

Serratia marcescens 균주로부터 추출한 Prodigiosin의 흡수분광학적 연구

박희역†

목원대학교 테크노과학대학 생의약화학부
(2019년 3월 6일 접수: 2019년 3월 27일 수정: 2019년 3월 29일 채택)

Absorption Spectroscopic Studies of Prodigiosin Extracted from *Serratia Marcescens* Strain

Hee-Aurk Park†

*Division of Biomedical Chemistry and Cosmetics, Mokwon University,
88 Doanbuk-ro, Seo-gu, Daegu, 35439 Korea
(Received March 6, 2019; Revised March 27, 2019; Accepted March 29, 2019)*

요 약 : *Serratia marcescens* 2354(ATCC 25419) 균주로부터 추출한 붉은 색소는 prodigiosin (PG) 이었고, 이를 methanol에 녹여 자외선 및 가시광선 흡수 스펙트라를 측정된 결과 537 nm의 최대흡수파장 (λ_{max})을 갖는 산성용액에서의 전형적인 PG의 흡수 스펙트라이었다. 또한 methanol 용액에서 PG의 농도를 1.0×10^{-5} M에서 9.0×10^{-5} M로 증가시키면, 537 nm의 흡수강도는 증가하고 467 nm의 흡수강도는 감소하였으며, 500 nm에서 isosbestic point가 관측되었다. 이러한 현상은 537 nm와 467 nm가 각각 산과 염기용액에서의 PG 흡수대이고, 500 nm의 isosbestic point 등을 고려하면 가역적 산-염기 평형반응에 의한 결과라고 볼 수 있다. 한편 pH, 4.75의 acetic acid 완충용액에서 PG의 농도를 6.0×10^{-4} M에서 1.0×10^{-4} M로 감소시키면 500 nm에서 λ_{max} 를 가지는 새로운 흡수대가 나타난다. 이 흡수대는 pH 4.75의 수용액에서만 나타나는 것으로 같은 pH의 순수한 methanol 용액에서는 나타나지 않는다. 이는 PG 분자가 H₂O에 의해 α -이성질체에서 β -이성질체로의 전환에 기인하는 것이다. 즉 PG의 색변화는 용액의 농도 및 용매의 특성에 의해서도 일어날 수 있음을 확인하였다.

주제어 : *Serratia marcescens*, prodigiosin, 색의 변화, pH의 변화, 용매의 변화

Abstract : The red pigment extracted from *Serratia marcescens* 2354 (ATCC 25419) was prodigiosin (PG), which was dissolved in methanol and measured for ultraviolet and visible light absorption spectra. It was the typical absorption spectrum of PG in an acid solution with $\lambda_{max} = 537$ nm. When the concentration of PG was increased from 1.0×10^{-5} M to 9.0×10^{-5} M in the methanol solution, the absorption intensity at 537 nm was increased, the absorption intensity

†Corresponding author
(E-mail: pha6205@mokwon.ac.kr)

at 467 nm was decreased, and the isosbestic point at 500 nm was observed. This phenomenon can be regarded as a result of reversible acid-base equilibrium reaction considering 537 nm and 467 nm of PG absorption band in acid and base solution respectively and isosbestic point of 500 nm. On the other hand, when the concentration of PG was reduced from 6.0×10^{-4} to 1.0×10^{-4} M in acetic acid buffer solution at pH 4.75, a new absorption band with λ max at 500 nm appeared. This absorption band appears only in the aqueous solution of pH 4.75 and does not appear in the pure methanol solution of the same pH. This is due to the conversion of the PG molecule from the α -isomer to the β -isomer by H_2O . In other words, it was confirmed that the color change of the PG can be caused by the concentration of the solution and the characteristics of the solvent.

Keywords : *Serratia marcescens*, prodigiosin, Change of colour, Change of pH, Change of solvent

1. 서론

일반적으로 천연색소는 식물 또는 미생물들로부터 얻을 수 있고,^{1,2)} 식물 및 미생물의 생육 조건 및 주변 환경을 조절하여 일정품질을 유지할 수 있는 천연색소를 산업적으로 다량 공급할 수 있는 장점을 가지고 있다.³⁾ 특히 미생물을 이용한 천연색소의 경우는 사용배지와 배양방법에 따라 일정품질의 색소를 짧은 시간에 대량으로 생산할 수 있고, 동일한 균주일 경우에도 배지의 성분, 배양온도, pH 등에 따라 다양한 색조의 색소 생산도 가능한 것으로 알려져 있다.^{4,5)}

Serratia marcescens (*Sm.*) 균주로부터 추출되는 천연색소인 prodigiosin (PG)은 색소로서의 기능뿐만 아니라 유전독성이 없고,⁶⁾ 항균, 면역억제, 항 증식활성 및 항암 작용 등과 같은 약리 효과가 있는 것으로 밝혀지고 있어 이에 대한 연구들이 활발하게 진행되고 있고,⁷⁻⁹⁾ 화장품 등에서 자외선 차단제로의 기능¹⁰⁾도 확인되고 있다.

또한 PG는 pyrrolyl pyrromethane 골격을 특징으로 하는 천연 적색 안료 균으로 면직물 등의 염색^{11,12)}과 식품 등의 착색제¹³⁾로의 연구도 활발히 진행되고 있고, 염색하기가 대단히 까다로운 polyolefin 류의 염색¹²⁾ 등에도 이용 가능한 것으로 보고되고 있다.

특히 PG는 *Sm.* 균주를 배양하는 배지의 조건에 따라 다양한 적색을 얻을 수 있고¹⁴⁾, 특히 아세테이트 배지에서 배양하면 황색(yellow-orange)의 PG를 얻을 수 있다는 결과도 있었다.¹⁵⁾ 또한 아세테이트-펩톤 배지에서 배양한 *Sm.* 균주를 산성화된 에탄올로 추출하면 적색의

PG를 얻을 수 있고, 중성 에탄올로 추출하면 460~470 nm에서 최대 흡수 값을 갖는 황색의 PG를 얻을 수 있다.¹⁴⁾

그러나 PG의 경우 천연색소로서의 색변화는 단지 pH 변화에 따른 연구만 이루어져 있을 뿐 농도변화 및 용매효과 등에 의한 색변화의 유무 및 수용액에서 집합체 형성(aggregation)에 따른 metachromasy 현상 등에 대한 본질적인 연구는 거의 이루어진 바 없다. 특히 PG 색소분자들은 소수성 기능기들의 영향으로 물에 녹지 않는 특성을 지니고 있어, 유기용매에서의 기하이성질체에 대한 연구들은 이루어진 바 있으나 PG 색소분자들이 물과 알콜 등이 함유된 용액에서의 기하이성질체의 변화와 관련된 색변화 등의 구체적인 연구는 이루어진바 없다. 따라서 면직물, 식품, 고분자 및 화장품 등의 착색에 PG 색소를 응용하기 위해서는 천연색소로서의 미소한 환경변화에 따른 색 변화의 물리, 화학적 특성의 연구가 선행되어야 한다. 본 연구에서는 그램 음성균인 *Sm.*로부터 추출한 적색 색소 PG의 분광 특성을 비교하기 위하여 순수한 메탄올과 물과 메탄올이 함유된 용매에서의 농도증가에 따라 PG 분자들이 집합체를 형성하는지와 색 변화가 나타난다면 어떠한 이유로 나타나는지를 흡수분광학적 방법으로 연구하였다.

2. 실험

2.1. Prodigiosin의 배양 및 추출과 정제

본 실험에 사용한 균주 *Serratia marcescens*

2354 (ATCC 25419)는 한국생물공학연구원 생물자원센터 유전자은행으로부터 분양받았으며, 이미 알려진 CS배지에서 28 °C 배양조건으로 4일간 배양하였다.¹⁶⁾ 배양된 *Sm.* 균주로부터 PG의 추출 및 정제는 박 등의 방법¹⁷⁾을 응용하였다. 1차로 CS배지에서 자란 3 plate의 균체를 모아서 2차 증류수 35 mL에 현탁시켰다. 그리고 균체가 들어 있는 용기를 조심스럽게 흔들어 균체 밖에 묻어 있는 당을 비롯한 여러 가지 물질들을 세척하고, 이것을 원심분리관에 넣고 15,000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 분리관 바닥에 있는 균체를 모은 후 같은 방법으로 2회 더 반복하였다.

균체의 외벽에 있던 이물질의 제거과정을 마친 뒤 *Sm.* 균주의 세포막을 제거하기 위해 1 : 1 부피비의 물과 ethyl acetate를 이용하였고, 두 번째로 지용성 물질 및 지방산의 제거를 위해 1 : 1 부피비의 물과 ethyl ether를 사용하였으며, 세 번째로 PG에 결합되어 있을 수 있는 당과 단백질 분리를 위해 2.0 N HCl를 이용하였다. 최종적으로 얻은 PG 용액은 강한 소수성 물질이었고, 이를 methanol에 용해시킨 다음 감압 농축하여 결정화시켰다. 이렇게 얻은 PG의 결정은 초록색으로 반짝이는 색소이었다.

2.2 흡수 스펙트라의 측정

본 실험에서 흡수 스펙트라를 측정하기 위해 Cary 1, UV-분광광도계를 사용하였다. PG의 저장용액은 PG를 순수한 methanol에 녹여 5.0×10^{-3} M로 조제하였고, 이를 methanol 용액에서의 농도변화에 따른 흡수 스펙트라를 측정하는 경우에는 methanol로 희석하여 측정하였다.

pH 4.75의 acetic acid 완충용액은 0.01 M 농도의 acetic acid와 sodium acetate를 같은 부피로 혼합하여 제조하였고, acetic acid 완충용액에서의 흡수 스펙트라를 측정하기 위한 PG 용액은 methanol에 녹인 5.0×10^{-3} M 농도의 저장용액을 acetic acid 완충용액으로 희석하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. *Serratia marcescens* (*Sm.*)로부터

추출, 정제한 PG의 흡수 스펙트라

Fig. 1은 그래프 음성균인 *Sm.*로부터 추출, 정제하여 얻은 PG를 methanol에 녹여 UV-Vis

spectrophotometer (Cary 1)로 측정한 흡수 스펙트라이며, 가시광선 영역에서의 λ_{\max} 는 537 nm이었다.

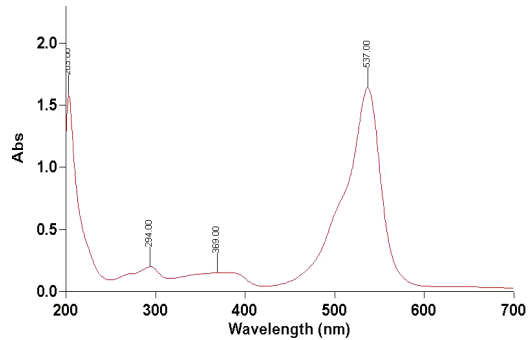


Fig. 1. Absorption spectra of PG extracted from *Sm.* strain at 25 °C in methanol. [PG] = 1.0×10^{-4} M

실험 측정에 사용된 PG는 정제과정의 최종 결정단계에서 2.0 N HCl를 이용하여 결정화하였기 때문에 N. Darshan 등이 제안한 구조를 가질 것이고,¹⁸⁾ 이를 methanol에 녹이면 이온화 되어 PG는 산성 형태(acidic form ; PGH^+)로 존재할 것이다. 따라서 methanol 용액에서 측정된 PGH^+ 흡수 스펙트라의 모양은 산성 용액에서 측정된 PG의 흡수 스펙트라와 유사한 형태를 가져야 한다. Fig.1을 살펴보면 산성 용액에서의 흡수 스펙트라와 유사한 모습을 보이고 있고,¹⁹⁾ 단지 λ_{\max} 가 일부 문헌 값의 535 nm와 차이가 있으나, 536 nm²⁰⁾와 537 nm의 문헌 값^{16,21)}도 있는 것을 감안하면 전형적인 (PGH^+)의 흡수 스펙트라임을 확인할 수 있다.

3.2. Methanol 용액에서 PG의 농도변화에 따른 흡수 스펙트라

많은 색소들의 경우 농도가 증가되어지면 집합체(aggregation)를 형성하고, 형성되어진 집합체의 형태에 따라 가시광선 영역의 흡수 스펙트라가 변화되어지는 현상을 나타내고 있으며, 이러한 현상을 metachromasy라 한다. 즉 excitone²²⁾ 이론에 의하면 색소의 농도증가에 따라 집합체가 형성되어지면 단량체(monomer)의 λ_{\max} 는 감소되어지고, ① 단파장 쪽의 몰흡광계수가 증가되어지는 경우(평행한 형태)가 있거나, ② 장파장 쪽의 몰흡광계수가 증가되어지는 경우(직선형 형태)와 ③ 단파장 쪽과 장파장 쪽 모두 몰흡광계수가

증가되어지는 경우(빛각의 형태)가 있다. 따라서 이러한 가시광선 영역에서의 독특한 흡수 스펙트라의 경향을 확인하기 위하여 농도변화에 따른 흡수 스펙트라의 측정을 시도하였다.

Fig. 2는 PG 결정을 methanol에 녹여 저장용액을 만들고, 이것을 methanol로 희석하여 $1.0 \times 10^{-5} \sim 9.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 로 조제한 후 측정된 흡수 스펙트라를 몰흡광계수(molar absorptivity coefficient) 대 파장(nm)으로 Sigma plot 프로그램을 이용하여 도시한 흡수 스펙트라이다.

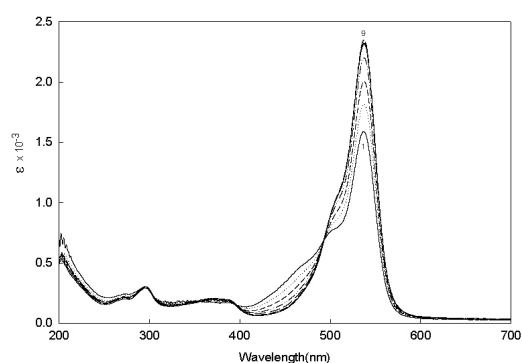


Fig. 2. The absorption spectra at various concentration of prodigiosin in methanol solution at 25 °C.

- 1) $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
- 2) $2.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
- 3) $3.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
- 4) $4.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
- 5) $5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
- 6) $6.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
- 7) $7.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
- 8) $8.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
- 9) $9.0 \times 10^{-5} \text{ M}$

Fig. 2를 보면, 농도가 증가되어짐에 따라 537 nm의 λ_{\max} 에는 변화가 없지만 몰흡광계수는 증가하고, 467 nm 부근에서의 몰흡광계수는 감소하며, 500 nm에서 isosbestic point를 확인할 수 있다. 이러한 스펙트라의 변화 양상은 농도 증가에 따른 색소분자들의 집합체 형성에 의한 metachromasy가 아닌 것은 분명하다. 오히려 500 nm의 isosbestic point를 중심으로 537 nm와 467 nm 부근의 흡수대가 각각 산과 염기 용액에서 PG가 갖는 λ_{\max} 임을 고려할 때⁶⁾, 농도 변화에 따른 흡수 스펙트라의 변화양상은 가역적 산-염기 평형반응과 깊은 관련이 있을 것으로 예상된다.

일반적으로 PG의 산-염기 평형반응은 용매 매질의 pH 변화에 의존하는 것으로 알려져 있고,

$[(\text{PG})\text{H}^+]$ 농도가 $9.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 이상에서는 흡수 스펙트라의 변화가 없는 것으로 관측되고 있으며, 다만 Fig. 2와 같은 흡수 스펙트라의 변화 양상은 $9.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 미만의 경우에서만 나타나는 것으로 확인되었다. 따라서 $1.0 \times 10^{-5} \sim 9.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 범위에서는 methanol 용액의 pH가 6~7 범위의 약산성임을 의미하며, PG 농도 증가에 따라 중성상태의 methanol 용매가 점차적으로 산성화 되어 $\text{PGH}^+ \rightleftharpoons \text{PG} + \text{H}^+$ 과 같은 가역적 산-염기 평형반응이 이루어진다고 볼 수 있다. 따라서 PG를 안정적인 색의 발현을 위한 색소로 이용하기 위해서는 순수한 알코올 용매에서의 경우 $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 이상의 농도로 조절해야 한다.

3.3. Acetic acid 완충용액에서의 PG의 농도 변화에 따른 흡수 스펙트라

지금까지 알려진 metachromasy 현상은 주로 수용액내에서 이루어지는 것으로 알려져 있기 때문에²³⁾, 이러한 스펙트라의 변화 요인을 관측하기 위하여 완충용액에서의 흡수 스펙트라를 측정하였다. PG는 물에 녹지 않는 소수성 색소이기 때문에 먼저 methanol에 녹여 $5.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ 의 저장용액을 만든 다음, 이를 pH = 4.75 acetic acid 완충용액에 첨가하여 $1.0 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 6.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 의 PG 수용액을 만들어 농도변화에 따른 흡수 스펙트라를 측정하고, 이를 methanol의 경우와 마찬가지로 몰흡광계수 대 파장(nm)으로 도시한 것이 Fig. 3이다.

Fig. 3의 경우 농도가 감소함에 따라 537 nm의 흡수대는 감소하고 단파장 쪽 500 nm 대역의 흡수대가 점진적으로 뚜렷한 λ_{\max} 를 가지는 것을 확인할 수 있다. 이러한 현상을 metachromasy라고 오해할 수도 있으나 단파장 쪽 500 nm 대역의 흡수대는 농도가 감소되어짐에 따라 나타나는 것이기 때문에 색소분자들의 집합체에 기인하지 않은 것은 분명하고, 용매가 pH=4.75의 acetic acid 완충용액이기 때문에 산-염기 평형반응도 아니므로 다른 요인에 의해 출현한 흡수대라고 보아야 할 것이다.

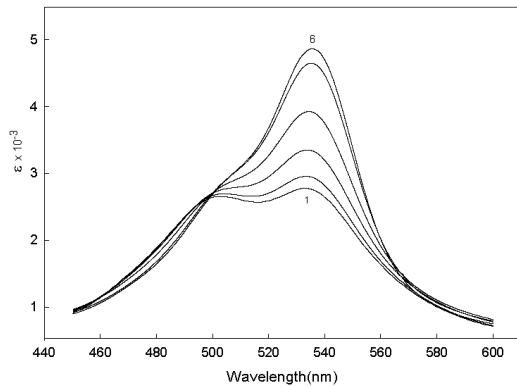


Fig. 3. The absorption spectra at various concentrations of PG in acetic acid buffer solution at 25°C.

- 1) 1.0×10^{-4} M 2) 2.0×10^{-4} M
 3) 3.0×10^{-4} M 4) 4.0×10^{-4} M
 5) 5.0×10^{-4} M 6) 6.0×10^{-4} M

지금까지 알려진 사실에 따르면 PG의 경우 산성 매질에서 510 nm 부근의 어깨부분(shoulder)은 지속되는 것으로 알려져 있었으나,¹⁸⁾ Ryazantseva 등²⁴⁾은 PG의 500~510 nm 대역의 어깨 흡수대를 Derivative 분광법의 고차원 D^{VIII} 로 분석한 결과 499.7, 506.2 및 513 nm의 세 개의 밴드로 나누어진다는 보고를 한바 있다. 따라서 pH = 4.75 acetic acid 완충용액에서 농도가 감소되어짐에 따라 나타나는 500 nm 부근의 뚜렷한 흡수대는 510 nm 부근의 어깨부분에 속한 숨겨진 밴드가 어떤 이유에 의해 나타난 것이라고 예상할 수 있다.

Rizzo 등의 연구에 따르면²⁵⁾, PG와 유사한 골격구조를 갖는 PNU-156804의 경우 NMR 연구 등을 통해 용액 내에서 α 와 β 형태의 이성질체가 존재하고 산성용액(낮은 pH)에서는 α 형태가 우세하여 α 와 β 형태의 비율이 2 : 1 정도이고, 반대로 높은 pH에서는 β 형태가 우세하다고 보고하였으며, 이러한 차이는 농도와 무관하다는 결과를 발표하였다. 또한 2개의 기하 이성질체의 자외선-가시광선 흡수 스펙트럼은 유사하지만 동일하지 않으며 500 nm에서 흡광도의 최대 차이가 관찰된다고 보고한바 있다. 또한 Fürstner 등²⁶⁾도 PG·5HCl의 경우 역시 α 와 β 형태의 이성질체가 존재함을 인정하고, 용액 내에서 B 고리 4-위치의 산소 치환체와 C 고리의 양성자화 질소와의 수소결합에 의해 α 형태가 선호된다고

하면서도, 고체상태의 PG·4HCl의 X-ray 결정학적 연구에서는 β 형태로 존재한다고 하였고, N. Darshan 등¹³⁾도 HCl이 첨가된 PG의 구조로 β 형태를 제안하였다.

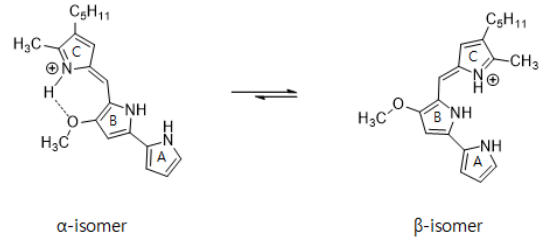


Fig. 4. Geometric isomers of prodigiosin.

완충용액에서 PG의 농도가 감소함에 따라 출현하는 500 nm 부근의 흡수대에 대해 검토하면, 1.0×10^{-4} M ~ 6.0×10^{-4} M의 PG 완충용액은 methanol 저장용액으로부터 만들어졌기 때문에 PG 농도의 변화 외에 methanol의 함량이 2~12%(v/v)로 차이가 존재한다. 순수한 수용액에서 PG·HCl은 녹지 않기 때문에 β 형태의 고체로 존재할 것이고, methanol의 함량이 많은 경우에는 PG의 B 고리 4-위치의 산소 치환체와 C 고리의 양성자화 질소와의 수소결합에 의해 α 형태가 우세할 것으로 보이나, H₂O의 상대적 함량이 많아질수록(methanol의 함량의 상대적 감소) B 고리 4-위치의 산소 치환체에 대한 수소결합이 C 고리의 양성자화 질소보다는 H₂O가 유리하여 α 형태에서 β 형태로의 평형 이동이 Fig. 4와 같이 진행된다고 볼 수 있다. 따라서 PG의 흡수 스펙트럼에서 510 nm 부근의 어깨부분은 유기용매의 상대적 함량이 많으면서 낮은 pH에서는 α 형태가 우세한 상태로 α 와 β 의 비율이 2:1로 유지되므로 흡수 스펙트럼의 변화가 없으나, 유기용매의 상대적 함량이 낮아지면 같은 pH 일지라도 H₂O와의 경쟁반응에 의해 β 형태가 점진적으로 증가하여 α 와 β 형태의 이성질체의 비율이 거의 균등해져서 500 nm 부근의 흡수대가 출현하는 것이라고 할 수 있다. 이는 용매의 pH 외에 용매의 특성에 의해서도 PG의 이성질체 α 와 β 형태의 형성에 중요한 요인으로 작용하여 흡수대의 변화를 촉진할 수 있고, 즉 색소의 색변화에도 상관관계가 있다는 것을 의미한다.

4. 결론

Sm. 균주로부터 추출된 붉은 색소는 PG이었고, 가시광선 영역의 흡수 스펙트라는 537 nm에서 λ_{max} 를 가졌다. 순수한 methanol 용액에서 PG의 농도를 $1.0 \times 10^{-5} \sim 9.0 \times 10^{-5}$ M로 증가시키면 산성용액에서의 흡수대인 537 nm의 흡수강도는 증가하고, 염기성 용매에서의 흡수대인 476 nm의 흡수강도는 감소하였으며 500 nm에서 등흡수점 (isosbestic point)이 관측되었다. 이것은 PG가 산성형태로 결정화되었기 때문에 농도 증가에 따라 methanol 용매가 점진적으로 산성화되는 것을 의미하며 500 nm의 등흡수점을 고려할 때 가역적 산-염기 평형 반응에 의한 변화라고 판단하였다. pH 4.75의 acetic acid 완충 용액에서 1.0×10^{-4} M의 PG의 흡수 스펙트라는 500 nm에서 뚜렷한 흡수대를 보였다. 이것은 소수성 특성을 갖는 PG가 상대적 H₂O 용매 매질의 증가에 따른 PG의 기하 이성질체간의 경쟁 반응에 의해 pH 4.75의 산성 용매 조건에서도 β 형태의 이성질체가 증가한다는 것을 의미한다. 즉 PG의 미소한 색변화는 용액의 pH 및 용매의 특성에 의해서도 일어날 수 있음을 확인하였다.

감사의 글

이 연구는 2017년도 목원대학교 학술연구비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. G. J. Lauro, "A Primer on Natural Colors", *Cereal Foods World*, Vol 36, pp. 949-953, (1991).
2. F. J. Francis, "Lesser Known Food Colorants", *Food Technol.*, Vol 41, pp. 62-68, (1987).
3. N. Hanagata, A. Ito, Y. Fukuju, K. Murata, "Red Pigment Formation in Cultured Cells of *Carthamus Tinctorius* L.", *Biosci. Biotech. Biochem.*, Vol 56, No.1 pp. 44-47, (1992).
4. M. Carels, D. Shepherd, "The Effect of Different Nitrogen Sources on Pigment Production and Sporulation of *Monascus* Species in Submerged", *shaken culture*, *Can. J. Microbiology*, Vol 23, No.10 pp. 1360-1372. (1977).
5. B. Yongsmith, W. Tabloka, W. Yongmanitchai, R. Bavavoda, "Culture Conditions for Yellow Pigment Formation by *Monascus* sp. KB 10 Grown on Cassava Medium", *World J. Microbiol. Biotechnol.*, Vol 9, No.1 pp. 85-90, (1993).
6. I. D. Guryanova, N. S. Karamovab, D. V. Yusupovab, O. I. Gnezdilovc, L. A. Koshkarova, "Bacterial Pigment Prodigiosin and Its Genotoxic Effect", *Russ. J. Bioorganic Chem.*, Vol 39, pp. 106-111, (2013).
7. Kalesperis, G.S., Praflad, K.V., and Lynch, D.L., "Toxicogenic studies with the antibiotic pigment from *Serratia marcescens*", *Can. J. Microbiol.*, vol. 21, pp. 213-220, (1975)
8. Someya, N., Nakajima, M., Hamamoto, H., Yamaguchi, I., and Akutsu, K., "Effect of light condition on prodigiosin stability in the biocontrol bacterium *Serratia marcescens* strain b2", *J. Gen. Plant Pathol.*, vol. 70, pp. 367-370, (2004)
9. *Biology of the Prokaryotes*, Lengeler, J.W., Drews, G, and Schlegel, H.G., Eds., Blackwell, 1999.
10. R. K. Suryawanshi, C. D. Patil, H. P. Borase, B. K. Salunke, S. V. Patil, "Studies on Production and Biological Potential of Prodigiosin by *Serratia marcescens*", *Appl. Biochem. Biotechnol.*, Vol 173, No.5 pp. 1209-1221, (2014).
11. R. Srimathi, R. Priya, M. Nirmala, A. Malarvizhi, "Isolation, Identification, Optimization of Prodigiosin Pigment Produced by *Serratia Marcescens* and Its Applications", *International Journal of Latest Engineering and Management Research (IJLEMR)*, Vol 2, pp. 11-21, (2017).
12. I. Ryazantseva, I. Andreyeva, "Application of Prodigiosin as a Colorant for

- Polyolefines”, *Advances in Biological Chemistry*, Vol 4, pp. 20–25, (2014).
13. S. Namazkar, W. A. Ahmad, “Spray-Dried Prodigiosin from *Serratia Marcescens* as a Colorant”, *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, Vol 10, pp. 69–76, (2013).
 14. I. N. Andreyeva, T. I. Ogorodnikova, “Pigmentation of *Serratia Marcescens* and Spectral Properties of Prodigiosin”, *Microbiology* Vol 84, No.1 pp. 28 ~ 33, (2015).
 15. Allen, E.G., Condition of the colour change of prodigiosin, *Nature*, vol. 216, pp. 929–931, (1967).
 16. S. K. Min, H. A. Park, “Study upon the Red Pigments Extracted from the *Serratia marcescens*”, *J. of Korean Oil Chemists’ Soc.*, Vol 33, pp. 599–605, (2016).
 17. S. H. Jung, H. A. Park, Y. C. Kim and J. H. Kim, “A Method for Isolation of Natural Pigments”, patent, KR100671318B1.
 18. N. Darshan, H. K. Manonmani, “Prodigiosin and Its Potential Applications”, *J. Food Sci. Technol.*, Vol 52, No.9 pp. 5393–5407, (2015).
 19. I. N. Andreyeva, T. I. Ogorodnikova, “Pigmentation of *Serratia Marcescens* and Spectral Properties of Prodigiosin”, *Microbiology* Vol 84, No.1 pp. 28 ~ 33, (2015).
 20. W. Helvia, C. de Araújo, K. Fukushima, G. M. Campos Takaki, “Prodigiosin Production by *Serratia marcescens* UCP 1549 Using Renewable-Resources as a Low Cost Substrate”, *Molecules* Vol 15, pp. 6931–6940, (2010).
 21. (a) W. R. Heran, J. M. Castro, M. K. Elson, “Colour Change of Prodigiosin”, *Nature*, Vol 220, pp. 170–171, (1968). (b) Nancy N. Gerber, “Prodigiosin-Like Pigments”, *CRC Critical Reviews in Microbiology*, Vol 3, No.4 pp. 469–485, (1975).
 22. P. K. Jain, S. Eustis, Mostafa, A. El-Sayed, “Plasmon Coupling in Nanorod Assemblies: Optical Absorption, Discrete Dipole Approximation Simulation, and Exciton-Coupling Model”, *J. Phys. Chem. B*, Vol 110, pp. 18243–18253, (2006).
 23. M. K. Goftar, K. Moradi and N. M. Kor, “Spectroscopic Studies on Aggregation Phenomena of Dyes”, *Euro. J. Exp. Bio.*, Vol 4, No.2 pp. 72–81, (2014).
 24. I. N. Ryazantseva, V. S. Saakov, I. N. Andreyeva, T. I. Ogorodnikova, Y. F. Zuev, “Response of Pigmented *Serratia marcescens* to the illumination”, *J. Photochem. and Photobio. B: Biology*, Vol 106, pp. 18–23, (2012).
 25. V. Rizzo, A. Morelli, V. Pincioli, D. Sciangua, R. D’Alessio, “Equilibrium and Kinetics of Rotamer Interconversion in Immunosuppressant Prodigiosin Derivatives in Solution”, *J. Pharmaceutical Sci.*, Vol 88, No.1 pp. 73–79, (1999).
 26. A. Fürstner, J. Grabowski, C. W. Lehmann, “Total Synthesis and Structural Refinement of the Cyclic Tripyrrole Pigment Nonylprodigiosin”, *J. Org. Chem.*, Vol 64, pp. 8275–8280, (1999).