

## *Candida tropicalis*에 의한 Xylose와 Glucose로부터 Xylitol 생산

오덕근\* · 김상용<sup>1</sup>

우석대학교 식품공학과, <sup>1</sup>동양제과(주) 기술개발연구소

**Xylitol Production from Xylose and Glucose by *Candida tropicalis*. Deok-Kun Oh\* and Sang-Yong Kim<sup>1</sup>.** Department of Food Science and Technology, Woosuk University, Chonbuk 565-800, Korea, <sup>1</sup>R&D Center, Tong Yang Confectionery Co., Seoul 140-715, Korea - Xylitol production from xylose and glucose was investigated using *Candida tropicalis* KFCC-10960. As glucose concentration in xylose medium was increased, ethanol production increased. However, xylitol production was maximum at glucose concentration of 10 g/l. The concentrated cells grown on xylose or glucose were inoculated in xylose medium. The specific activities of xylose reductase and xylitol dehydrogenase, and xylitol production in concentrated cells grown on glucose were the same as those in concentrated cells grown on xylose. The results suggested that cells grown on glucose had the same xylitol producing activity as those grown on xylose. By feeding glucose in xylose medium, cell growth was achieved from glucose and xylitol production was obtained from xylose. By using this technique, a final xylitol concentration of 261 g/l was achieved from 300 g/l xylose in 41 hours which corresponded to a xylitol yield from xylose of 87% and a xylitol productivity of 6.37 g/l-h.

오탄당 알코올인 xylitol은 과일, 채소 및 버섯 등의 자연에 소량 존재하고 또한 포유동물 탄수화물대사의 중간 산물이다. Xylitol은 당뇨병 환자가 xylitol을 소화시키기 위하여 insulin을 필요로 하지 않아 당뇨병 치료를 위한 대용당으로 사용되고 있다(1). 또한 xylitol은 감미도가 설탕과 비슷하고 용해될 때 열 감소가 일어나는 특성으로 인하여 입안에서 느끼는 청량감이 커서 식품의 여러 분야에서 감미료로 응용되고 있다. 특히, 충치발생을 억제한다는 보고가 있어 치약에 사용되고 있고 제과제품의 무설탕 원료로도 사용되고 있다(2, 3).

지금까지 xylitol은 목재, 벚짚이나 수수속대 등을 가수분해하여 나온 xylose를 환원하는 화학적 방법으로 생산하여 왔으나, 화학적 방법은 xylose 또는 xylitol과 반점유소 부분에서 생기는 다른 고분자당의 가수분해물들과의 분리와 정제가 어렵고, 그 수율도 50-60% 정도로 낮다(4). 또한 알칼리를 이용한 고온 고압 반응이므로 위험성과 폐기물 문제가 존재하는 단점이 있다. 이러한 단점을 해결하기 위하여 미생물에 의한 xylitol의 생산방법에 대한 많은 연구가 주로 효모인 *Candida*속을 중심으로 진행되고 있다(5-10).

미생물에 의한 xylose로부터 xylitol이 생성되는 과정에 관여하는 효소는 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase로 inducible enzyme이다. 이 과정 중의 xylose

reductase는 xylose를 xylitol로 환원시킨다. 환원된 xylitol의 일부는 세포외로 분비하고 나머지는 xylitol dehydrogenase에 의하여 xylulose로 산화된 후 대사경로를 통하여 세포의 구성성분이 된다. 이때 xylose reductase의 조효소로는 NADH와 NADPH가 관여하고, xylitol dehydrogenase의 조효소로는 NAD<sup>+</sup>가 관여한다(11).

Glucose의 경우 xylose보다 저렴하기 때문에 glucose를 이용하여 xylitol을 생산하려는 많은 시도가 있었다. 그러나, xylitol을 생산하는 효모의 경우 xylose와 glucose의 대사경로가 각각 분리되어 있기 때문에 glucose로부터 xylitol을 생성하는 것은 불가능하며(11), 실제로 128종류의 효모를 이용하여 glucose로부터 xylitol의 생산을 시도하여 보았으나 실패하였다(12). Glucose를 이용하여 xylitol을 생산하려면 glucose와 xylose의 혼합 배지를 이용하는 방법이 있다. 이러한 방법은 *Candida shehatae*를 사용하여 xylitol을 생산한 경우에서 보고되었다(13). *C. shehatae*를 glucose 배지에서 종배양을 한 후 접종하면 glucose에 의한 xylose의 catabolite repression이 존재하여 xylitol 생산이 감소하였지만 xylose배지에서 종배양을 한 후 xylose와 glucose의 혼합배지에 접종하여 배양하면 catabolite repression이 해제되었고 xylitol 생산도 증가하였다. 그러나, *C. tropicalis*에서는 종배양으로 glucose배지를 사용한 경우는 종배양으로 xylose배지를 사용경우와 비슷한 xylitol 생산량을 보여 주었고 두 경우 모두 glucose에 의한 xylose의 catabolite repression이 존재하였다. 또한, 이때 본 배지의 초기 glucose의 양이 증가하면 xylitol의 생산량은 현저히

\*Corresponding author

Tel. 82-652-290-1632, Fax. 82-652-291-9312

E-mail: deokkun@unitel.co.kr

Key words: Xylitol, Xylose, Glucose, *Candida tropicalis*

감소하였다. 그러므로 glucose를 이용하여 xylitol을 생산하기 위해서는 초기에 첨가하는 glucose의 양을 특정 농도 이하로 조절하여 xylose 배지에 첨가하여 균체증식은 glucose로부터 얻고 xylitol은 xylose로부터 얻는 방법을 사용한다면 xylitol의 생산성 및 수율이 증가할 것이다.

따라서, 본 연구에서는 xylose 제조회사의 sludge에서부터 분리한 효모 *Candida tropicalis* KFCC-10960(14)을 사용하여 xylose와 glucose 혼합배지에서의 발효양상과 발효산물인 xylitol, ethanol의 생산량 변화를 살펴보고 발효조에서 xylose배지에 glucose를 첨가하여 xylitol의 수율 및 생산성을 증가시킨다. 또한, xylose에서 배양된 균체와 glucose에서 배양된 균체를 이용하여 각각의 발효의 차이점을 효소역가 측정을 통하여 조사하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 미생물 및 배지

Xylose 제조회사(Korea Biotech. Co., 안양)의 sludge에서부터 xylitol 생산균주를 분리하여 그 중에 특정균주가 높은 수율과 생산성으로 xylitol을 생성함을 발견하고 이 균주를 한국미생물보존협회에 기탁하였다(14). 기탁번호 KFCC-10960인 *Candida tropicalis*를 이 연구에 사용하였다. 성장배지로는 glucose 20 g/l, peptone 5 g/l, yeast extract 3 g/l, malt extract 3 g/l로 구성된 YM 배지를 사용하였고, 발효배지로는 탄소원으로 xylose 100 g/l 또는 300 g/l 사용하였고 필요에 따라 적당량의 glucose를 추가하였다. 질소원으로는 yeast extract 10 g/l, 무기염으로는  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/l로 구성된 배지를 사용하였다.

### 배양 방법

종배양은 냉동보관(-70°C)중인 균주를 YM배지 50 ml가 들어있는 250 ml의 플라스크에 접종하여 진탕배양기에서 240 rpm, 30°C로 균체농도가 3~4 g/l(약 10~12시간)로 성장할 때까지 수행하였다. 플라스크 배양에서는 발효배지 50 ml가 들어있는 250 ml의 플라스크에 5%에 해당되는 종배양액을 접종하여 진탕배양기에서 220 rpm, 30°C로 하여 배양하였다. 농축균체를 사용하는 배양에서는 종배양액을 glucose 또는 xylose 50 g/l의 발효배지 50 ml가 들어있는 250 ml의 플라스크에 접종하여 진탕배양기에서 240 rpm, 30°C로 10시간동안 증식시킨 후 원심분리하여 균체를 농축하여 xylose 100 g/l의 발효배지에서 xylose가 완전히 소모될 때까지 배양하였다. 5-l 발효조(한국발효기(주))를 사용한 배양은 발효 초기에 200 g의 xylose가 함유된 2 l 배지를 사용하여 수행하였다. 발효과정 중에 175 g의 xylose가 함유된 250

ml의 용액을 4번 추가하여 최종배양액의 부피를 3 l(총 첨가된 xylose의 농도는 300 g/l에 해당)가 되는 유가식 배양을 하였다. 용존산소는 교반속도를 300-800 rpm으로 조절하여 배양초기에는 20%이상 유지시키고 균체농도가 약 15 g/l되는 시점에서 교반속도를 350 rpm으로 변화시켜 용존산소를 제한하였다. pH는 발효 전 과정 동안 4.5로 조절하였고 배양온도는 30°C이었고 통기량은 1.0 vvm으로 조절하였다.

### 효소역가 분석

배양액으로부터 세포를 5,000×g에서 10분간 원심분리하여 회수한 후, 0.5 M phosphate buffer로 두번 세척하였다. 현탁과정중 세포중량을 적당히 조절하여 ependorftube내에 약 2.5 mg이 되게하여 0.5 ml의 phosphate buffer를 첨가하여 녹인 후 0.3 g의 glass bead를 넣고 4°C cold room에서 vortex mixer로 3분간 분쇄하였다. 세포분쇄액을 5,000×g에서 20분간 원심분리한 후, 상등액으로 효소역가를 분석하였다. Xylose reductase의 역가는 xylose첨가 후 NADPH의 산화에 의한 흡광도 감소를 340 nm에서 측정하였다. Xylitol dehydrogenase의 역가는 xylitol첨가후  $\text{NAD}^+$ 의 환원에 의한 흡광도 증가를 340 nm에서 측정하였다(15). 이때, 영점은 기질(xylose 또는 xylitol)을 첨가하지 않은 것으로 보정하였고, specific enzyme activity는 1분동안 단백질 1 mg 당 1 mmol의 산화된 NADPH(xylose reductase의 경우) 또는 환원된  $\text{NAD}^+$ (xylitol reductase의 경우)로 정의하였고 total enzyme activity는 1분동안 발효액 1 ml 당 1 mmol의 산화된 NADPH(xylose reductase의 경우) 또는 환원된  $\text{NAD}^+$ (xylitol reductase의 경우)로 정의하였다.

### 분석방법

Xylose, glucose, xylitol와 ethanol의 농도는 Sugar-Pak I column(Millipore, USA)이 장착된 HPLC(Shimadzu C-R6A, Japan)의 Refractive Index Detector(Shimadzu RID-6A, Japan)를 이용하여 측정하였다. 이때, 용매는 물을 사용하였고, column의 온도는 70°C이고, 유속은 0.6 ml/min 이었다. 균체농도는 탁도계를 이용하여 600 nm에서 현탁도를 측정하여 미리 측정된 표준곡선을 이용하여 건조중량으로 전환하였다. 용존산소농도는 Ingold사(Swiss, polarographic type)의 용존산소전극을 사용하여 측정하였다. 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Lowry법으로 측정하였다(16).

## 결과 및 고찰

### Xylose배지에 Glucose의 첨가 영향

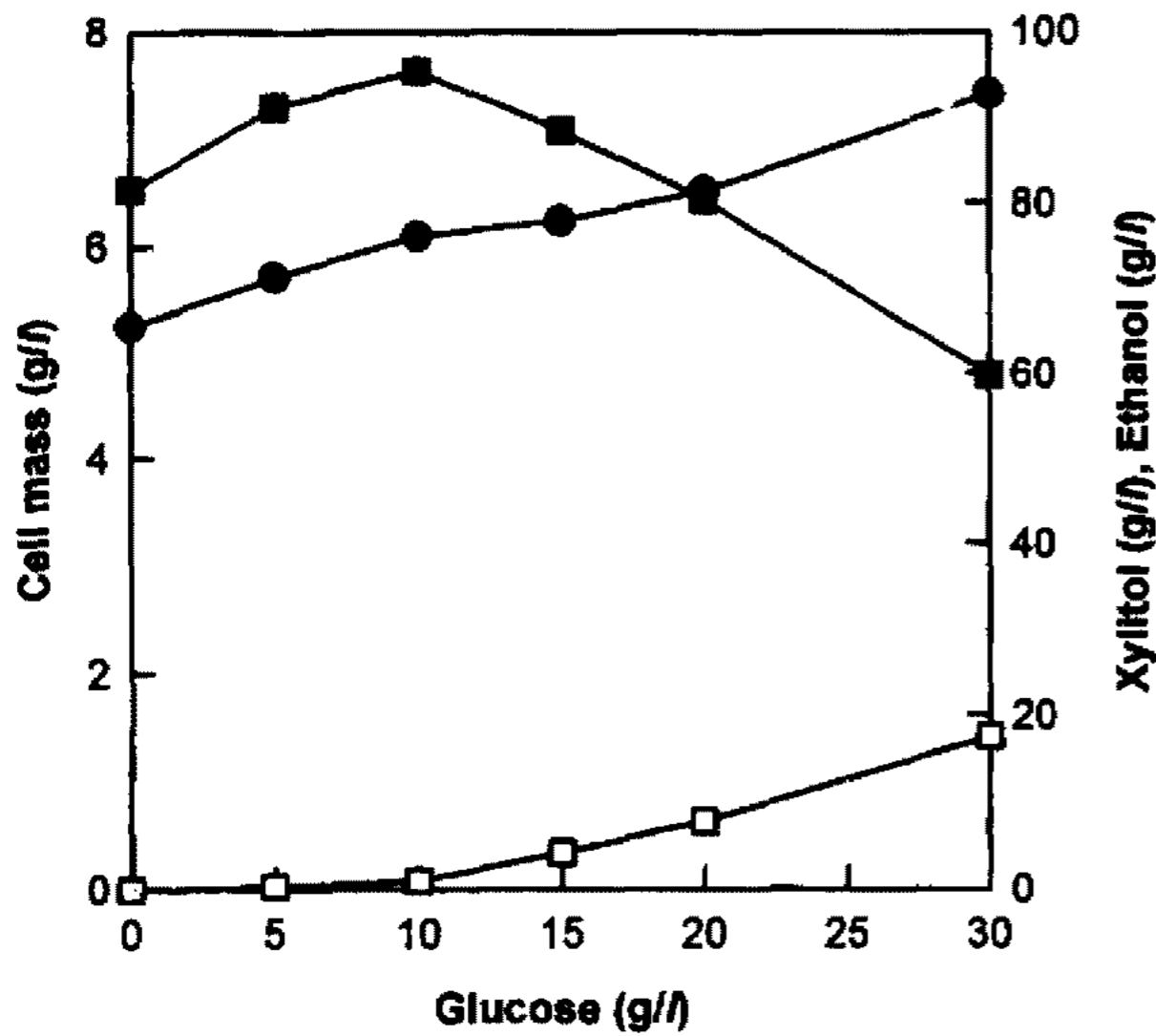


Fig. 1. Effect of glucose addition to xylose medium on xylitol production.

Medium consisted of 100 g/l xylose and various amounts of glucose. Cell mass (●), xylitol (■) and ethanol (□).

성장배지에서 종배양을 한 후 100 g/l의 xylose가 함유된 배지에 여러 가지 농도의 glucose를 첨가하여 주산물인 xylitol과 부산물인 ethanol의 생성을 살펴보았다 (Fig. 1). 낮은 glucose의 catabolite repression에 의하여 glucose가 이용된 후 xylose가 이용되었다. 이때, glucose의 이용속도는 xylose의 이용속도와 비슷하였다. Xylitol의 생성은 10 g/l의 glucose를 첨가시 최대를 보여주었으며 그 이상 첨가한 경우에는 glucose의 첨가량이 증가할수록 감소하였다. Ethanol의 생성량은 glucose 첨가량이 증가할수록 증가하여 30 g/l의 glucose를 첨가할 경우 약 18 g/l의 ethanol과 60 g/l의 xylitol이 생성되었다. 효모의 xylose와 glucose의 대사경로를 살펴보면(11, 17) xylose에서 xylitol이 생성되는 반응은 환원반응으로 NADPH가 관여하고 ethanol이 생성되는 반응 역시 환원반응으로 NADH가 사용되어 산화-환원 전위에서 경쟁적인 관계임을 알 수 있다. 그러므로 고농도의 glucose가 존재하면 ethanol의 생성이 촉진되어 NADH가 사용되고, 그 결과 xylitol로 전환될 환원력(NADPH)이 감소되므로 xylose로부터 생성되는 xylitol의 양도 감소된 것으로 생각된다.

그러나, 10 g/l 이내의 저농도 glucose를 첨가할 경우 오히려 xylitol의 농도가 증가하였는데 이것은 저농도 glucose에서는 ethanol이 적게 생성되고 첨가한 glucose가 균체생성에 사용되어 상대적으로 xylitol 생산에 사용될 수 있는 xylose의 양이 증가되어 xylitol의 생산량이 증가된 것으로 생각된다. 이에 비하여 *C. parapsilosis*에서는 저농도의 glucose에 의하여 xylitol의 수율이 감소되어 xylitol 생산에 도움을 주지 못한다고 보고되고 있다 (18). Glucose 첨가가 xylitol 생성에 미치는 영향에 대한

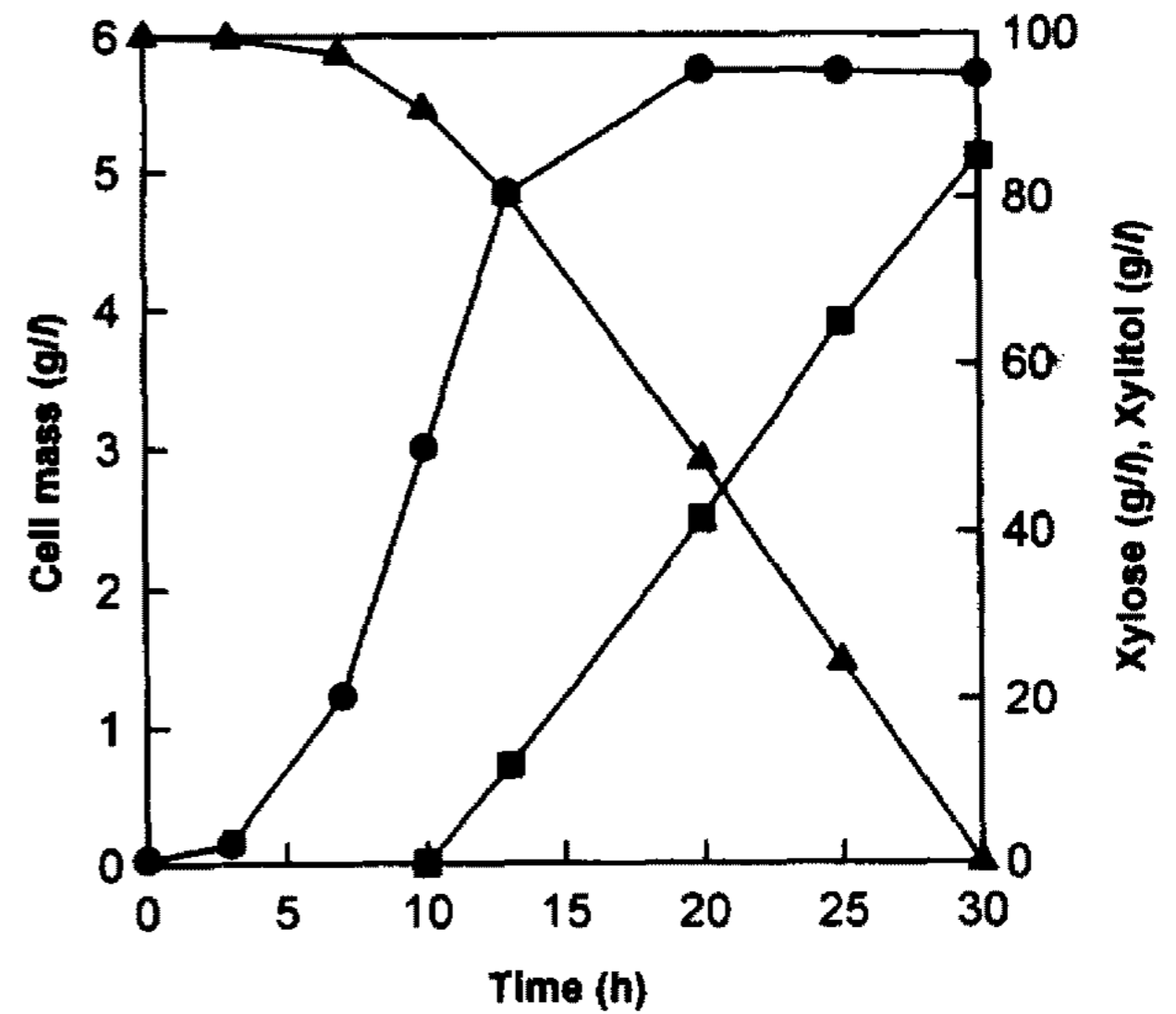


Fig. 2. Xylitol production from *Candida tropicalis* without a concentration step in inoculation.

Cell mass (●), xylose (▲), and xylitol (■).

*C. tropicalis*와 *C. parapsilosis*의 차이점을 규명하기 위하여 xylose와 glucose 배지에서 배양된 농축 균체를 사용하여 xylitol 생산량상과 관련 효소역가를 살펴보았다.

#### Xylose와 Glucose배지에서 배양된 균체가 Xylitol 생산에 미치는 영향

*C. tropicalis* KFCC-10960 균주의 종배양액을 발효 배지에 5% 접종한 후, xylose의 이용, xylitol의 생산 및 균체증식을 조사한 결과 Fig. 2와 같았다. *C. tropicalis* KFCC-10960 균주의 최대 비증식속도는  $0.5 \text{ h}^{-1}$ 이었고 최대균체량은 5.8 g/l이었다. 배양시간 30시간에서 xylose를 모두 소모하였으며 85 g/l의 xylitol이 생산되었다.

Xylose와 glucose에서 성장한 균체의 차이점을 구별하기 위하여 xylose 또는 glucose에서 성장한 균체를 약 3.2 g/l로 농축하여 xylose 100 g/l가 포함된 발효배지에 접종하여 배양하였다. Glucose에서 성장한 균체를 사용하여 배양한 결과와 xylose에서 성장한 균체를 사용하여 배양한 결과는 차이가 없었고 발효시간 22 시간에 약 85 g/l의 xylitol이 생성되었다(Fig. 3, Fig. 4). 이러한 결과를 설명하기 위하여 농축균체를 사용하지 않은 일반배양과 glucose에서 성장한 농축균체를 사용한 배양 및 xylose에서 성장한 농축균체를 사용한 배양에서의 효소역가를 각각 측정하여 Table 1에 나타내었다. 효소역가는 배양시간 약 10시간에서 분석하였다. Xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 specific activity는 농축균체를 사용하지 않은 일반배양, glucose에서 성장한 농축균체를 사용한 배양과 xylose에서 성장한 농축균체를 사용한 배양 모두에서 비슷하게 나타났다. 이러한 결과는 glucose에서 자란 균체를 사용하여 xylitol을 생산 할 경

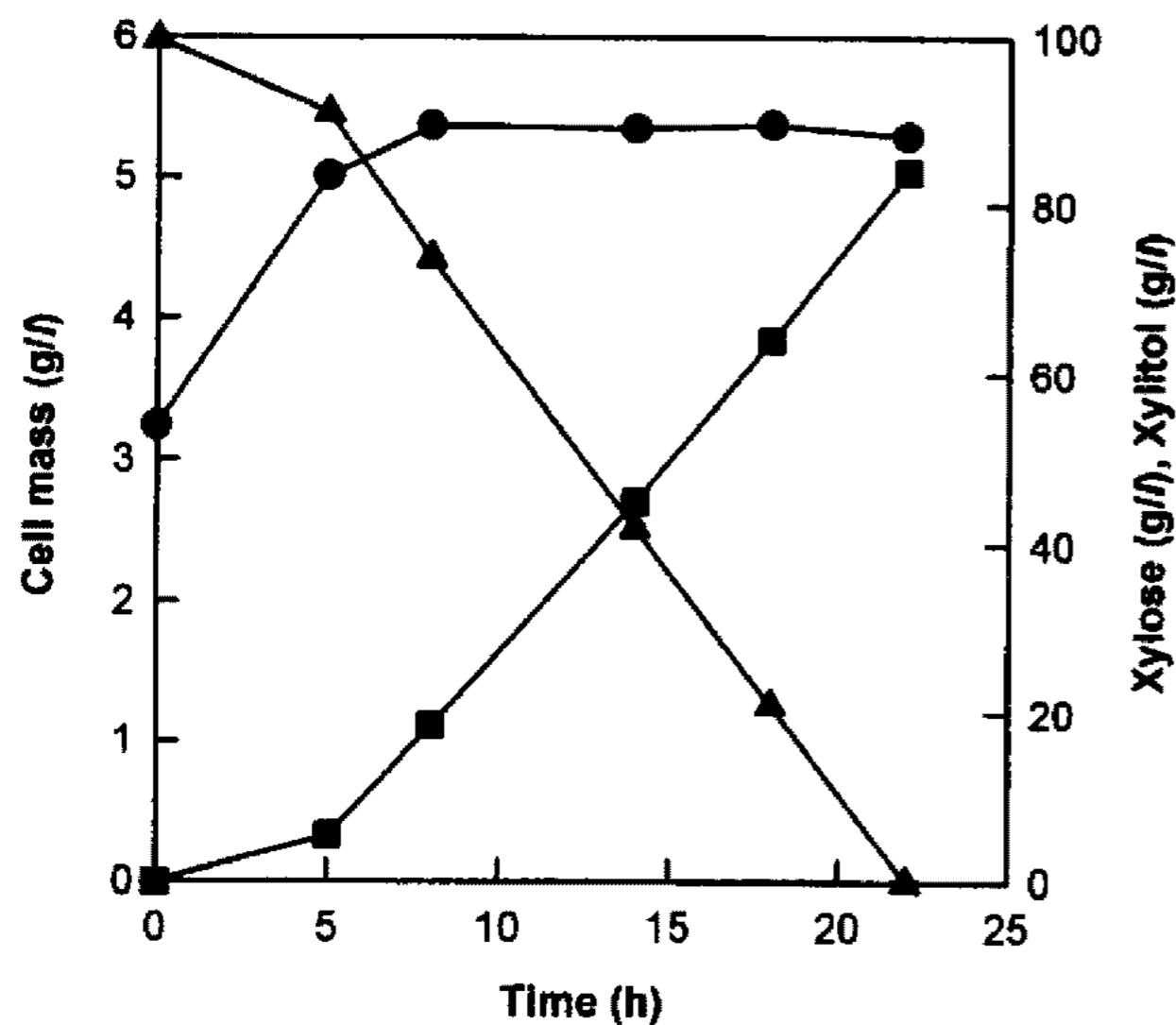


Fig. 3. Xylitol production using the concentrated cells of *Candida tropicalis* grown on glucose. Cell mass (●), xylose (▲), and xylitol (■).

우도 xylose에서 자란 균체를 사용하여 xylitol을 생산할 경우와 같다는 것과 glucose를 xylose 배지에 첨가하여 균체증식은 glucose로부터 얻고 xylitol은 xylose로부터 얻는 방법을 사용한다면 xylitol의 생산성 및 수율을 증가시킬 수 있다는 것을 의미한다.

*C. parapsilosis*는 *C. tropicalis*와 달리 glucose에서 성장한 농축균체를 사용한 경우에는 xylose에서 성장한 농축균체를 사용한 경우보다 xylitol 생산이 현저하게 감소하였고 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 specific activity도 감소하였다고 보고되고 있다(19).

Glucose를 첨가한 고농도 Xylose로부터 Xylitol의 생산 Xylose의 농도를 300 g/l로 증가시켜 발효조에서 xy-

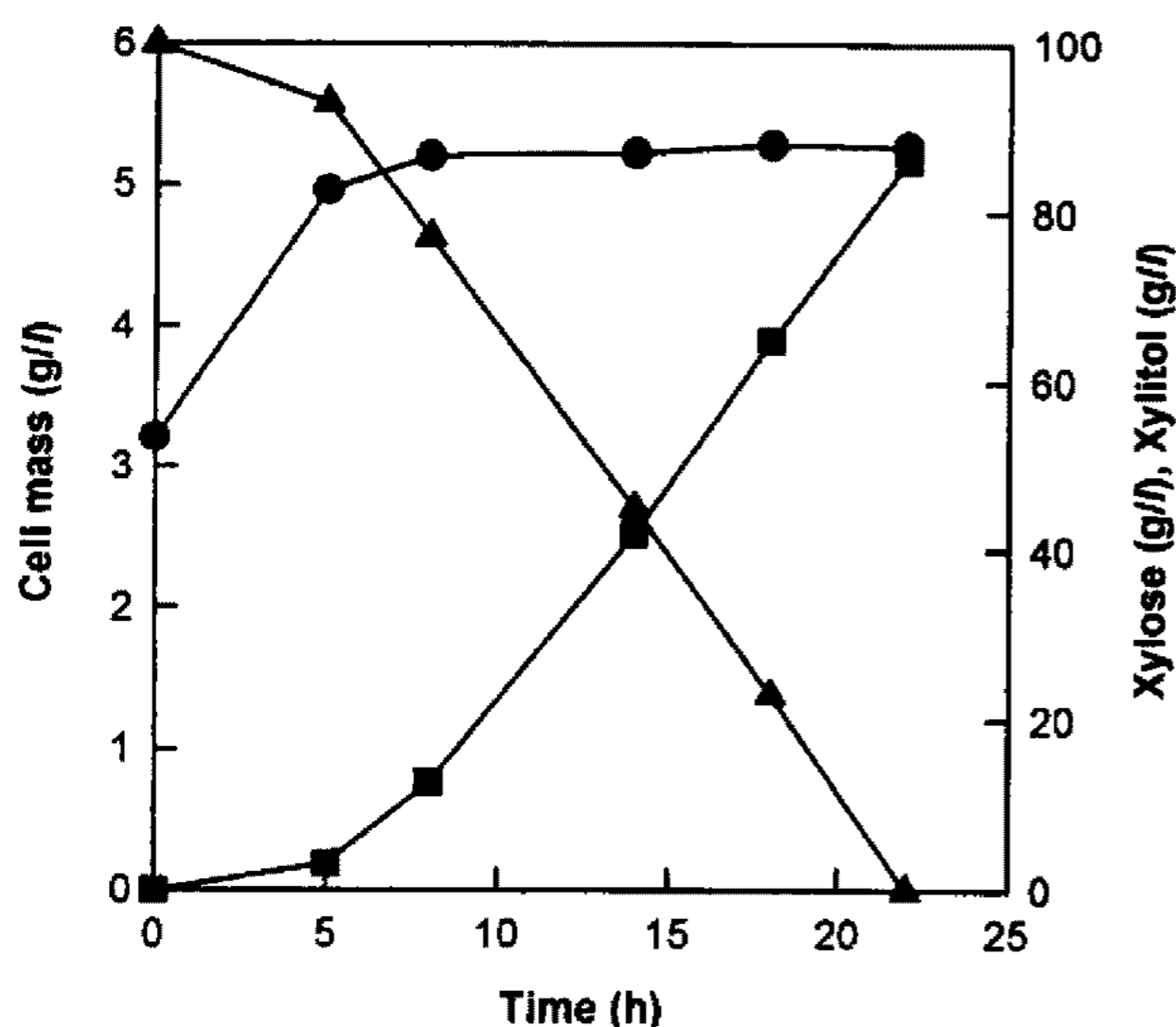


Fig. 4. Xylitol production using the concentrated cells grown on xylose by *Candida tropicalis*. Cell mass (●), xylose (▲), and xylitol (■).

Table 1. Activities of xylose reductase and xylitol dehydrogenase of unconcentrated cells, concentrated cells grown on glucose, and concentrated cells grown on xylose

Cells	unconcentrated cells <sup>1)</sup>	Concentrated cells grown on glucose <sup>2)</sup>	Concentrated cells grown on xylose <sup>3)</sup>
Xylose reductase			
Total activity <sup>4)</sup>	7.38	10.2	10.2
Specific activity <sup>5)</sup>	1.85	1.88	1.92
Xylitol dehydrogenase			
Total activity	4.48	6.21	6.62
Specific activity	1.12	1.15	1.25

<sup>1)</sup>Data obtained from Fig. 2. <sup>2)</sup>Data obtained from Fig. 3. <sup>3)</sup>Data obtained from Fig. 4. <sup>4)</sup>Total enzyme activities are expressed in mmol/ml-min. <sup>5)</sup>Specific enzyme activities are expressed in mmol/mg-min.

lose의 유가식 배양을 수행하였다(Fig. 5). 이때 유가식 배양을 수행한 이유는 *C. tropicalis* KFCC-10960의 경우 100 g/l 이상의 xylose에서는 xylitol 생산 속도가 저하되었기 때문이었다. Xylitol의 생산성을 증가시키기 위하여, 균체 증식기에서는 용존산소를 높게 유지시켜 빠른 시간 내에 높은 농도의 균체를 얻었고, 같은 배양에서 용존산소를 제한하여 얻어진 고농도의 균체를 이용하여 xylitol을 생성시켰다(20). Xylitol 생산기에 용존산소를 높게 유지시키면 산소가 NADH를 NAD<sup>+</sup>로 산화하여 NAD(P)H/NAD<sup>+</sup>의 비율이 낮아져 xylitol이 xylulose로 산화된 결과 균체량은 더 증가하고 xylitol 생산량은 감소하기 때문에 용존산소 제한은 필수적이다(21, 22). 용존산소는 교반속도를 300-800 rpm으로 조절하여 배양초기에는 20%이상 유지시키고 균체농도가 약 15 g/l되는 시점

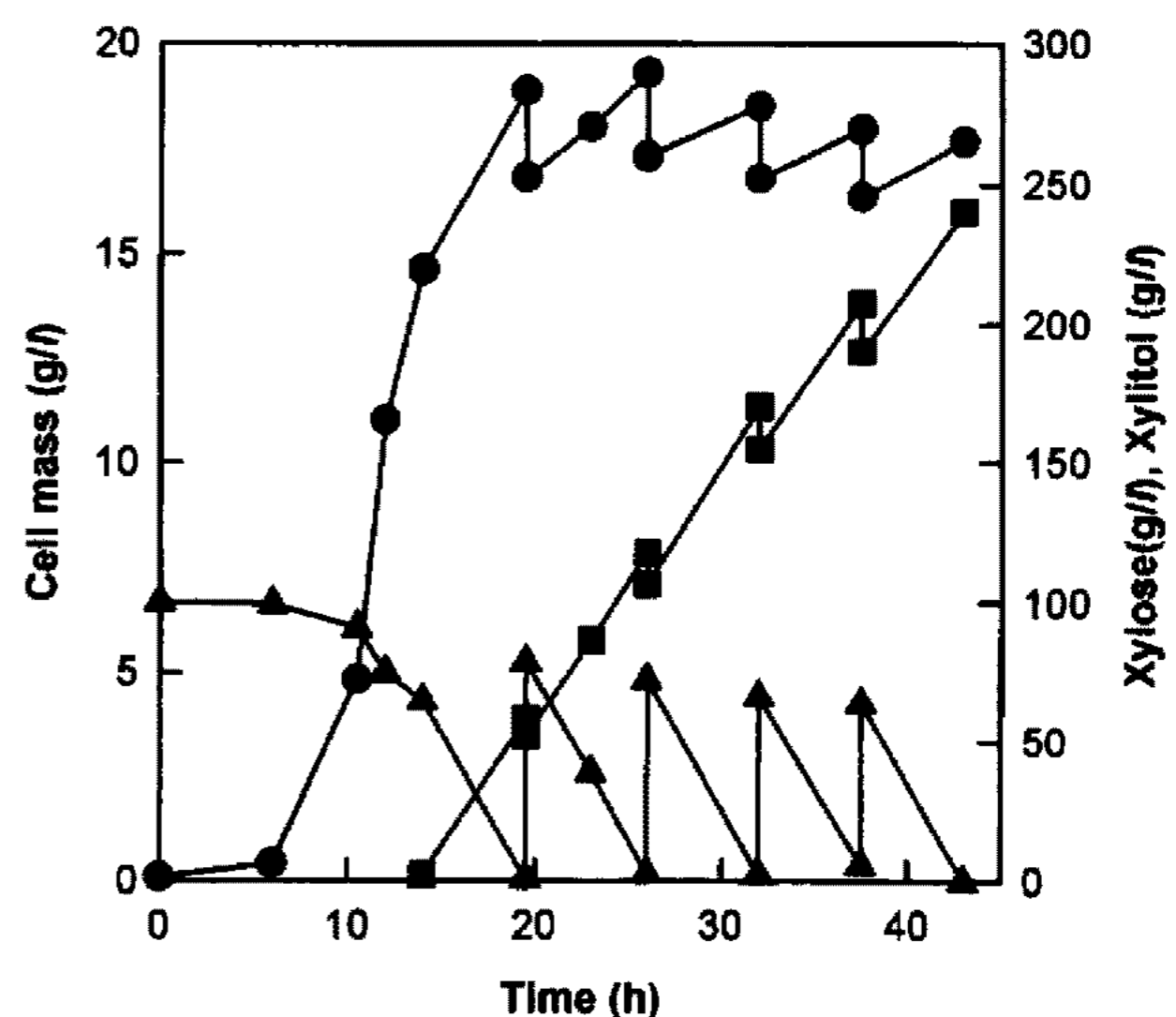


Fig. 5. Xylitol production from *Candida tropicalis* in medium containing 300 g/l xylose and no glucose. Cell mass (●), xylose (▲), and xylitol (■).



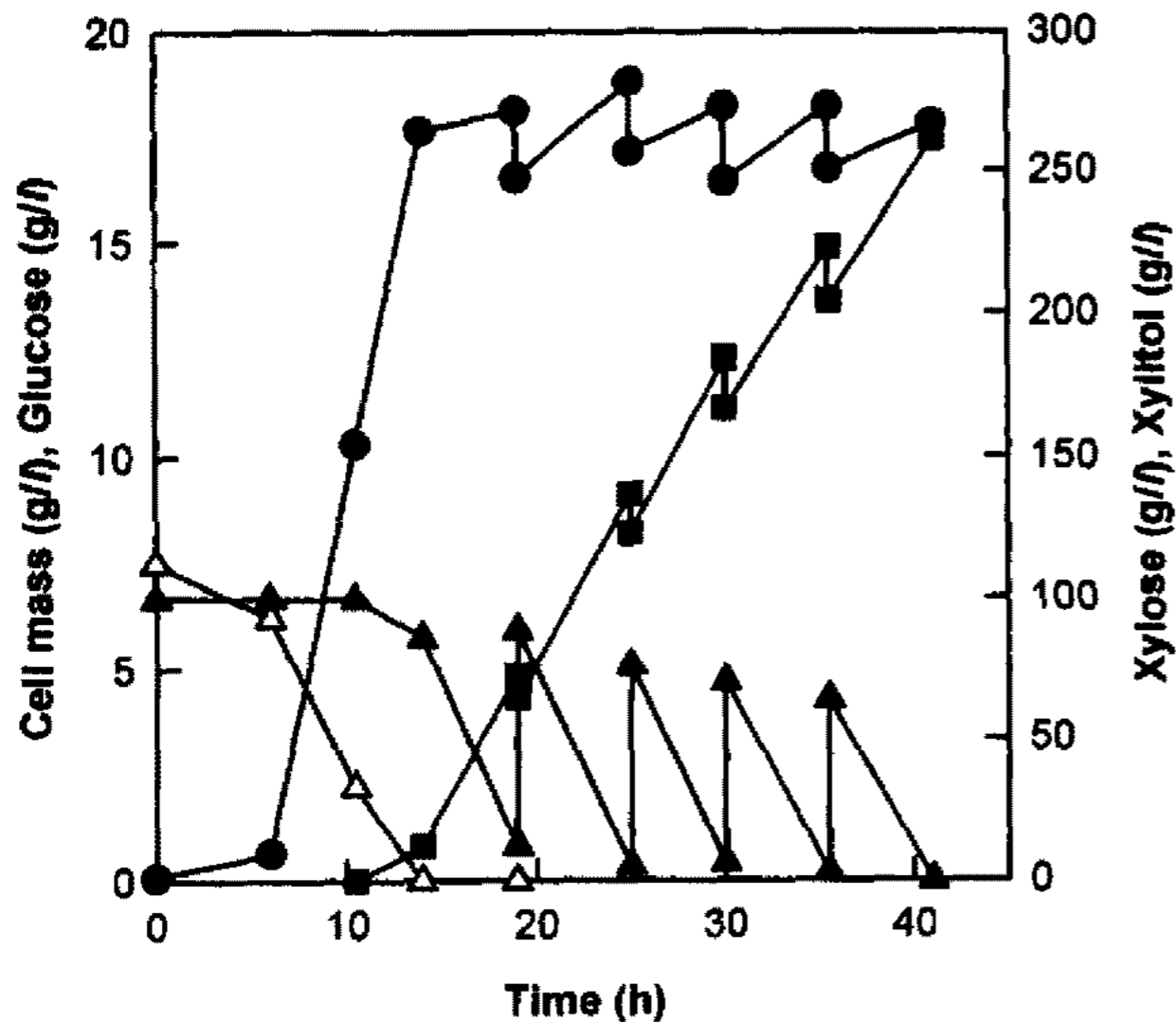


Fig. 6. Xylitol production with glucose from 300 g/l xylose by *Candida tropicalis*.

Cell mass (●), xylose (▲), xylitol (■), glucose (△).

에서 교반속도를 350 rpm으로 변화시켜 용존산소를 제한하였다. 이러한 방법으로 300 g/l의 xylose로부터 43시간 만에 240 g/l의 xylitol을 얻었다. 이러한 결과는 xylose에 대한 xylitol의 수율 80%와 xylitol의 생산성 5.38 g/l-h에 해당되는 것이다.

같은 용존산소 조절방법을 사용하여 발효조에서 glucose가 첨가된 xylose의 유가식 배양을 수행하였다(Fig. 6). 포도당은 초기에 15 g을 첨가한 후 발효시간 8.5시간에서부터 5 g/h로 15시간 동안 첨가하여 발효배지 3 l에 총 90 g(총 첨가된 포도당의 농도는 30 g/l에 해당)을 첨가하여 300 g/l의 xylose로부터 41시간만에 261 g/l의 xylitol을 얻었다. 이러한 결과는 xylose에 대한 xylitol의 수율 87%와 xylitol의 생산성 6.37 g/l-h에 해당되는 것이고 glucose를 첨가하지 않는 것에 비하여 xylitol의 생산성과 수율이 각각 18%와 9%가 증가된 것이다. 이것은 xylose배지에 glucose를 첨가하여 glucose는 균체증식에 이용되고 xylose는 xylitol생산에 이용된 일어난 결과로 생각된다.

지금까지 보고된 결과 중 최고 높은 xylitol의 생산성을 나타낸 경우는 Yahashi 등이 *C. tropicalis*에 의하여 150 g/l의 xylose로부터 배양 32시간에 94 g/l의 xylitol을 생산하여 xylitol의 생산성 2.93 g/l-h를 보여준 결과이다(23). 본 실험에서 보여준 xylitol의 생산성은 Yahashi 등이 발표한 결과보다 약 2배 높은 결과이다. 본 연구에서 높은 생산성을 얻게된 것은 균주자체가 우수할 뿐만 아니라 발효공정이 효율적이기 때문이다. 본 연구에 사용된 균주 xylose 제조공장의 sludge로부터 분리·선별한 미생물로 발효시간 30시간에 100 g/l xylose로부터 88 g/l xylitol을 생산하는 고수율·고생산성의 xylitol을 생산균이다(14). 또한 균체 증식기에서는 용존산소를 높

게 유지시켜 빠른 시간 내에 높은 농도의 균체를 얻었고, 같은 배양에서 용존산소를 제한하여 얻어진 고농도의 균체를 이용하여 xylitol을 생성시키는 배양 방법을 사용하였다. 그 결과 높은 xylitol 생산성을 얻을 수 있었다.

## 요 약

*Candida tropicalis* KFCC-10960을 사용하여 xylose배지에 glucose 첨가가 xylitol 생산에 미치는 영향을 조사하였다. Xylose 100 g/l가 존재하는 배지에서 glucose 첨가량을 증가시키면 부산물인 ethanol 농도도 증가하였다. 그러나, xylitol은 10 g/l의 glucose를 첨가할 경우 최대를 보여주었고 그 이상 glucose를 첨가시킬 경우 첨가량이 증가할수록 xylitol 생성량이 감소하여 30 g/l의 glucose를 첨가할 경우 약 60 g/l의 xylitol이 생성되었다. Xylose 또는 glucose에서 성장한 농축균체를 사용하여 xylose 배지에서 xylose reductase와 xylitol dehydrogenase의 specific activity와 xylitol 생산 양상을 조사한 두 경우 모두 비슷한 결과를 보여주었다. 이러한 결과는 glucose에서 자란 균체를 사용하여 xylitol을 생산할 수 있다는 것을 의미한다. 이와 같이 glucose를 xylose 배지에 첨가하여 균체증식은 glucose로부터 얻고 xylitol은 xylose로부터 얻는 방법을 사용하여 300 g/l의 xylose로부터 41시간만에 261 g/l의 xylitol을 얻을 수 있었다. 이것은 xylose에 대한 xylitol의 생산수율 87%와 xylitol 생산성 6.37 g/l-h에 해당되는 것이다.

## 참고문헌

1. Makinen, K. K. and E. Soderling. 1980. A quantitative study of mannitol, sorbitol, xylitol, and xylose in wild berries and commercial fruits. *J. Food Sci.* **45**: 367-370.
2. Pepper, T. and P. M. Olinger. 1988. Xylitol in sugar-free confections. *Food Technol.* **42**: 98-106.
3. Emodi, A. 1978. Xylitol: Its properties and food applications. *Food Technol.* **32**: 28-32.
4. Hyvonen, L. and P. Koivistoinen. 1983. Food technological evaluation of xylitol. *Adv. Food. Res.* **28**: 273-403.
5. Gong, C. S., T. A. Claypool, L. D. McCracken, C. M. Maun, P. P. Ueng, and G. T. Tsao. 1983. Conversion of pentoses by yeasts. *Biotechnol. Bioeng.* **25**: 85-102.
6. Horitsu, H., Y. Yahashi, K. Takamizawa, K. Kawai, T. Suzuki, and N. Watanabe. 1992. Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: Optimization of production rate. *Biotechnol. Bioeng.* **40**: 1085-1091.
7. Meyrial, V., J. P. Delgenes, R. Moletta, and J. M. Navarro. 1991. Xylitol production by *Candida guilliermondii*: Fermentation behavior. *Biotechnol. Lett.* **13**: 281-286.
8. Nishio, N., K. Sugawa, N. Hayase, and S. Nagai. 1989. Conversion of D-xylose into xylitol by immobilized cells

- of *Candida pelliculosa* and *Methanobacterium* sp. HU. *J. Ferment. Bioeng.* **67**: 356-360.
9. Du Preez, J. C., B. van Driessel, and B. A. Prior. 1989. D-xylose fermentation by *Candida shehatae* and *Pichia stipitis* at low dissolved oxygen levels in fed-batch cultures. *Biotechnol. Lett.* **11**: 131-136.
  10. Meyer, P. S., J. C. Du Preez, and S. Kilian. 1992. Cultivation of *Candida blankii* in simulated bagasse hemicellulose hydrolysate. *J. Indust. Microbiol.* **9**: 109-112.
  11. Hahn-Hagerdal, B., H. Jeppsson, K. Skoog, and B. A. Prior. 1994. Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. *Enzyme Microb. Technol.* **16**: 933-943.
  12. Onishi, H. and T. Suzuki. 1969. Microbial production of xylitol from glucose. *Appl. Microbiol.* **18**: 1031-1035.
  13. Kastner, J. R. and R. S. Roberts. 1990. Simultaneous fermentation of D-xylose and glucose by *Candida shehatae*. *Biotechnol. Lett.* **12**: 57-60.
  14. 오덕근, 김상용. 1997. *Candida parapsilosis* DS-72에 의한 xylose로부터 xylitol의 생산. *산업미생물학회지* **25**: 311-316.
  15. Chiang, C. and S. G. Knight. 1966. D-xylose reductase and D-xylitol dehydrogenase from *Penicillium chrysogenum*. *Meth. Enz.* **9**: 188-193.
  16. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, L. Farr, and R. J. Randall. 1955. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
  17. Smiley, K. L. and P. L. Bolen. 1982. Demonstration of D-xylose reductase and D-xylitol dehydrogenase in *Pach-solen tannophilus*. *Biotechnol. Lett.* **4**: 607-610.
  18. 오덕근, 김종화. 1996. *Candida parapsilosis*에 의한 xylitol 생성시 포도당의 영향. *산업미생물학회지* **24**: 149-154.
  19. 오덕근, 김상용. 1996. *Candida parapsilosis*에 의한 xylitol 생산시 xylose와 glucose의 영향. *한국식품과학회지* **28**: 1151-1156.
  20. Kim, S. Y., J. H. Kim and D. K. Oh. 1997. Improvement of xylitol production by controlling oxygen supply in *Candida parapsilosis*. *J. Ferment. Bioeng.* **83**: 267-270.
  21. Du Preez, J. C., B. van Driessel, and B. A. Prior. 1989. D-xylose fermentation by *Candida shehatae* and *Pichia stipitis* at low dissolved oxygen levels in fed-batch cultures. *Biotechnol. Lett.* **11**: 131-136.
  22. Furlan, S. A., P. Bouilloud, P. Strehaiano, and J. P. Riba. 1991. Study of xylitol formation under oxygen limiting conditions. *Biotechnol. Lett.* **13**: 203-206.
  23. Yahashi, Y., H. Horitsu, K. Kawai, T. Suzuki and K. Takamizawa. 1996. Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: The effect of D-glucose feeding. *J. Ferment. Bioeng.* **81**: 148-152.

(Received 21 April 1997)