- Meyrial, V., Delgenes, J. P., Moletta, R. and Navarro, J. M.: Xylitol production by *Candida guilliermondii*: Fermentation behavior. *Biotechnol. Lett.*, **13**, 281 (1991)
- Nishio, N., Sugawa, K., Hayase, N. and Nagai, S.: Conversion of D-xylose into xylitol by immobilized cells of *Candida pelliculosa* and *Methanobacterium* sp. HU. *J. Ferment. Bioeng.*, **67**, 356 (1989)
- du Preez, J. C., van Driessel, B. and Prior, B. A.: D-xylose fermentation by *Candida shehatae* and *Pichia stipitis* at low dissolved oxygen levels in fed-batch cultures. *Biotechnol. Lett.*, **11**, 131 (1989)
- Meyer, P. S., Du Preez, J. C. and Kilian, S.: Cultivation of *Candida blankii* in simulated bagasse hemicellulose hydrolysate. *J. Indust. Microbiol.*, **9**, 109 (1992)
- Hahn-Hagerdal, B., Jeppsson, H., Skoog, K. and Prior, B. A.: Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. *Enzyme Microb. Technol.*, **16**, 933 (1994)
- Onishi, H. and Suzuki, T.: Microbial production of xylitol from glucose. *Appl. Microbiol.*, **18**, 1031 (1969)
- Kastner, J. R. and Roberts, R. S.: Simultaneous fermentation of D-xylose and glucose by *Candida shehatae*. *Biotechnol. Lett.*, **12**, 57 (1990)
- Yahashi, Y., Horitsu, H., Kawai, K., Suzuki, T. and Takamizawa, K.: Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: the effect of D-glucose feeding. *J. Ferment. Bioeng.*, **82**, 148 (1996)
- Smiley, K. L. and Bolen, P. L.: Demonstration of D-xylose reductase and D-xylitol dehydrogenase in *Pachosolen tannophilus*. *Biotechnol. Lett.*, **4**, 607 (1982)
- 오덕근, 김중화 : *Candida parapsilosis*에 의한 xylitol 생성시 포도당의 영향. 산업미생물학회지, **24**, 149 (1996)
- 오덕근, 윤상현, 김정민, 김상용, 김정희 : *Candida parapsilosis* 돌연변이주에 의한 xylitol 생산시 배지조건의 최적화. 산업미생물학회지, **24**, 507 (1996)
- 오덕근, 김상용, 김정희 : *Candida parapsilosis* 돌연변이주에 의한 xylitol 생산시 배양조건의 최적화. 한국농화학회지, **39**, 172 (1996)
- 김상용, 윤상현, 김정민, 오덕근 : *Candida parapsilosis*에 의한 xylitol 생성시 acetic acid의 영향. 한국식품과학회지, **28**, 756 (1996)
- Kim, S. Y., Kim, J. H. and Oh, D. K.: Improvement of xylitol production by controlling oxygen supply in *Candida parapsilosis*. *J. Ferment. Bioeng.*, **75** (1996) (In press)
- Chiang, C. and Knight, S. G.: D-xylose reductase and D-xylitol dehydrogenase from *Penicillium chrysogenum*. *Meth. Enz.*, **9**, 188 (1966)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, L. and Randall R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1955)

(1996년 9월 6일 접수)