

## **Bacillus sp. DSNC 101에 의한 Xylanase 생산**

조 남 철

동신전문대학 식품영양과

### **Production of Xylanase by *Bacillus sp.* DSNC 101**

Nam-Chul Cho

Department of Food & Nutrition, Dongshin Junior College, Kwangju 500-714, Korea

#### **Abstract**

A strain of *Bacillus sp.* DSNC 101, isolated from soil, produced up to 305.0 units/ml of xylanase when grown on the medium containing 2.0 % xylan, 2.0 % yeast extract and 0.4 %  $K_2HPO_4$ . The strain produced xylanase in the presence of xylan, soluble starch, rice straw, Avicel, maltose, and lactose as a sole carbon source, but the enzyme was not synthesized in the presence of xylose, glucose or arabinose. The crude xylanase preparation did not show hydrolytic activity towards cellulosic substrates and PNPX, a chromogenic substrate for  $\beta$ -xylosidase. The temperature and pH optima for the xylanase production were 40°C and 8.0, respectively. Xylanase synthesis was repressed by glucose, but not by xylose. The hydrolysis products of xylan catalyzed with the culture filtrate were xylooligosaccharides such as xylobiose and xylotriose but xylose was not detected by thin layer chromatography.

Key words : *Bacillus*, xylanase

#### **서 론**

식물의 hemicellulose의 주성분인 D-xylan은 D-glucose, L-arabinose 그리고 D-glucuronic acid 등의 측쇄를 지닌 D-xylose가  $\beta$ -1,4 결합으로 연결된 고분자이다. 이러한 D-xylan은 cellulose와 함께 해마다 많은 양이 생산되지만 대부분 이용되지 않고 폐기되고 있는 실정므로 그 이용을 위해 많은 연구가 진행되어 왔다. D-xylan은 미생물이 생산하는 D-xylanase(1,4- $\beta$ -D-xylan xylanohydrolase; EC 3.2.1.8)에 의해 xylooligosaccharides와 xylose로 쉽게 분해되어지며 xylose를 발효할 수 있는 미생물들이 발견됨으로써 그 이용이 주목되어지고 있다.

지금까지 xylan분해에 대해 연구되어온 미생물들은 *Aspergillus niger*<sup>1)</sup>, *Aspergillus spp.*<sup>2)</sup>, *Bacillus stearothermophilus*<sup>3)</sup>, *Bacillus spp.*<sup>4)</sup>, *Streptomyces lividans*<sup>5)</sup>, *Schizophyllum radiatum*<sup>6)</sup>, *Pullularia pulluans*<sup>7)</sup> 등이 주로 연구되어지고 있다. 본 연구자는 전남 지

역 논밭의 토양으로부터 xylan을 분해할 수 있는 세균인 *Bacillus sp.* DSNC 101을 분리하였으며, 본 연구에서는 *Bacillus sp.* DSNC 101의 xylanase 생산에 대한 최적 조건을 보고하고자 한다.

#### **재료 및 방법**

##### **1. Xylanase 활성도 측정**

Xylanase의 xylan 분해 활성도는 2% oat spelts xylan을 함유한 50 mM sodium acetate 완충 용액 (pH 6.0)에 일정량의 효소액을 가하여 30분간 50°C에서 진탕 반응시킨 다음 생성된 환원당을 dinitrosalicylic acid 방법<sup>8)</sup>으로 정량하였으며 1분 동안에 xylose로 환산한 환원당 1 $\mu$ mole을 생성하는 효소량을 1 unit로 하였다.

##### **2. Xylanase 생산에 대한 배양 온도의 효과**

*Bacillus sp.* DSNC 101을 20, 30, 40, 그리고 50°C에

서 각각 3일간 진탕 배양한 후 배양 상정액 중의 xylanase 활성도를 측정하여 비교하였다.

### 3. 탄소원의 xylanase 유도 효과

*Bacillus* sp. DSNC 101을 1%의 각각의 탄소원들과 0.3%의 yeast extract가 함유된 액체 배지에 40℃에서 3일간 200rpm으로 진탕 배양한 다음 배양 상정액 중의 xylanase 활성도를 측정 비교하였다.

### 4. Xylanase 생산에 대한 질소원의 효과

Xylanase 생산에 대한 서로 다른 질소원들의 효과를 조사하기 위해 유기 질소원과 무기 질소원을 각각 0.3%의 농도가 되도록 1%의 oat spelt's xylan이 함유된 액체 배지에 가한 다음 40℃에서 3일간 200rpm으로 진탕 배양한 후 배양 상정액 중의 xylanase 활성도를 측정하여 비교하였다.

### 5. 반응 생성물의 확인

효소 반응 상정액에 존재하는 환원당은 precoated silica gel aluminium sheet (Silica gel 60F<sub>254</sub>, Merck Co.)를 이용한 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography)로 확인하였다. 전개 용매로서는 *n*-butanol:ethanol:water(5:3:2) 계<sup>19)</sup>를 이용하였으며 발색 시약으로는 silver nitrate-sodium hydroxide를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. Xylanase 생산에 대한 배양 온도의 영향

*Bacillus* sp. DSNC 101의 xylanase 생산에 대한 배양 온도의 영향을 각각의 온도에서 조사한 바 xylanase 생산에 대한 최적 온도는 40℃로 나타났다(Fig. 1). 30℃에서는 최대 xylanase 생성량의 약 62%가 생성된 반면 20℃와 50℃에서는 매우 낮은 생산량을 보였다.

### 2. Xylanase 생산에 대한 초기 pH의 영향

배양액의 초기 pH는 0.1N HCl 또는 0.1N NaOH 용액을 이용하여 조정하였다. 각각의 pH로 조정된 액체 배지에서 3일간 배양한 후 배양액의 pH를 측정하였다. pH 3.0과 pH 4.0으로 조정된 배양액은 pH의 변화가 거의 나타나지 않은 반면, 나머지 배양액의 최종 pH는 배양 후 pH 9.0~10.0까지 증가하였다. 이는 본 시험에 사용된 균주가 알칼리 발효성 xylan분해 세균임을 나타낸다. 각각의 배양액 중의 xylanase 활성도를 측정할 바, 본 균주는 pH 3.0과 4.0에서는 xylanase의 생산

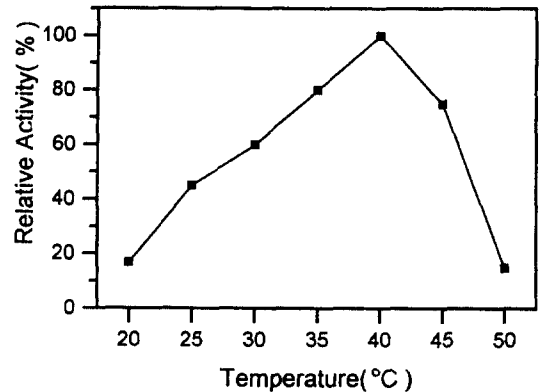


Fig. 1. Effect of culture temperature on the xylanase production by *Bacillus* sp. DSNC 101 in the xylan medium composed of 0.5% oat spelt's xylan and 0.3% yeast extract.

뿐만 아니라 균체의 증식 또한 매우 낮았으며 pH 5.0 이상의 배지에서는 xylan 분해 xylanase가 생산되는 것으로 나타났고 그중 초기 pH가 8.0인 액체 배지에서 xylanase 생산이 가장 높았다(Fig. 2). 이는 본 균주의 xylanase 생산이 산성보다는 알칼리성 배지에서 잘 일어남을 나타낸다.

### 3. Xylanase 생산에 대한 탄소원의 효과

Xylanase의 생산은 배지에 사용된 탄소원의 성질에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 oat spelt's xylan을 포함한 여러 가지 탄소원들의 xylanase 생산에 대한 효과를 검토하였다(Table 1). 사용된 탄소원들 중 oat spelt's xylan과 larch

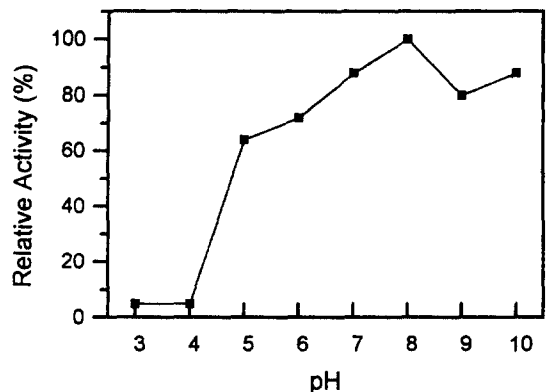


Fig. 2. Effect of initial pH of medium on the xylanase production by *Bacillus* sp. DSNC 101. Initial pH of medium was adjusted to pH 2~10 using 0.1M HCl or 0.1M NaOH.

**Table 1. Effect of carbon sources on xylanase production by *Bacillus* sp. DSNC 101**

Carbon sources	Relative activity (%)
None	0.0
Oat spelts xylan	100.0
Larch wood xylan	95.0
Rice straw	60.5
Starch	64.0
Inulin	24.4
Avicel	18.4
Lactose	36.0
Maltose	35.5
Xylose	0.0
Glucose	0.0
Arabinose	0.0

Culture was carried out at 40°C for 3 days in the medium containing 1% each carbon source and 0.3% yeast extract.

wood xylan이 xylanase 생산에 대해 다른 탄소원들에 비해 매우 효과적인 것으로 나타났다. 벃짚 분말과 가용성 전분을 효소 유도제로 사용하였을 때 그들의 효소 유도 효과는 oat spelts xylan에 의해 유도된 xylanase 활성도의 약 60%에 달했다. 벃짚 분말의 이러한 유도 효과는 정제된 xylan 뿐만 아니라 정제되지 않은 천연 헤미셀룰로스 또한 좋은 xylan 유도제로 이용될 수 있음을 보여준다. 가용성 당류들 중 lactose와 maltose도 또한 상당량의 xylanase 유도 효과를 나타냈으며 반면 xylose, glucose 그리고 arabinose와 같은 단당류들이 탄소원으로 사용된 배지의 경우 xylanase의 활성도가 나타나지 않았다. 이러한 결과들은 *Bacillus stearothermophilus*<sup>10)</sup>의 경우 xylose와 xylan에 의해 xylanase 생산이 유도되며 lactose와 maltose에 의해서는 유도되지 않는다는 결과와는 상이하였다. 한편, xylose와 glucose의 xylanase 생산에 대한 억제 효과를 조사한 바, xylose의 경우 xylanase 생산에 대한 억제 효과가 나타나지 않은 반면 glucose는 1%의 농도에서 완전히 xylanase 생산을 억제하였다(Table 2). Table 3은 oat spelts xylan의 농도에 따른 xylanase 생산 효과를 나타낸다. Oat spelts xylan의 농도를 점진적으로 증가시킨 배지에서 배양한 후 배양 상정액의 일정량을 취해 xylanase 활성도를 조사한 바, oat spelts xylan의 농도가 2%인 배지에서 xylanase 생산이 가장 높았으며 그 이상의 농도에서는 오히려 점차 감소하였다.

#### 4. 질소원의 효과

여러 가지 유기 질소원들을 배지에 가한 후 xylanase

**Table 2. Repressive effects of D-glucose on the xylanase production by *Bacillus* sp. DSNC 101**

Added sugar	Xylanase activity (units/ml)
None	8.4
D-glucose	0.0
D-xylose	8.6

Culture was carried out at 40°C for 3 days in the medium 1% oat spelts xylan and 0.3% yeast extract, supplemented with 1.0% D-glucose or D-xylose.

**Table 3. Effect of concentrations of oat spelts xylan on the xylanase production by *Bacillus* sp. DSNC 101**

Oat spelts xylan (%)	Xylanase activity (units/ml)
0.0	0.0
0.5	3.2
1.0	8.5
2.0	16.3
3.0	16.2
4.0	15.7

Culture was carried out at 40°C for 3 days in the medium containing each concentration of xylan and 0.3% yeast extract.

생산 정도를 조사한 바, 질소원들에 따른 큰 차이를 볼 수 있었다(Table 4). Xylanase 생산에 대해 가장 효과적인 질소원은 yeast extract였으며 그 다음으로 tryptone이 효과적이었고 그 외의 질소원들은 매우 낮

**Table 4. Effect of nitrogen sources on the xylanase production by *Bacillus* sp. DSNC 101**

Nitrogen sources	Xylanase activity sources (units/ml)
None	0.0
Yeast extract	16.2
Peptone	0.4
Proteous peptone	4.3
Malt extract	0.0
Tryptone	13.7
Urea	2.0
Glutamic acid	0.3
KNO <sub>3</sub>	0.0
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.0
NH <sub>4</sub> Cl	0.0
CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	1.1
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.0

Culture was carried out at 40°C for 3 days in the medium containing 2.0% xylan supplemented with 0.3% various nitrogen sources.

은 효과를 보였다. 무기 질소원들의 경우 ammonium acetate의 경우 약간의 효과를 보인 반면 나머지 무기 질소원들은 거의 효과를 보이지 않았다. 결과적으로 *Bacillus* sp. DSNC 101의 xylanase 생산에 있어 yeast extract가 가장 효과적인 질소원으로 나타남으로써 yeast extract의 농도를 변화시키면서 그 효과의 변화를 조사하였다(Table 5). Yeast extract를 배지에 0.2% 이하로 가했을 때, xylanase 생산은 매우 낮았다. Xylanase 생산은 yeast extract의 농도가 0.4%에서 2.0%까지 함유된 배지에서 yeast extract의 농도에 비례적으로 급격히 증가하다 그 이상의 농도에서는 오히려 점차 감소하였다. 따라서 *Bacillus* sp. DSNC 101의 xylanase 생산에 대한 최적 yeast extract 농도는 2.0%로 나타났다.

#### 5. 인산염의 효과

Xylanase 생산에 대한 여러 가지 인산염들의 효과를 관찰하기 위해 0.2%의 각각의 인산염이 함유된 배지에 균주를 배양한 후 배양 상정액 중의 xylanase 활성도를 측정하였다(Table 6). 인산염의 첨가는 인산염이 들어 있지 않은 배지에 비해 약 1.62~2.95배의 xylanase 생산 증가 효과를 나타냄으로써 xylanase 생산에 있어서 인산염의 첨가가 필수적임을 나타낸다. 실험에 사용된 인산염들 중  $K_2HPO_4$ 와  $Na_2HPO_4$ 는 인산염이 첨가되지 않은 배지에 비해 각각 2.95배와 2.78배의 효소생산 증가 효과를 나타낸 반면  $KH_2PO_4$ 와  $NaH_2PO_4$ 는 각각 1.77배와 1.62배를 나타냄으로써 dibasic phosphate가 monobasic phosphate보다 효과적임을 알 수 있다.  $K_2HPO_4$ 의 농도에 따른 xylanase 생산의 변화를

**Table 5. Effect of yeast extract concentrations on the xylanase production by *Bacillus* sp. DSNC 101**

Yeast extract (%)	Xylanase activity (units /ml)
0.0	0.0
0.1	2.4
0.2	8.4
0.4	27.3
0.6	36.6
1.0	78.8
2.0	243.4
3.0	222.0
4.0	210.0
5.0	162.0

Culture was carried out at 40°C for 3 days in the medium containing 2.0% xylan and each concentration of yeast extract.

**Table 6. Effect of phosphate salts on the xylanase production**

Phosphate salts	Xylanase activity (unit /ml)
None	54.2
$Na_2HPO_4$	150.5
$NaH_2PO_4$	87.6
$K_2HPO_4$	160.2
$KH_2PO_4$	96.0

Culture was carried out at 40°C in each 100ml flask containing 30ml of medium composed of 1.0% xylan and 1.0% yeast extract.

관찰하였다(Table 7).  $K_2HPO_4$ 의 농도가 0.4%가 될 때까지는 xylanase의 생산도 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 점차 감소함으로써 xylanase 생산에 대한  $K_2HPO_4$ 의 최적 농도는 0.4%임을 알 수 있다.

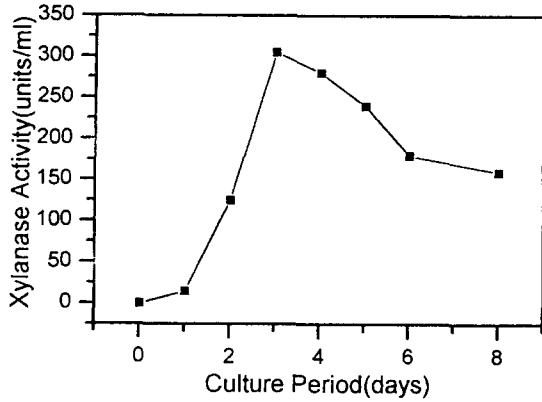
#### 6. 배양중 xylanase 생산의 변화

이상의 결과에 따라 xylanase의 생산에 대한 최적 배지 조성은 2.0% oat spelts xylan, 2.0% yeast extract, 그리고 0.4%  $K_2HPO_4$ 가 함유된 pH 8.0의 배지로 나타난 바, 이러한 조성의 배지에 *Bacillus* sp. DSNC 101를 접종하여 40°C에서 8일간 배양하면서 배양 시간별로 xylanase의 생산 정도를 관찰하였다(Fig. 3). *Bacillus* sp. DSNC 101의 xylanase 생산은 배양 초기부터 배양 3일까지 급격히 증가하여 305.0 unit /ml까지 증가하였으나 그 후에는 점차 감소하였다. *Bacillus* sp. DSNC 101의 3일째 배양액을 조효소 용액으로 하여 다른 기질들에 대한 분해 활성 여부를 조사한 바, xylan분해 활성 외에 다른 기질 즉, Avicel, cellulose, carboxymethyl cellulose, 그리고 PNPX 등에 대한 분해 활성은 나타나지 않았다. 배양 상정액

**Table 7. Effect of  $K_2HPO_4$  on the xylanase production**

$K_2HPO_4$ (%)	Xylanase activity (unit /ml)
0.0	78.2
0.1	213.5
0.2	240.4
0.3	270.5
0.4	290.0
0.6	280.4
0.8	205.5
1.0	176.3

Culture was carried out at 40°C in each 100ml flask containing 30 ml of medium composed of 2.0% xylan and 2.0% yeast extract.



**Fig. 3.** The time course of the xylanase production by *Bacillus sp.* DSNC 101 in the optimized medium composed of 2.0 % oat spelts xylan, 2.0 % yeast extract, and 0.4%  $K_2HPO_4$ .

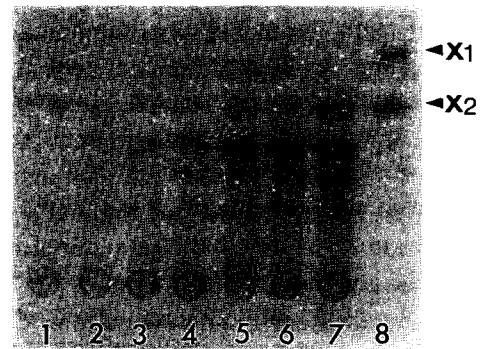
중의 환원당을 박층 크로마토그래피를 이용하여 분석한 결과 배양 초기에는 소당류가 나타났으나 배양 3일부터 마지막날까지는 xylobiose를 포함한 소당류들은 점차 감소하였고 반면에 배양 초기에 소량 존재했던 xylose가 배양 3일 후부터는 주된 환원당으로 나타났다(Fig. 4). *Bacillus sp.* DSNC 101이 생산하는 xylanase의 xylan 분해 특성을 관찰하기 위해 배양 상징액 중의 환원당을 환원 여과를 통해 제거한 다음 당이 제거된 배양 상징액을 xylan과 반응시킨 후 xylan 분해 생성물을 분



**Fig. 4.** TLC of reducing sugars in culture filtrate of *Bacillus sp.* DSNC 101. Samples were taken from culture medium of *Bacillus sp.* DSNC 101 day after day. Lane 1; 0 day, lane 2; 1 day, lane 3; 2 day, lane 4; 3 day, lane 5; 4 day, lane 6; 5 day, lane 7; 6 day, lane 8; 7 day, lane 9; standards(xylose and xylobiose).

석하였다(Fig. 5). Fig. 5의 박층 크로마토그래피 분석의 결과는 *Bacillus sp.* DSNC 101이 생산하는 xylanase는 xylan으로부터 xylobiose를 포함한 소당류들을 생산함으로써 *Bacillus sp.* DSNC 101이 생산하는 xylanase가 endo-xylanase임을 나타내며 이는 Fig. 4의 결과와는 상이함을 알 수 있다. 이 두 가지 실험의 결과는 배양액중의 xylan이 일단 *Bacillus sp.* DSNC 101이 생산하는 endo-type의 xylanase에 의해 소당류로 분해된 후 세포의 바깥쪽에 결합한  $\beta$ -xylosidase에 의해 xylose로 분해됨을 나타낸다.

이상과 같은 결과를 종합하여 Table 8과 같은 xylanase 생산 배지의 조성과 xylanase 생산 최적 조건을 결정할 수 있었다. Table 8의 배지에서 생산된 *Bacillus sp.* DSNC 101의 xylanase 활성도는 305.0 unit/ml이었으며 이 값은 지금까지 보고된 많은 미생물들의 xylanase 생산이 그들의 최적 배양 조건에서 40~200 units/ml 정도임을 고려할 때<sup>10-19)</sup> *Bacillus sp.* DSNC 101의 xylanase 생산량은 매우 높다고 할 수 있으며



**Fig. 5.** TLC of the hydrolysis products from xylan with culture filtrate of *Bacillus sp.* DSNC 101. Enzyme reaction was done at 50°C for 60min. The hydrolysis products were taken at different reaction time. Lane 1; 0 min, lane 2; 2 min, lane 3; 5 min, lane 4; 10 min, lane 5; 20 min, lane 6; 30min, lane 7; 60 min, lane 8; standards(xylose and xylobiose).

**Table 8.** The composition of the improved medium

Ingredient	Content(%)
Xylan	2.0
Yeast extract	2.0
$K_2HPO_4$	0.4
pH	8.0

따라서 *Bacillus* sp. DSNC 101은 xylan의 이용에 매우 유용한 역할을 할 것으로 생각된다.

## 요 약

*Bacillus* sp. DSNC 101은 탄소원으로 2.0% oat spelts xylan, 질소원으로 2.0% yeast extract, 그리고 인산염으로 0.4%  $K_2HPO_4$ 를 함유한 pH 8.0의 xylanase 생산 배지에서 40℃에서 3일간 배양하였을 때 305.0 unit/ml의 xylanase 활성도를 나타내었다. 본 균주는 xylan, 가용성 전분, 벧길 분말, Avicel, maltose, 그리고 lactose를 유일한 탄소원으로 사용하였을 때 xylanase를 생산하였으나 glucose, xylose, 그리고 arabinose를 사용하였을 때는 xylanase를 생산하지 않았다. 여러 가지 기질들에 대한 배양 상징액의 분해 활성을 조사한 바, xylan 분해 활성 외에 Avicel, carboxymethyl cellulose, 그리고 전분 및 PNPX에 대한 분해 활성은 나타내지 않았다. Xylanase 합성은 glucose에 의해서는 억제되었으나 xylose에 의해서는 억제되지 않았다. 배양 상징액을 이용한 xylan 분해 산물은 xylobiose를 포함한 소당류들이었으며 xylose는 거의 생성되지 않았다.

## 감사의 말

본 논문은 1996년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 최양도, 이희중, 한문희 : *Aspergillus niger*의 hemicellulase계 효소에 관한 연구 (D-xylanase계 효소의 정제와 재조합). *한국산업미생물학회지*, 11, 23 (1983).
2. Bailey, M. J. and Poutanen, K. : Production of xylanolytic enzymes by strains of *Aspergillus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 30, 5 (1989).
3. 송현숙, 최용진 : *Bacillus stearothermophilus*에 의한 Xylanase 생산. *한국산업미생물학회지*, 17, 289 (1989).
4. Okazaki, W., Akiba, T., Horikoshi, K., and Akahoshi, R. : Production and properties of two types xylanases from alkalophilic thermophilic *Bacillus* spp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 19, 335 (1984).
5. Kluepfel, D., Shareck, F., Mondou, F., and Morosoli, R. : Characterization of cellulase and xylanase ac-

6. Cavazzoni, V., Manzoni, M., Parini, C., and Bonferoni, M. C. : D-xylanase produced by *Schizophyllum radiatum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 30, 247 (1987).
7. Juana, P. L. and Driguez, H. : D-xylose as an inducer of the xylan-degrading enzyme system in the yeast *Pullularia pulluans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 27, 134 (1987).
8. Miller, G. L. : Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31, 426 (1959).
9. Chaplin, M. F. and Kennedy, J. F. : *Carbohydrate analysis: a practical approach*, IRL press, Oxford, Washington DC, p. 40. (1987).
10. Shoham, Y., Schwartz, Z., Khasin, A., Gat, O., Zosim, Z. and Rosenberg, E. R. : Delignification of wood pulp by a thermostable xylanase from *Bacillus stearothermophilus* strain T-6. *Biodegradation*, 3, 207 (1992).
11. Biely, P. and Vrsanska, M. : Xylanase of *Cryptococcus albidus*. *Methods in Enzymology*, 160, 638 (1988).
12. John, M and Schmidt, J. : Xylanases and  $\beta$ -xylosidase of *Trichoderma ligninum*. *Methods in Enzymology*, 160, 662 (1988).
13. Bastawde, K. B., Puntambekar, U. S. and Gokhale, D. V. : Optimization of cellulase-free xylanase production by a novel yeast strain. *J. Ind. Microbiol.*, 13, 220 (1994).
14. Gomes, D. J., Gomes, J. and Steiner, W. : Production of highly thermostable xylanase by a wild strain of thermophilic fungus *Theroascus aurantiacus* and partial characterization of the enzyme. *J. Biotechnol.*, 37, 11 (1994).
15. Milagres, A. M. F., Lacin, L. S. and Prade, R. A. : Characterization of xylanase production by a local isolate of *Penicillium janthinellum*. *Enzyme. Microbe. technol.*, 15, 248 (1993).
16. Gomes, I., Gomes, J., Steiner, W. and Esterbauer, H. : Production of cellulase and xylanase by a wild strain of *Trichoderma viride*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 36, 701 (1992).
17. Hirotsuke, O. and Atsuhiko, S. : Xylanase of *Bacillus pumilus*. *Methods in Enzymology*, 160, 632 (1988).
18. Teruhiko, A. and Koki, H. : Xylanases of alkalophilic thermophilic *Bacillus*. *Methods in Enzymology*, 160, 655 (1988).
19. Balakrishnan, H., Dutta-Choudhury, M., Srinivasan, M. C. and Rele, M. V. : Cellulase-free xylanase production from an alkalophilic *Bacillus* species. *World. J. Microbiol. Biotechnol.*, 8, 627 (1992).

(1997년 8월 18일 접수)