

곰팡이 油脂 生産에 關한 研究

제 5 보 : 비타민類, 代謝中間生成物 및 微量元素가 *Mucor plumbeus*의
菌體 및 脂肪質 生產에 미치는 影響

劉 鎭永 · 李 烟春 · 申 東禾 · 閔 丙善

農漁村 開發公社 食品 研究所

(1982년 2월 18일 수리)

Production of Fungal Lipids

V. Effects of Vitamins, Metabolic Intermediates and Mineral Salts on the Growth and Lipid Accumulation of *Mucor plumbeus*

Jin Young Yoo, Hyeong Choon Lee, Dong Hwa Shin and Byong Yong Min

Food Research Institute, AFDC, Banweol, Hwaseong-gun, Kyonggi-do, 170-31

(Received February 18, 1982)

Abstract

Effects of vitamins, metabolic intermediates and several inorganic mineral salts on the biomass and lipid accumulation of *Mucor plumbeus* were investigated after 15 days of incubation at 37°C under static culture condition. The optimum concentrations of various vitamins were 17/l for biotin, and 0.01 g/l for nicotinic acid, pyridoxine, thiamine and riboflavin. Among them pyridoxine was the most stimulatory. The maximum felt weight and lipid content per 50ml medium were 2.82±0.14 g and 62.8%. Triglyceride content of neutral lipid produced under this condition was 64.9%. The major fatty acids were oleic acid (50.0%), linoleic (23.8%) and palmitic acid (13.9%). Malonic acid was considered not to be desirable even though it stimulated the biomass and lipid accumulation because triglyceride content was lowered considerably comparing with control. MgSO₄·7H₂O was the most stimulatory among the various magnesium salts and its optimum concentration was 5 g/l. *Mucor plumbeus* did not require NaH₂PO₄ for the stimulation of felt and lipid production. However, the addition of MnCl₂ at the concentration of 2 g/l was stimulatory to show 2.76±0.28 g of felt/50 ml and 56.4% lipid content, and 73.9% triglyceride in the neutral lipid.

序 論

養條件에 關하여 報告한 바 있다. 그러나 微生物을 利用한 菌體脂肪質의 生產에는 이와 같은 培養條件 이외에도 비타민類의 첨가^(2,3) glycolytic pathway의 中間代謝物質⁽⁴⁾과 微量元素⁽⁵⁾도 影響을 준다고 報告되어

著者 等⁽¹⁾은 濕粉의 分解能이 強한 同時に 菌體 및 菌體脂肪質을 相當히 生產하는 *Mucor plumbeus*의 培

있는 바, *Mucor plumbeus*의 菌體 및 菌體脂肪質 生產

에 미치는 이들의 影響을 檢討하여 報告하는 바이다.

材料 및 方法

菌株 著者 等⁽⁶⁾이 分離, 同定한 *Mucor plumbeus* 을 使用하였다.

培地

가. 비타민類, 代謝中間生成物, $MnCl_2$ 및 NaH_2PO_4

의 첨가 實驗

基本培地로는 증류수 1l 당 전분 210g, 우레아(urea) 2.14g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5.0g 을 첨가한 후 pH 3.5로 조정하고 10 psi에서 10分間 殺菌하여 使用하였다. 비타민類로는 비오틴을 基本培地에 0~10 μ , 니코틴산, 피리독신·HCl, 티아민·HCl, 리보플라빈은 각각 0~0.5g 씩 첨가하였고, 代謝中間生成物로는 마론산(malonic acid) 및 α -glycerophosphate· $6H_2O$ 를 0~5g 첨가하여 實驗한 후 가장 促進효과가 있는 농도를 선택하여 비교하였다. 한편 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 와 $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 는 0~10g 을 첨가한 후 적정 첨가량을 조사하였다.

나. Mg^{2+} 및 SO_4^{2-} 이온의 첨가 實驗

基本培地로는 증류수 1l 당 전분 210g, 우레아 2.14g 을 첨가한 후 pH를 3.5로 조절한 후 殺菌하였다.

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 的 농도는 基本培地에 3~9g 첨가하여 최적 농도를 결정하였으며 기타 Mg^{2+} 염 (Mg citrate· $9H_2O$, Mg carbonate hydroxide· $5H_2O$, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, Mg acetate· $9H_2O$) 및 SO_4^{2-} 염 ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2SO_4 , $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)는 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5g에 함유된 Mg^{2+} 및 SO_4^{2-} 에 상당하는 量이 되도록 환산하여 使用하였다.

培養 培地 50ml에 菌體 1 spatula 씩 接種한 후 37°C에서 15 일間 정지培養하였다.

菌體의 회수, 乾燥 및 脂肪質의 分析 前報⁽⁶⁾에 준하여 實施하였다.

結果 및 考察

비타민類의 첨가 효과

비타민類의 첨가가 *Mucor plumbeus*의 菌體生成 및 脂肪質 함량에 미치는 影響을 調査한 結果 Table 1과 같다. 즉 菌體量은 비오틴의 경우 17/l, 니코틴산, 피리독신, 티아민, 리보플라빈은 0.01g/l가 適當한 것으로 나타났으나 대조구와 비교할 때 비오틴과 니코틴산은 效果가 없음을 알 수 있다. 한편 피리독신 첨가 시에는 15 일 培養시 $2.82 \pm 0.14 g/50 ml$ 의 수율로서 菌體의 生產을 促進시키는 것으로 나타났다. 티아민과

Table 1. Effect of vitamins on the felt, lipid accumulation, neutral lipid class and fatty acid composition of lipid by *M. plumbeus*

Vitamins	Felt wt. (g)	Lipid (%)	Lipid class			Fatty acid composition ^c					
			FS	FFA	TG	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Control	2.00 ± 0.35	49.1 ^a	10.7 ^b	25.9	63.4	1.1	30.8	2.2	39.4	21.0	3.1
Biotin(17/l)	1.61 ± 0.11	41.4	6.9	40.1	53.1	1.0	30.4	8.0	42.1	13.7	3.7
NA (0.01 g/l)	2.06 ± 0.10	52.7	37.4	32.2	30.4	1.0	27.1	2.2	38.1	22.4	5.4
PD (0.01 g/l)	2.82 ± 0.14	62.8	10.9	24.2	64.9	0.6	13.9	1.4	50.0	23.8	7.5
TM (0.01 g/l)	2.29 ± 0.25	58.7	5.7	63.4	30.9	1.2	27.4	4.1	38.9	19.7	5.5
RF (0.01 g/l)	2.22 ± 0.10	52.2	13.3	20.7	66.0	0.7	12.1	1.4	49.8	24.1	7.0

M. plumbeus was grown on basal medium at pH 3.5 contained 210g starch, 2.14g urea and 5g $MgSO_4$ per liter by incubation at 37°C for 15 days.

a, weight percentage on dry basis; b, weight percentage; c, area percentage

FS, free sterol; FFA, free fatty acid; TG, triglyceride; NA, nicotinic acid; PD, pantothenic acid; TM, thiamine; RF, riboflavin

리보플라빈은 대조구에 비하여 약간의 促進效果를 나타내었으며 두 비타민의 첨가效果는 비슷한 傾向이었다. 脂肪質의 경우 그 함량은 피리독신 및 티아민 첨가시 각각 62.8%, 58.7%로서 대조구에 비교할 때 높은 함량이었으며 니코틴산과 리보플라빈의 경우는 약간增加되는 傾向을 보였다. 이와같은 비타민類의 첨가와 脂肪質의 生產과의 關係는 아직 잘樹立되어 있지

지 않으며 다만 비타민이 결핍된 培地에서는 脂肪質의 生成이 감소될 것이라는 報告⁽⁷⁾만 있다. 본 實驗의 結果를 볼 때 피리독신을 첨가했을 경우 脂肪質의 함량이增加되고 니코틴산을 첨가했을 때 變化가 거의 없는 것은 *Hansenispora vallbyensis*⁽³⁾와 같이 *Mucor plumbeus*의 경우도 脂肪質의蓄積을增加시키기 위하여 비타민류로서 피리독신을 要求한다는 것을 意味해

주는 것이라 판단되었다. 한편 Table 1에서 中性脂肪質의 組成을 보면 비타민類를 첨가하였을 때 트리글리세리드 함량이 增加하는 傾向은 볼 수 없으며, 피리독신, 리보플라빈을 첨가했을 때는 대조구와 비슷하여 각각 64.9% 및 66.0%이며 비오텐, 니코틴산 및 티아민 첨가시에는 각각 53.1, 30.4 및 30.9%로서 니코틴산과 티아민 첨가시 트리글리세리드의 함량이 현저히 감소됨을 알 수 있다. 한편 유리지방산은 티아민과 비오텐을 첨가한 경우 63.4%와 40.1%로서 매우 높게 나타났고 피리독신의 첨가시에는 대조구와 비슷한 傾向이었다. 유리 스테롤(free sterol)은 니코틴산 첨가시 37.4%로서 대조구에 비하여 높고 티아민의 경우 5.7%로서 낮은 傾向을 보였다. 이상의 結果를 볼 때 비타민類로서 피리독신 0.01 g/l을 첨가하는 것이 적합하다고 생각되며 이때 生成된 脂肪質의 脂肪酸組成을 Table 1에서 보면 팔미트산(palmitic acid) 13.9%, 올레산(oleic acid) 50.0%, 리놀레산(linoleic acid) 23.8%, 티놀렌산(linolenic acid)이 7.5%이었다. 피리독신을 첨가하였을 때 生成된 脂肪質과 무첨가시 生成된 脂肪質의 脂肪酸은 같은 種類이며, 다만 결핍培地에서는 構成脂肪酸中 주요 單一 불포화脂肪酸의 함량이 급격히 감소됨과 동시에 불포화도에도 影響을 받는다는 報告⁽³⁾가 있는데 본 實驗의 結果에서도 올레산의 함량이 피리독신 첨가시에는 39.4%에서 50%로 增加되는 結果로서 비슷한 傾向을 보였으나 팔미톨레산(palmitoleic acid)의 함량은 거의 일정하였다. 한편 이와 같은 現象은 리보플라빈의 첨가시에도 현저하여 팔미톨레산과 올레산의 함량이 4.9%와 49.8%로 增加되었으며 Witten과 Holman⁽⁸⁾은 피리독신이 리놀레산을 아라키돈산(arachidonic acid)으로 轉換하는데 重要한 역할을 한다고 報告했으나 *Mucor plumbeus*의 경우는 리놀레산이 대조구에 비하여 增加한 傾向을 보여주었으며 아라키돈산이 나타나지 않는 傾向을 보여 이와 같은 피리독신의 역할은 확인할 수 없었다.

代謝中間物質의 影響

脂肪酸合成의 代謝中間物質인 마론산(malonic acid)과 glycerophosphate의 效果를 調査하기 위하여 각각 0~5 g/l 씩 첨가한 후 각자의 최적 첨가량에 있어서菌體量, 脂肪質의 함량, 中性脂肪質의 組成 및 脂肪酸의 組成에 關하여 Table 2에 나타내었다. 즉 glycerophosphate는 0.3 g/l, 마론산은 0.1 g/l이 最適 첨가量이며 이때의 菌體生産量은 각각 $1.98 \pm 0.07 \text{ g}/50 \text{ ml}$, $2.54 \pm 0.06 \text{ g}/50 \text{ ml}$ 로서 대조구와 비교할 때 glycerophosphate는 비슷하나 마론산의 경우는 높은 傾向으로 나타났다. 脂肪質의 함량은 대조구의 첨가시 및 glycerophosphate의 첨가시보다 월등히 높아 58.8%를 나타내었다. Glycerophosphate는 트리글리세리드의 生合成 경로의 하나인 glycerolphosphate 경로에서 primary acyl acceptor로서 作用하며 이는 脂肪質의 合成에 促進效果가 있다고 하나^(3,9,10) 본 實驗의 結果에서는 確認할 수 없었으며 마론산의 경우에만 效果가 있었다. 이상의 菌體量과 脂肪質의 함량을 볼 때 마론산의 促進效果를 얻을 수 있으나 中性脂肪質의 組成에서 트리글리세리드의 함량이 27.2%로서 대조구와 비교할 때 매우 낮은 편이며 glycerophosphate를 첨가했을 때도 48.8%이었다. 상대적으로 유리지방산 및 유리스테롤의 함량은 현저히 높은 편이어서 glycerophosphate와 마론산의 첨가는 큰 效果를 볼 수 없는 것으로 料되었으며 이들을 첨가하였을 때의 지방산組成은 Table 2에서와 같이 대조구에 비해 팔미트산은 약간 감소하고 스테아르산(stearic acid), 리놀렌산은 약간 增加하였으며 올레산은 일정한 傾向이었다.

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 의 濃度가 미치는 影響

본 實驗에 使用된 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 의 濃度가 菌體量과 脂肪質에 미치는 影響을 調査한 結果는 Table 3과 같다. 즉 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 3~9 g/l 첨가시 5 g/l가 최적 조건으로 이때의 菌體量과 脂肪質의 함량은 각각 $2.38 \pm 0.18 \text{ g}/50 \text{ ml}$, 49.1%이었으며 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 의 함량

Table 2. Effect of glycerophosphate and malonic acid on the felt, neutral lipid accumulation, lipid class and fatty acid composition of lipid by *M. plumbeus*

Chemicals	Felt lipid wt. (g)	Lipid class ^b			Fatty acid composition ^c						
		FS	FFA	TG	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	
Control	2.00 ± 0.35	49.1*	10.7	25.9	63.4	1.1	30.8	2.2	39.4	21.0	3.1
GP (0.3 g/l)	1.98 ± 0.07	47.4	21.9	29.3	48.8	1.0	27.5	5.4	38.5	20.5	4.6
MA (0.1 g/l)	2.54 ± 0.06	58.8	11.7	61.2	27.2	1.2	27.2	3.4	38.9	21.6	5.7

Conditions and abbreviation were as described in Table 1.

GP, glycerophosphate; MA, malonic acid

Table 3. Effect on the concentration of magnesium sulfate on the felt and lipid accumulation by *M. plumbeus*

Concentration of MgSO ₄ (g/l)	Felt wt (g)	Lipid (%)
3	1.58±0.15 ^a	35.9 ^b
5	2.38±0.18	49.1
7	1.34±0.13	29.1
9	1.32±0.14	32.3

Conditions were as described in Table 1 except that basal medium contained 210 g starch and 2.14 g urea per liter.

Table 4. Effect various magnesium salt and sulfate on the felt accumulation by *M. plumbeus*

Mg salt	Felt wt. (g)	Sulfate	Felt wt.(g)
MgSO ₄	2.00±0.35 ^a	CuSO ₄	negligible
Mg citrate	negligible	FeSO ₄	0.58±0.08
Mg carbonate hydroxide	negligible	K ₂ SO ₄	2.19±0.07
MgCl ₂	0.22	MnSO ₄	negligible
Mg acetate	0.10	ZnSO ₄	negligible

Culture conditions were as described in Table 3.

Table 5. Effect of MnCl₂ on the felt, lipid accumulation, neutral lipid class and fatty acid composition of lipid by *M. plumbeus*

Concen-tration (g/l)	Felt wt. (g)	Lipid (%)	Lipid class ^b			Fatty acid composition ^c						
			FS	FFA	TG	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	
0	2.00±0.35	49.1 ^a	10.7	25.9	63.4	1.1	30.8	2.2	39.4	21.0	3.1	2.6
1	2.62±0.22	61.6	12.5	22.6	64.9	0.8	35.3	5.9	40.3	12.5	3.1	2.2
2	2.76±0.26	59.4	10.5	16.5	73.0	1.1	30.1	6.6	39.7	16.2	4.3	2.1
5	2.11±0.08	58.0	11.1	16.2	72.7	1.0	31.7	6.4	36.3	16.8	5.2	2.6
10	2.14±0.79	63.1	14.5	19.3	66.3	1.2	32.1	6.6	34.5	17.9	5.6	2.0

Culture condition and abbreviation were as described in Table 1.

이 5 g/l 보다 적거나 높았을 때는 菌體量과 脂肪質 함량이 감소되는 傾向을 보였다.

각종 Mg²⁺ 및 SO₄²⁻ 이온의 效果

各種 Mg²⁺ 및 SO₄²⁻ 이온을 첨가하고 그 效果를 調查한 結果는 Table 4 와 같다. 즉, Mg²⁺ 이온의 경우 Mg-citrate, Mg-carbonate hydroxide 는 전연 增殖되지 않았으며 MgCl₂ 와 Mg-acetate 에서는 약간 增殖이 되어 각각 0.22 g/50 ml, 0.10 g/50 ml 이었으며 이는 MgSO₄·7H₂O 보다 훨씬 적은 菌體量이다. SO₄²⁻ 이온의 種類別로 實驗한 結果를 보면 CuSO₄, MnSO₄ 및 ZnSO₄ 에서는 增殖이 되지 않았으며 FeSO₄ 를 첨가한 경우 0.58±0.08 g/50 ml 로서 약간 增殖된 結果이다. 이와 같은 結果는 2價이온, 특히 Mg²⁺ 이온이 脂肪質의 合成에 있어서 acylation 反應을 促進한다는 報告^(11,12)와 같이 *Mucor plumbeus* 의 경우에도 Mg²⁺ 이온이 重要한 역할을 하며 Mg²⁺ 이온은 SO₄²⁻ 이온과結合한 MgSO₄·7H₂O 的 狀態로 있을 때 가장 效果의 이라고 생각되었다. 한편 본 實驗에서 K₂SO₄ 도 MgSO₄·7H₂O 와 비슷한 效果를 얻을 수 있음을 알 수 있는데 이는 전분이 glycolytic 경로를 거치는 과정에서 K⁺ 이온이 酶素의 cofactor로서 作用되기 때문⁽¹³⁾이 아닌가 생각된다.

MnCl₂·4H₂O 의 첨가효과

MnSO₄·4H₂O 만을 첨가하였을 경우에 *Mucor plumbeus* 는 增殖되지 않았는데 Mn²⁺ 이온도 脂肪酸 合成中 acylation 反應을 促進시킨다는 報告⁽¹¹⁾가 있어 이는 Mn²⁺ 이온의 種類에 起因되는 것이 아닌가 하여 MnCl₂ 의 첨가 實驗을 하고 그 結果를 Table 5 에 나타내었다. 즉 MnCl₂ 를 첨가하였을 때 脂肪質 함량과 菌體量은 增加된 傾向으로 0~10 g/l 첨가하였을 경우 2 g/l 첨가시 菌體量이 2.76±0.26 g/50 ml 로서 대조구와 비교할 때 菌體의 增殖이 促進되었고 脂肪質의 함량도 59.4%로서 실제 생산된 총 脂肪質量이 가장 높았다. 中性脂肪質의 組成을 보면 MnCl₂ 를 첨가하였을 경우 트리글리세리드의 함량은 매우 增加되어 2 g/l 첨가시 73.0%이었고 유리지방산은 매우 감소되어서 MnCl₂ 는 *Mucor plumbeus* 의 脂肪質中 트리글리세리드의 增進 및 유리지방산의 감소效果를 주는 것으로 料되었다. 이상의 結果로 볼 때 MnCl₂ 는 충분히 菌體量 및 脂肪質의 生產 促進效果가 있으며 트리글리세리드의 함량을 增加시키는데 필요하며 그 함량은 2 g/l 로서 충분하다고 판단된다. 한편 이 때의 脂肪酸組成을 Table 5 에서 보면 팔미트산 30.1%, 스테아르산 6.6%, 올레산 39.7%, 리놀레산 16.2%, 리놀렌산은 4.3%로서 대조구에 비하여 스테아르산, 리놀렌산은 增加되고 팔미트산과 올레산은 일정하며 리놀레산은 감소하는

傾向을 보였다.

NaH_2PO_4 的 첨가효과

NaH_2PO_4 의 첨가효과를 調査하기 위해 0~10 g/l 씩 첨가하고 菌體量을 測定한 結果는 Table 6 과 같다.

즉, NaH_2PO_4 의 첨가량이 增加됨에 따라 菌體量은 감소하여 4 g/l 첨가시 $1.87 \pm 0.08 \text{ g}/50 \text{ ml}$ 이면 것이 10 g/l 첨가시에는 $1.50 \pm 0.07 \text{ g}/50 \text{ ml}$ 로 감소하였다. 그러나 NaH_2PO_4 를 4 g/l 첨가한 경우는 대조구와 비교할 때 菌體量이 ~격은 것으로 보아 *Mucor plumbeus*의 菌體生成을 為하여서는 NaH_2PO_4 가 필수적이지는 않은 것으로 생각되었다.

Table 6. Effect of NaH_2PO_4 on the felt accumulation by *M. plumbeus*

Concentration(g/l)	Felt weight (g)
0.0	$2.00 \pm 0.35^*$
4.0	1.87 ± 0.08
7.3	1.60 ± 0.11
10.0	1.50 ± 0.07

* See footnote on Table 1.

要 約

*Mucor plumbeus*의 菌體 및 脂肪質生產에 미치는 비타민類, 代謝中間生成物 및 微量元素의 影響을 檢討하였다.

비타민類의 최적 첨가량은 비오텐의 경우 17/l, 니코틴산, 피리독신, 티아민, 리보플라빈은 0.01 g/l 이었으며, 이들중, 피리독신의 효과는 현저하여 37°C에서 15 일 培養時 菌體量과 脂肪質의 함량은 각각 $2.82 \pm 0.14 \text{ g}/50 \text{ ml}$ 와 62.8%이었고 이 때의 트리글리세리드함량은 中性脂肪質의 64.9%이었으며 주요구성 脂肪酸은 울레산(50.0%), 리놀레산(23.88%)와 팔미트산(13.9%)이었다. 다른산은 脂肪質 함량과 菌體量은 增加시키나 트리글리세리드의 함량이 매우 낮으므로 바람직하지 못하다. 무기염류로서 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 5 g/l

첨가하는 것이 다른 마그네슘염과 황산염들 보다 바람직하며, *Mucor plumbeus*는 菌體生產과 脂肪質의 蓄積을 為하여 NaH_2PO_4 를 필수적으로 요구하지는 않는다.

한편 MnCl_2 의 2 g/l 첨가는 菌體生產과 脂肪質의 함량을 增加시키는 效果가 있어 37°C에서 15 日間 培養時 각각 $2.76 \pm 0.26 \text{ g}/50 \text{ ml}$ 및 59.4%이었고 이 때의 트리글리세리드 함량은 中性脂肪質의 73%이었다.

文 獻

- 유진영, 이형춘, 신동화, 서기봉: 韓國產業 微生物學會誌 投稿中
- Allen, L. A., Barnard, N. H., Fleming, M. and Hollis, B.: *J. Appl. Bacteriol.*, 27(1), 27 (1964)
- Haskell, B. E. and Snell, E. E.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 112, 494 (1965)
- Howard, D. F. and Lowenstein, J. M.: *Biochim. Biophys. Acta*, 84, 226 (1964)
- Murray, S. and Walker, T. K.: *J. Sci. Food Agric.*, 7, 237 (1956)
- 신동화, 서기봉: 韓國產業微生物學會誌 投稿中
- Weete, J. D.: *Fungal lipid biochemistry*, Plenum press, p. 215(1974)
- Witten, P. W. and Holman, R. T.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 41, 266 (1952)
- Rasmussen, R. K. and Klein, H. P.: *J. Bacteriol.*, 65(1), 157 (1968)
- White, D. and Klein, H. P.: *J. Bacteriol.*, 91, 1218 (1966)
- White, G. L. and Hawthorne, J. N.: *Biochem. J.*, 117, 203 (1970)
- Steiner, M. R. and Lester, R. L.: *Biochim. Biophys. Acta*, 260, 222 (1972)
- Lehninger, A. L.: *Biochemistry*, 2nd ed. Worth, Pub. Inc., p. 417(1975)