

Serratia sp. KH-95가 생산하는 Prodigiosin계 적색 색소의 분리 및 특성

김창호* · 김성호 · 홍석인¹

제일제당(주) 대소공장 연구개발팀, ¹고려대학교 화학공학과

Isolation and Characteristics of Prodigiosin-like Red Pigment Produced by *Serratia* sp. KH-95.

Kim, Chang-Ho*, Sung-Ho Kim, and Suk-In Hong¹. Cheiljedang Corporation, San 259, Daepung-ri, Daeso-myun, Eumsung-gun, Chung-buk 369-820 Korea, ¹Department of Chemical engineering, Korea University, Seoul 136-701, Korea – A bacterial strain KH-95 producing a high concentration of red pigment was isolated from the soil. The strain KH-95 was identified as a strain of *Serratia* sp. based on morphological and physiological characteristics. The optimal temperature and initial pH range for the production of pigment were 28°C and 7.0-8.0, respectively. The red pigment was purified through solvent extraction and silica gel column chromatography. Analyzing the structure of this pigment by instrumental analysis, it was identified as prodigiosin-like compound. In optimization of carbon and nitrogen sources, all carbon sources tested in this work inhibited the production of pigment except oils. Casein turned out to be the most suitable nitrogen source for pigment production. Other nitrogen sources such as yeast extract, beef extract and peptone showed good cell growth but potently inhibited the production of pigment.

Key words: prodigiosin-like red pigment, *Serratia* sp. KH-95, medium optimization

색소는 크게 천연색소와 합성색소로 나누어지며 식품 공업, 화장품, 의약품, 가축사료 첨가제등으로 다양하게 사용되어지고 있다. 19세기 이후 화학공업의 발달과 함께 합성색소가 개발되어 광범위하게 사용되어져 왔지만 안전성 등이 문제되어 식품, 의약품 및 화장품등에서 점차 천연색소의 사용이 증가되고 있다[10, 4]

지금까지 천연색소가 법적으로 정의되어 있는 나라는 없다. 하지만 많은 소비자들이 건강 지향적인 상품에 관심이 높기 때문에 천연색소는 상업적으로는 매우 중요한 의미를 지니고 있다. 일반적으로 천연색소의 조건은 동엽적 혹은 생물학적인 원료를 사용하여야 하고, 이들로부터 화학적 반응을 거치지 않고 생산되어야 하며, 역사적으로 오랜 기간 동안 사용되어 왔어야 한다[10]. 이러한 조건을 만족시키는 현재 사용중인 천연색소는 동물과 식물에서 주로 생산되는 flavonoids, carotenoids, chlorophylls, betalaines 계열의 색소와 미생물이 생산하는 색소로 나눌 수 있다[9].

천연색소는 역사적으로 오랜 기간동안 사용되어 왔음에도 불구하고 합성 색소와 같이 산업적으로 요구하는 일정한 품질로 다량 공급할 수 있는 천연색소의 종류는 많지 않다. 지금까지 천연색소는 대부분 동물이나 식물에서 직접 추출하여 사용되어져 가격이 비싸고 생육 조건 및 자연환경에 따라 품질의 변화가 심한 단점을 지니

고 있다. 이같은 문제점을 극복하기 위하여 식물의 조직배양을 통한 천연색소의 생산이 연구되어 shikonin등 일부 천연색소가 상품화되기도 하였으나 식물의 조직배양 역시 시간이 오래 걸리고 생산성이 낮은 결점을 지니고 있다[3, 8]. 반면에 미생물은 배양에 의한 대량 생산이 가능하며 품질적으로 안정된 제품을 생산할 수 있어 미생물 배양에 의한 천연색소의 생산에 관심이 점차 증대되고 있다[7, 13, 18, 19]. 따라서 안전성이 높고 대량생산이 가능한 미생물에 의한 천연색소의 생산이 매우 바람직하다. 색소를 생산하는것으로 알려진 많은 미생물 중에서 *Serratia* 속은 적색의 프로디기오신계열의 색소를 생산하는것으로 많은 연구가 진행되어졌다[1, 2, 11, 13-18]. 하지만 프로디기오신에 관한 대부분의 연구가 색소생산과 연관된 미생물의 대사작용 혹은 프로디기오신 유사체들의 생합성경로[11, 13-16] 및 구조 분석[1, 2]에 치우쳐 있으며 색소의 생산량 역시 10-100 mg/l로 매우 낮아 공업화에 관한 연구는 이루어지지 못하고 있다[13, 17]. 따라서 본 연구에서는 적색 색소를 다량 생산하는 균체를 토양으로부터 분리한 후 균체의 동정 및 색소의 구조를 분석하였으며, 아울러 다량의 색소를 얻기 위하여 색소의 생성에 미치는 영양인자와 환경인자를 조사하였다.

재료 및 방법

균주의 선별 및 배양 방법

본 실험에 사용한 균주는 충북 음성의 토양으로부터

*Corresponding author
Tel. 82-434-30-7093, Fax. 82-434-30-7054
E-mail: changhau@cheiljedang.com

직접 분리한 *Serratia* sp. KH-95로서 한국 종균협회에 기탁하였다(수탁번호: KFCC-10970). 토양으로부터 미생물을 분리하기 위하여 토양 1g을 멸균증류수 50 ml에 혼탁하고 200 rpm에서 30분간 교반하였다. 토양 혼탁액을 100배 회석한 다음 0.2 ml를 취하여 영양한천 배지에 도말하였다. 이것을 28°C에 2일간 보존한 다음 적색을 띠는 침력을 분리하였다. 이와 같이 분리된 색소 생성 균주들을 2.0% polypeptone(日本製藥주식회사), 0.1% K₂HPO₄, 0.1% MgSO₄, 0.1% NaCl로 조성된 액체배지 50 ml가 담긴 500 ml 삼각플라스크에 접종하고 28°C, 200 rpm으로 18시간 배양을 실시하여 가장 많은 적색의 색소를 생산하는 균주를 선정하였다.

색소 생산균주로 선별된 균주는 영양한천 배지에서 24시간 배양후 4°C에서 보관하였다.

균체농도의 측정방법

배양물을 증류수로 회석시킨후 분광광도계(UV-160A, Shimadzu Co.)로 600 nm에서 optical density(O.D.)를 측정하였다.

적색색소의 측정방법

배양액 및 균체에 함유되어있는 색소량을 측정하기 위하여 배양액을 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액과 균체를 분리하였다. 배양액의 색소량을 측정하기 위하여 상등액을 1N HCl을 첨가하여 pH를 2.0으로 산성화시킨 메탄올을 이용하여 10-100배 회석한 후 분광광도계를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 균체에 함유되어 있는 색소를 분석하기 위하여 원심분리 후 상등액을 버린 다음 산성화된 메탄올을 이용하여 균체로부터 색소를 추출하고 10-100배 회석한 다음 분광광도계를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 미리 정제하여 얻은 색소의 흡광 표준 곡선을 이용하여 색소 농도를 산출하였다.

균주의 형태 및 생리학적 특성

균주의 형태는 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 조사하였고 생리적, 생화학적 특성은 Manual of methods for general bacteriology[5] 및 Bergey's manual of systematic bacteriology[6] 등에 수록되어 있는 세균 동정법에 따라 행하였다.

색소 물질의 분리, 정제 및 물리 화학적 특성

Serratia sp. KH-95 균주가 생산하는 색소의 분리과정은 Fig. 1에 나타내었다. 배양이 완료된 배양액 1,000 ml에 ammonium sulfate 100 g을 용해시킨 후 원심분리하여 얻은 균체에 메탄올 200 ml을 가하여 균체로부터 색소를 분리하였다. 진공농축기를 사용하여 메탄올을 전부 제

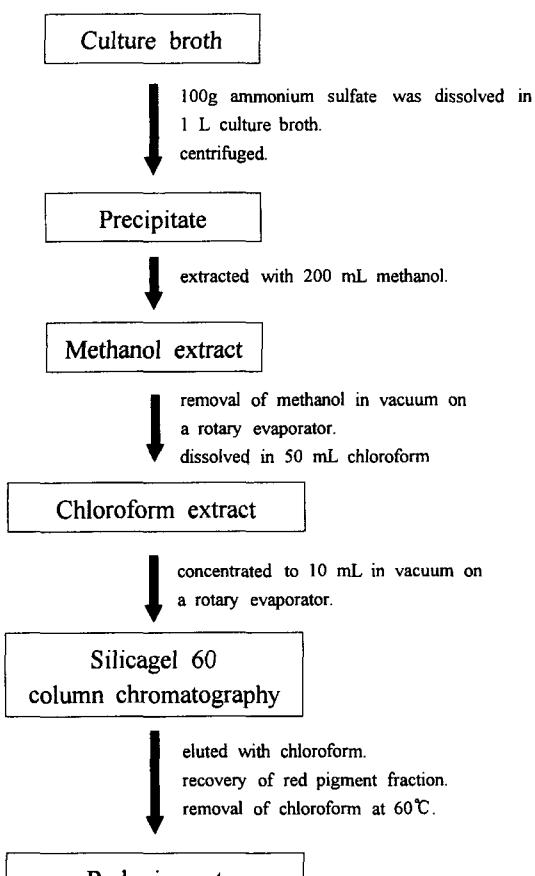


Fig. 1. Isolation procedure of red pigment.

거하였으며, 잔류물에 클로로포름 50 ml을 가하여 색소를 추출하였다. 다시 진공농축기를 사용하여 부피를 10 ml로 만들어서 실리카겔 컬럼 크로마토그라피를 실시하였다. 시료를 컬럼에 주입하고 클로로포름으로 용리하여 적색 분획을 분리하였으며 용매를 제거하여 적색의 색소를 얻었다. 이렇게 얻어진 색소는 spectrophotometer(UV-160A, Shimadzu Co.), FAB-MASS(VG ANALITICAL, UK), FT-IR(BOMEM DA8, BOMEM Co.), ¹H-NMR (AMX500, BRUKER) 등의 기기분석을 통하여 구조를 분석하였다.

결과 및 고찰

분리균주의 형태 및 생리학적 특징

토양으로부터 분리한 적색 색소 생산균주를 *Serratia* sp. KH-95로 명명하고 주사전자현미경(SEM)으로 관찰한 결과 끝이 둥근 막대형이며 운동성을 갖고 있었다 (Fig. 2). 균주 KH-95의 생리학적 생화학적 특성은 Table 1과 3에 나타낸 것과 같이 그람 음성이며 적색색소를 생산하고, gelatin 분해능이 있으며, Table 2와 같이

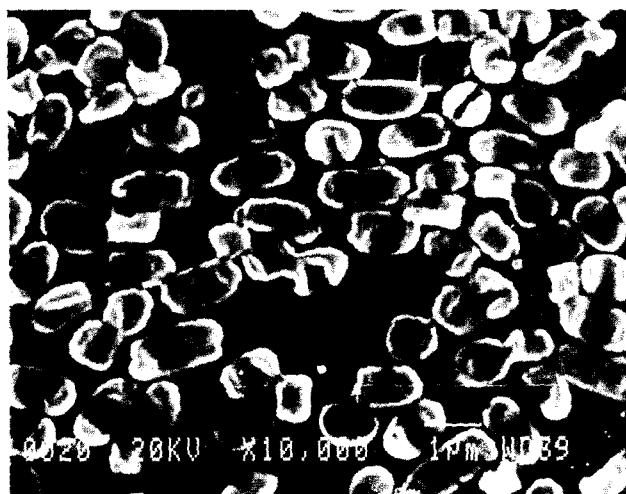


Fig. 2. Scanning electron micrograph of *Serratia* sp. KH-95 ($\times 10,000$).

Table 1. Physiological properties of *Serratia* sp. KH-95

ONPG test*	-
Arginine dehydrolase (ADH)	+
Lysine decarboxylase (LDC)	+
Citrate utilization	+
H ₂ S production	-
Gelatin Hydrolysis	+
Urea Hydrolysis	+
Esculin Hydrolysis	+
Nitrate reduction	+
Catalase	+
Oxidase	+
O/F test**	Oxidative

ONPG test*: Orthonitrophenyl-β-galactoside test.

O/F test**: Oxidation-fermentation test.

Table 2. Utilization and acid formation in various sugars by *Serratia* sp. KH-95

Sugar	Utilization	Acid formation
Arabinose	+	+
Cellobiose	+	-
Fucose	+	+
Glucose	+	+
Lactose	-	-
Maltose	+	-
Mannose	+	+
Melibiose	+	+
Raffinose	+	-
Rhamnose	-	-
Sucrose	+	+
Xylose	+	+
Adonitol	+	+
Dulcitol	+	-
Inositol	+	-
Inulin	+	-
Salicin	+	+

fucose를 탄소원으로 이용하는 특성으로 보아 *Serratia* 속 균주임을 알 수 있다. 그리고 KH-95 균주는 catalase, oxidase 및 lysine decarboxylase 양성 반응을 보였으며 당의 이용성과 발효성을 조사한 결과 lactose, rhamnose를 이용하지 못하였으나 arabinose, inulin, cellobiose, xylose, mannose, melibiose, raffinose 등은 이용하였고 arabinose, xylose, glucose, mannose, melibiose 당으로부터 산을 생성하였다. KH-95 균주는 *Serratia* 속 균주중 색소를 생산하는 것으로 알려진 *S. marcescens*에 속하는 것으로 추정된다.

Table 3. Comparison of the characteristics of *S. marcescens*, *S. plymuthica* and *Serratia* sp. KH-95

Characteristics	<i>S. marcescens</i>	<i>S. plymuthica</i>	<i>Serratia</i> sp. KH-95
Shape	Short rods	Short rods	Short rods
Gram staining	Negative	Negative	Negative
Production of prodigiosin	+	+	+
Physiology			
Good growth at 4°C	-	+	-
Lysine decarboxylation	+	-	+
Esculin hydrolysis	+	+	+
H ₂ S production	+	+	-
Growth on and acid formation			
Arabinose	-	+	+
Xylose	-	+	+
Melibiose	-	+	+
Rhamnose	-	-	-
Cellobiose	-	+	+
Raffinose	-	+	+
Growth on			
Lactose	-	+	-
Sucrose	+	+	+
Salicin	+	+	+
Raffinose	-	+	+

+: 90% or more of the strains are positive. d: 11-89% of the strains are positive. -: 90% or more of the strains are negative.

cescens, *S. plymuthica*, *S. rubidaea* 중에서 당 이용성이 Bergey's manual of systematic bacteriology[17]에 기재된 *S. plymuthica*의 특성과 거의 일치하나, 생리적 특성은 *S. marcescens*와 유사한 점이 많이 있다(Table 3).

적색 색소의 물리 화학적 특성

Serratia sp. KH-95 균주가 생산하는 적색 색소는 메탄올, 클로로포름과 같은 유기용매에는 잘 녹으나 물에는 녹지 않았으며 산성에서 짙은 적색, 알칼리에서는 오렌지 색을 나타내었다. 0.01N 염산을 함유한 산성의 메탄올에 분리된 색소를 용해한 후 UV-VIS spectrum을 관찰한 결과 Fig. 3에서와 같이 535 nm에서 최대 흡수 피크를 나타냈으며 이것은 Natarajan 등[13] 및 Castro 등[1]이 발표한 prodigiosin의 특징과 매우 유사하였다.

IR spectrum(CHCl_3)을 이용하여 분석을 실시한 결과

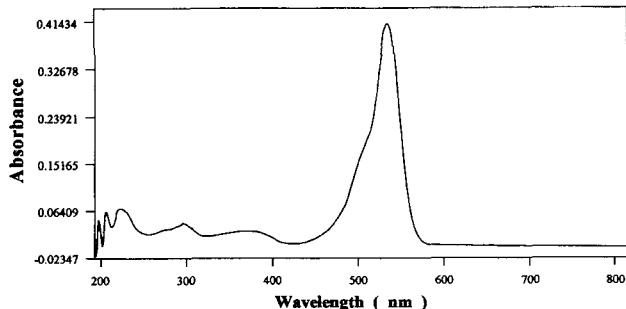


Fig. 3. UV spectrum of prodigiosin-like red pigment.

Fig. 4에서와 같이 3370 cm^{-1} 의 흡수 피크로부터 N-H 결합이 있으며, $2840\text{-}2920\text{ cm}^{-1}$ 의 피크로부터 CH aliphatic 결합이 존재함을 알 수 있었다. 이것은 Deol 등[2]이 밝힌 prodigiosin 및 prodigiosin 유사물질의 IR spectrum 특성과 매우 비슷한 결과이다.

분리된 색소의 분자량을 확인하기 위하여 FAB-MASS를 이용한 기기분석을 실시하였다. Fig. 5에서와 같이 주 피크의 $(M+H)^+$ 가 m/z 324으로 확인되어 본 색소의 분자량은 prodigiosin과 동일한 323으로 확인되었다. 그리고 $^1\text{H-NMR}$ spectrum(Fig. 6)의 분석 결과 δ 0.9 ppm, 1.1 ppm 및 1.2 ppm가 나타나는 proton

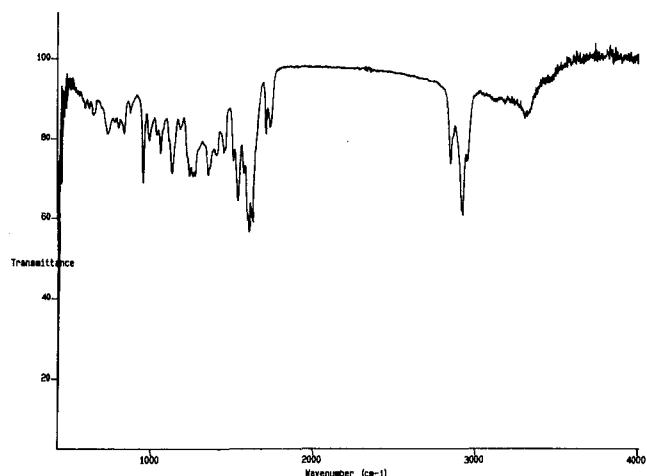


Fig. 4. FT-IR spectrum of prodigiosin-like red pigment.

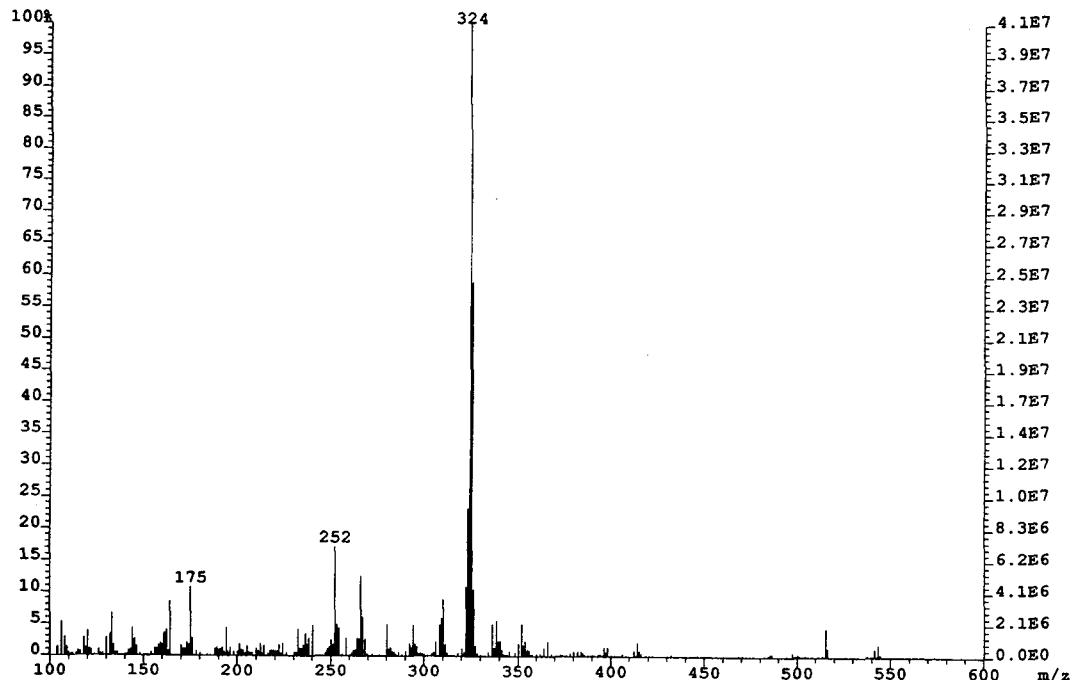


Fig. 5. FAB-mass spectrum of prodigiosin-like red pigment.

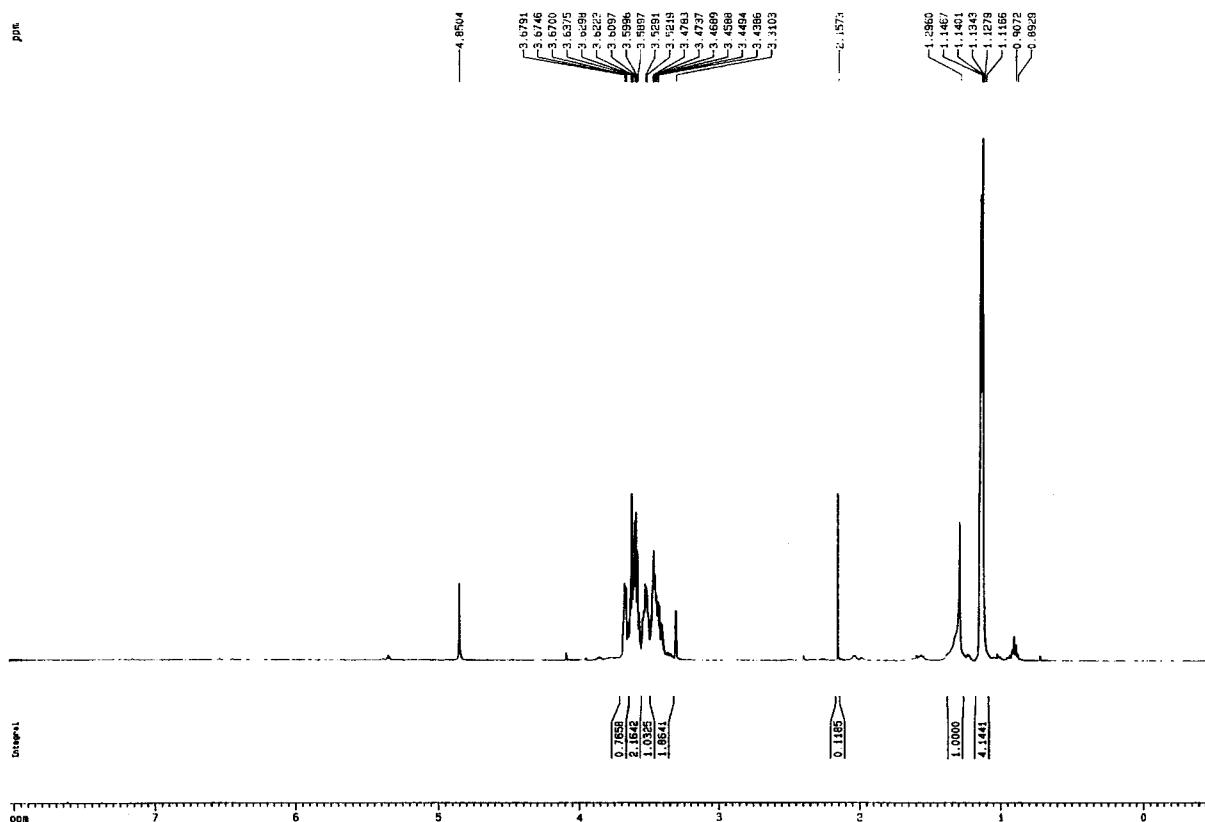


Fig. 6.¹H-NMR spectrum of prodigiosin-like red pigment (CDCl₃).

signal로부터 메틸렌 사슬과 메틸기가 존재하는 것으로 판단되며 δ 3.3-3.6 ppm 사이의 proton signal은 *prodigiosin*의 고리 구조내에 존재하는 수소로 사료된다.

이상의 mass spectrum 분석에 의한 분자량 및 IR spectrum과 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에 의한 부분구조, 그리고 *Serratia* 균주가 생산하는 적색 색소임을 고려할 때 본 색소는 prodigiosin 또는 그 유도체(Fig. 7)로 판단되며 명확한 구조를 규명하기 위한 연구가 현재 진행중에 있다.

색소 생산 조건 검토

배양온도의 영향 25-37°C 사이의 다양한 배양 온도

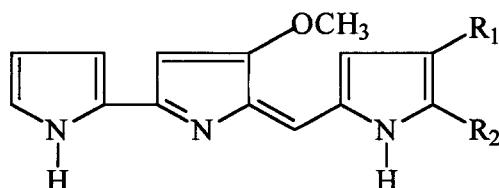


Fig. 7. The structure of prodigiosin-like pigment.

- | Fig. 7. The structure of prodigiosin-like pigments | |
|--|----------------------------------|
| I | : R ₁ =n-pentyl, |
| | R ₂ =CH (prodigiosin) |
| II | : R ₁ =H, |
| | R ₂ =n-nonyl |
| III | : R ₁ =H, |
| | R ₂ =n-undecyl |
| IV | : R ₁ =n-hexyl, |
| | R ₂ =CH ₃ |
| V | : R ₁ =n-heptyl, |
| | R ₂ =CH ₃ |

가 색소의 생산 및 균체의 성장에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 8). 25°C에서 30°C 사이에서 색소 생산 및 균체의 성장이 양호하였으며 최적 온도는 28°C로 나타났다. 이 온도 조건에서 25°C 및 30°C에 비하여 균체의 성장 및 색소의 생산량이 10-15% 높았다. 배양온도가 점차 증가함에 따라 색소의 생산 및 균체의 성장이 급격히 하

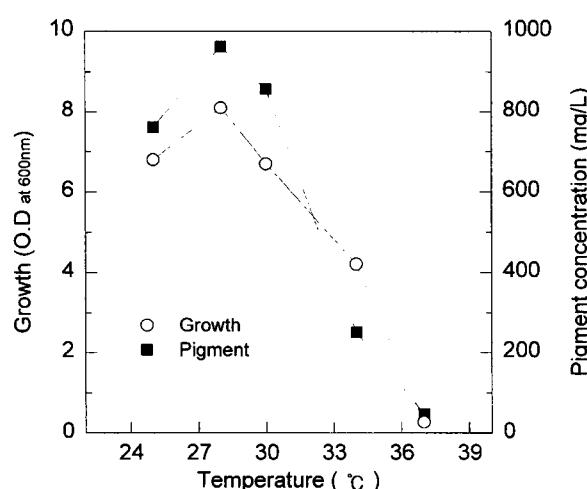


Fig. 8. Effect of temperature on the production of pigment in shake-flask culture.

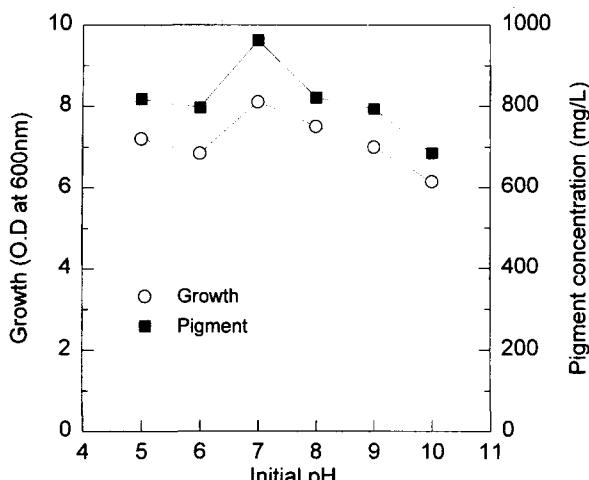


Fig. 9. Effect of initial pH on the production of pigment in shake-flask culture.

락하였으며, 37°C 이상시 색소의 생산과 균체의 성장이 거의 이루어지지 않았다. Williams 등[16]은 *S. marcescens* 균주가 prodigiosin의 생산시 40°C 이상인 경우 bipyrrrole의 전구물질인 4-methoxy-2,2-bipyrrrole-5-carboxaldehyde(MBC)와 monopyrrrole의 결합이 저해를 받아서 prodigiosin이 생성되지 않는다고 보고하였으며, Yang 등[18] 역시 토양으로부터 분리한 *S. marcescens* 균주가 37°C 이상시 색소를 생산하지 않는다고 보고하였다. 따라서 본 연구의 결과는 다른 연구자들의 결과와 일치하는 것을 알 수 있었다.

배양 초기 pH의 영향

색소 생성에 미치는 초기 pH를 조사한 결과를 Fig. 9에 나타내었다. 초기 pH를 5.0에서 10.0까지 광범위하게 변화시켜 배양한 결과, pH 7.0 근처에서 가장 많은 색소를 생산하는 것으로 나타났고, pH 5.0-6.0, pH 8.0-9.0에서도 pH 7.0에 비하여 조금 낮았지만, 색소의 생성은 비슷한 수준으로 이루어짐을 알 수 있었다. Nakajima[12]는 *S. marcescens* 경우 pH 7.2-8.0 사이에서 가장 많은

Table 5. Effect of nitrogen sources on the production of pigment

Nitrogen source (20 g/L)	Pigment concentration (mg/L)
Bactopeptone	470
Polypeptone	924
Casein	1562
Casitone	602
Bacto-trypotone	604
Bacto-soytonate	404
Bacto-yeast extract	156
Bacto-beef extract	12

Basal medium: 0.1% K₂HPO₄, 0.1% MgSO₄·7H₂O, 0.1% NaCl.

prodigiosin이 생성되며 pH 5.0 이하에서는 prodigiosin의 생성이 이루어지지 않았다고 보고하였다. 본 연구 결과는 Nakajima[12]의 연구 결과와 색소의 최적 생산 pH는 유사한 결과를 보여주지만, pH 5.0 이하에서 prodigiosin이 거의 생성되지 않는다는 결과는 본 연구와 차이를 보여주고 있다.

배지조성의 영향

색소 생산에 미치는 탄소원과 질소원의 영향을 조사하였다. Table 4에서와 같이 포도당, 말토스, 설탕 등의 탄소원은 색소의 생성량이 8 mg/l, 85 mg/l, 79 mg/l로서 탄소원을 첨가하지 않은 경우의 924 mg/l에 비하여 매우 낮았다. 그러나 글리세롤은 색소의 생성량이 958 mg/l로서 비교적 양호하게 나타났으며, 대두유의 경우 3380 mg/l로서 현재까지 보고된 prodigiosin계 적색색소의 생산량인 10-100 mg/l에 비하여 매우 많은 양의 색소가 생성됨을 알 수 있었다. 또한 Table 5에서와 같이 배지내에 효모즙, 육즙, 펩톤이 포함되어 있는 경우 색소의 농도가 156 mg/l, 12 mg/l, 470 mg/l로서 색소의 생성이 크게 억제 되었지만 카제인은 1562 mg/l의 높은 농도의 색소를 생성하였다. 위의 결과로부터 균체가 이용하기가 쉬워 성장을 좋게 하는 포도당, 말토스와 같은 탄소원과 효모즙, 육즙, 펩톤과 같은 질소원은 균체의 성장에는 유리하지만 색소의 생산에는 매우 불리하다는 사실을 알 수 있었다.

포도당에 의한 prodigiosin계 색소 생산의 억제현상에 관하여 많은 연구가 진행된 바 있다. Scoot 등[15]은 *S. marcescens* 균체 성장 말기에 색소를 만들 때 균체의 성장에는 직접적으로 관계가 없으나 prodigiosin계 색소 생합성과정과 관련이 있는 prolin oxidase가 만들어진다는 연구 결과를 보고하였으며, Lim 등[11]은 포도당이 prolin oxidase가 만들어지는 것을 저해하며, 그 결과 prodigiosin계 색소의 생산이 억제된다고 보고하였다. 질소원에 의한 prodigiosin 억제 현상은 명확하게 알려진 것이 없으나 prodigiosin 생합성에는 아미노산의 역할이 매우

Table 4. Effect of carbon sources on the production of pigment

Carbon Source (20 g/L)	Pigment concentration (mg/L)
Glucose	8
Lactose	522
Maltose	85
Sucrose	79
Myo-inositol	480
Glycerol	958
Soy bean oil	3380
None	924

Basal medium: 2.0% polypeptone, 0.1% K₂HPO₄, 0.1% MgSO₄·7H₂O, 0.1% NaCl.

중요한 것으로 알려져 있다. Qadri와 Williams[14]는 prodigiosin 생합성에 proline, methionine, alanine, histidine^o 직접 이용된다고 보고하였다.

요 약

토양으로부터 다량의 적색 색소를 생산하는 KH-95 균주를 분리하였다. 형태학적 특성 및 생리학적 특성을 조사한 결과 KH-95는 *Serratia* sp.로 동정되었다. 본 균주가 생산하는 적색색소를 용매 추출 및 실리카겔 칼럼 크로마토그라피를 이용하여 분리, 정제 후 기기분석을 수행한 결과 prodigiosin의 일종으로 밝혀졌다.

Serratia sp. KH-95 균주가 prodigiosin계 적색색소를 생산하기 위한 최적 조건은 배양온도 28°C, 초기 pH는 7.0였으며 배지 조성을 검토 결과 카제인이 색소의 생산에 가장 적합하였다. 대두유, 미강유와 같은 oil을 제외한 대부분의 탄소원과 이용하기 쉬운 질소원인 효모즙, 육즙, 펩톤등은 균체의 생장을 촉진 하였으나 색소 생산을 현저하게 저해하였다. 최적화된 배지 및 배양조건에서 대두유를 탄소원으로 첨가할 경우 3,380 mg/l의 많은 적색색소가 생산되었다.

REFERENCES

- Castro, A. J., A. H. Corwin, F. J. Waxham, and A. L. Beilby. 1959. Products from *Serratia marcescens*. *J. Org. Chem.* **24**: 455–459.
- Deol, B. S., J. R. Alden, J. L. Still, A. V. Robertson, and J. Winkler. 1974. Isolation and structure confirmation of norprodigiosin from a *Serratia marcescens* mutant. *Aus. J. Chem.* **27**: 2657–2662.
- Fowler, M. W. 1983. Production of commercially useful compounds by plant cell culture, pp. 3–38. In S. H. Mantell and H. Smith (eds.), *Plant Biotechnology*, Cambridge University Press, London.
- Francis, F. J. 1987. Lesser-known food colorants. *Food technol.* **41**(4): 62–68.
- Gerhardt, P., R. G. E. Murray, R. N. Costilow, E. W. Nester, W. A. Wood, N. R. Krieg, and G. B. Phillips. 1981. *Manual of Methods for General Bacteriology*, pp. 410–441. American Society for Microbiology, Washington.
- Grimont, P. A. D. and F. Grimont. 1984. Genus VIII. *Serratia* Bizio 1823, 288AL. In N. R. Krieg and J. G. Holt (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 1, The Williams & Wilkins, Baltimore.
- Han, O. and R. E. Mudgett. 1992. Effect of oxygen and carbon dioxide partial pressures on *Monascus* growth and pigment production in solid-state fermentation. *Biotechnol. Prog.* **8**: 5–10.
- Hannagata, N., A. Ito, Y. Fukuhara, and K. Murata. 1992. Red pigment formation in cultured cells of *Carthamus-Tinctorius* L. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **56**: 44–47.
- Kim, D. H. 1988. *Food Chemistry*, pp. 39–102. Tamgudang, Seoul.
- Lauro, G. J. 1991. A primer on natural colors. *Cereal Foods World* **36**: 949–953.
- Lim, D. V., S. M. H. Qadi, C. Nichols, and R. P. Williams. 1977. Biosynthesis of prodigiosin by nonproliferating wild-type *Serratia marcescens* and mutant deficient in catabolism of alanine, histidine and proline. *J. Bacteriol.* **129**: 124–129.
- Nakajima, M. 1965. The mechanism of prodigiosin biosynthesis. *Bull. Osaka Med. Sch.* **11**: 39–43.
- Natarajan, V. and P. K. Kamath. 1995. UV stable pigment: prodigiosin. *Paintindia* **45**: 23–33.
- Qadi, S. M. H. and R. P. Williams. 1973. Role of methionine in biosynthesis of prodigiosin by *Serratia marcescens*. *J. Bacteriol.* **116**: 1191–1198.
- Scott, R. H., S. M. H. Qadi, and R. P. Williams. 1976. Role of L-proline in the biosynthesis of prodigiosin. *Appl. Environ. Microbiol.* **32**: 561–566.
- Williams, R. P., C. L. Gott, S. M. H. Qadri, and R. H. Scott. 1971. Influence of temperature of incubation and type of growth medium on pigmentation in *Serratia marcescens*. *J. Bacteriol.* **106**: 438–443.
- Williams, R. P. and S. M. H. Qadri. 1980. pp. 31–78. In V. G. Alexander and J. R. Sally (eds), *The Genus Serratia*, CRC press Inc., Boca Raton, Florida.
- Yang, I. Y. and S. O. Hwang. 1995. Isolation and identification of *Serratia marcescens* strain US50-3 producing water soluble red pigment. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 777–780.
- Yongsmith, B., S. Krairak, and R. Bavavoda. 1994. Production of yellow pigments in submerged culture of a mutant of *Monascus* sp. *J. Ferment. Bioeng.* **78**(3): 223–228.

(Received March 18, 1998)