

***Streptomyces chibaensis*가 生産하는
Inulase에 관한 研究**
第二報. *Streptomyces chibaensis*의 Inulase 生産條件에 對하여

鄭求英 · 朴性五 · 李啓瑚*

서울女子大學 食品科學科, *서울大學校 農科大學 食品工學科

(1980년 12월 12일 수리)

A study on the Inulase of *Streptomyces chibaensis*
Part II. Culture conditions for the Inulase Production
by *Streptomyces chibaensis*

Koo-Young Chung, Sung-Oh Park, and Ke-Ho Lee*

Dept. Food Science, Seoul Woman's College

*Dept. Food Technology, College of Agriculture, Seoul National University, Seoul, Korea

Abstract

Using *Streptomyces chibaensis*, which produces a strong inulin-hydrolyzing enzyme, the optimum cultural conditions and composition of the medium for the production of inulase were studied.

1. The highest enzyme activity was obtained at pH 7.5 after 84 hours culture at 30°C.
2. None of carbon source better than inulin was found.
3. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and corn steep liquor were favourable inorganic and organic nitrogen sources for the production of inulase.
4. KCl, MgSO_4 and FeSO_4 as the metallic salts were effective for the enzyme production at their concentrations of 0.01, 0.05 and 0.0001%, respectively.
5. The highest production of inulase was obtained from the medium of inulin 1.0% and corn steep liquor 2.0% concentrations, respectively.

緒 論

근래에, 자연중에 풍부하게 들어있는 fructosan으로 부터 fructose를 생산하려는 새로운 시도가 활발히 전개되고 있다.^{1,2,3)} 자연중에 存在하고 있는 fructosan에는 inulin, levan, irisin의 3종류가 있는데, inulin은 32~34개의 fructose가 $\beta(1-2)$ 결합으로 연결되어 있고 비환원성 말단에 sucrose residue를 가진 fructosan이며⁴⁾, levan은 inulin과 마찬가지로 非還元性 말단에 sucrose residue를 가진 fructose 15~30개가 $\beta(2-6)$ 결합으로 된

fructosan이며⁵⁾, irisin은 inulin type과 levan type을 동시에 가지고 있는 fructosan이다⁶⁾.

Inulin은 다알리아(*Dahlia variabilis*), 패지감자(*Helianthus tuberosus* L.), 치코리(*Cichorium intybus*) 등에 풍부하게 들어 있는데 특히 패지감자.塊莖에는 13~15% 정도의 inulin이 함유되어 있다. 패지감자는 기후에 대한 적응성이 클뿐 아니라 병충해에 대해서도 저항성이 강하며, 아무토양에서나 잘 자랄수 있는 재배 특성을 가지고 있는 薯類로서 수확량도 감자나 고구마에 비슷하게 많다.

이러한 점에서 폐지감자는 inulin원으로 상당히 유리하나 인체에는 inulin을 분해하는 효소가 없으므로 직접 식용으로 하지는 못하고 간혹, 사료로 쓰여지고 있을 뿐 거의 용도가 없는 형편이다.^{10,11}.

1887년 Green이 발아중인 폐지감자중의 glycerol 추출물에는 inulin을 분해하여還元糖과 기타의 관명되지 않은 중간산물들을 유리시키는 "inulin-ferment"가 존재한다는 것을 밝힌 이래 치코리뿌리, 다알리아, 폐지감자등의 高等植物體에 inulase가 존재한다는 사실이 알려졌다^{12,13,14,15,16}, 소라(*Trub. Batillus*)의 내장중에도 inulase가 존재한다는 것이 알려졌다¹⁷. 그러나 강력한 inulase는 미생물에서 쉽게 얻을 수 있어 이들에 대한 연구가 주목되고 있다.

Linder(1900)가 *Saccharomyces marxianus*를 비롯한 몇몇 효모가 inulin을 격렬하게 발효시킬 수 있음을 발견한 이래 *Saccharomyces fragilis*를 비롯한 몇몇 효모가 생산하는 inulase에 대한 보고가 있으며, 本江(1946)¹⁸은 *Schizosaccharomyces pombe* var. *cotoensis* II의 乾燥粉碎酵母의 抽出液을 1% inulin溶液(pH 4.6)에 첨가하여 40°C에서 48시간 作用시킨 結果 81%의 분해율을 보였다고 하였으며, Adams(1943)¹⁹등은 제빵효모와 양조효모로부터 얻은 고도의 정제된 invertase가 sucrose를 분해할 뿐 아니라 동시에 inulin을 分解할 수 있었다고 하였고, Snyder등도^{20,21} 강력한 inulase를 분비하는 酵母인 *Saccharomyces fragilis*의 배양조건 및 이것이 분비하는 inulase의 정제를 시도하여 그 作用기작을 報告하였고, Nahm등^{22,23}도 *Saccharomyces fragilis*가 분비하는 inulase를 정제하여 그 성질을 규명한 바 있고 이밖에 *Candida kefyr*의 inulase에 대한 연구등이 있다^{24,25,26,27}.

Tanaka등²⁸도 baker's yeast에 의한 fructose 제조에 대해 보고 했으며 絲狀菌 inulase는 미생물 inulase중 가장 오래전부터 광범위하게 研究되어 왔다고 할 수 있다. 1893년 Bourquelot가 처음으로 *Aspergillus niger*와 *Penicillium glaucum*이 inulase를 生産함을 보고한 이래, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus wentii*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus glaucus*등의 *Aspergillus*屬 균주의 inulase와 *Penicillium luteum*, *Penicillium rubrum*등의 *Penicillium*균주들로부터, inulase 生産에 관한 報告들이 많이 있으며, 朝井²⁹은

*Aspergillus*속 18종, *Penicillium*속 17종, *Citromyces* 10종, *Rhizopus* 2종, *Mucor* 1종, *Absidia* 1종등 각종 絲狀菌의 inulase 生産여부 및 inulase 生産의 최적온도 및 최적 pH등을 광범위하게 연구하여 보고한 바 있다.

그러나 本格的으로 研究된 것은 극히 최근의 일로 中村^{30,31}등은 토양으로부터 우수한 絲狀菌을 선별하여 *Penicillium* sp-1이라 命名하고 이것의 기본적인 培養條件으로부터 시작하여 inulase를 정제하여 그 성질을 규명하고 또한 우수한 inulase 生産菌株인 *Aspergillus niger*에 대해서도 그 배양조건에서부터 정제에 이르는 일련의 연구를 수행하여 지금까지 알려진 미생물 inulase와는 다른 endo型的 inulase를 分離하기도 하였다^{32,33,34}.

김³⁵도 *Penicillium glaucum* inulase의 최적生産조건을 규명하고 精製하였다.

細菌 inulase에 관한 연구로는 1903년 Henneberg가 *Lactobacillus leichmanii*균주가 분비하는 inulase를 확인한 이래 Orla-Jonsen이 *Streptococcus inulinicus*도 inulase분비력이 있음을 보고하였으며 北原등^{36,37,38}은 *Lactobacillus lactis* var. *inulinus*와 *Lactobacillus bulgaricus*가 분비하는 inulase에 의해 inulin을 직접 발효시켜 乳酸을 제조하는 方法을 보고한 바 있다. 五月女등^{39,40}은 inulase분비력이 강한 乳酸菌을 분리하여 배양조건등을 검토하는 과정에서 inulin 함유 배지에서 適應의으로 生成되는 酵素임을 밝혔고, 한편 高橋등^{41,42}은 *Lactobacillus plantarum* F1의 inulase와 *Aspergillus awamori* inulase의 제반성질을 비교 檢討하였다.

以上, 대략적인 inulase의 연구경향을 살펴보면, 대부분의 研究들이 진균류의 inulase분비여부, 우수균주의 선별, 간단한 특성의 규명등에 관한 것이었고 細菌이 분비하는 inulase에 관한 연구는 유산균 inulase의 몇가지에 한정되어 있다.

따라서, 세균 inulase를 얻기 위한 새로운 시도로서 *Streptomyces*속 inulase의 生産성 및 그 특성등을 검토하기 위하여 일차적으로 전국에서 광범위하게 수집한 試料로부터 *Streptomyces*속으로 추정되는 균주를 분리하고 이들중 inulase 生産能이 우수한 菌株을 선정하여 이를 *Streptomyces chibaensis*로 同定하였으며⁴⁵, *Streptomyces chibaensis*가 분비하는 inulase를 精製하여 그 性質을 규명하기에 앞서, 보다 많고 강력한 inulase를 生産해 낼수 있는 inulase 生産의 最適培養條件

및 最適培地組成을 檢討하였기 이에 보고하는 바이다.

實驗方法

I. 培養方法 및 酵素液의 調製

Inulin과 yeast extract를 主體로 한 基本培地를 利用하였다. 즉 Table 1과 같은 조성의 培地 50 ml를 500ml의 삼각 flask에 分注하여 15lb에서 15 分間 殺菌한 다음 基本培地에서 培養한 *Streptomyces chibaensis*를 一白金耳 接種하여 30°C에서 84時間 진탕배양(stroke 5cm, oscillation 120/min) 한후 5,000 xg로 60分間 냉동원심분리하여 얻어진 上澄液을 粗酵素液으로 하였다.

Table 1. The composition of basal medium for inulase production.

Composition	Concentration(%)
Inulin	1.0
Yeast extract	0.5
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.8
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.4
KCl	0.05
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.001
pH	7.5

II. 酵素力價測定(Inulin 分解力)

0.1M phosphate buffer solution (pH 6.5)으로 만든 2.0% inulin溶液을 5분간 50°C의 恒溫槽內에서 定溫시킨후 酵素液을 加하여 50°C에서 15분간 반응시킨 다음 100°C의 끓는물에서 5분간 가열하여 反應을 中止시키고 生成된 還元糖을 Somogyi-Nelson方法⁴³⁾에 의해 測定하였다.

酵素단위는 50°C에서 酵素液 1ml당 1분간 1μ mole의 환원당(fructose)을 生成하는 것을 1단위로 하였다.

III. 酵素生産條件 및 培地組成的 檢討

(1) 培養液의 초기 pH의 영향

효소생산 基本培地의 pH를 4% HCl과 4% NaOH를 使用하여 pH 5.0, pH 6.0, pH 7.0, pH 7.5, pH 8.0, pH 9.0, pH 9.5가 되도록 각각 조절하여 효소생산능력을 比較 檢討하였다.

(2) 培養期間과 酵素生成

효소생산 基本培地에서의 培養時間에 따른 經時的인 酵素生産能을 比較 檢討하였다.

(3) 炭素源

Table 1과 같은 조성을 가진 基本培地中 炭素源의 種類 및 濃도에 따른 效果를 檢討하기 위하여 inulin, saccharose, lactose, glucose, raffinose 등을 各各 0.5% 및 1% 농도로 첨가하여 酵素生産에 미치는 影響을 比較 檢討하였다.

(4) 無機窒素源

Table 1과 같은 조성을 가진 基本培地中 無機窒素源인 (NH₄)₂HPO₄와 (NH₄)₂HPO₄대신 窒素含量이 0.22%가 되도록 (NH₄)₂SO₄, NH₄Cl, NH₄CO₃, (NH₄)₂HPO₄, (NH₄)₂H₂PO₄, NaNO₃를 各各 첨가하여 효소생산에 미치는 影響을 比較 檢討하였다.

(5) 有機窒素源

Table 1와 같은 조성을 가진 基本培地中 有機窒素源인 yeast extract를 대신하여 peptone, yeast extract, meat extract, corn steep liquor, urea등의 各種 有機窒素源을 各各 0.5% 및 1.0%로 添加하여 酵素生産에 미치는 影響을 比較 檢討하였다.

(6) 無機鹽類

Table 1과 같은 조성을 가진 基本培地에 含有되어 있는 MgSO₄·7H₂O, KCl, FeSO₄·7H₂O의 添加濃度を 달리하여 各各의 경우의 酵素生成能을 比較 檢討하였다.

(7) 炭素源과 窒素源의 比率

Table 1과 같은 조성을 가진 基本培地의 조성분 중 炭素源을 inulin으로 하고, 有機窒素源인 yeast extract를 corn steep liquor로 代치시켜서 inulin과 corn steep liquor의 비율에 따른 酵素生成 效果를 比較 檢討하였다.

結果 및 考察

1) 培養液의 초기 pH의 影響

Figure 1에서 보는 바와 같이 배양액의 초기 pH를 7.5로 조절하여 培養하였을 때 가장 酵素生成이 좋았고 초기 pH가 5.0이었을 때는 生育은 어느정도 되었으나 전혀 酵素活性이 나타나지 않았으며, pH 9.0, pH 9.5였을 때는 生育도 나쁘고 酵素活性도 거의 나타나지 않았다. 이와같이 酵素生産에는 培地의 pH가 매우 중요한 影響을 미치고 있음을 알았고, 本菌은 *Penicillium*屬³⁰⁾, *Aspergillus*屬³¹⁾등의 絲狀菌이나 酵母²²⁾에 比하여 最適 酵素生産 最適 pH가 中性쪽으로 기울어져 있었다.

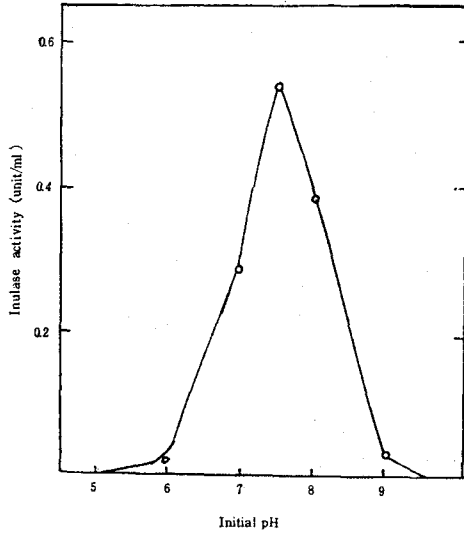


Fig. 1. Effect of initial pH on the production of inulase.

2) 培養期間과 酵素生成

배양기간에 따른 酵素生産은 Figure 2에서 보는 바와 같이 24시간까지는 거의 生産되지 않고 있으나, 48時間부터 급격히 生産 增加되어 84시간경에 최고에 달하였다가 그以後에는 生産減小되는 경향이 있다. Negoro와 Kito²⁵⁾에 의하면 *Candida kefyr*의 intracellular inulase는 배양 72시간경에, 그리고 extracellular inulase는 120시간에 이르러 효소생성이 최고에 이르고, *Saccharomyces fragilis*의 extracellular inulase는 菌의 生育이 감소되기 시작하는 배양 20時間 이후에 효소생성이 유도되어 36시간에 最高에 달하였다가 그以後에는 감소되었다는 보고²⁰⁾가 있으며 *Aspergillus niger*³²⁾나 *Penicillium*속³⁰⁾의 inulase 생산은 배양 192시간만에 최고에 달하였다는 研究報告가 있다. 이들 결과에 비하여 最大의 효소생산량에 달하는 시간에 차이가 나는 것은 菌의 種類에 따라서도 상당한 차이가 있고, 이밖에도 통기등의 배양조건에 따라 달라지는 것으로 생각된다.

3) 炭素源

各種糖類에 대하여 檢討한 결과는 Table 2에서 볼 수 있는 바와 같이 inulin이 炭素源으로 사용된 경우 inulase의 生産은 最高에 달하였으나 xylose, arabinose, salicin, raffinose등을 炭素源으로 한 경우는 거의 inulase 生産力도 없을 뿐더러 生育도 좋지 않았다. 따라서 본 *Streptomyces chibaensis*가 生産하는 inulase는 inulin을 기질로

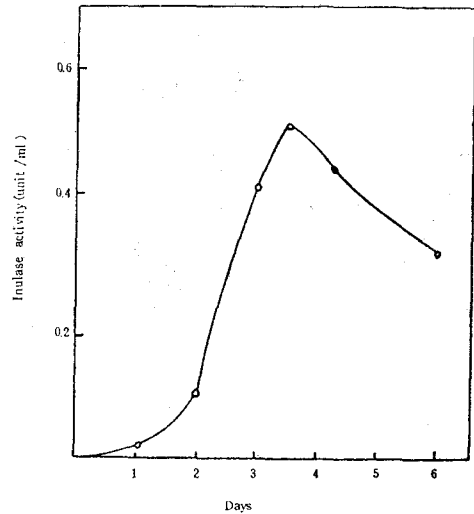


Fig. 2. Change of inulase activity during culture.

하여 유도적으로 生成되는 것으로 생각된다. Snyder등²⁰⁾과 Nakamura등³⁰⁾은 각각 *Saccharomyces fragilis*나 *Penicillium* sp-1이 生産하는 inulase는 inulin을 첨가한 배지에서 生産되었다는 것을 報告하였는데, 이런 사실은 本實驗 결과와 일치하고 있다. 그러나 모든 微生物性 inulase가 inulin을 기질로 하여 유도적으로 生成되는 것은 아니어서 *Candida kefyr* inulase는 탄소원으로 lactose를 함유한 培地에서도 많이 生成되는 것으

Table 2. Effect of various carbon sources at two concentrations on the production of inulase measured by its activity.

	0.5%		1.0%	
	Enzyme unit/ml	Harvest-ing pH	Enzyme unit/ml	Harvest-ing pH
Inulin	0.302	9.6	0.539	6.8
Salicin	0.030	6.7	0.030	6.8
Arabinose	0.032	6.5	0.016	6.6
Raffinose	0.003	6.5	0.016	6.6
Mannitol	0.059	6.6	0.033	6.6
Dextrin	0.099	6.5	0.040	7.0
Soluble starch	0.023	6.7	0.026	7.0
Lactose	0.051	6.6	0.023	7.0
Sucrose	0.030	6.6	0.059	6.7
Galactose	0.016	6.5	0.026	6.7
Glucose	0.070	6.5	0.074	6.7
Xylose	0.054	6.5	0.026	6.6

로 보아 inulin이 inulase生産에 언제나 꼭 필요한 것은 아니나 inulase生産에 상당히 効果的이었다는 보고는 많다. *Aspergillus*屬 균주(c-74)의 경우⁴⁴⁾ 밀기울과 sucrose만으로 된 固體培地를 inulase생성배지로 하였다는 보고등이나, *Aspergillus niger*-12의 inulase생성³²⁾은 inulin을 탄소원으로 한 경우 最高에 달하기는 하지만, raffinose, sucrose, fructose, xylose를 사용한 경우도 거의 비슷한 정도로 inulase生産에 좋은 결과를 나타내고 있고 그외의 당류도 미약하기는 하지만 inulase를生産하는 것으로 보아 構成酵素로生産되는 경우도 있어 各各의 微生物에 따라 誘導酵素로生成되기도 하고, 構成효소로 생산되기도 한다는 것을 알 수 있다.

4) 無機窒素源

基本培地에서 얻어지는 酵素液의 역가를 100으로 했을 때 여러가지의 無機窒素源에 따른 酵素生産은 Figure 3에서 볼 수 있는 바와 같이 $(NH_4)_2HPO_4$ 첨가시 가장 inulase生産이 많았고, 그 다음으로 NH_4NO_3 , $(NH_4)_2H_2PO_4$ 의 順으로 效果가 적었다. $(NH_4)_2SO_4$ 나 NH_4Cl 를 첨가하였을 때의 菌의 生育은 control에 比하여 약간 떨어졌으나, 酵素活性은 더 현저하게 떨어졌는데 이것은 이들 無機窒素源 첨가로서 배양액의 最後 pH가 4.8까지 내려간 것으로 보아 酵素活性이 낮은 pH에 의해 크게 떨어진 것으로 추측된다.

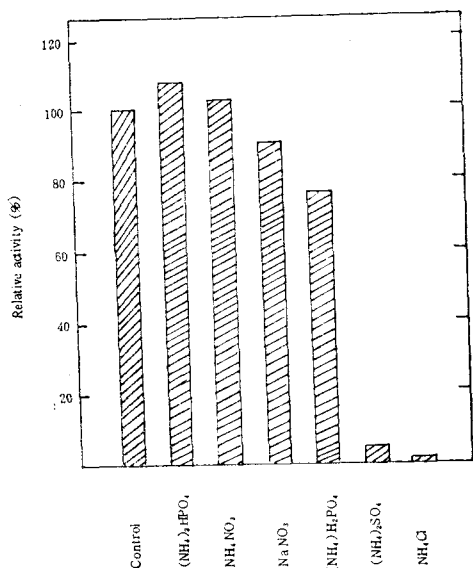


Fig. 3. Effect of inorganic nitrogen sources on the production of inulase.

5) 有機窒素源

有機窒素源으로는 Table 3에서 보는 바와 같이 corn steep liquor가 가장 效果的이었으며, yeast extract도 corn steep liquor보다 떨어지기는 하지만 상당히 양호한 有機窒素源임을 알 수 있다. corn steep liquor가 效果的인 有機窒素源이라는 點은 Nakamura 등이 *Penicillium* sp-1과 *Aspergillus niger*의 inulase生産條件檢討 結果와 一致하는 事實로서 corn steep liquor에는 inulase生成을 현저하게 촉진시켜주는 微量의 어떤 物質이 들어있는 것으로 생각된다. 菌體의 生育상태와 酵素生産은 密接한 관계가 있는 것으로 尿素를 唯一한 有機窒素源으로 添加하였을 경우, 거의 菌의 生育이 되지 않았고 따라서 inulase도 전혀生産되지 못하였다.

6) 無機鹽類

Figure 4에서 볼 수 있는 바와 같이 基本培地에 含有되어 있는 $MgSO_4$ 와 KCl 의 농도를 0.01%, 0.05%, 0.3%수준으로 添加했을 때의 酵素生産은 이들 鹽類의 농도에는 큰 영향을 받지 않고 있으나 KCl 의 경우 기본배지중에 含有된 0.05%보다는 0.01% 수준으로 첨가하였을 때 酵素生産

Table 3. Effect of various organic nitrogen sources on the production of inulase measured by its activity.

Organic nitrogen sources	Concentration % (w/v)	Activity (unit/ml)	Harvesting pH
Peptone	0.5	0.095	6.8
	1.0	0.194	6.8
Yeast	0.5	0.539	6.7
	1.0	0.504	6.8
Meat ex.	0.5	0.125	6.8
	1.0	0.225	7.0
Corn steep liquor	0.5	0.624	6.7
	1.0	0.880	7.0
Urea	0.5	—	9.2
	1.0	—	9.2

이 效果的이었다. $FeSO_4$ 도 基本培地에 함유된 0.001%보다는 이 낮은 농도인 0.0001%가 되게 첨가했을 때 오히려 효소생산이 증가되고 있음을 보여 주었다.

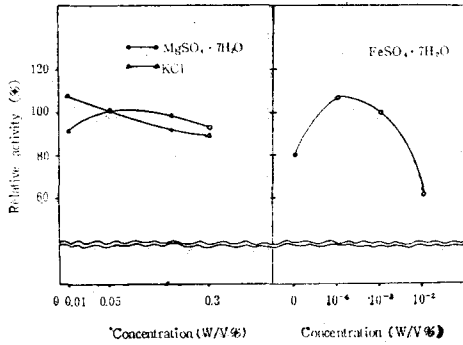


Fig. 4. Effect of concentration of the metallic salts on the inulase production measured by its activity.

7) 炭素源과 窒素源의 比率

Inulin의 농도(1.0%, 1.5%, 2.0%)와 corn steep liquor의 농도(0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%)를 변화시켜 이에 따른 inulase 생산에 미치는 영향을 본 결과는 Table 4와 같았다. 즉 이들 탄소원과 질소원의 비율에 따른 一定한 경향은 없었으나 대체로, inulin의 농도가 一定할 때 corn steep liquor 농도가 적을수록 효소생산은 감소되

Table 4. Effect of the concentrations of inulin and corn steep liquor for the production of Inulase measured by its activity.

Inulin (w/v%)	Corn steep liquor (w/v%)	Enzyme activity unit/ml	Harvesting pH after culture
1.0	0.5	0.624	6.7
	1.0	0.880	7.0
	1.5	0.870	7.0
	2.0	0.918	7.0
1.5	0.5	0.666	6.6
	1.0	0.801	6.8
	1.5	0.899	7.2
	2.0	0.874	7.2
2.0	0.5	0.709	6.7
	1.0	0.634	6.5
	1.5	0.703	6.7
	2.0	0.907	6.7

는 추세를 보여주고 있었으며, inulin 1% (w/v)와 corn steep liquor 2.0%(w/v)의 농도로 배지를 조제하여 培養하였을 때 효소 생성능이 가장 높았다.

以上の 결과를 綜合하여 *Streptomyces chibaensis*에 의한 inulase 生産에 最適인 條件은 Table 5와 같이 要約할 수 있었으며, 이러한 條件下에서 inulase 生産은 0.93unit/ml로 基本培地에서 생산되는 inulase의 活性에 比하여 約 1.73倍의 活性을 나타냈다.

Table 5. The optimum composition of medium for the inulase production by *Streptomyces* sp-1.

Composition	Concentration (%)
Inulin	1.0
Corn steep liquor	2.0
(NH ₄) ₂ HPO ₄	1.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05
KCl	0.01
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.0001
pH	7.5

要 約

強力한 inulin 分解力을 가진 *Streptomyces chibaensis* 菌株을 이용하여, 酵素生産에 効果적인 배양조건 및 배지조성을 檢討하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 酵素生産培地の 최적 초기 pH는 7.5였으며, 이 조건하에서 30°C에서 84시간 배양했을 때 가장 높은 효소역가를 나타냈다.
2. Inulase를 多量生産 하기 위한 배지의 炭素源 으로서는 다른 炭素源에 比하여 inulin이 가장 效果적이었다.
3. 無機窒素源으로는 (NH₄)₂HPO₄가 inulase 生産에 가장 效果적이었고, 有機窒素源으로는 corn steep liquor가 效果적이었다.
4. 無機鹽으로 KCl 0.01%, MgSO₄ 0.05%, 그리고 FeSO₄ 0.0001% 첨가하였을 때 가장 效果가 컸다.
5. 炭素源(inulin) 1%와 窒素源(corn steep liquor) 2%의 比率로 混合하여 만든 培地에서 가장 酵素生産이 높았다.

參考文獻

1. 逸具文雄, 富田覽武: 日農化誌, 19: 816(1943)
2. 金奇哲: 韓農化誌, 18: 177(1975)
3. Kiersian, M.P.J.: Biotechnology and Bio-

- ngineering, 10 : 447(1978)
4. Hirst, E.L., McGilvary, D.I. and Percival, E.G.V.: J. Chem. Soc. 1297(1950)
 5. Aspinall, G.O., Hirst, E.L., Percival, E.G.V., and Telfer, R.G.J.: J. Chem. Soc. 337 (1953)
 6. Arni, E.G.V. Percival: J. Chem. Soc. 1822 (1952)
 7. Percival, E.G.V.: Structural Carbohydrate Chemistry 2nd ed. p.272, J. Garnet Miller, London (1962)
 8. Hirst, F.L.: Proc. Chem. Soc., 193(1957)
 9. Bacon, J.S.D., and Edelman, J.: Biochem. J., 48 : 114(1951)
 10. 松田秀雄：食用作物, p.346 産業圖書(1948)
 11. 西川五郎：工藝作物學, p.448 農業典書(1963)
 12. Edelmann, J. and Bacon, J.S.D.: Biochem. J. 49 : 446(1951)
 13. Edelmann, J. and Jefford, T.G.: Biochem. J. 93 : 148(1964)
 14. Edelmann, J. and Dickerson, A.G.: Biochem. J. 98 : 787(1966)
 15. Flood, A.E., Rutherford, P.P., and Weston E.W.: Phytochemistry, 9 : 2341(1967)
 16. Rutherford, P.P., and Deacon, A.C.: Biochem. J., 126 : 569(1972)
 17. 森高次郎, 岡藤徳太良：日農化誌, 16 : 886(1940)
 18. 木江元吉：日農化誌, 18 : 981(1942)
 19. Adams, M., Richtmyer, N.K., and Hudson, C.S.: J. Am. Chem. Soc., 65 : 1369(1943)
 20. Snyder, H.E., and Phaff, H.J.: J. Microbiol. Serol., 26 : 433(1960)
 21. Snyder, H.E., and Phaff, H.J.: J. Biol. Chem., 237 : 2438(1962)
 22. Nahm, B.H., and Byun, S.M.: Korean Biochem. T., 10 : 95(1977)
 23. Byun, S.M., and Nahm, B.H.: J. Food Sci., 43 : 1871(1978)
 24. Negoro, H., and Kito, E.: J. Ferment. Technol., 50 : 136(1972)
 25. Negoro, H., and Kito, E.: J. Ferment. Technol., 51 : 961(1973)
 26. Negoro, H., and Kito, E.: J. Ferment. Technol., 51 : 103(1973)
 27. Negoro H.: J. Ferment. Technol., 51 : 879 (1973)
 28. Tanaka, Y., and Sato, T.: J. Ferment. Technol., 47 : 587(1959)
 29. 朝井勇宣：日醸工誌, 16 : 511(1938)
 30. 中村豊彦, 帆足信一郎：日農化誌, 43 : 599(1969)
 31. 中村豊彦, 中津誠一郎：日農化誌, 51 : 681(1977)
 32. 中村豊彦, 帆足信一郎, 中津誠一郎：日農化誌 52 : 105(1978)
 33. 中村豊彦, 黒川隆則, 中津誠一郎, 上田誠之助：日農化誌, 52 : 159(1978)
 34. 中村豊彦, 丸本誠一, 中津誠一郎, 上田誠之助：日農化誌, 52 : 581(1978)
 35. 金奇哲：韓農化誌, 18 : 42(1975)
 36. 北原覺雄：日農化誌, 14 : 1449(1938)
 37. 片桐英郎, 北原覺雄：日農化誌, 16 : 813(1940)
 38. 北原覺雄：日農化誌, 16 : 819(1940)
 39. 五月女伸一, 北原覺雄：日醸工誌, 40 : 9(1962)
 40. 五月女伸一, 北原覺雄：日醸工誌, 40 : 12(1962)
 41. 高橋衛, 五月女伸一：宇都宮大學農學部 學術報告, 9 : 89(1975)
 42. 高橋衛, 五月女伸一：宇都宮大學農學部 學術報告, 9 : 95(1975)
 43. Somogyi, M.: J. Biol. Chem., 195 : 19(1952)
 44. 權泰鍾, 鄭鎬權, 姜孝源, 徐正墳：韓産微誌, 1 : 37(1973)
 45. 李啓瑚, 鄭求英, 朴性五：大韓民國 學術院 論文集 自然科學系 23 : 100~113(1980)