

Candida tropicalis DS-72에 의한 Xylose로부터 Xylitol의 생산

오덕근* · 김상용¹

우석대학교 식품공학과, ¹동양제과(주) 기술개발연구소

Xylitol Production from Xylose by *Candida tropicalis* DS-72. Deok-Kun Oh* and Sang-Yong Kim¹. Department of Food Science and Technology, Woosuk University, Cheonju 565-800, Korea. ¹Tong Yang Confectionery Co., R&D Center, Seoul 140-715, Korea - A high xylitol producing yeast was isolated from the sludge of xylose manufacturing factory and then identified as *Candida tropicalis* DS-72 according to physiological properties. The strain was able to produce xylitol in a high concentration up to 72 g/l from 100 g/l xylose in 32 hours. Medium optimization for xylitol production by *C. tropicalis* DS-72 was performed. Effect of various nitrogen sources on xylitol production was investigated. Of nitrogenous compounds, yeast extract was the most suitable organic nitrogen nutrient for the enhancement of xylitol production. However, inorganic nitrogen resulted in a low cell concentration and did not produce xylitol. Effect of inorganic salts such as KH_2PO_4 and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ on xylitol production was also studied. Optimal medium was selected as xylose 100 g/l, yeast extract 10 g/l, KH_2PO_4 5 g/l and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/l. Xylitol of 88 g/l was produced from 100 g/l xylose in 30 hours using the optimal medium in a flask. In a fermentor, a fed-batch culture with 300 g/l xylose was carried out. A final xylitol concentration of 240 g/l in the culture could be obtained in 43 hours of culture time by maintaining the high level of dissolved oxygen during growth phase and limiting the dissolved oxygen in the same culture during production phase. This result corresponded to a xylitol yield of 80% and a xylitol productivity of 5.58 g/l-h.

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 섭취후 대사과정이 insulin과 무관하기 때문에 당뇨병 환자의 대용당으로 이용할 수 있다. Xylitol은 충치발생과 관련된 *Streptococcus mutans*의 생육을 저해한다고 보고되고 있어 치약 등에 사용되고 있다(2). 또한, Maillard 반응에 대하여 화학적으로 무반응하다는 것도 주목할만한 특성이며 단당류이기 때문에 설탕과 달리 전화될 수 없으며, 따라서 산성 환경에서도 변질되지 않고 사용할 수 있으며, 끓는 점이 95°C 이기 때문에 변성되지 않고 끓는 점에 도달할 수 있어 sugar-coating으로 사용할 경우 특별히 물에 용해시켜 사용해야 할 필요가 없다는 장점을 지닌다(3).

Xylitol은 여러 가지의 과일이나 채소에 자연상태로 존재하지만 이 경우에는 극히 미량으로만 존재하기 때문에

과일이나 채소로부터 추출하는 것 산업적으로 경제성이 없다. 그러므로 xylitol은 xylose가 많이 함유된 반섬유소가수분해물(hemicellulose hydrolysate)을 환원시키는 화학적 방법으로부터 생산되고 있다. 그러나, 화학적 방법은 xylose 또는 xylitol과 반섬유소 부분에서 생기는 다른 가수분해물들과의 분리와 정제가 어렵고 그 수율도 50-60% 정도로 낮다. 또한 알칼리를 이용한 고온 고압의 반응이므로 위험성과 폐기물 문제가 존재하는 단점이 있다(4). 이러한 단점을 해결하기 위하여 미생물에 의한 xylitol 생산방법에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. 미생물에 의한 xylitol의 생산은 효모의 경우 *Candida*속의 *blankii*, *guilliermondii*, *pelliculosa*, *parapsilosis*, *tropicalis*, *utilis*와 *Saccharomyces*속의 *bailii*, *rouxii*, *uvarium*와 *Schizosaccharomyces*속의 *pombe* 등이 있고(5-9), 세균의 경우 *Enterobacter liquefaciens* (10), *Corynebacterium* sp.(11)와 *Mycobacterium smegmatis*(12)등이 있다. 미생물에 의한 방법은 고가의 방법이 아니고 식물성 원료의 가수분해물로부터 선별적으로 xylitol만 전환시킬 수 있어 반응후의 xylitol의 분리 정제과정을 매우 용이하게 할 수 있으나, 그 생산성이 0.3~1.5 g/l-h로 낮은 단점 때문에 산업화에 어려움이 있다.

그러므로, 본 연구에서는 xylitol 생산성이 높은 균주를 자연으로부터 선별하고 그 균주를 사용하여 배지성분의 최적화를 통하여 xylitol 생산성을 증가시키려고 한다.

*Corresponding author

Tel. 82-652-290-1632, Fax. 82-652-291-1903

E-mail: deokkum@unitel.co.kr

Key words: Xylitol, Xylose, Medium optimization, *Candida tropicalis*

재료 및 방법

균주분리 및 선별

Xylose 제조회사(Korea Biotech. Co., 안양)의 sludge로부터 xylose 20 g/l, peptone 5 g/l, yeast extract 3 g/l, malt extract 3 g/l, agar 15 g/l가 포함된 plate를 이용하여 30°C에서 빨리 자라는 균주들을 중심으로 single colony로 선별하였고 이들 선별된 균주를 100 g/l xylose, 5 g/l yeast extract, 5 g/l (NH₄)₂SO₄, 5 g/l KH₂PO₄로 구성된 배지(13)에서 발효시간 30시간 후에 xylitol을 가장 많이 생산하는 균을 최종적으로 선별하였다.

분리균주의 동정

균주의 동정은 형태학적, 배양학적 및 생리학적 특성을 Kreger-Van Rij(14)의 방법에 준하여 조사하였고 Barnett 등(15)의 분류방법에 따라 동정하였다.

미생물 및 배지

냉동보관(-70°C)중인 *Candida tropicalis* DS-72로 명명된 자연에서 분리된 균주를 사용하였다. 성장배지로는 glucose 20 g/l, peptone 5 g/l, yeast extract 3 g/l, malt extract 3 g/l로 구성된 YM 배지를 사용하였고, 플라스크 발효배지로는 탄소원으로 xylose 100 g/l 사용하였고 질소원으로는 yeast extract, 무기염으로는 KH₂PO₄, MgSO₄ · 7H₂O로 구성된 배지를 사용하였으며, 각 성분의 양은 xylitol의 생산성을 높이기 위하여 변화시켰다. 발효조에서 사용한 배지는 xylose 300 g/l, yeast extract 10 g/l, KH₂PO₄ 5 g/l, MgSO₄ · 7H₂O 0.2 g/l로 구성된 최적배지이었다.

배양 방법

종배양은 냉동보관 균주를 YM배지 50 ml가 들어있는 250 ml의 플라스크에 접종하여 진탕배양기에서 240 rpm, 30°C로 균체농도가 3~4 g/l(약 10~12시간)로 성장할 때까지 수행하였다. 플라스크 배양에서는 발효배지 50 ml가 들어있는 250 ml의 플라스크에 5%에 해당되는 종배양액을 접종하여 진탕배양기에서 220 rpm, 30°C로 하여 30시간동안 배양하였다. 5l 발효조(한국발효기(주))를 사용한 배양은 발효초기에 200 g의 xylose가 함유된 2 l의 배지를 사용하여 수행하였다. 발효과정 중에 175 g의 xylose가 함유된 250 ml의 용액을 4번 추가하여 최종배양액의 부피를 3l(총 첨가된 xylose의 농도는 300 g/l에 해당)가 되는 유가식 배양을 하였다. 용존산소는 교반속도를 300-800 rpm으로 조절하여 배양초기에는 20%이상 유지시키고 균체농도가 약 15 g/l되는 시점에서 교반속도를 350 rpm으로 변화시켜 용존산소를 제한하였다. pH는 발효 전 과정 동안 4.5로 조절하였고 배양온도

는 30°C이었고 통기량은 1.0 vvm으로 조절하였다.

분석방법

Xylose와 xylitol의 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 탁도계를 이용하여 600 nm에서 현탁도를 측정하여 미리 측정한 표준곡선을 이용하여 건조중량으로 전환하였다. 용존산소농도는 Ingold사(Swiss, polarographic type)의 용존산소전극을 사용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

분리균주의 동정 및 xylitol 생산

분리균주의 생리적 특성을 조사한 결과 Table 1과 같았다. DS-72 균주는 37°C까지 생육할 수 있었고 42°C에서는 생육하지 못하였으며 vitamin이 없는 배지에서는 생육하지 못하였다. 전분 형성능, 요소분해능 및 nitrate

Table 1. Physiological characteristics of the isolated strain

Growth at	20°C	+	30°C	+
	37°C	+	42°C	
Growth with	30% D-Glucose		+	
	40% D-Glucose		-	
	Vitamin-free medium		-	
Urea hydrolysis			-	
Starch formation			-	
Diazonium blue B formation reaction			-	
Assimilation of nitrate			-	
Spilling of arbutin			-	
Filament			+	
Assimilation of carbon source				
	Glucose	+	Galactose	+
	L-Sorbose	-	Sucrose	+
	Maltose	+	Lactose	-
	Trehalose	+	Cellobiose	-
	Melibiose	-	Raffinose	+
	Melezitose	-	Soluble starch	+
	D-Xylose	+	L-Arabinose	+
	D-Arabinose	-	D-Ribose	-
	D-Rhamnose	-	Glycerol	+
	Erythritol	-	Ribitol	+
	Galactitol	-	D-Mannitol	+
	D-Sorbitol	+	D-Glucitol	-
	Xylitol	-	Inositol	-
	Salicin	-	Inulin	-
	DL-Lactic acid	-	Succinic acid	+
	Citric acid	+	Formic acid	-
	Ethanol	+	Methanol	-

이용능은 없었다. 여러 가지 탄소원의 자화능을 조사해 본 결과 glucose, galactose, sucrose, maltose, trehalose, D-xylose, soluble starch, D-mannitol 등에서는 양성을 나타내었으나 lactose, erythritol, inositol, inulin 등에서는 음성을 나타내었다. 이러한 결과로부터 본 균주를 *Candida tropicalis*로 동정하였고, 최종적으로 *C. tropicalis* DS-72로 명명하였다.

C. tropicalis DS-72 균주를 100 g/l xylose, 5 g/l yeast extract, 5 g/l (NH₄)₂SO₄, 5 g/l KH₂PO₄로 구성된 배지(13)를 사용하여 xylitol의 생산을 살펴보았다(Fig. 1). *C. tropicalis* DS-72 균주의 최대 비증식속도는 0.5 h⁻¹이었고 최대균체량은 5.7 g/l이었다. 배양시간 32시간에서 xylose를 모두 소모하였으며 72 g/l의 xylitol이 생산되었다. Xylitol의 생산성을 증가시키기 위하여 배지 최적화를 수행하였다.

질소원이 xylitol의 생산에 미치는 영향

Xylose 100 g/l, 질소원 5 g/l, KH₂PO₄ 5 g/l로 구성된 발효배지에서 발효시간 30시간후 여러 가지 질소원이 xylitol의 생산에 미치는 영향을 살펴보았다. Table 2에서 보듯이 무기질소원의 경우에는 xylitol이 전혀 생성되지 않았고 균체농도도 0.2 g/l 이하로 나타났다. 이것은 분리균주가 vitamin이 없는 배지에서는 증식하지 못하는 특성으로 생각되고 균체농도가 약간 증식한 것은 종배양액으로 부터 온 vitamin에 의한 것 같다(14). 이것은 무기질소원에서 증식이 잘 일어났고 xylitol도 어느정도 생성된 *C. parapsilosis*와는 상반된 결과이다(13). 유기질소원을 사용한 경우에는 모두 균체가 증식하였으나 xylitol은 yeast extract와 yeast nitrogen base를 제외한 다른 유기 질소원에서 낮은 농도를 나타냈고 그 중에서도 yeast extract가 가장 좋은 질소원이었다.

Table 2. Effect of various nitrogen sources on xylitol production

Compound	Cell mass (g/l)	Xylitol (g/l)
Inorganic nitrogen		
NH ₄ Cl	0.13	-
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.09	-
NH ₄ NO ₃	0.18	-
NH ₄ H ₂ PO ₄	0.19	-
NH ₄ HCO ₃	0.08	-
Ureay	0.12	-
Organic nitrogen		
Yeast extract	5.45	72.8
Yeast nitrogen base	7.20	65.4
Tryptone	4.82	18.2
Soybean flour	6.87	8.6
Corn steep liquor	7.05	4.4
Malt extract	4.41	3.1
Peptone	3.52	2.1

Xylitol의 생산성이 가장 좋은 질소원인 yeast extract를 선정하여 yeast extract의 농도가 xylitol 생산에 미치는 영향을 플라스크에서 30시간 동안 수행하였다(Fig. 2). 균체농도는 yeast extract의 농도가 7 g/l에서 최대값을 보여주었지만 xylitol은 yeast extract의 농도 10 g/l에서 100 g/l의 xylose로부터 85 g/l의 xylitol를 생산하여 최대값을 보여주어 최적농도를 10 g/l로 결정하였다. *C. tropicalis* DS-72의 비 증식속도는 yeast extract의 농도가 2 g/l 이상에서는 0.5 h⁻¹로 일정하였지만 비 xylitol 생산속도는 yeast extract의 농도가 증가할수록 증가하였다(Fig. 3). 고농도의 yeast extract에서 높은 비 xylitol 생산속도를 보여줌에도 최종 xylitol의 농도가 감소하는 것

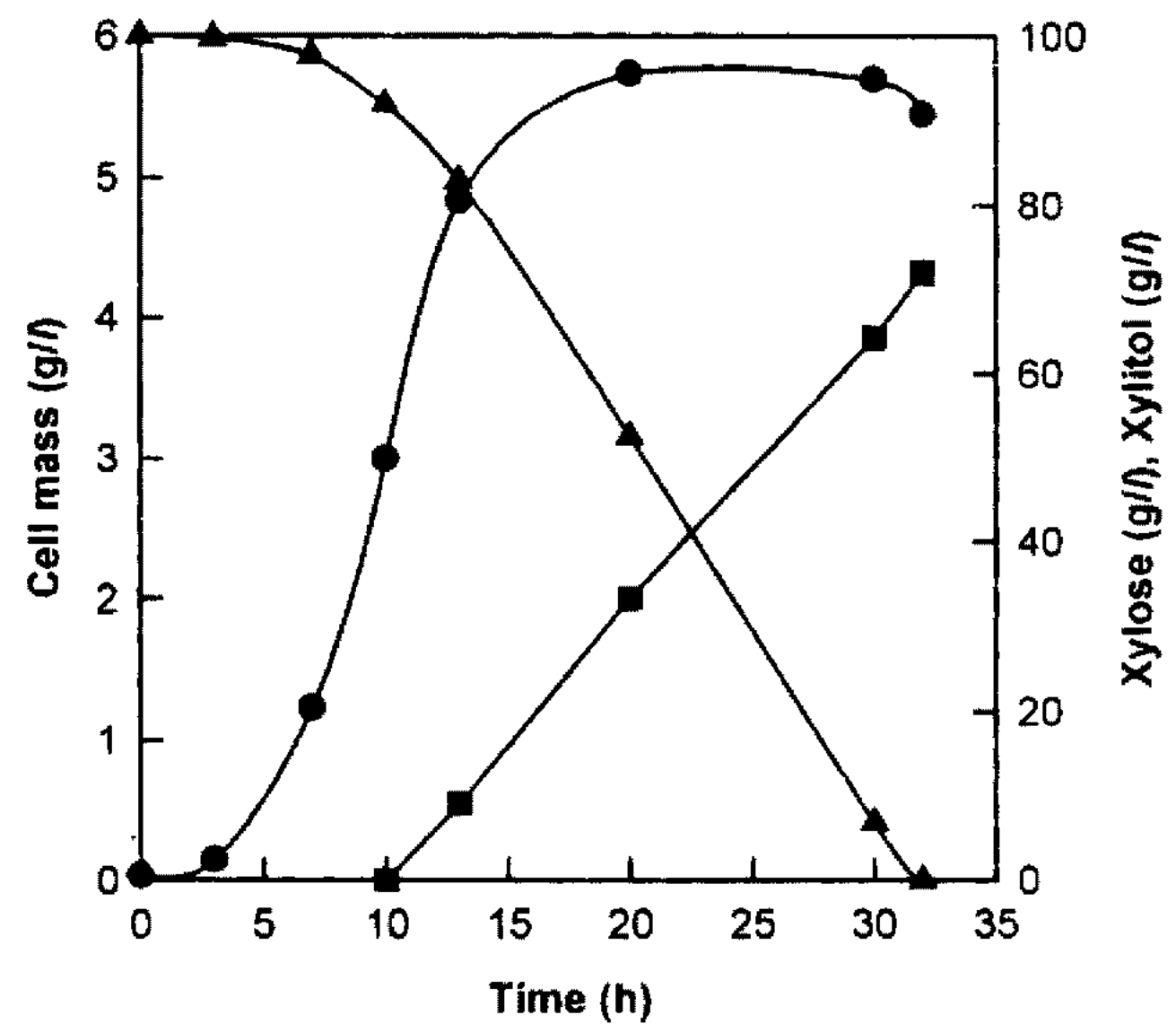


Fig. 1. A typical time course of xylitol fermentation by *Candida tropicalis* DS-72.
Cell mass (●), xylose (▲), and xylitol (■).

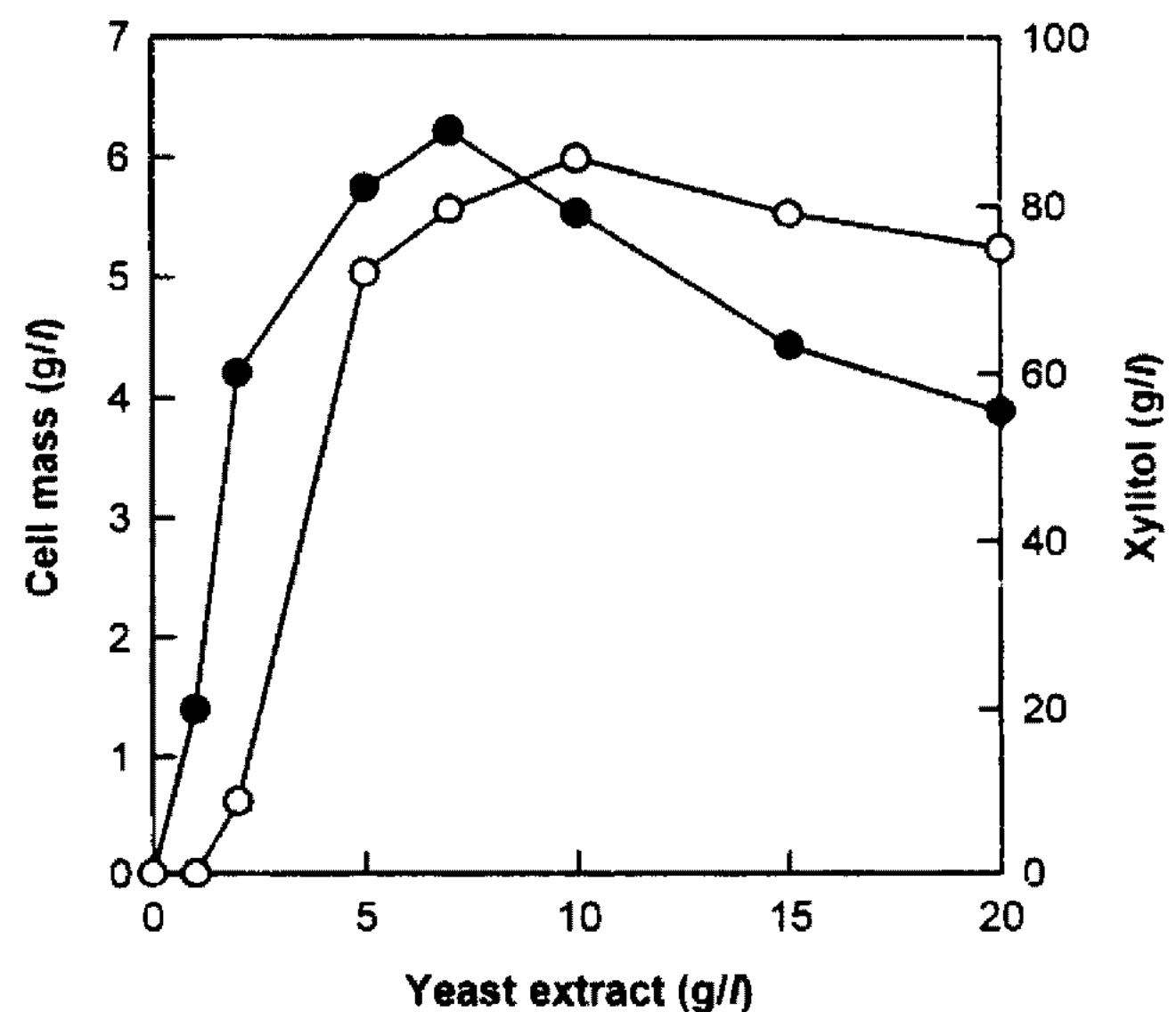


Fig. 2. Effect of yeast extract on cell growth and xylitol production.
Cell mass (●) and xylitol (○).

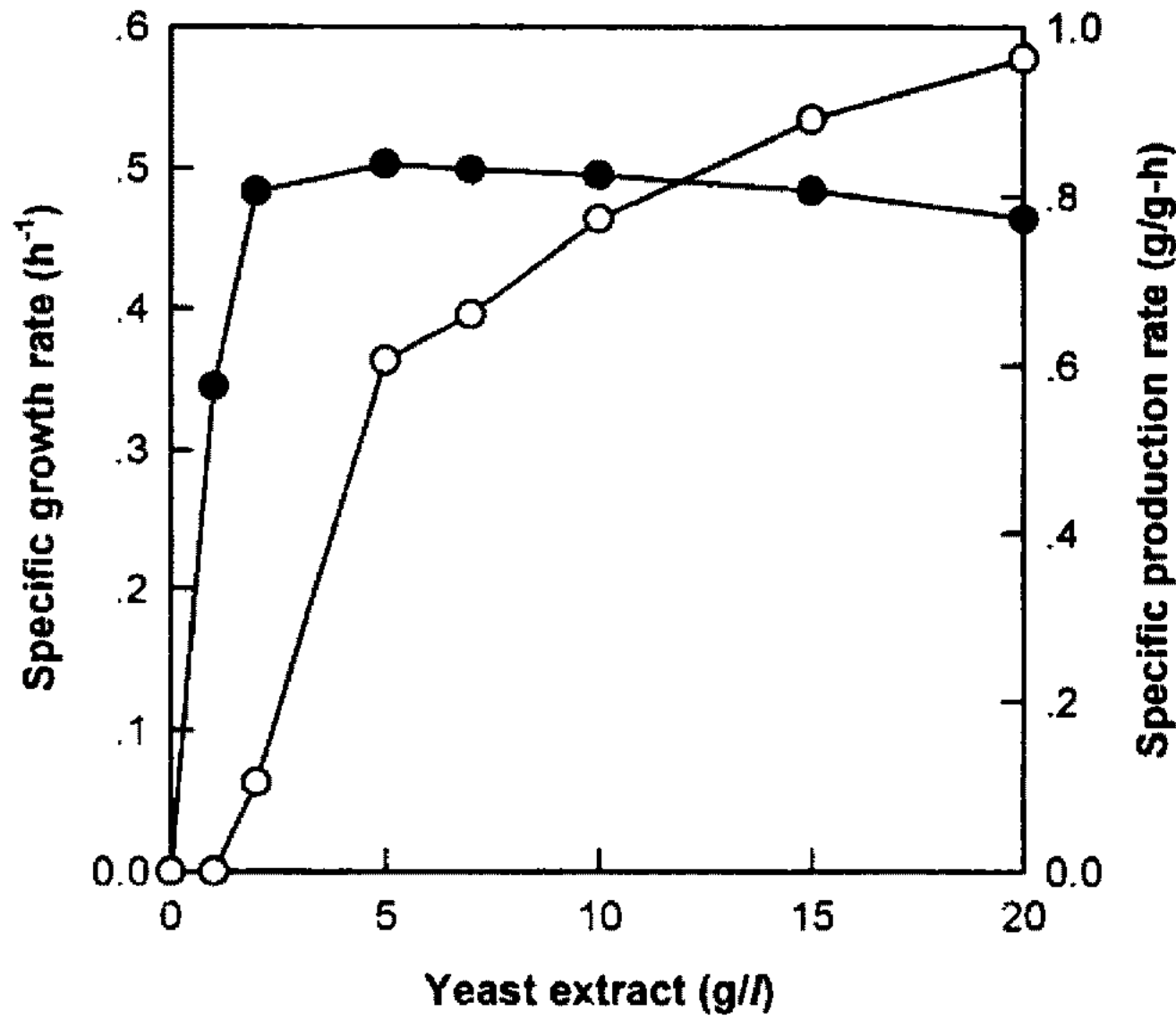


Fig. 3. Effect of yeast extract on specific growth rate and specific production rate.

Specific growth rate of cells (●) and specific production rate of xylitol (○).

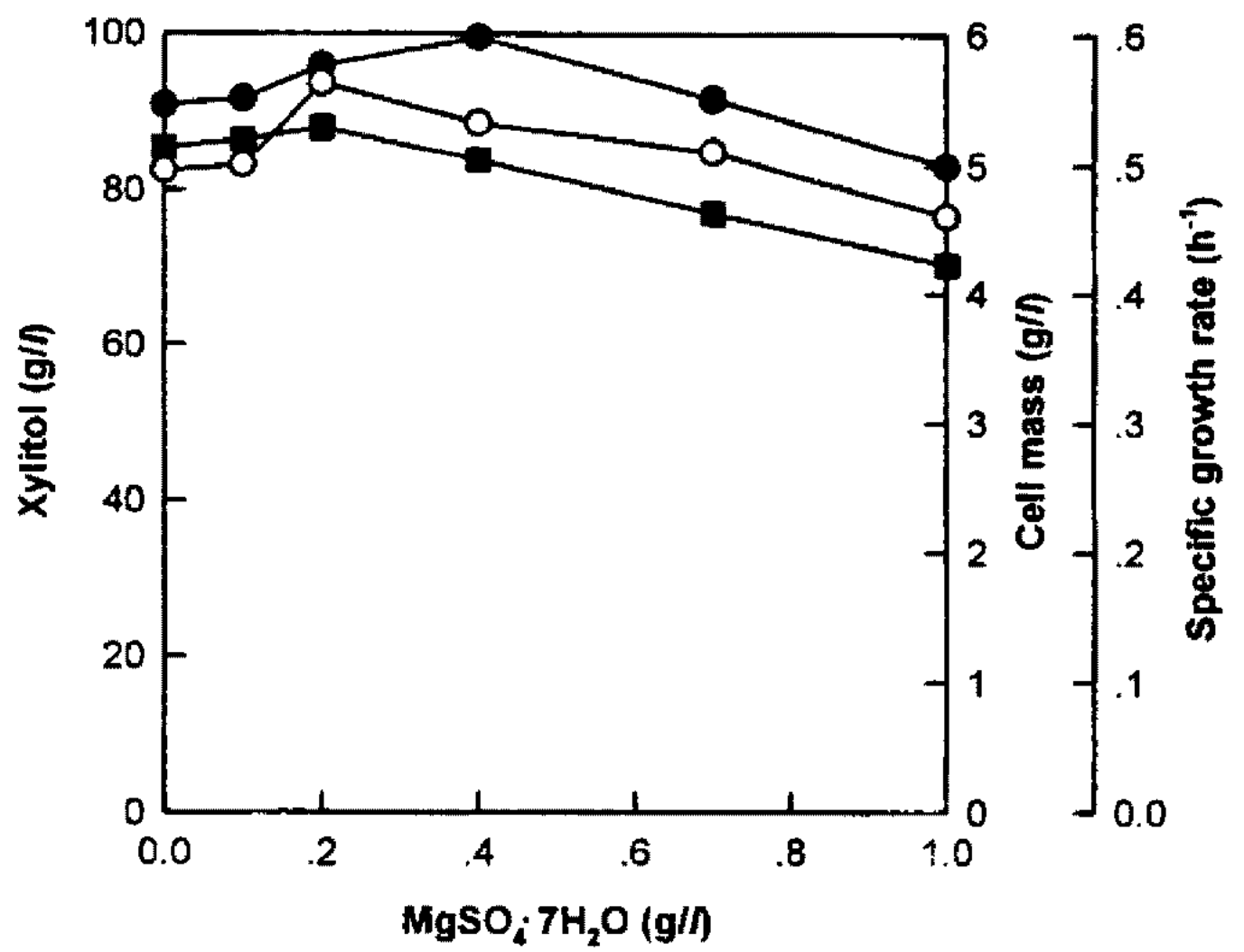


Fig. 5. Effect of magnesium sulfate on cell growth and xylitol production.

Cell mass (●), specific growth rate of cells (○) and xylitol (■).

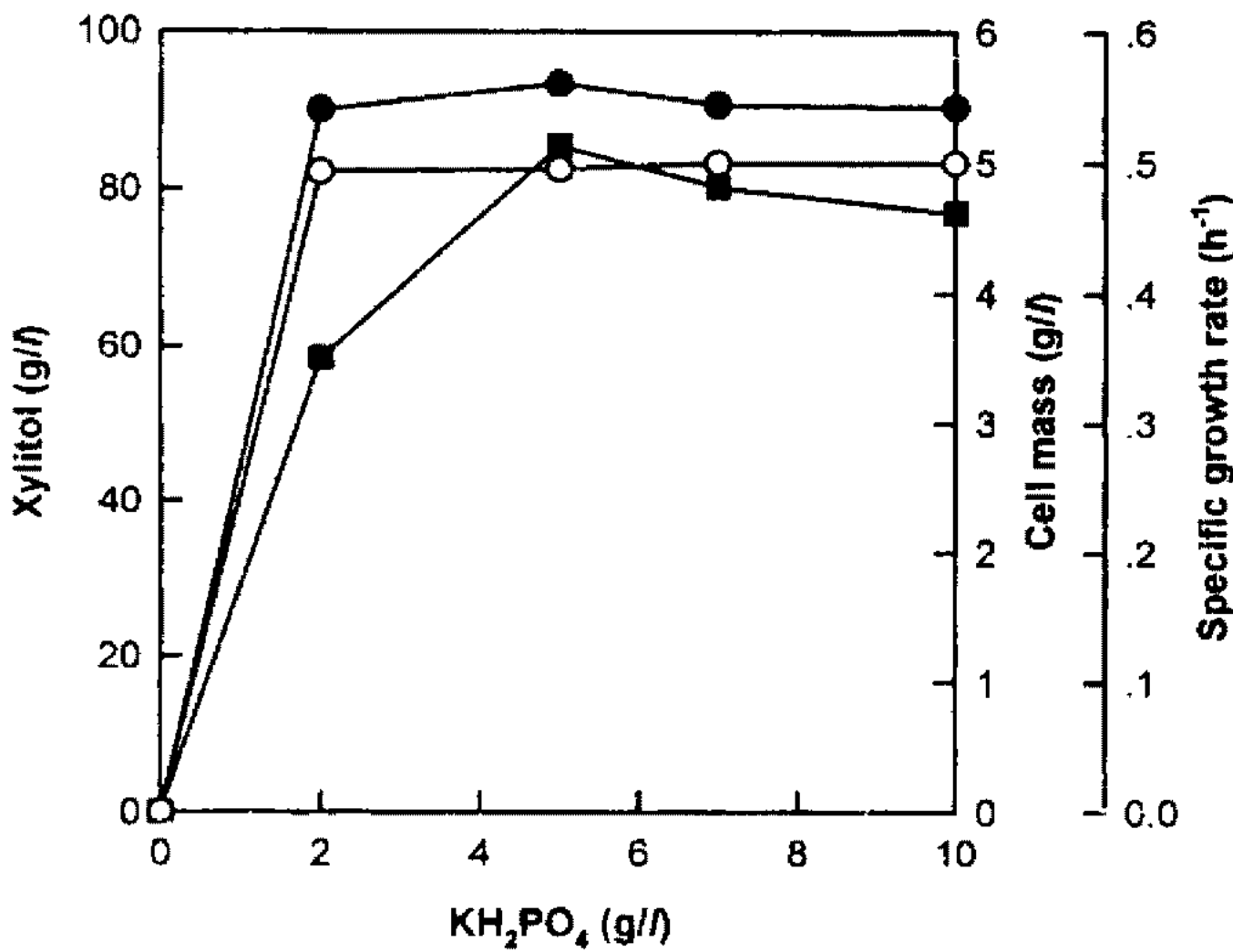


Fig. 4. Effect of potassium diphosphate on cell growth and xylitol production.

Cell mass (●), specific growth rate of cells (○) and xylitol (■).

은 낮은 최종 균체농도이였기 때문이다.

무기염이 xylitol의 생산에 미치는 영향

Phosphate는 xylose를 xylitol로 전환하는 효소의 조효소로 사용되므로 xylitol의 생산에 필수적이다(16). Xylose 100 g/l, yeast extract 10 g/l로 구성된 발효배지에서 phosphate가 xylitol의 생산에 미치는 영향을 살펴보았다. Fig. 4에서 나타난 것처럼, 균체의 비 증식속도와 최종 균체농도는 KH₂PO₄의 농도 2 g/l 이상에서 비교적 일정하였으나 xylitol의 농도는 5 g/l에서 최대값을 보여 xylitol의 생산을 위한 KH₂PO₄의 최적농도를 5 g/l로 결정하였다.

저농도의 magnesium이 xylitol의 생산을 촉진시킨다는

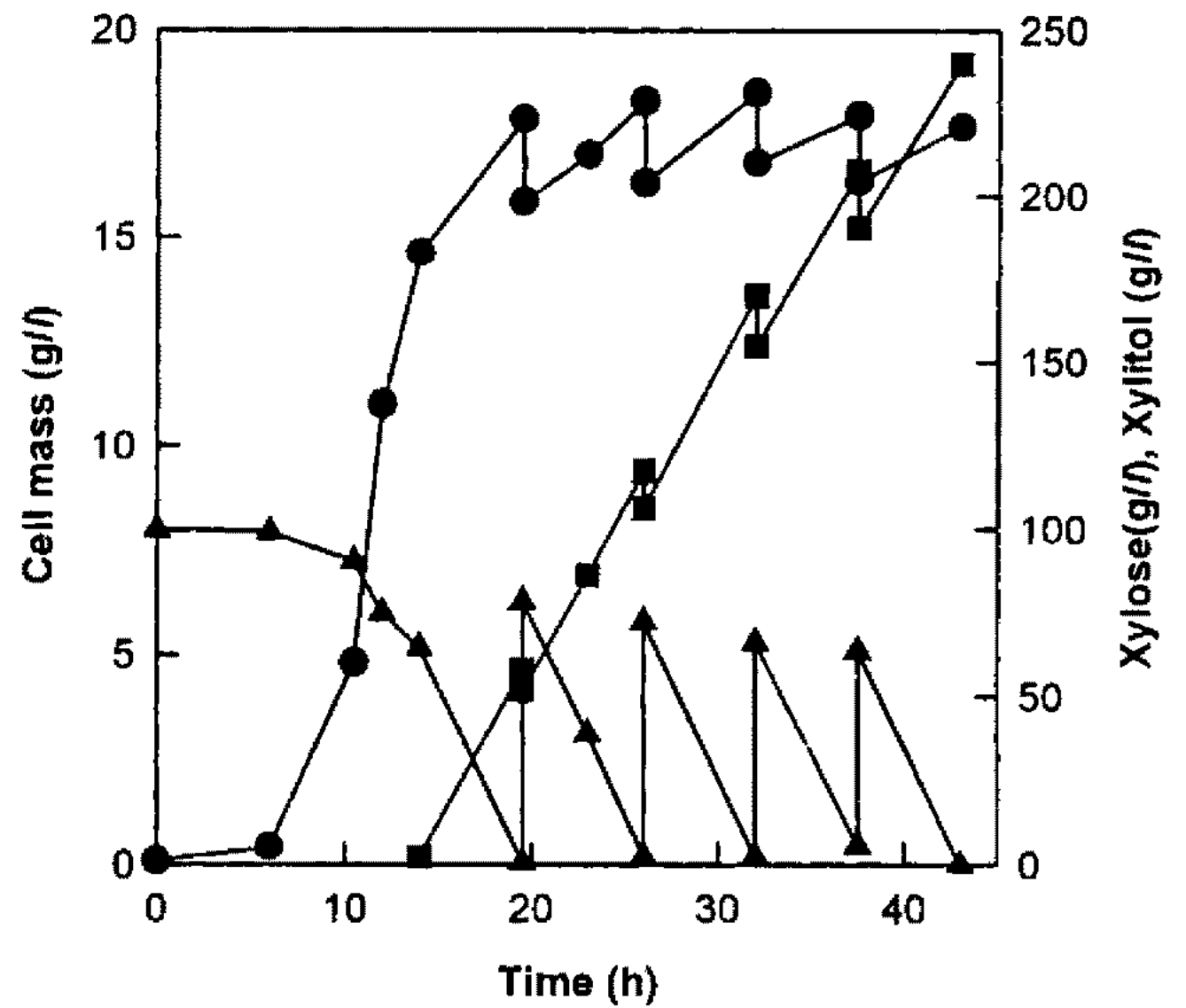


Fig. 6. Fed-batch fermentation of xylitol in a fermentor from 300 g/l xylose by *Candida tropicalis* DS-72.

Cell mass (●), xylose (▲), and xylitol (■).

보고가 있어(17) xylose 100 g/l, yeast extract 10 g/l, KH₂PO₄ 5 g/l로 구성된 발효배지에서 magnesium이 xylitol의 생산에 미치는 영향을 살펴보았다(Fig. 5). 배양 30시간후 균체농도는 MgSO₄ · 7H₂O의 농도 0.4 g/l에서 최대값을 보였으나 균체의 비 증식속도와 xylitol의 농도는 0.2 g/l에서 최대값을 보여 MgSO₄ · 7H₂O의 최적농도를 0.2 g/l로 결정하였다. 질소원과 무기염의 최적화를 통하여 최적배지로 xylose 100 g/l, yeast extract 10 g/l, KH₂PO₄ 5 g/l, MgSO₄ · 7H₂O 0.2 g/l로 선정하였다.

최적배지에서 xylitol의 생산

선정된 최적배지에서 xylose의 농도를 300 g/l로 증가시켜 발효조에서 xylose의 유가식 배양을 수행하였다

Table 3. Xylitol production from xylose by various microorganisms

Yeast	Xylose (g/l)	Xylitol (g/l)	q_p^a (g/g-h)	Q_p^b (g/l-h)	$Y_{P/S}^c$ (g/g)	$Y_{X/S}^d$ (g/g)	Time (h)	Ref.
<i>Candida</i> sp. L-102	114	100	0.46	1.53	0.88	0.03	66	(22)
<i>C. guilliermondii</i>	300	221	0.17	0.52	0.74	0.10	406	(7)
<i>C. parapsilosis</i>	300	210	0.19	3.18	0.70	0.10	66	(18)
<i>C. tropicalis</i>	150	94	0.28	2.93	0.63	0.18	32	(23)
<i>C. tropicalis</i> DS-72	300	240	0.48	5.58	0.80	0.06	43	this study

^aSpecific xylitol production rate. ^bVolumetric xylitol production rate. ^cXylitol yield from xylose. ^dCell yield from xylose.

(Fig. 6). 이때 유가식 배양을 수행한 이유는 *C. tropicalis* DS-72의 경우 100 g/l 이상의 xylose에서는 xylitol 생산 속도가 저하되었기 때문이었다. 배양은 균체 증식기에서는 용존산소를 높게 유지시켜 빠른 시간 내에 높은 농도의 균체를 얻은 후 xylitol의 생산기에서 용존산소를 제한하여 xylitol의 생산성을 증가시키는 방법을 사용하였다(18, 19). Xylitol 생산기에 용존 산소를 제한 높게 유지시키면 산소가 NADH를 NAD⁺로 산화하여 NAD(P)H/NAD⁺의 비율이 낮아져 xylitol이 xylulose로 산화된 결과 균체가 더 축적되고 xylitol이 덜 축적될 것이다(6, 7). 이러한 방법으로 300 g/l의 xylose로부터 43시간만에 240 g/l의 xylitol을 얻었다. 이러한 결과는 xylose에 대한 xylitol의 수율 80%와 xylitol의 생산성 5.38 g/l-h에 해당되는 것이다.

문헌보고 중 높은 xylitol의 생산성을 나타낸 경우만을 Table 3에 정리하였다. 지금까지 원심분리하여 균체를 농축하지 않고 사용한 문헌보고 최고 수준은 *C. guilliermondii*를 이용하여 배양시간 406 h 동안 300 g/l의 xylose로부터 221 g/l의 xylitol을 생산한 경우이다(7). 그러나, 본 연구에서의 *C. tropicalis* DS-72의 xylitol 생산성은 *C. guilliermondii*들의 생산성 보다 10배 이상 높게 나타났다. 또한, 본 연구는 원심분리하여 농축된 균체를 이용한 경우인 *Candida* sp. L-102(22)와 *C. tropicalis* (23)에서는 xylitol의 생산성이 각각 1.53 g/l-h, 2.93 g/l-h를 보여준 결과 뿐 아니라 같은 용존산소 조절 방법을 사용한 *C. parapsilosis*의 xylitol의 생산성 2.50 g/l-h 보다도 높은 결과를 보여주었다. 또한 균체 당 xylitol의 생산성 역시 0.48 g/g-h로 기존에 보고된 다른 균주들 보다 높게 나타났다.

요 약

Xylitol의 생산능이 우수한 효모를 xylose 제조공장의 sludge로부터 분리하여 생리적 특성을 동정하여 *Candida tropicalis* DS-72로 명명하였다. 선별된 균주는 발효 시간 32시간에 100 g/l xylose로부터 72 g/l xylitol을 생산하는 고수율의 xylitol을 생산균 이었다. *C. tropicalis* DS-72를 사용하여 xylitol의 생산에 영향을 주는 배지성

분의 최적화를 수행하였다. 여러 가지 질소원이 xylitol의 생산에 미치는 영향을 살펴본 결과 yeast extract가 xylitol의 생산에 가장 좋았다. 무기질소원을 사용한 경우에는 균체증식도 잘 일어나지 않았으며 xylitol이 전혀 생성되지 않았다. 무기염으로 KH₂PO₄와 MgSO₄ · 7H₂O를 선정하여 최적화를 수행하였고 그 결과 최적배지를 xylose 100 g/l, yeast extract 10 g/l, KH₂PO₄ 5 g/l, MgSO₄ · 7H₂O 0.2 g/l로 결정하였다. 선정된 최적배지에서 플라스크 배양 결과 배양시간 30시간에 88 g/l의 xylitol을 생산하였다. 균체 증식기에서는 용존산소농도를 높게 유지하여 고농도의 균체를 짧은시간에 얻은 후, xylitol의 생산기에서는 용존산소를 제한하는 방법으로 발효조에서 300 g/l의 xylose로부터 43시간만에 240 g/l의 xylitol을 얻었다. 이러한 결과는 xylitol의 수율 80%와 xylitol의 생산성 5.38 g/l-h에 해당되는 것이다.

참고문헌

- Makinen, K. K. and E. Soderling. 1980. A quantitative study of mannitol, sorbitol, xylitol, and xylose in wild berries and commercial fruits. *J. Food Sci.* **45**: 367-370.
- Pepper, T. and P. M. Olinger. 1988. Xylitol in sugar-free confections. *Food Technol.* **42**: 98-106.
- Emodi, A. 1978. Xylitol. Its properties and food applications. *Food Technol.* **32**: 20-32 (1978).
- Hyvonen, L. and P. Koivistoinen. 1983. Food technological evaluation of xylitol. *Adv. Food. Res.* **28**: 273-403.
- Gong, C. S., T. A. Claypool, L. D. McCracken, C. M. Maun, P. P. Ueng and G. T. Tsao. 1983. Conversion of pentoses by yeasts. *Biotechnol. Bioeng.* **25**: 85-102.
- Horitsu, H., Y. Yahashi, K. Takamizawa, K. Kawai, T. Suzuki and N. Watanabe. 1992. Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*. Optimization of production rate. *Biotechnol. Bioeng.* **40**: 1085-1091.
- Meyrial, V., J. P. Delgenes, R. Moletta and J. M. Navarro. 1991. Xylitol production by *Candida guilliermondii*. Fermentation behavior. *Biotechnol. Lett.* **13**: 281-286.
- Nishio, N., K. Sugawa, N. Hayase and S. Nagai. 1989. Conversion of D-xylose into xylitol by immobilized cells of *Candida pelliculosa* and *Methanobacterium* sp. HU. *J. Ferment. Bioeng.* **67**: 356-360.

9. Du Preez, J. C., B. van Driessel and B. A. Prior. 1989. D-xylose fermentation by *Candida shehatae* and *Pichia stipitis* at low dissolved oxygen levels in fed-batch cultures. *Biotechnol. Lett.* **11**: 131-136.
10. Yoshitake, J., M. Shimamura, H. Ishizaki and Y. Irie. 1976. Xylitol production by *Enterobacter liquefaciens*. *Agric. Biol. Chem.* **40**: 1493-1503.
11. Yoshitake, J., H. Ohiwa and M. Shimamura. 1971. Production of polyalcohol by a *Cornyebacterium* sp., Part I. Production of pentitol from aldopentose. *Agric. Biol. Chem.* **35**: 905-911.
12. Izumori, K. and K. Tuzaki. 1988. Production of xylitol from D-xylulose by *Mycobacterium smegmatis*. *J. Ferment. Technol.* **66**: 33-36.
13. 오덕근, 윤상현, 김정민, 김상용, 김정희. 1996. *Candida parapsilosis* 돌연변이주에 의한 xylitol 생산시 배지조건의 최적화. *산업미생물학회지* **24**: 507-511.
14. Kreger-Van Rij, N. J. W. 1984. The yeasts (a taxonomic study). Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
15. Barnett, J. A. R. W. Payne and D. Yarrow. 1983. Yeasts: Characteristics and identification. Cambridge University Press, London.
16. Hahn-Hagerdal, B., H. Jeppsson, K. Skoog and B. A. Prior. 1994. Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. *Enzyme Microb. Technol.* **16**: 933-943.
17. Mahler, G. F. and D. V. Guebel. 1994. Influence of magnesium concentration on growth, ethanol, xylitol production by *Pichia stipitis* NRRL Y-7124. *Biotechnol. Lett.* **16**: 407-412.
18. Kim, S. Y., J. H. Kim and D. K. Oh. 1997. Improvement of xylitol production by controlling oxygen supply in *Candida parapsilosis*. *J. Ferment. Bioeng.* **83**: 267-270.
19. 김상용, 윤상현, 김정민, 오덕근. 1996. *Candida parapsilosis*에 의한 xylitol 생산시 균체농도가 미치는 영향. *한국식품과학회지* **28**: 970-973.
20. Du Preez, J. C., B. van Driessel and B. A. Prior. 1989. D-xylose fermentation by *Candida shehatae* and *Pichia stipitis* at low dissolved oxygen levels in fed-batch cultures. *Biotechnol. Lett.* **11**: 131-136.
21. Furlan, S. A., P. Bouilloud, P. Strehaiano and J. P. Riba. 1991. Study of xylitol formation under oxygen limiting conditions. *Biotechnol. Lett.* **13**: 203-206.
22. Lu, J., L. B. Tsai, C. S. Gong and G. T. Tsao. 1995. Effect of nitrogen sources on xylitol production from D-xylose by *Candida* sp. L-102. *Biotechnol. Lett.* **17**: 167-170.
23. Yahashi, Y., H. Horitsu, K. Kawai, T. Suzuki and K. Takamizawa. 1996. Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*. The effect of D-glucose feeding. *J. Ferment. Bioeng.* **81**: 148-152.

(Received 21 February 1997)