

## Candida parapsilosis에 의한 Xylitol 발효시 Acetic acid가 미치는 영향

김상용 · 윤상현 · 김정민 · 오덕근\*

동양제과(주) 기술개발연구소, \*우석대학교 식품공학과

### Effect of Acetic Acid on Xylitol Fermentation by *Candida parapsilosis*

Sang-Yong Kim, Sang-Hyun Yoon, Jung-Min Kim and Deok-Kun Oh\*

Tong Yang Confectionery Co., R&D Center

\*Department of Food Science and Technology, Woosuk University

#### Abstract

Influence of acetic acid on xylitol production from xylose using *Candida parapsilosis* KFCC 10875 was investigated at the different concentrations of acetic acid. Acetic acid was totally consumed below 1.0 g/l of its concentration, whereas partially consumed above 3.0 g/l and remained in the medium during xylitol fermentation. Cell growth, xylose consumption, and xylitol production decreased when acetic acid concentration was increased. Specific growth rate of cell and specific consumption rate of xylose also decreased with increasing the concentration of acetic acid. However, the xylitol yield from xylose and specific production rate of xylitol were maximum at 1.0 g/l of acetic acid. The inhibitory effect of acetic acid on xylitol fermentation increased when pH was decreased.

Key words: xylitol, acetic acid, *Candida parapsilosis*

#### 서 론

오탄당 알코올인 xylitol은 과일, 채소 및 버섯 등의 자연에서 소량 존재하고 또한 포유동물 탄수화물대사의 중간산물이다<sup>(1)</sup>. Xylitol은 용해시 열 감소가 일어나는 특성으로 인하여 입안에서 느끼는 청량감이 커서 식품의 여러 분야에서 감미료로 응용되고 있고 특히 당뇨병 환자의 설탕대용과 충치발생의 억제용으로 사용되고 있다<sup>(2,3)</sup>.

Xylitol은 xylose가 많이 함유된 반섬유소 가수분해물(hemicellulose hydrolysate)을 환원시키는 화학적 방법으로부터 생산하여 왔으나, 화학적 방법은 xylitol과 반섬유소 부분에서 생기는 다른 고분자당의 가수분해물들과의 분리와 정제가 어렵고 그 수율도 50-60% 정도로 낮아 생산비용을 증가시키며, 금속촉매와 다량의 유기용매를 사용하여 고온 고압에서 진행시키는 반응이므로 다량의 폐기물이 발생하고 위험성이 존재하는 문제점을 가지고 있다<sup>(4)</sup>. 이러한 단점을 해결하기 위하여 미생물에 의한 xylitol 생산방법에 대한 많

은 연구가 진행되고 있다<sup>(5-12)</sup>.

반섬유소 가수분해물은 그 내용물 중에 furfural, hydroxymethylfurfural, 그리고 lignocellulose의 가수분해로부터 유래된 acetic acid 등의 저해물질을 포함하고 있는데<sup>(13)</sup>, 그 중에서 acetic acid는 미생물에 의한 xylose 대사시 강력한 저해제로 보고되었으며<sup>(14)</sup>, 일부 연구자들은 이러한 acetic acid의 저해작용이 배지의 산도(acidity), 산의 농도, 그리고 xylose에 대한 acetic acid의 비율 등과 관계가 있다고 보고하였다<sup>(15,16)</sup>. 그러나 이들 연구는 반섬유소 가수분해물로부터 xylitol이 아닌 균체 또는 ethanol을 생산할 때의 acetic acid의 영향을 조사한 것이다.

그러므로, 본 연구에서는 *Candida parapsilosis* KFCC-10875<sup>(17)</sup>를 사용하여 acetic acid가 첨가된 xylose로부터 xylitol의 생산 실험을 수행하여, 기질로서 반섬유소 가수분해물을 사용시 주성분인 xylose외 기질내에 포함되어 있는 acetic acid가 xylitol 생산에 미치는 영향을 살펴보고자 한다.

#### 재료 및 방법

미생물 및 배지

Corresponding author: Deok-Kun Oh, Department of Food Science and Technology, Woosuk University, Cheonju, Chonbuk 565-800, Korea

본 연구에서 사용한 미생물은 냉동보관(-70°C)중인 *Candida parapsilosis* KFCC-10875이었다. 성장배지로는 포도당 20 g/l, peptone 5 g/l, yeast extract 3 g/l, malt extract 3 g/l로 구성된 YM배지를 사용하였고, 발효배지로는 xylose 50 g/l, yeast extract 5 g/l, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 5 g/l, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.2 g/l로 구성된 최적배지<sup>(16)</sup>를 사용하였다.

### 배양조건

종배양은 냉동보관 균주를 YM배지 50 ml가 들어 있는 250 ml 플라스크에 접종하여 진탕배양기에서 240 rpm, 30°C로 균체농도가 3-4 g/l (약 14-16시간)로 성장할 때까지 수행하였다. 플라스크 배양에서는 종배양액을 발효배지가 50 ml 들어있는 250 ml 플라스크에 접종하여 배양온도는 30°C, 교반속도는 190 rpm으로 하여 68시간동안 배양하였다. 배양시 초기 pH는 4.5로 하였지만 pH 변화 실험에서는 3.9-6.2로 조절하였고 배양 과정 중에 pH는 조절하지 않았다. Acetic acid의 농도는 반섬유소 가수분해물에 존재하는 범위 내인 12% 범위내에서 추가하여 실험을 수행하였다.

발효조 배양은 종배양액을 배지부피가 3 l인 5 l 발효조(한국발효기(주))에 접종하여 pH는 발효 전과정 동안 일정하게 조절하였고, 용존산소 농도는 배양초기에는 충분히 유지시키다가 일정 균체농도가 되는 시점부터 통기량을 1.0 vvm으로 하고 교반속도(100-500 rpm)를 조절하여 0.5-1.0% 정도로 유지하였다.

### Kinetic parameter의 측정

균체의 비 증식속도(specific growth rate of cell)는 균체농도의 로그값을 시간에 따른 기울기로부터 구하였고 비 기질 소비속도(specific consumption rate of substrate)는 시간에 따른 기질의 감소의 기울기를 평균 균체농도로 나누어 구하였고 비 산물 생산속도(specific production rate of product)는 시간에 따른 산물의 증가의 기울기를 평균 균체농도로 나누어 구하였다. 산물의 생산성(volumetric productivity)은 최대산물농도에 발효시간을 나누어 구하였다.

### 분석방법

Xylose와 xylitol의 농도는 Sugar-Pak I column이 장착된 HPLC (TM-600, Waters, USA)를 이용하여 측정하였으며, 이때 용매는 물을 사용하였고, 온도는 90°C이었고, 유속은 0.5 ml/min이었으며, 검출기는 RI를 사용하였다. Acetic acid의 농도는 유기산 분석 column인 Bio-Rad HPX-87H를 사용하여 동일한

HPLC로 분석하였다. 이때, guard column은 Bio-Rad Cation-H를, 이동상은 0.01 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액을 사용하였고, 온도는 65°C이었고, 유속은 0.8 ml/min이었으며, 검출기는 RI를 사용하였다. 균체농도는 탁도계를 이용하여 파장 600 nm에서 현탁도를 측정하여 미리 측정된 표준곡선을 이용하여 건조중량으로 환산하였다.

## 결과 및 고찰

### Xylitol 발효시 acetic acid의 이용

Xylose로부터 xylitol 생산시 *Candida parapsilosis* KFCC-10875에 의한 acetic acid의 이용을 acetic acid 농도를 달리하여 pH 4.5에서 실험한 결과 Table 1에 나타내었다. *C. parapsilosis*에 의한 xylitol 발효과정에서는 xylose 이용과 함께 acetic acid의 이용이 관찰되는데, 이러한 현상은 acetic acid가 함유된 반섬유소가 수분해물을 기질로 사용한 *Pichia stipitis*<sup>(14)</sup>, *Candida blankii*<sup>(15)</sup>, 그리고 *Candida utilis*<sup>(16)</sup>의 균주에서도 보고되었다. 첨가된 acetic acid의 농도 1.0 g/l까지는 배지 내의 acetic acid가 모두 소비되었지만, 그 이상의 농도에서는 일부만 소비되고 나머지 acetic acid는 배양 종료까지 배지중에 존재하였다. 소비된 acetic acid의 양은 초기 acetic acid의 농도 3.0 g/l에서 최고 2.5 g/l이었다.

Acetic acid가 첨가된 배양의 경우 첨가되지 않은 배양보다 pH가 상승하였으며 특히, 3.0 g/l의 acetic acid를 첨가하였을 때 pH의 상승폭이 가장 높아 pH 4.5에서 5.8까지 증가하였다. *Pichia stipitis* 배양시에도 acetic acid가 첨가된 배양의 경우 첨가되지 않은 배양보다 pH가 상승된다는 보고가 있다<sup>(13)</sup>.

### Acetic acid가 xylitol 발효에 미치는 영향

Xylose 배지에 acetic acid의 농도를 0-12 g/l로 첨가하여 xylitol 발효시 acetic acid 농도가 균체 성장에 미

**Table 1. Consumption of acetic acid during xylitol fermentation by *Candida parapsilosis* in medium with different acetic acid concentrations**

Initial acetic acid (g/l)	Residual acetic acid (g/l)	Final pH
0.0	0.0	3.7
0.5	0.0	4.3
1.0	0.0	4.9
3.0	0.5	5.8
6.0	3.7	4.9
12.0	10.2	4.8

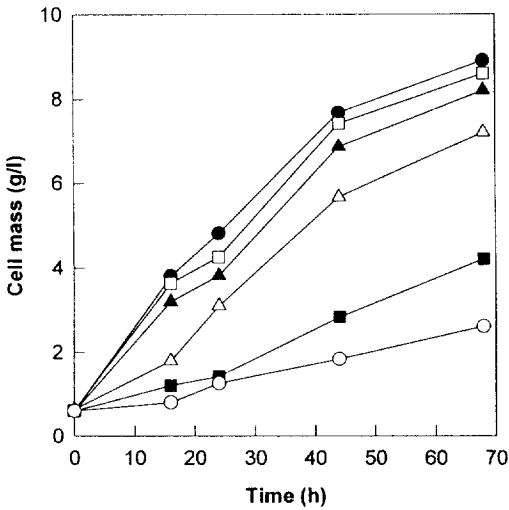


Fig. 1. Cell growth by *Candida parapsilosis* cultivated in medium containing different acetic acid concentrations. Initial concentrations of acetic acid were 0.0 g/l (●), 0.5 g/l (□), 1.0 g/l (▲), 3.0 g/l (△), 6.0 g/l (■), and 12.0 g/l (○)

치는 영향을 Fig. 1에 나타내었다. 균체의 성장은 acetic acid의 농도가 증가함에 따라서 감소하였고 acetic acid 농도가 3.0 g/l 이상에서는 균체농도가 현저하게 감소하여 acetic acid를 첨가하지 않은 경우의 50% 이하로 감소하였다. Acetic acid 농도의 증가에 의한 세포성장의 감소는 세포내의 acetic acid가 증가 되면 세포의 대사를 유지하기 위한 에너지 (maintenance energy)가 증가되어 초래된 결과라고 생각할 수 있다<sup>(19)</sup>.

Acetic acid의 농도가 증가할수록 소모되는 xylose 양이 감소하였으며(Fig. 2), 초기 acetic acid의 농도가 3.0 g/l와 12.0 g/l일 때에는 acetic acid가 없을 때의 기질 소비에 비하여 각각 기질 소비가 46%와 79% 정도 감소된 것으로 나타났다.

Xylitol 생산에서도 acetic acid는 중요한 영향을 주어 acetic acid의 농도가 증가할수록 생성되는 xylitol의 농도가 감소하였다. Acetic acid의 xylitol의 저해 정도는 1.0 g/l까지는 비교적 적었으나 3.0 g/l 이상에서는 현저하여 acetic acid가 12.0 g/l일 때의 최종 xylitol 농도는 acetic acid가 없을 때에 비하여 10% 수준으로 감소하였다(Fig. 3). 이것은 초기 acetic acid가 3.0 g/l 이상일 경우에는 acetic acid가 배양완료시까지 배지 중에 잔존하여 xylitol 생성을 더 크게 억제하는 결과로 생각된다. 이러한 xylitol 생성시 acetic acid에 의한 저해는 *Candida guilliermondii*에 대해서도 보고되었

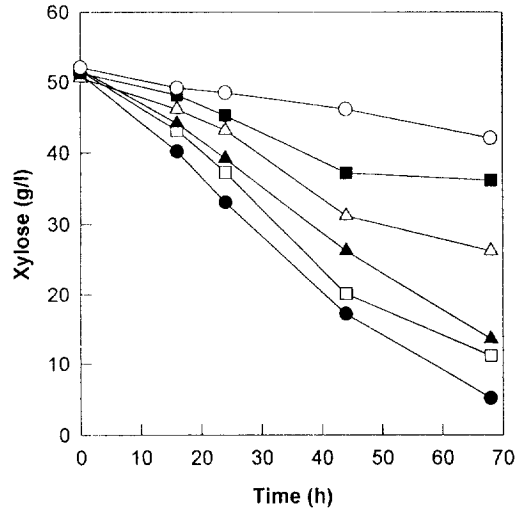


Fig. 2. Xylose consumption by *Candida parapsilosis* cultivated in medium containing different acetic acid concentrations. Initial concentrations of acetic acid were 0.0 g/l(●), 0.5 g/l (□), 1.0 g/l (▲), 3.0 g/l (△), 6.0 g/l (■), and 12.0 g/l (○)

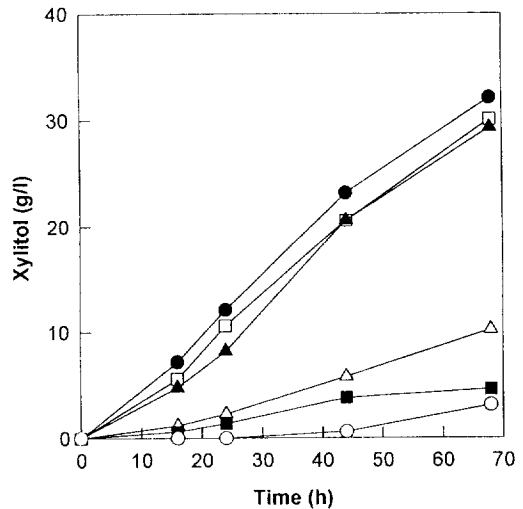


Fig. 3. Xylitol production by *Candida parapsilosis* cultivated in medium containing different acetic acid concentrations. Initial concentrations of acetic acid were 0.0 g/l (●), 0.5 g/l (□), 1.0 g/l (▲), 3.0 g/l (△), 6.0 g/l (■), and 12.0 g/l (○)

는데<sup>(20)</sup> 저해 정도를 비교하면 *C. guilliermondii*보다 *C. parapsilosis* 변이주가 acetic acid에 더 민감한 것으로 나타났다.

Xylose에서부터 xylitol이 생산되는 수율은 acetic acid의 농도가 1.0 g/l일 때까지는 오히려 증가하였고,

acetic acid의 농도가 3.0 g/l 이상에서는 수율이 급격히 감소하였다(Fig. 4). *Pachysolen tannophilus*<sup>(21)</sup>와 *Klesiella pneumoniae*<sup>(22)</sup>를 이용한 xylose의 발효에서도 적은 acetic acid 농도 범위에서의 부분적인 xylitol 생산 촉진효과가 보고된 바 있다. 또한, 비 생산속도의 경우

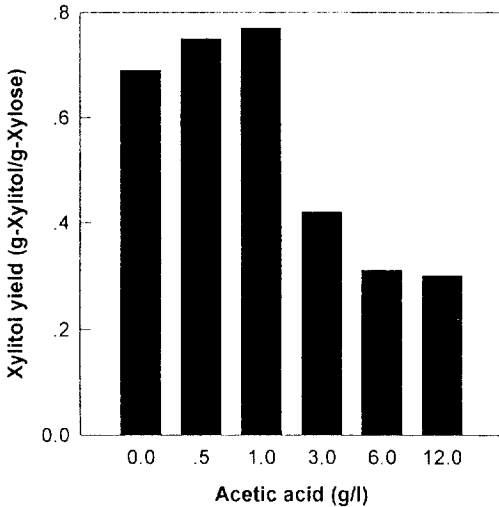


Fig. 4. Effect of acetic acid concentration on xylitol yield from xylose

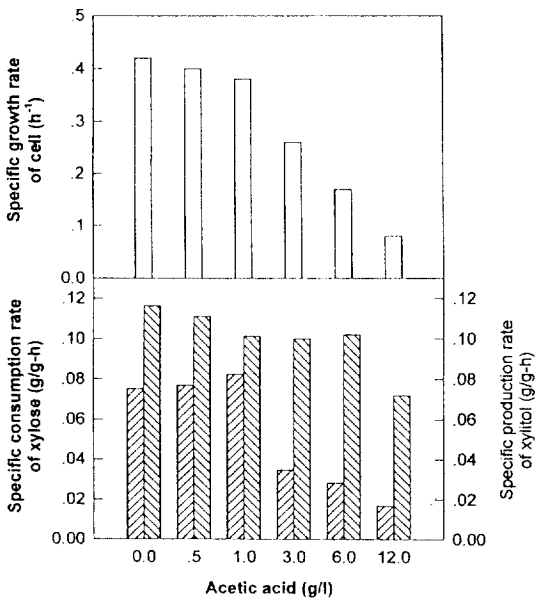


Fig. 5. Effect of acetic acid concentration on specific growth rate, specific consumption rate and specific production rate. Specific growth rate of cell (□), specific consumption rate of xylose (▨), and specific production rate of xylitol (▩)

에도 acetic acid 농도가 1.0 g/l일 때까지는 오히려 증가하였고, acetic acid 농도가 3.0 g/l 이상에서는 급격히 감소하였다(Fig. 5). 그러나, 비 증식속도와 비 기질 소비속도는 acetic acid가 증가할수록 감소함을 보여주었다. 고농도의 acetic acid에서 기질 소비속도는 비교적 적게 감소하였는데 이것은 acetic acid가 xylitol 생산이나 균체성장보다 미생물이 기질을 이용하는 것에 대해 비교적 적게 저해한다는 것을 의미한다.

Acetic acid가 함유된 xylitol 발효시 pH의 효과

pH의 효과를 정확히 알기 위하여 비교실험으로 균체 증식 및 xylitol 생산에 미치는 영향을 pH 2.5에서 6.5까지 변화시키면서 5 l 발효조에서 실험을 수행하였다(Table 2). pH가 증가 할수록 균체농도와 비 증식속도가 증가하였고 이에 따라 기질 소비속도가 증가하여 발효시간은 pH 3.5의 경우 약 72시간에서 pH 6.5의 경우 약 52시간으로 단축되었다. 그러나, 최종 xylitol 농도, xylitol 수율 및 생산성은 pH 4.5와 5.5 사이에서는 큰 차이가 없었다. 그러므로 pH 4.5에서 5.5 부근에서 acetic acid를 첨가하여 pH를 변화시킨다면 acetic acid에 의한 xylitol의 생산저해 정도에 대한 pH의 영향을 알 수 있을 것이다.

배지내의 acetic acid에 의한 저해정도는 사용되는 균주의 종류와 발효의 조건 등에 따라서도 차이를 보이고 있는데, 그 저해정도는 acetic acid의 해리정도에 의하여 크게 영향을 받는다고 알려져 있다<sup>(24)</sup>. 해리되는 정도에 영향을 가장 많이 받는 인자 중의 하나가 pH이므로 3.0 g/l의 같은 acetic acid 양에서 배지중의 pH를 3.9에서 6.2로 변화시켜 xylose로부터 xylitol의 생산시 나타나는 저해효과를 조사하였다(Table 3).

Table 2. Effect of pH in the medium on kinetic parameters without acetic acid addition

pH	X <sup>(1)</sup> (g/l)	P <sup>(2)</sup> (g/l)	μ <sup>(max3)</sup> (h <sup>-1</sup> )	q <sub>p</sub> <sup>(4)</sup> (g/g-h)	Q <sub>p</sub> <sup>(5)</sup> (g/l-h)	t <sub>f</sub> <sup>(6)</sup> (h)
2.5	7.23	18.4	0.24	0.04	0.14	128
3.5	7.90	24.0	0.37	0.07	0.33	72
4.0	7.88	30.5	0.39	0.09	0.49	68
4.5	7.78	33.8	0.40	0.10	0.52	65
5.5	8.74	33.5	0.45	0.10	0.53	63
6.5	11.60	22.4	0.52	0.08	0.43	52

<sup>1)</sup>Dry cell weight

<sup>2)</sup>Xylitol concentration

<sup>3)</sup>Maximum specific growth rate

<sup>4)</sup>Specific production rate

<sup>5)</sup>Volumetric production rate

<sup>6)</sup>Fermentation time

**Table 3. Kinetic parameters of xylitol fermentation in the medium with the same acetic acid concentration (3.0 g/l) at different pH**

pH	X <sup>(1)</sup> (g/l)	P <sup>(2)</sup> (g/l)	S <sup>(3)</sup> (g/l)	$\mu^{max(4)}$ (h <sup>-1</sup> )	qP <sup>(5)</sup> (g/g-h)	QP <sup>(6)</sup> (g/g-l)	YP/S <sup>(7)</sup> (g/g)	Final pH
3.9	5.23	6.0	30.1	0.17	0.10	0.28	0.30	4.8
4.8	6.25	10.5	26.2	0.26	0.10	0.39	0.44	5.9
6.2	7.62	9.8	27.1	0.24	0.08	0.36	0.43	6.4

<sup>1)</sup>Dry cell weight

<sup>2)</sup>Xylitol concentration

<sup>3)</sup>Xylose concentration

<sup>4)</sup>Maximum specific growth rate

<sup>5)</sup>Specific production rate

<sup>6)</sup>Volumetric production rate

<sup>7)</sup>Xylitol yield from xylose

Acetic acid의 저해효과는 낮은 pH에서 더 크게 보여 주었다. 낮은 pH에서는 균체 농도와 xylitol 농도가 감소하고 비 증식속도, 비 생산속도와 xylose에 대한 xylitol의 수율도 감소하였다. 기질 소비도 낮은 pH에서 감소하였으나 비 기질 소비속도는 pH에 따라 큰 차이가 없었다. 이것은 acetic acid가 미생물의 기질이용을 저해하는 것이 xylitol 생산이나 균체성장을 저해하는 것보다는 비교적 적다는 것을 의미하는 또 하나의 결과라고 할 수 있다. Acetic acid의 pKa (=4.74)보다 낮은 pH에서 acetic acid의 저해 정도가 큰 것은 pKa보다 낮은 pH에서는 acetic acid가 해리되지 않은 형태로 세포내로 들어가게 되고<sup>(23)</sup>, 이러한 조건에서는 세포질이 산성화되어, 균체성장 및 xylitol 생성이 저해되는 것으로 생각된다<sup>(24)</sup>.

따라서 본 연구결과로부터 *C. parapsilosis* KFCC 10875를 이용하여 xylose로부터 xylitol발효시 원료기질로서 반점유소 가수분해물을 사용한다면 기질용액 내의 acetic acid가 균체성장, xylose 소비 및 xylitol 생산에 저해작용을 하며, 그 저해작용의 정도는 배지의 pH와도 관련이 있음을 알 수 있었다.

## 요 약

*Candida parapsilosis* KFCC 10875를 사용하여 acetic acid가 xylitol 생산에 미치는 영향을 조사하였다. 초기 acetic acid 농도가 1.0 g/l까지는 acetic acid가 발효과정 중에 모두 소모되나, 3.0 g/l 이상의 농도에서는 일부만 소모되고 배지중의 존재하여 xylitol 발효에 영향을 주었다. 균체의 성장, xylose 소비와 xylitol 생산은 acetic acid 농도가 증가함에 따라서 감소하였다. 비 균체 증식속도와 비 기질 소비속도도 acetic acid가 증가할수록 감소하였다. 그러나, xylose에서

xylitol로의 전환수율과 비 생산속도는 acetic acid 농도가 1.0 g/l일 때까지는 최대값을 보여주었다. 그 이상의 acetic acid 농도에서는 xylitol의 전환수율과 비 생산속도가 감소하였다. Xylose로부터 xylitol 발효시 acetic acid의 저해정도는 pH에 영향을 받아 낮은 pH에서 균체의 증식, xylose의 소비 및 xylitol의 생성이 더 저해되었다.

## 문 헌

- Makinen, K. K. and Soderling, E.: A quantitative study of manitol, sorbitol, xylitol, and xylose in wild berries and commercial fruits. *J. Food Sci.*, **45**, 367 (1980)
- Pepper, T. and Olinger, P. M.: Xylitol in sugar-free confections. *Food Technol.*, **42**, 98 (1988)
- Emodi, A.: Xylitol, its properties and food applications. *Food Technol.*, **32**, 20 (1978)
- Hyvonen, L., and Koivistoinen, P.: Food technological evaluation of xylitol. *Adv. Food Res.*, **28**, 373 (1982)
- Gong, C. S., Claypool, T. A., McCracken, L. D., Maun, C. M., Ueng, P. P. and Tsao, G. T.: Conversion of pentoses by yeasts. *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 85 (1983)
- Horitsu, H., Yahashi, Y., Takamizawa, K., Kawai, K., Suzuki, T. and Watanabe, N.: Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: Optimization of production rate. *Biotechnol. Bioeng.*, **40**, 1085 (1992)
- Meyrial, V., Delgenes, J. P., Moletta, R. and Navarro, J. M.: Xylitol production by *Candida guilliermondii*: Fermentation behavior. *Biotechnol. Lett.*, **13**, 281 (1991)
- Nishio, N., Sugawa, K., Hayase, N. and Nagai, S.: Conversion of D-xylose into xylitol by immobilized cells of *Candida pelliculosa* and *Methanobacterium* sp. HU. *J. Ferment. Bioeng.*, **67**, 356 (1989)
- du Preez, J. C., van Driessel, B. and Prior, B. A.: D-xylose fermentation by *Candida shehatae* and *Pichia stipitis* at low dissolved oxygen levels in fed-batch cultures. *Biotechnol. Lett.*, **11**, 131 (1989)
- Yoshitake, J., Shimamura, M., Ishizaki H. and Irie, Y.: Xylitol production by *Enterobacter liquefaciens*. *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 1493 (1976).
- Yoshitake, J., Ohiwa H. and Shimamura, M.: Production of polyalcohol by a *Corynebacterium* sp., Part I. Production of pentitol from aldopentose. *Agric. Biol. Chem.*, **35**: 905 (1971)
- Izumori, K. and Tuzaki, K.: Production of xylitol from D-xylulose by *Mycobacterium smegmatis*. *J. Ferment. Technol.*, **66**, 33 (1978)
- Ferrari, M. D., Neirotti, E., Alborno, C. and Saucedo, E.: Ethanol production from Eucalyptus wood hemicellulose hydrolysate by *Pichia stipitis*. *Biotechnol. Bioeng.*, **40**, 753 (1992)
- Tran, A.V. and Chambers, R. P.: Red oak wood derived inhibitors in the ethanol fermentation of xylose by *Pichia stipitis* CBS 5776. *Biotechnol. Lett.*, **7**, 841 (1985)
- Meyer, P. S., Du Preez, J. C. and Kilian, S.: Cultivation of *Candida blankii* in simulated bagasse hemicellulose

- hydrolysate. *J. Indust. Microbiol.*, **9**, 109 (1992)
16. Meyer, P. S., Du Preez, J. C. and Kilian, S.: Isolation and evaluation of yeasts for biomass production from bagasse hemicellulose hydrolysate. *Sys. Appl. Microbiol.*, **15**, 161 (1992)
  17. 오덕근, 김종화 : *Candida parapsilosis*에 의한 xylitol 생성시 포도당의 영향. 한국산업미생물학회지, **24**, 230 (1996)
  18. 오덕근, 윤상현, 김정민, 김상용, 김정희 : *Candida parapsilosis* 돌연변이주에 의한 xylitol 생산배지의 최적화. 한국산업미생물학회지, **24**, (1996) (채택)
  19. Noda, F., Hayashi, K. and Mizunuma, T.: Influence of pH on inhibitory activity of acetic acid on osmophilic yeasts used in brine-fermentation of soy sauce. *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 245 (1982)
  20. Felipe, M. G. A, Delia C. Vieira, M., Silvia, S. S., Roberto, I. C. and Manchilha, I. M.: Effect of acetic acid on xylose fermentation to xylitol by *Candida guilliermondii*. *J. Basic Microbiol.*, **35**, 171 (1995)
  21. Lee, Y. Y. and McCaskey, T. A.: Hemicellulose hydrolysis and fermentation of resulting pentoses to ethanol. *Tappi J.*, **66**, 102 (1983)
  22. Yu, E. K. C. and Saddler, J. N.: Power solvent production by *Klebsiella pneumoniae* grown on sugars present in wood hemicellulose. *Biotechnol. Lett.*, **4**, 121 (1982)
  23. Pampulha, M. E. and Loureiro-Dias, M. C.: Activity of glycolytic enzymes of *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of acetic acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **34**, 375 (1990)
  24. Herrero, A. A., Gomes, R. F., Snedecor, B., Tolman, C. J. and Roberts, M. F.: Growth inhibition of *Clostridium thermocellum* by carboxylic acids; A mechanism based on uncoupling by weak acids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **22**, 53 (1985)
- 
- (1996년 5월 23일 접수)