

주정증류 폐기물의 당화 및 구연산 발효에 관한 연구(I)

서명교·*서근학·송승구

부산대학교 공과대학 화학공학과
*부산수산대학교 자연과학대학 응용화학과

Studies on Saccharification and Citric Acid Fermentation
of Alcoholic Distillery Waste(I)

Myung Gyo Suh, Kuen Hack Suh* and Seung Koo Song

Department of Chemical Engineering, Pusan National University
*Department of Applied Chemistry, National Fisheries University of Pusan

ABSTRACT

Alcoholic distillery waste was utilized as dual purposes to produce citric acid and to reduce the amount of waste to be treated. Enzyme and acid hydrolysis of this waste were studied to suggest effective way of present purpose.

Enzymatic hydrolysis of this naked barley alcoholic distillery waste by α - and β -amylase gave glucose as 8g/l concentration at 55°C for 6 hours, which produced 1g/l citric acid and 5.33g/l mycelial.

This waste material hydrolyzed with 25% HCl at 120°C showed 21.5g/l glucose and produced 1.75g/l citric acid with 4.9g/l mycelial.

The glucose concentration was decreased to 3.44g/l by further 2nd acid hydrolysis because the monosugars were decomposed at prolonged hydrolysis conditions.

The addition of 3g/l NH_4NO_3 increased the mycelial growth but reduced the amount of citric acid formed.

The formation of citric acid was increased at low concentration of manganese ion.

서론

식품 및 농작물 쓰레기 등과 같은 폐기물을 이용한 생물전환기술은 폐자원의 재활용이라는 측면에서 그 의의가 크다고 생각되며, 식품산업에 있어 폐기물의 회수는 폐기처리에 따르는 폐기물의 량을 최소화시키고자 하는 노력과 부산물을 생성시켜 공정단가를 낮춤으로 그 중요성이 갈수록 증대되고 있다.

특히 주정공장에서 나오는 주정증류 폐기물은 고농도 수질오염 유기물질로 알려져 있으나, 수질오염 방지시설의 비용이 고가이고, 운전비의 과다부담 및 설치부지 확보의 어려움등으로 인하여 업체에서는 이를 완벽하게 처리하지 못하므로 중대한 환경오염의 원인이 되고 있다. 현재 국내에는 약10여개소의 대소 주정공장이 있으며, 1989년도에 이들 공장에서 생산된 연간 주정생산량은 1,054,000D/M이며, 폐기물량은 13,000,000D/M

에 달하였다.

폐기물을 이용한 발효공정의 개발은 많은 연구가들에 의하여 이루어 지고 있으나 아직 산업체에 응용되고 있지 않으므로 앞으로 많은 고찰이 요구된다. 최근 Hang 등(1-4)과 Roukas등(5)은 양조폐기물과 과일쓰레기를 발효기질로한 표면배양으로 구연산을 생산하였고 보고하였는데, 구연산은 식품산업 및 의약품 산업등에 널리 사용되고 있다. Kiel등(6)은 면사부스러기를 기질로 하여 구연산을 얻고자 하였지만 면사부스러기만으로는 구연산이 생산되지 않아 sucrose를 첨가한 배지를 사용하였다. 또한 Hossain등(7)은 우유찌꺼기를 발효기질로 하여 구연산을 생산하고자 하였으나 생산성이 낮아 lactose를 첨가함으로써 구연산의 생산성을 향상시켰다고 보고하였다. Shu등(8)은 구연산의 발효생산에 있어서는 무엇보다도 값싼 발효기질의 개발이 중요하다고 하였으며, Singh등(9)은 cane molasses를 발효기질로한 구연산 생산을 보고 하였고, Ogawa등(10)은 beet molasses에서, Moyer등(11)은 전분에서, 또한 Furukawa등(12)은 n-paraffin을 발효기질로 효모에 의해 구연산 생산을 보고 하였다.

일반적으로 구연산 생산의 경제성을 높이기 위하여 당밀과 같이 설탕보다 값싼 원료를 이용하여 구연산의 생산을 높이려는 연구들이 많이 이루어지고 있으며, 폐기물로부터 구연산을 만드는 연구에 대해서도 관심이 높아지고 있다. 본 연구의 목적은 국내 주정공장에서 배출되어 수질오염의 주원인이 쌀보리 주정증류 폐기물의 재활용 및 처리방면으로 이들 주정증류 폐기물의 여액을 발효기질로 사용하여 구연산의 생산가능성을 검토하는 동시에 구연산 발효시 질산암모늄과 금속이온의 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

주정증류 폐기물의 성상

Table 1. Average composition of naked barley alcoholic distillery waste

pH	4.0
BOD ₅ (mg / l)	35,000
COD(mg / l)	27,000
Total reducing sugar as glucose(mg / l)	10,000
Suspended solids(mg / l)	30,000
Total nitrogen(mg / l)	924
Total phosphorus(mg / l)	2.30

본 연구에서 사용한 시료는 부산시 문현동 소재의 주정생산업체에서 나오는 쌀보리 주정증류 폐기물로서 그 성상은 Table 1과 같다.

균 주

본 실험에서 사용한 균주는 *Aspergillus niger*(KCTC 1231)로서 한국과학기술연구원 유전공학센터에서 분양받은 균주를 사용하였으며, 균주의 활성을 유지하기 위하여 PDA(potato dextrose agar)배지에서 7일마다 1회씩 개대 배양하였다.

배 지

균체 보관용으로 사용한 PDA 배지조성은 200 g / l potato, 20 g / l dextrose 및 15 g / l의 agar로 구성되었다.

접 종

300ml의 진탕플라스크에 폐액을 100ml정도 넣고 솜마개를 한 후 121℃에서 15분간 멸균하여 냉각한 다음 무균실에서 agar배지로 부터 포자를 접종하여, 30℃, 200rpm의 조건으로 진탕배양기에서 2일간 배양하였다. 이렇게 배양한 것을 반응물 부피의 2%이내로 되게끔 반응기에 접종시켰다.

발효실험

실험장치는 회분식 배양 생물반응기(B. Braun Biotech Co., Model: BIOLAB)를 사용하였으며, 용량 1 l인 반응기내에 0.5 l의 배양액을 채워 실험을 행하였다. 산소의 공급은 공기여과기를 통하여 air pump에 의해 2vvm으로 공급하였으며, 발효조 내의 용존산소의 측정은 DO probe를 사용하여 측정하였으며, 온도는 30℃로 유지하였다. 교반속도는 배양초기에는 400rpm로 유지하다가 발효가 진행되면서 용존산소가 포화 용존산소량의 40%이하로 낮아질 때는 교반속도를 800rpm으로 높여 용존산소를 포화용존산소량의 30%이상으로 유지시켰다.

주정증류 폐기물에 함유된 다당류를 미생물이 분해하기 쉬운 글루코오스로 전환하기 위하여 효소 및 산 가수분해를 행하였다.

효소 가수분해는 총 환원당중 글루코오즈 농도가 5.7 g / l인 주정증류 폐기물의 500ml당 α - 및 β -amylase (s.p.: 25,000 unit / g)를 4:6으로 혼합한 당화효소를 0.057 g의 비율로 혼합하여 pH 5.0, 온도 55℃에서 6시간동안 가수분해를 행하였다. 산 가수분해는 총 환원당중 글루코오즈 농도가 5.7 g / l인 주정증류 폐기물과 25% 염산의 비율을 5:1(폐기물 100ml+염산 20ml)로

혼합하여 120°C에서 2.5시간동안 가수분해를 행하였다.

또한 본 실험에 사용된 총 환원당 50 g / l인 주정증류 폐기물 중에 함유된 금속이온을 원자흡광 광도법 (Atomic Absorption Spectrometer, Model: varian Spectra- AA- 30)으로 분석한 결과 본 주정증류 폐기물내에 포함되어 있는 금속이온의 농도는 Table 2의 C2였으며 금속이온의 영향을 고찰하기 위해 C2를 기준으로하여 sucrose 50 g / l, NH₄NO₃ 2 g / l, 및 KH₂PO₄ 1 g / l인 합성배지에 MnSO₄ · 7H₂O, CaCl₂, CuSO₄ · 5H₂O, ZnSO₄ · 7H₂O, Pb(NO₃)₂ 및 FeSO₄ · 7H₂O시약을 사용하여 C1, C2, C3및 C4의 농도로 바꾸어 가면서 구연산 발효를 행하였다.

Table 2. Combination of metal concentrations in synthetic medium*

	C1(g / l)	C2(g / l)	C3(g / l)	C4(g / l)
Mg ²⁺	1.2	2.4	3.6	4.8
Ca ²⁺	0.28	0.56	0.84	1.12
Cu ²⁺	0.001	0.002	0.003	0.004
Zn ²⁺	0.022	0.043	0.0645	0.086
Pb ²⁺	0.009	0.017	0.0255	0.034
Fe ²⁺	0.031	0.061	0.0915	0.122

* Basis : Sucrose 50 g / l, NH₄NO₃ 2 g / l, KH₂PO₄ 1 g / l

분석방법

균체 건조무게의 측정은 배양액중에서 시료를 취하여 원심분리한 다음, 침전된 균체를 다시 0.85% NaCl용액으로 2-3번 세척하여 원심분리하고, 증류수로 다시 2-3번 세척하여 105°C에서 24시간 건조한 후 데시게이타에서 30분간 방냉하여 무게를 측정하였다. 총 환원당의 농도는 DNS법(13)에 의하여 측정하였으며, 각 성분당의 정량은 HPLC(Waters Co.)로 행하였다. HPLC의 조건은 Table 3과 같다. 구연산의 농도는 Marier와 Boulet 방법(14)에 의해 측정하였다.

Table 3. Analytical conditions of HPLC

Items	Conditions
Packing material	Aminex HPX-87C
Solvent	H ₂ O
Temperature	85°C
Flow rate	0.6ml / min
Detector	R401

결과 및 고찰

본 실험에 사용된 쌀보리 주정증류 폐기물중에 함유된 총 환원당의 농도는 10 g / l이었으며, 이를 발효기질로 하여 *A. niger*균주를 사용한 구연산 발효에서 구연산의 농도는 0.12 g / l이었다. 이러한 낮은 생산량은 주정증류 폐기물중에 함유된 환원당의 농도가 일반적으로 이용되는 당의 농도 50~100 g / l에 비하여 낮기 때문인 것으로 생각되므로, 환원당을 농축시켜 가수분해에 따른 구연산 수율에 관한 영향을 고찰하였다.

농축에 따른 영향

주정증류 폐기물을 여과한 후 회전 진공증발기로 농축시켜 당의 농도를 50, 70, 및 100 g / l로 증가시켰을 때 발효시간에 따른 구연산 농도변화를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에 나타난 바와같이 주정증류 폐기물에서 성장한 *A. niger*균주는 기질의 농도에 따라서 구연산의 생산 차이를 보이고 있으며, 농축하지 않은 주정증류 폐기물 배지보다 농축하여 당의 농도를 증가시킬때 구연산의 생산성이 높아지는 것을 보여준다.

그러나 순수한 sucrose를 기질로한 최(15)의 실험결과와 비교해 볼때, 당의 농도가 50 g / l에서 구연산이 약 1.25 g / l, 100 g / l에서는 2.0 g / l가 생성된 반면에, 본 실험에서는 당의 농도가 50 g / l에서 구연산이 약 0.81 g / l, 100 g / l에서는 2.12 g / l가 생성됨으로써 농축을 하여도 그다지 구연산 생산이 많지 않음을 알 수가 있었다. 이는 주정공장에서 전분과 같은 다당류

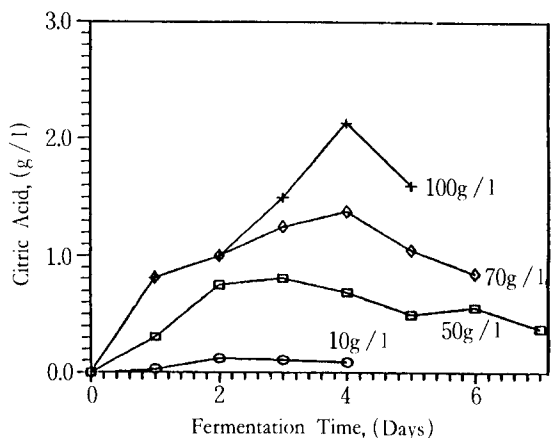


Fig. 1. Citric acid production by *A. niger* sub-merged culture from alcoholic distillery waste.

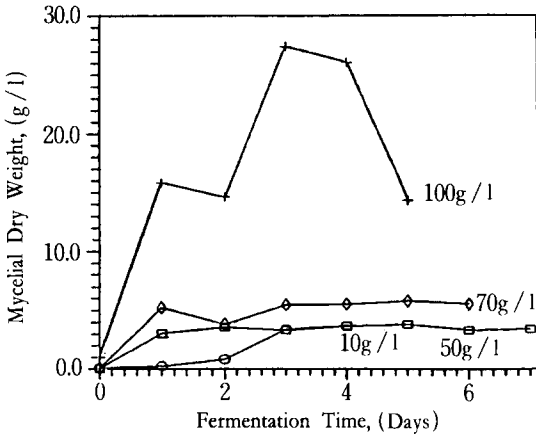


Fig. 2. Mycelial production by *A. niger* submerged culture from alcoholic distillery waste.

를 원료로 하여 액화 및 당화공정을 거쳐 얻은 글루코오스를 발효기질로 하기 때문에 발효가 끝난뒤 흘러나오는 주정증류 폐기물에는 글루코오스보다도 미생물이 분해하기 힘든 올리고당이나 다당류가 많이 포함되어 있으므로 실질적인 구연산 생산에 영향을 주는 기질이 없는 것으로 사료되었다.

또한 주정증류 폐기물을 농축시켜 초기 당농도가 균체 성장에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 초기 당농도를 50, 70 및 100 g / l 로 증가시켰을때 발효시간에 따른 균체 농도변화를 Fig. 2에 나타내었다. 주정증류 폐기물에서 성장한 *A. niger* 균주는 당의 농도가 50, 70 및 100 g / l 로 증가함에 따라 균체는 3.86, 5.82 및 27.4 g / l 로 증가되어 미생물 성장에는 적합한 것으로 생각되었다. Shannon 등(16)은 특히 곡물추출액, 발효찌꺼기액 및 트립추출액등에서 자란 곰팡이 균주의 최대 균체량은 6.28, 6.46 및 27.72 g / l 라고 보고한바 있으며 Hang 등(17)은 심부발효로 96시간 배양한 후 양조폐수에서 자란 *A. foetidus*의 최대균체량은 11 g / l 라고 보고한바 있으므로 본 실험의 결과와 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

가수분해에 따른 영향

주정증류 폐기물을 농축하여 총 환원당의 농도를 50 g / l 로 만든 시료를 HPLC를 이용하여 Aminex HPX- 87C로 충전된 컬럼으로 Differential Refractometer로 분석한 결과는 Fig. 3a와 같다. Fig. 3에서 알 수 있는 바와 같이 총환원당중 글루코오스 농도는 5.7 g / l 이었

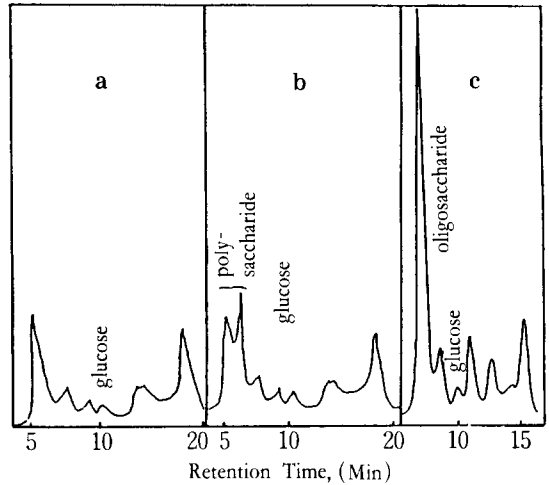


Fig. 3. Comparison of HPLC chromatograms for alcoholic distillery wastewater.

- a Untreated wastewater
- b Enzyme hydrolyzed wastewater
- c 1st acid hydrolyzed wastewater

다.

주정증류 폐기물에 함유된 다당류를 미생물이 분해하기 쉬운 글루코오스로 전환하기 위하여 가수분해를 행하였다.

태평양화학의 정제효소(s.p.: 25,000 unit / g)인 α - 및 β -amylase를 4:6으로 혼합한 당화효소를 사용하여 pH 5.0, 온도 55°C에서 6시간동안 증류폐기물을 가수분해한 결과, Fig. 3b에서 보여주는 바와같이 총 환원당 50 g / l 중에는 8 g / l의 글루코오스가 생성되었다. 이것을 발효기질로 하여 구연산 1g / l를 얻어 효소가수분해를 하지 않았을때 보다 증가된 수율을 얻었다.

또한 총 환원당이 50 g / l인 주정증류 폐기물과 25% 염산의 비율을 5:1로 혼합하여 반응 온도를 120°C에서 2.5시간동안 가수분해를 행한 결과 총 환원당이 100 g / l 가 되었다. Fig. 4와 Fig. 5에서 보여주는 바와 같이 주정증류 폐기물을 처리하지 않은 경우와 효소 및 산 가수분해한 경우에 구연산 및 균체농도를 비교해보면, 구연산 및 균체농도는 각각 처리하지 않은 경우에 각각 0.81 g / l, 3.32 g / l, 효소 가수분해 경우 각각 1 g / l, 5.33 g / l, 산 가수분해한 경우에는 각각 1.75 g / l, 4.9 g / l의 값으로 처리하지 않은 경우에 비해 가수분해 처리한 경우에 구연산 및 균체의 농도가

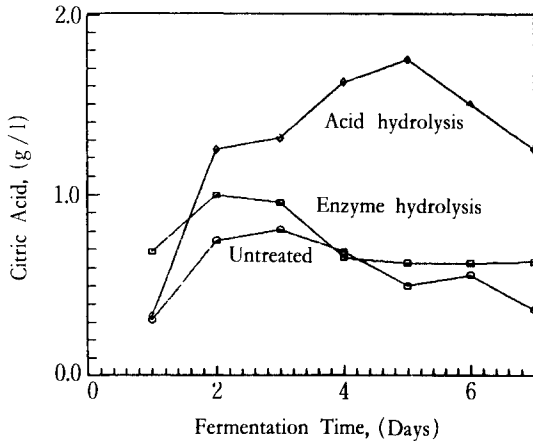


Fig. 4. Comparison of citric acid production with treated alcoholic distillery wastewater.

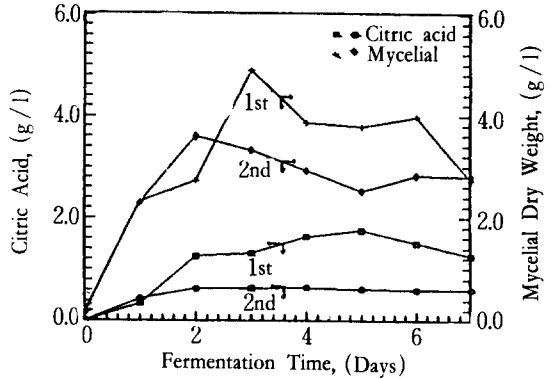


Fig. 6. Comparison of citric acid and mycelial production using acid-hydrolyzed alcoholic distillery wastewater.

5 g / l였으며, 이것은 글루코오스 뿐만 아니라 2-3 당류가 가수분해시 많이 형성됨을 알 수 있었다. 따라서 같은 조건에서 10시간동안 2차 가수분해를 행하여 올리고당이 저급당으로 분해 가능한 가를 보고 이에 따른 구연산 생산을 고찰하였다.

Fig. 6에서 보여주는 바와 같이 구연산 농도가 1차 산 가수분해한 것보다 2차 산 가수분해한 것이 훨씬 떨어짐을 알 수 있었고, 또 균체농도에 있어서도 1차 가수분해한 것보다 2차 가수분해한 것이 떨어짐을 알 수가 있었다. 2차 가수분해한 시료를 HPLC로 분석한 결과 글루코오스 농도는 3.44 g / l로 감소되었다. 따라서 2차 산 가수분해를 행할시 3당류 이상의 올리고 환원당의 분해속도 보다 환원당인 2당류가 분해되는 속도가 빠르므로 가수분해를 오래 행하는 것은 글루코오스생산 측면으로 볼때 바람직하지 못하다는 것을 알 수 있었다.

포자현탁액 집중량의 영향

구연산 생산을 위한 균주의 설정과 보존 못지않게 균체집중을 위한 충분한 포자의 형성도 중요하며, 또한 균체 집중량은 구연산 농도와 최대 구연산 생성 시간에 영향을 미치므로, 균체 집중량의 농도를 달리하여 구연산 농도를 조사한 결과를 Fig. 7에 나타내었다.

Gerhardt등(18)은 구연산 발효시 포자 집중량이 많을수록 산생성에 효과가 크다고 보고하였으나, Kubick등(19)은 구연산 생산이 집중량에는 크게 영향을 받지 않는다고 하였다. 그러나 Fig. 7에서 보면 폐액내 균체 집중량을 반응물 부피의 0.5%에서 2%로 증가시키에 따라 균체농도는 1.35 g / l에서 3.71 g / l로 증가하였

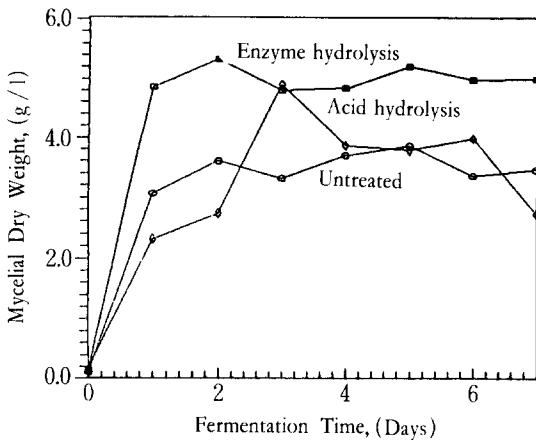


Fig. 5. Comparison of mycelial production with treated alcoholic distillery wastewater.

증가하였다. 또한 효소 가수분해한 경우에 비해 산 가수분해한 경우가 구연산의 생산은 많았으며, 산 가수분해 처리한 경우에는 처리하지않은 경우에 비해 구연산의 생산은 2배 증가하였다. 이 결과는 최(15)가 실험한 sucrose 50 g / l를 기질로 한 것보다 많음을 알 수 있었다.

이때 주정증류 폐기물을 HPLC로 분석한 결과 Fig. 3c에서 보여주는 바와같이 저급 oligomer의 농도가 굉장히 증가하였고 환원당중 글루코오스 농도는 21.

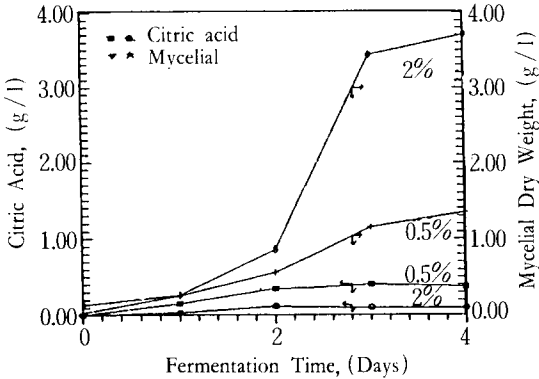


Fig. 7. Effect of spore concentration on citric acid and mycelial production.

으나 구연산의 농도는 0.4 g / l에서 0.12 g / l로 감소하였다. 이는 폐액내의 당이 구연산 생산보다는 균체증식에 더 많이 소비된 것으로 생각된다.

질소원의 영향

질소원은 미생물의 성장, 효소의 활성화 등에 관여하는 중요한 성분으로 알려져 있으며 질산암모늄은 질산칼륨이나 염화암모늄 및 요소등과는 달리 발효가 진행되면서 배양액의 pH를 낮게 유지할 수 있기 때문에 구연산 발효에 적합한 질소원으로 널리 사용되고 있다(20). 따라서 질소원으로서 질산 암모늄을 첨가했을때의 구연산 생산과 균체의 증가 영향을 보기 위하여 질산암모늄 3g / l를 첨가하여 실험을 행하였다. Fig. 8에서 보여주는 바와같이 질산암모늄을 첨가할 경우 비록 질산암모

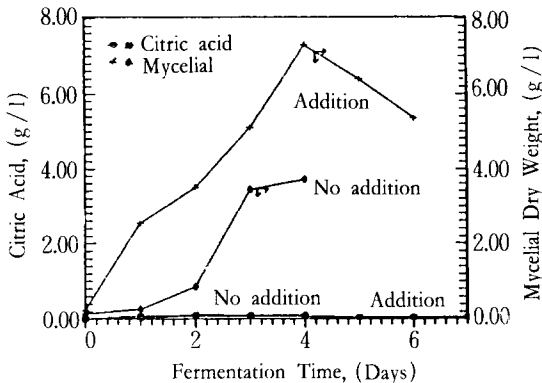


Fig. 8. Effect of nitrogen on citric acid and mycelial production.

높이 균체성장을 촉진시키지만 구연산 생산은 0.12 g / l에서 0.08 g / l로 감소됨을 알 수 있었다. 이는 당이 첨가된 질소와 함께 *A. niger*의 균체성장을 위해 사용되는 것으로 생각되며, 이 결과는 높은 질소 함량이 균체 성장과 당의 소비를 증가시키지만 구연산의 생산량은 감소시킨다는 Prescott등(21)의 결과와 일치됨을 알 수 있었다.

금속이온의 영향

주정증류 폐기물을 발효기질로하여 구연산 생산을 검토하였으나 그다지 구연산 생산이 많지 않음을 알 수가 있었다. 이는 주정증류 폐기물의 대부분이 올리고당으로 구성되어 있는 기질이므로 미생물이 쉽게 공격하여 발효를 할 수 없으며 또한 원자흡광 광도법(Atomic Absorption Spectrometer, Model: varian SpectrAA-30)으로 총 환원당인 10 g / l인 주정증류 폐기물에 함유된 금속이온을 분석한 결과 Table 4에서 보여주는 바와같이 여러 미량의 금속이온들이 존재하기 때문으로 사료되었다. 특히 망간이온의 경우 0.02 mg / l만 존재하여도 구연산이 거의 생산되지 않는다고 보고되어 있으며(22), 본 주정증류 폐기물 중에는 함유된 당의 농도를 10 g / l로 환산하면 망간이온은 약 200배인 3.5 mg / l가 포함되어 있다.

Cocker등(23)은 발효기질에 따라 차이는 있지만 구연산 생산 뿐만아니라 균체증식에 미량의 금속이온이 중요한 역할을 한다고 보고하였으며 Perlman등(24)도 금속이온이 너무 과량 존재하거나 결핍되면 구연산 생산 저하 뿐만아니라, 균체의 형태적 변화를 야기 시킨다고 보고하였다.

금속이온의 영향을 고찰하기 위하여 Table 2와 같이

Table 4. Metal ions of naked barley alcoholic distillery waste(mg / l)

Mg ²⁺	310
Ca ²⁺	19.01
Cu ²⁺	0.02
Zn ²⁺	3.7
Cd ²⁺	n.d.
Pb ²⁺	0.06
Cr ²⁺	n.d.
Ni ²⁺	0.15
Fe ²⁺	8.32
Mn ²⁺	3.50

n.d. = Undetectable

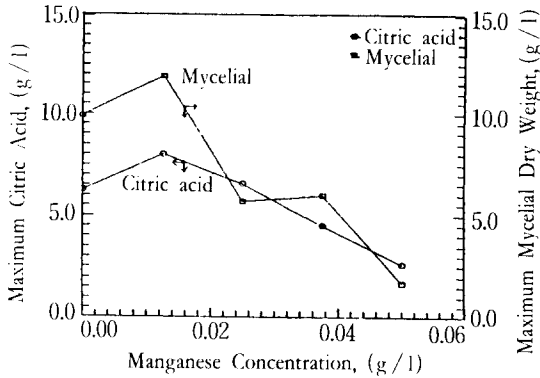


Fig. 9. Effect of manganese concentrations on citric acid and mycelial production.

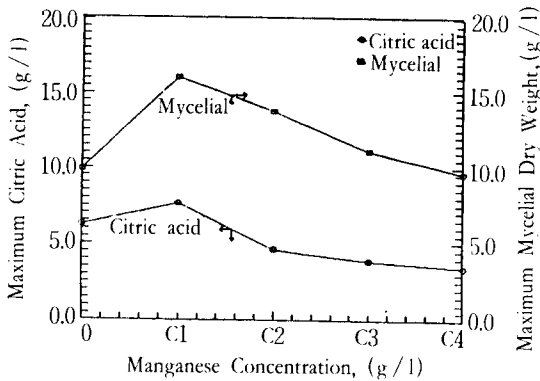


Fig. 10. Effect of combination of metal ion(Mg, Ca, Cu, Zn, Pb, Fe) concentration on citric acid and mycelial production.

본 실험에 사용된 주정증류 폐기물과 금속이온들의 농도범위를 고려한 합성배지에 Mn^{2+} 과 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} 및 Fe^{2+} 이온들을 조합하여 구연산 생산과 균체성장 결과를 비교해 보았다.

당의 농도를 50 g/l 로 조절된 합성배지에 $MnSO_4 \cdot 4\sim 5H_2O$ 의 농도를 각각 0, 0.0125, 0.025, 0.0375, 0.05 g/l 로 되짚음 조절하여 발효시킨 결과를 Fig. 9에 나타내었다. 망간의 농도가 0.0125 g/l 인 점에서는 다른농도에 비하여 구연산이 8.0 g/l 및 균체농도가 11.9 g/l 로 가장 많음을 알 수 있었다. 즉 망간의 농도가 0.0125 g/l 까지는 구연산 생산이나 균체증식을 촉진시켰으나, 그이상의 농도에서는 구연산 생산이나 균체증식을 억제시키며, 망간이온의 농도가 0.05 g/l

이상에서는 구연산 생산과 균체증식이 억제됨을 알 수가 있었다. 한편 주정증류 폐기물내에는 망간농도가 0.025 g/l 이므로 구연산 생산과 균체증식에 거의 영향을 주지 않을 것으로 사료되었다.

조합된 금속이온을 Table 2에서 보여주는 바와같이 농도를 달리하여 발효시킨 결과를 Fig. 10에 나타내었다. 금속이온의 조합이 낮은농도, C1에서 다른 농도에 비하여 구연산이 7.63 g/l 및 균체량이 16.04 g/l 로 가장 많음을 알 수 있었으며 금속이온 조합의 농도가 증가할수록 구연산 및 균체농도가 감소함을 알 수 있었다. 본 주정증류 폐기물내에 포함되어 있는 금속 이온의 범위인 C2에서의 구연산 생산량은 금속이온이 없을때보다 구연산 생산량이 감소하였으나, 발효기간 및 균체농도는 촉진시켰다. 위와같이 주정증류 폐기물내의 금속이온 농도범위는 구연산 생산에 큰 영향을 미치는 정도가 아니므로 실제적으로 구연산 생산에 영향을 미치는 인자는 기질자체에 올리고당이 많아 가수분해가 잘되지 않으므로 가수분해를 잘 시킬수 있는 균주 또는 조건의 선정에 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료되었다.

요 약

주정공장에서 배출되는 쌀보리 주정증류 폐기물을 효소와 산으로 가수분해하여 구연산 발효를 행한 결과를 요약하면 다음과 같다.

폐기물을 농축하여 당의 농도를 50 g/l 로 하였을때 글루코오즈, 구연산 및 균체농도는 각각 5.7 g/l , 0.81 g/l 및 3.86 g/l 가 얻어졌고 α - 및 β -amylase에 의한 폐기물의 효소 가수분해에 의해서 글루코오즈, 구연산 및 균체농도가 각각 8 g/l , 1 g/l 및 5.33 g/l 가 얻어졌으며 25% 염산에 의한 산가수분해에 의해서는 각각 21.5 g/l , 1.75 g/l 및 4.9 g/l 가 얻어졌다. 10시간동안 계속된 2차 산 가수분해를 행한 결과 글루코오즈의 농도가 3.44 g/l 로 되어 장기간의 산 가수분해는 생성된 글루코오즈를 분해시키는 속도가 3당류 이상의 올리고 환원당의 분해속도보다 빨랐다.

폐기물내 균체 집중량을 0.5%에서 2%로 증가시킴에 따라 균체농도는 1.35 g/l 에서 3.71 g/l 로 증가 하였으나 구연산 농도는 0.4 g/l 에서 0.12 g/l 로 감소하였으며 또한 질산암모늄을 3 g/l 를 첨가할 경우 균체농도는 3.7 g/l 에서 7.3 g/l 로 증가하였으나 구연산 농도는 0.12 g/l 에서 0.08 g/l 로 감소되었다.

$MnSO_4 \cdot 4\sim 5H_2O$ 의 농도가 0.0125 g/l 일때 구연산 생산량이 가장 많았으나 농도가 증가함에 따라 구연산

생산이 감소하였으므로 금속이온이 과다하게 존재할 때는 구연산 생산이 저해됨을 알았다.

참 고 문 헌

1. Y. D. Hang and E. E. Woodams(1984), *Biotechnol. Lett.*, 6(11), 763-764.
2. Y. D. Hang and E. E. Woodams(1985), *Biotechnol. Lett.*, 7(4), 253-254.
3. Y. D. Hang and E. E. Woodams(1986), *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 141-142.
4. Y. D. Hang, B. S. Luh and E. E. Woodams(1987), *J. Food Sci.*, 52(1), 226-227.
5. T. Roukas and P. Kotzekidou(1986), *J. Food Sci.*, 51(1), 225.
6. H. Kiel, R. Guvrin and Y. Henis(1981), *Appl. Environ. Microbiol.*, 42(1), 1-4.
7. M. Hossain, J. D. Brooks and I. S. Maddox(1983), *New Zealand J. Dairy Sci. Technol.*, 18, 161-168.
8. P. Shu and M. J. Johnson(1948), *Ind. Eng. Chem.*, 40(7), 1202-1205.
9. V. K. Singh, D. V. Vadehra and J. K. Gupta(1981), *Enzyme Microbe, Technol.*, 3, 341-343.
10. T. Ogawa and A. Fazeli(1976), *J. Ferment. Technol.*, 54(2), 63-66.
11. A. J. Moyer(1953), *Appl. Microbiol.*, 1, 8-13.
12. T. Furukawa, T. Ogino and T. Matsuyoshi(1982), *J. Ferment. Technol.*, 60(4), 281-286.
13. M. F. Chaplin and J. F. Kennedy(1986), *Carbohydrate Analysis*, p3. IRI. Press.
14. J. R. Marier and M. Boulet(1958), *J. Dairy Sci.*, 41, 1683-1692.
15. J. H. Choi(1990), *M. S. Thesis*, Dept. of Chem. Eng., Seoul Nat. Univ., Seoul.
16. L. J. Shannon and K. E. Stevenson(1975), *J. Food Sci.*, 40, 826-829.
17. Y. D. Hang, D. F. Splittstoesser, E. E. Woodams and R. M. Sherman(1977), *J. Food Sci.*, 42(2), 383-384.
18. P. Gerhardt, W. W. Dorrel and I. L. Baldwin (1946), *J. Bacteriol.*, 52, 555-560.
19. C. P. Kubick, O. Zehentgruber, Housain El-Kalak and M. Röhr(1980), *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 9, 101-115.
20. Jackson W. Foster(1952), *Chemical Activity of Fungi*, p391, Academic Press, N. Y.
21. K. K. Kapoor, K. Chaudhary and P. Tauro(1982), in Prescott & Dunn's *Industrial Microbiology*, 4th ed., p709, G. Reed Ed., AVI, Westport, CT.
22. M. Röhr, C. P. Kubick and J. Kominek(1983), *Biotechnology*, Vol. 3, p420, Verlag Chemie, N. Y.
23. R. Cocker and R. N. Greenshield(1977), in *Genetics and Physiology of Asp.*, p361-390, Academic Press, N. Y.
24. D. Perlman, D. A. Kita and W. H. Peterson(1946), *Arch. Biochem.*, 11, 123-129.

(Received; November 29, 1990, Accepted; December 30, 1990)