

## 응집제 생산 미생물의 분리 및 배양조건

남진식 · \*권기석 · 황지숙 · \*\*이문호 · 장경립 · \*윤병대 · †이태호

부산대학교 미생물학과

\*한국과학기술연구원 유전공학연구소

\*\* (주)화랑환경

## Isolation of Microorganism Producing Flocculant and Its Culture Conditions

Jin-Sick Nam, Gi-Seok Kwon\*, Ji-Sook Hwang, Mun-Ho Lee\*\*, Kyung-Lib Jang, Byung-Dae Yoon\* and Tae-Ho Lee†

Department of Microbiology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

\*Genetic Engineering Research Institute, KIST, P. O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea

\*\*Hwa-Rang Environment Co., Ltd., Anyang 430-017, Korea

### ABSTRACT

A fungal strain, designated *Aspergillus* sp. JS-42, was isolated and shown to produce an extracellular polysaccharide used as a bioflocculant. The optimal medium composition for the production of flocculant with *Aspergillus* sp. JS-42 was glucose 3.0%, yeast extract 0.2%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.1%, and  $\text{CaCl}_2$  0.05% in distilled water. The optimum culture temperature and optimum culture pH for the production of the flocculant were 25°C and pH 7.0, respectively. The highest production of flocculant was observed after 90 hours of cultivation at the optimal condition. The flocculant could efficiently flocculated the tested solids suspended in aqueous solution and was stable at high temperature(100°C) and to pH range of from 2 to 10. The flocculant seems to be a kind of high viscous polysaccharide.

### 서 론

최근 산업의 발달과 함께 환경오염에 대한 관심의 증가로 응집제의 사용이 상하수 처리, 공장폐수의 처리 및 발효공정에서의 균체 제거 등, 그 산업적 용도가 다양해졌다. 이와 같은 목적으로 사용되는 응집제는 현재까지 무기응집제, 유기합성 고분자응집제, 천연 고분자응집제 등 크게 3종류가 개발되어 사용되고 있지만 그 사용 용도에 따라 혹은 유해성 여

부(1)등에 따라 각기 장단점을 가지고 있어 실제 사용에서는 많은 제약이 따르고 있다. 이들 응집제 중 무기응집제는 주로 상하수도 처리 과정에 사용되고 있으며, 유기합성 고분자응집제는 폐수처리 등의 산업적 공정에서 가장 강력하고 저가의 응집제로서 최근 그 사용량이 계속 증가하고 있는 실정이다. 그러나 이러한 유기합성 응집제는 분해가 잘되지 않고 분해 과정에서 발생하는 acrylamide 등의 단량체가 신경독 및 강한 발암성 물질(1)로 보고되고 있어 현재 그 사용에 각종 규제가 강화되고 있다. Chitosan

† Corresponding Author

및 sodium alginate 등의 천연 고분자응집제는 무독하고 생분해되는 이점은 가지고 있지만 응집능이 비교적 약해 사용범위는 제한적이다. 이와 같은 응집제는 활성오니의 신속한 침전제거, 폐수의 처리, 홍수의 토사침전 및 발효 후의 균체 제거 등 실제 사용용도가 매우 다양하지만 종류에 따라서는 인체에 대한 유해성 여부 및 환경에 대한 2차 오염원 등의 많은 문제점들이 노출되고 있다. 따라서 이러한 문제점들을 해결할 수 있는 안전하고 강력한 생분해성 응집제의 개발이 현재 시급히 요구되고 있다. 이러한 목적으로 사용될 수 있는 미생물 유래의 응집제를 탐색하기 위해 최근 많은 연구 결과가 보고(2-9)되고 있지만 아직까지 실용화 단계에 있는 것은 그렇게 많지 않다.

본 연구는 작용범위가 넓고, 응집력이 강력한 새로운 종류의 응집제를 개발하기 위해 계획되었으며 토양으로부터 목적에 부합하는 미생물 균주를 분리하여 동정하고, 응집제의 생산에 미치는 배양조건을 검토하였기에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 균주 분리 및 선별

그늘에서 풍건한 토양 0.5g을 멸균수 1ml에 현탁하여 한천 배지에 도말한 후 30°C에서 배양하였다. 형성된 colony는 순수분리한 후 4°C에 보관하여본 실험에 사용하였다. 이 때 사용된 배지는 glucose 2.0%, beef extract 0.1%, polypeptone 1.0%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1%의 조성으로 되어 있으며 이를 pH 7.0으로 조정한 후 agar 1.5%를 첨가하여 121°C에서 15분간 멸균한 뒤 평판배지로 사용하였다.

### 검색배지 및 배양조건

응집제 생산을 위한 검색배지로는 glucose 2.0%, yeast extract 0.2%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01%, NaCl 0.01%가 첨가된 액체배지를 사용하였으며 분리한 각 균주를 접종후 30°C에서 4일간 진탕배양(90 rev×6cm)한 다음 6,000 rpm에서 원심분리한 후 그 상등액을 응집제 생성 여부를 검색하기 위한 시료로 사용하였다.

### 균주의 분류 및 동정

분리 균주의 동정은 균사 및 colony의 색깔, 분생자병(conidiophore)의 형태, 정낭(vesicle) 및 경자(sterigmata)의 형태, 격벽의 유무, 분생자의 형태

및 색깔 등을 기초로 하여 Ainsworth 분류법(10), Kendrick and Carnichael 분류법(11), Barron 분류법(12)에 준하여 위상차 현미경(Nikon Co., Japan)으로 검색하였다. 또한 각종 탄소원 및 질소원의 자화능을 검토하여 미생물의 분류지표로 삼았다.

### 분리균주의 배양

응집제 생산 및 균주 생육을 위한 최적조건을 설정하기 위해 500ml 용량의 삼각 플라스크에 액체배지 100ml를 분주하여 가압 멸균한 후 전배양된 종균을 본배양액의 5%(v/v)되게 접종하여 25°C에서 진탕배양(90 rev×6cm)하였다. 배양시의 균체량은 배양액을 여과하여 집균한 후 110°C dry oven에서 건조한 후 평량하여 측정하였다.

### 응집활성도 측정

Kaolin clay(Junsei Chemical Co.)를 응집활성 측정을 위한 표준시료로 사용하였으며 경우에 따라서는 active carbon을 사용하기도 하였다. 활성측정은 kaolin clay 현탁액(5,000ppm) 90ml을 100ml mass cylinder에 넣고 적당히 희석한 배양 상등액 1ml를 첨가한 후 증류수로 100ml가 되게 맞추고 10여초 흔들어서 실온에 5분간 방치한 다음 조심스럽게 상등액을 취하여 660nm에서 흡광도를 측정하였다(13). 대조구는 배양액 대신 증류수를 사용하였으며 이 두 흡광도의 차이를 응집활성으로 나타내었다.

측정된 흡광도에 의한 응집활성도(Flocculation Activity; FA) 계산은 다음식과 같다.

$$\text{Flocculation Activity} = 1/A - 1/B$$

A : Sample의 660nm에서의 O. D.값

B : Control의 660nm에서의 O. D.값

### 응집활성에 미치는 염류의 영향

응집활성에 미치는 염류의 영향을 검토하기 위해 kaolin clay 현탁액(5000ppm) 90ml, 배양 상등액 1ml, 각 농도의 염류 용액 1ml를 각각 100ml 용량의 mass cylinder에 넣은 후 증류수로 100ml가 되게 한 다음 10여 초간 흔들어서 실온에 방치하였다. 정확하게 5분간 방치한 후 그 상등부분 5ml를 주의 깊게 취하여 660nm에서의 흡광도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 공시균주의 선별

Kaolin clay를 응집하는 균주를 토양으로부터 1

Table 1. Morphological characteristics of strain JS-42.

Hyphae	+
Colonial color	White
Conidial color	Yellow-Brown
Vesicle shape	Globose
Sterigmata	Single
Septum	+
Perithecium	-
Conidiophore	Slender long

차 분리검색한 결과 몇 종의 유망균주가 분리되었다. 이 중 Kaolin clay에 대한 응집활성뿐만 아니라 여러 종류의 현탁성 물질에 응집활성을 나타내고 작용범위가 비교적 넓은 균주를 선발하기 위해 active carbon, cellulose powder 등의 각종 miscellaneous compound 및 *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* 등의 미생물균체를 응집시료로 사용하여 활성을 측정하였다. 그 결과 분리균주 중 곰팡이 1균주 JS-42가 각종 공시물질에 대해 높은 활성을 나타내어 유망균주로 선발하였다.

#### 곰팡이의 분류 및 동정

분리균주는 그 형태학적인 특징으로 보아 불완전균류(Fungi Imperfecti)로 Hyphomycetes綱의 Moniliales目, Moniliales-Dematiaceae科에 속하는 곰팡이였다. 분리균주의 형태적 특징은 Table 1에서 보는 바와 같이 Czapek agar 배지상에서의 생육이 비교적 느리고, 기저균사층은 밀집되어 백색을 나타내었으며, 분생자병은 대개 기저균사층에서 생성되며 충분히 성숙된 분생자는 Phialo형으로서 황갈색을 띠었고 분생자두와 분생자의 형성은 매우 양호하였다.

한편 본 균주의 생육이 배양온도에는 그렇게 민감하지 않아 25℃~35℃가 적정 생육온도이었으며, 배양 pH의 경우 pH 2 이하에서의 생육은 미약하였으나 그 이상에서 pH 10까지는 비교적 생육이 양호하였다.

또한 각종 탄소원 및 질소원의 자화성을 검토한 결과(Table 2), 탄소원으로는 mannose의 이용성이 매우 낮았으며, 질소원으로는 NaNO<sub>3</sub>의 이용성이 비교적 높은 것으로 나타났고 urea의 경우에는 생육하지 않았다.

또한 분리균주 JS-42는 분생자병에 정낭이 형성되고 그 위에 sterigmata가 형성된 후 conidia가 착

Table 2. Utilization of carbon and nitrogen sources by strain JS-42.

Source	Utilization
Carbon sources	+
Xylose	+
Arabinose	+
Fructose	+
Lactose	+
Glucose	-
Mannose	+
Raffinose	+
Sucrose	+
Sorbitol	+
Nitrogen sources	
NH <sub>4</sub> Cl	+
NaNO <sub>3</sub>	++
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	+
KNO <sub>3</sub>	+
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+
Urea	-

생되는 특징을 보였다. 이러한 특징은 *Aspergillus*속의 전형적인 특징과 일치하기(10) 때문에 본 분리균주를 *Aspergillus* sp. JS-42로 명명하였다.

#### 응집제 생산을 위한 배양 및 배지조성의 최적화

*Aspergillus* sp. JS-42에 의한 응집제 생산의 최적 조건을 설정하기 위하여 탄소원, 질소원, 무기염류, 초기 pH 및 통기량의 영향을 검토한 후 배양시간에 따른 균의 생육과 응집제 생산량을 검토하였다.

#### 탄소원의 영향

본 균주의 생육과 응집제 생산에 미치는 탄소원의 영향을 검토하기 위하여 0.2% yeast extract, 0.1% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.01% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.01% NaCl (pH 7.0) 함유의 기본배지에 각종 탄소원을 2.0% 되도록 첨가하여 25℃에서 4일간 배양한 결과를 Table 3에 표시하였다.

그 결과 glucose, galactose, sorbitol을 탄소원으로 사용한 경우, 응집활성이 비교적 높게 나타났다. 그 중 glucose를 탄소원으로 선택하여 glucose 농도에 따른 flocculant 생산성을 검토한 결과(data not shown), glucose 농도 3.0% 정도에서 비교적 활성이 높게 나타나 이후의 배양은 이 농도를 사용하였다.

Table 3. Effect of carbon sources on the production of flocculant.

Carbon sources	Growth(mg/100ml)	*F. A. (1/O. D.)
Acetate	259	0.7
Xylose	500	2.1
Fructose	678	—
Glucose	547	3.5
Galactose	768	3.4
Lactose	639	—
Sucrose	743	1.4
Arabinose	380	—
Sorbitol	623	3.1
Cellulose	320	—
Soluble starch	805	1.3

\*F. A.; Flocculation activity, —; Not detected.

#### 질소원의 영향

3.0% glucose, 0.01%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.01% NaCl 함유 배지에 각종 유기, 무기질소원을 0.3% 첨가하여 25°C에서 4일간 진탕배양하여 균의 생육과 응집활성을 측정하였다(Table 4). 그 결과  $(NH_4)_2SO_4$  및  $NH_4Cl$ 의 무기질소원과 malt extract, peptone, yeast extract의 유기질소원에서 비교적 응집활성이 높게 나타났다. 이때 무기질소원과 유기질소원간의 응집제 생산효과는 그렇게 큰 차이를 보이지 않았으나 초기 균주의 screening시 ammonium sulfate를 질소원으로 사용하여 균주를 선발하였기 때문에 유기질소원과 유기질소원을 혼합첨가하면 물질의 생산성이 증대 할 것으로 판단되어 이들 질소원을 조합하여 그 효과를 검토하였다. 그 결과 yeast extract 0.2%와 ammonium sulfate 0.1%를 동시에 첨가하였을 경우가, Table 4의 질소원 중 가장 우수한 malt extract 보다 약 2.5배 가까이 응집활성이 향상되었다.

#### 무기염류의 영향

본 균주의 응집제 생산과 균생육에 미치는 영향을 검토하기 위해 3.0% glucose, 0.2% yeast extract, 0.1%  $(NH_4)_2SO_4$ 의 기본배지(pH 7.0)에 0.02%의 각종 무기염을 첨가하여 25°C에서 4일간 진탕배양하여 균의 생육과 활성을 측정하였다. 그 결과 Table 5에 나타난 바와 같이 Ca 이온( $CaCl_2$ )이 응집제의 생산효과가 가장 높게 나타났으며 KCl 또한 비교적 높은 효과를 보였다.

본 균주에 의해 생산되는 응집제는 예비실험 결과

Table 4. Effect of nitrogen source on the production of flocculant.

Nitrogen source(0.3%)	Growth(mg/100ml)	*F. A. (1/O. D.)
$NaNO_3$	199	0.9
$NH_4Cl$	245	3.5
Urea	313	—
$(NH_4)_2SO_4$	269	2.3
$NH_4NO_3$	316	1.1
Ammonium acetate	244	0.2
Malt extract	332	3.6
Yeast extract	774	1.8
Meat extract	578	—
Polypeptone	507	0.1
Peptone	662	2.7
Bactopeptone	563	1.0
Tryptone	371	—

\*F. A.; Flocculation activity, —; Not detected.

Table 5. Effect of various salt on the production of flocculant.

Salt (0.02%)	Growth (mg/100ml)	*F. A. (1/O. D.)
NaCl	557	2.9
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	550	2.3
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	577	10.4
KCl	458	8.2
$Na_2CO_3$	610	3.5
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	531	4.9
$Na_2SO_3$	534	2.9
$K_2HPO_4$	512	0.5
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	574	2.2
$NaHSO_3$	285	—

\*F. A.; Flocculation activity

점성이 강한 고분자 화합물로서 일종의 다당류에 속하는 물질로 판명되었다(data 미발표). 일반적으로 다당류의 생산에는 manganese의 첨가가 그 생산효과를 높인다고 하는 보고가(14, 15) 있으나, 본 균주의 경우에는 그렇게 큰 효과가 나타나지 않았다. 이와 같은 이온은 응집제의 생산을 촉진하는 효과뿐만 아니라, 응집반응시 응집효과도 크게 향상시키는 작용이 있다고 알려져 있다. 본 실험에서 응집제 생산에 효과가 크게 나타난 Ca 이온의 경우, 배지에 0.05%의 농도로 첨가할시에 효과가 최대로 나타났다.

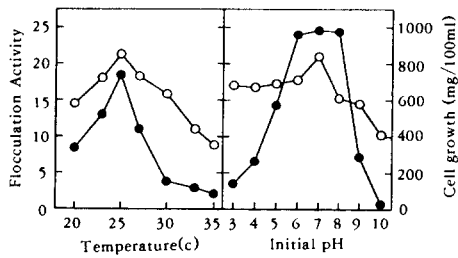


Fig. 1. Effect of temperature and initial pH on flocculant production and cell growth of *Aspergillus* sp. JS-42  
 ●: Flocculation activity, ○: Cell growth.

배양 온도 및 초기 pH의 영향

본 분리균주의 생육과 응집제 생산에 미치는 배양 온도 및 초기 pH의 영향을 검토하기 위해 3.0% glucose, 0.2% yeast extract, 0.1% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.05% CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 함유 배지에 균을 접종하여 각 온도별, pH 별로 4일간 진탕배양하여 균체의 증식 및 응집활성을 검토하였다. 그 결과(Fig. 1), 본 균주의 생육 최적온도는 25℃였으며 응집제의 생성도 이 온도에서 최고치를 나타내었다. 보통 *Aspergillus* 속은 생육온도가 30℃ 근방일 경우가 일반적이나 본 균주는 생육온도가 다소 낮은 경향을 보였다.

한편 배지의 pH를 각각 달리하여 25℃, 4일간 배양하여 균의 생육 및 응집활성을 검토한 결과 pH 7 근방에서 최대활성을 나타내었으며 산성과 알칼리성 쪽에서는 응집활성이 급격히 감소하였다. 특히 산성 쪽에서는 균의 생육은 비교적 양호하였으나 응집활성은 극히 저조하여 균의 생육량과 응집제의 생산간에는 직접 상관 관계가 없는 것으로 나타났다.

이상 *Aspergillus* JS-42 균주의 생육 및 응집제 생산에 미치는 각종 영향인자를 검토한 결과 Table 6과 같은 배양조건을 설정할 수 있었다. 이와 같은 최적배지로 *Aspergillus* sp. JS-42를 배양하였을 경우 초기의 screening 배지에 비해 응집활성이 무려 7~8배 가량 증가하는 결과를 나타내었다.

배양시간에 따른 균의 증식과 응집제 생산

500ml 삼각플라스크에 100ml의 최적배지 100ml를 분주하여 25℃에서 진탕배양(90 rev×6cm)하면서 경시적으로 그 때의 균체량과 응집활성을 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 그 결과 응집활성은 90시간 전후에서 최대치에 달하였고, 110시간을 전후해서는 활성이 크게 감소하였다. 이러한 활성의 감소

Table 6. The optimum culture condition for the production of flocculant by *Aspergillus* sp. JS-42.

Medium	Glucose	3.0%
	Yeast extract	0.2%
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.1%
	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.05%
	pH	7.0
Conditions	Temperature	25℃
	Culture time	96 hrs
	Agitation	90 Rev. X 6cm stroke
100ml of medium per 500ml flask		

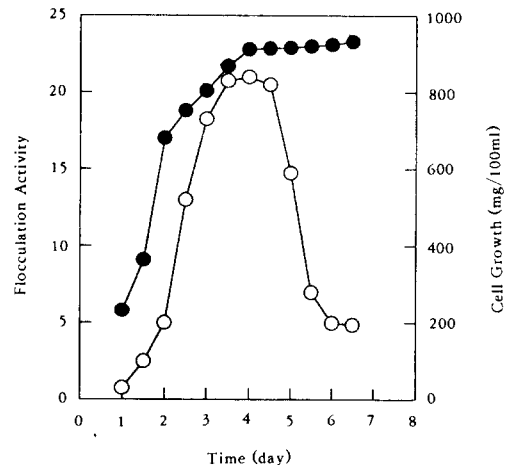


Fig. 2. Time course of flocculant production by *Aspergillus* sp. JS-42  
 ○: Flocculation activity, ●: Cell growth.

요인에는 생산된 응집제가 효소 등에 의해 분해되어 탄소원으로 재 이용되는 경우와 응집제 자체가 서로 응집되어 그 활성이 소실되는 경우, 또는 pH의 변화에 따른 응집제의 실효 가능성 등을 생각할 수 있다. 그러나 본 물질은 강한 점성을 나타내는 물질로 배양과 더불어 점성이 증가하다가 응집활성이 감소함과 동시에 점성도 함께 떨어지는 것으로 보아 본 균주에 의해 분해되어 재 이용되거나 실효되는 것으로 판단되었다. 또한 본 응집제는 pH 안정성이 극히 높은 물질이기 때문에 배양시간에 따라 응집활성이 크게 감소하는 것은 pH 변화에 의한 실효가 아니라 우수한 생분해성에 의한 것으로 생각되었다.

한편 본 미생물에 의해 생산되는 응집제는 kaolin clay, active carbon, cellulose powder 등의 mi-

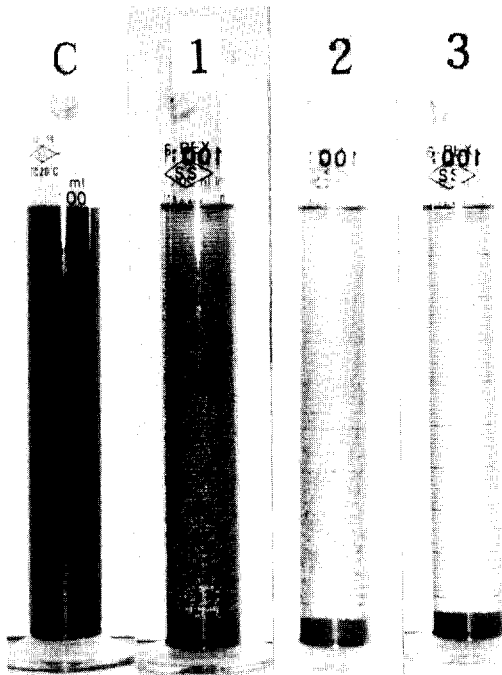


Fig. 3. Photographs of active carbon flocculated with *Aspergillus* sp. JS-42 flocculant. The culture broth(0.5ml) was added to 100ml of active carbon solution(5000ppm) in distilled water. It was vigorously mixed and standed at room temperature. C; control (after 1min stabding), 1; immediately after treatment of flocculant, 2; after 30 sec standing, 3; after 1min standing.

cellaneous compound 뿐만 아니라 *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae* 등의 미생물 균체에도 작용하여 높은 응집활성을 나타낸다는 것이 확인되었다. 현재 응집제를 정제하여 각종 응집기질에 대한 작용 spectrum을 검토중에 있으며, 본 보에서는 active carbon에 대한 배양 broth의 응집성을 조사하여 Fig. 3에 나타내었다. Active carbon에 대해서는 작용 1분 정도에 거의 모두 응집 침전되어 응집효율이 우수함이 증명되었다. 이 외에 여러 종류의 다른 기질에 작용시켰을 경우에도 응집현상이 나타나 산업적인 응용 가능성을 시사하였다. 본 물질의 물성 및 작용범위, 구조 등에 대해서는 현재 검토 중에 있다.

### 요 약

상하수도 및 폐수처리에 많이 사용되고 있는 무기

및 유기합성 고분자응집제를 미생물 응집제로 대체하기 위한 연구의 일환으로 토양으로부터 목적 미생물을 분리하여 형태학적, 생리학적 성질을 조사한 결과 *Aspergillus* sp. JS-42로 명명되었다.

또한 *Aspergillus* sp. JS-42의 응집제 생산을 위한 최적배지 및 최적 배양조건은 다음과 같이 설정하였다. 배지 조성은 3.0% glucose, 0.2% yeast extract, 0.1%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.05%  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 의 경우가 응집제 생산에 우수하였으며, 배양온도 및 초기 pH는 각각 25°C와 pH 7.0의 경우가 최적이었다.

이 배양조건 하에서 90시간 전후로 배양하였을 때 응집제 생산이 최대가 되었으며 이때는 screening시의 기초배지에 비해 응집활성이 거의 8배 정도로 향상되었다. 이 물질은 각종 기질에 대해 넓은 작용범위와 강력한 응집능을 발휘하였으며 pH 및 열처리에 대해 극히 안정한 물질이었다. 또한 이 물질은 점성이 강한 고분자성인 다당류의 일종인 것으로 판단되었다.

### 감 사

본 연구는 1995년도 교육부 기초과학육성연구비(BSRI-95-4410) 및 과학기술처 기반기술개발사업의 연구비(BSG G70710)의 지원에 의한 연구의 일부임.

### 참고문헌

1. K. L. Dearfield and C. O. Abermathy (1988), *Mutant Res.*, **195**, 45.
2. A. Fattom and M. Shilo (1984), *Arch. Microbiol.*, **139**, 421.
3. R. Kurane, K. Takeda and T. Suzuki (1986a), *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2301.
4. R. Kurane, K. Takeda and T. Suzuki (1986b), *Agri. Biol. Chem.*, **50**, 2309.
5. R. Kurane, K. Hamamochi, T. Kakuno, M. Kiyohara, M. Hirano and Y. Taniguchi (1994), *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 428.
6. J. Nakamura, S. Miyashiro and Y. Hirose (1976), *Agri. Biol. Chem.*, **40**, 619.
7. H. Takagi and K. Kadowaki (1985), *Agri. Biol. Chem.*, **49**, 3151.
8. H. Takeda, J. Koizumi, H. Matsuoka and M. Hikuma (1992), *J. Ferment. Bioeng.*, **74**, 408.

9. K. Toeda and R. Kurane (1991), *Agri. Biol. Chem.*, **55**, 2793.
10. G. C. Ainsworth and A. S. Sussman (1973), *The Fungi : An Advanced Treatise*, Vol. IVa and IVb. Academic Press, New York, p. 443.
11. J. W. Carmichael, B. Kendrick, I. L. Conner and L. Sigler (1980), *Genera of Hyphomycetes*, p. 43.
12. G. L. Barron (1968), *The Genera of Hyphomycetes from Soil*, Williams and Wilkins Co., Baltimore, p. 2.
13. K. Toeda and R. Kurane (1991), *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2793.
14. H. H. Seo, M. H. Lee, H. S. Kim, C. S. Park and B. D. Yoon (1993), *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **21**, 486.
15. V. D. Appennan (1988), *Biotech. Lett.*, **10**, 205.