

## Tapioca주정증류 폐기물에서 *Aspergillus niger* 균주의 구연산 생산에 미치는 영향에 관한 연구

이용희\* · 이동환 · 정경태<sup>1</sup> · 서명교<sup>2</sup> · 노종수<sup>2</sup> · 이국의<sup>2</sup>

동의대학교 기초과학연구소 및 화학과, <sup>1</sup>동의대학교 생명응용과학과, <sup>2</sup>동의과학대학 의무행정과

Received April 1, 2005 / Accepted May 9, 2005

**Affection of Citric Acid Production from Tapioca Alcoholic Distillery Waste by Using the Cell of *Aspergillus niger*.** Yong-Hee Lee\*, Dong-Hwan Lee, Kyung-Tae Chung<sup>1</sup>, Myung-Gyo Suh<sup>2</sup>, Jong-Su Roh<sup>2</sup> and Kook-Eui Lee<sup>2</sup>. *Research Institute of Basic Science & Department of Chemistry, Donggeui University, Busan 614-714, Korea, <sup>1</sup>Life Science and Biotechnology Major, Donggeui University, Busan 614-714, Korea. <sup>2</sup>Department of Medical Administration, Donggeui Institute of Technology, Busan 614-715, Korea* – Tapioca alcoholic distillery waste was utilized as dual purposes to produce citric acid and to reduce the amount of waste to be treated. Primarily an attempt was made to optimize the process conditions by *Aspergillus niger* in shake bath. The effects of pH, temperature, nitrogen and phosphorus sources on citric acid production were investigated. Maximum concentration of citric acid was made at temperature of 30°C and pH of 4.3, while maximum cell dry weight was obtained at 35°C. The addition of methanol or ethanol to culture medium promoted citric acid production remarkably, but the addition of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and Manganese as mineral source decreased the acid production.

**Key words** – Tapioca alcoholic distillery waste, citric acid production, *Aspergillus niger*

식품 및 농작물 쓰레기 등과 같은 폐기물을 이용한 생물 전환기술은 폐자원의 재활용이라는 측면에서 그 의의가 크다고 생각된다. 식품산업에서 폐기물의 회수는 폐기처리에 따르는 폐기물의 양을 최소화시키고자 하는 노력과 부산물을 재활용함으로써 공정단가를 낮춤으로 인하여 그 중요성이 대단히 크다[13]. 식품첨가물로 많이 사용되는 구연산은 발효방법에 의해 대량생산되는 대표적인 제품이다[4]. 구연산은 TCA (tricarboxylic acid) 회로의 중간체로서 레몬주스에서 분리되어 calcium citrate로 결정화되기 시작했으며, 뛰어난 감미성 때문에 식품가공업 및 약제산업 등에 그 이용 가치가 매우 뛰어나다. 구연산의 생산은 주로 곰팡이, 효모, 박테리아 등의 미생물을 이용한 발효 방법이 널리 쓰이고 있다. 그 중에서도 *Aspergillus niger*를 이용한 방법이 널리 쓰이고 있다[9]. 구연산 발효에 주로 이용되는 *A. niger* 계통의 fungus는 균사를 고정화하여 배양액 중에 균사의 suspension을 억제하고 또한 균체를 고농도로 하여 생산성을 높일 수 있는 방법도 있다[2]. Suh 등에 의한 주정증류폐수 처리로부터 구연산 발효에 대한 연구가 있었다[12]. 주정공장에서 나오는 주정증류 폐기물은 고농도의 유기물질을 함유한 폐수로서 이러한 고농도의 폐수를 자연의 자정능력에 맞게 처리하기에는 수질오염 방지시설이나 운전비에 과도한 비용이 요구된다. 또한 공장이 도심지에 위치한 경우에는 수질오염 방지시설을 위한 폐수처리 부지 확보의 어려움 등으로 인하여 산업체에서는 이를 완벽하게 처리하지 못하므로 중대한

환경오염의 원인이 되고 있다. 또한 이들 폐기물을 이용한 발효공정의 개발이 폐기물의 양을 줄이고 부산물로 구연산을 얻을 수 있기 때문에 연구가 진행되고 있으나 아직까지 산업체에서 응용되지는 않고 있으므로 앞으로 이에 대한 많은 연구가 필요하다. 그리고 구연산 생산의 경제성을 높이기 위한 연구들도 많이 있지만 이러한 폐기물에는 미생물이 분해하기 힘든 질소, 인 등을 함유한 난분해성 유기물과 구연산 발효에 나쁜 영향을 미치는 것으로 알려진 금속이온들이 존재하고 있다. 그래서 Cocker[5] 등은 발효기질에 따라 차이는 있지만 구연산생산 뿐만 아니라 균체중식에 미량의 금속이온이 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 주정공장에서 배출되어 주된 수질오염원이 되고 있는 타피오카 주정증류 폐기물을 발효기질로 해서 *A. niger* 균주를 사용하여 진탕배양기에서 배양온도, 초기 pH, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 농도, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 농도, Mn<sup>2+</sup> 농도 및 저분자 알코올류의 첨가물에 따른 구연산 생산의 영향 등의 제반 고찰을 통하여 주정증류 폐기물의 양을 줄이는 동시에 구연산을 생산시킴으로써 폐수처리와 더불어 구연산을 생산하는 공정의 개발에 대한 기초 연구를 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주, 균주의 배양방법 및 조건

주정증류 폐기물의 성상을 연구하기 위해서 사용한 시료는 부산 소재의 주정 생산업체에서 나온 타피오카 (tapioca) 주정증류 폐기물로서 Table 1과 같은 구성성분으로 이루어져 있었다. 본 실험에서 사용한 균주는 American Type Culture

\*Corresponding author

Tel : +82-51-890-2129, Fax : +82-51-891-7740

E-mail : lyh202@deu.ac.kr

Table 1. Typical compositions of wastewater derived from alcoholic distillery using tapioca as major raw material for ethanol fermentation.

Items	Tapioca
pH	4.0~4.3
BOD <sub>5</sub> (mg/l)	25,000
COD (mg/l)	24,000
Total reducing sugars as glucose (mg/l)	10,000
Suspended solids (mg/l)	22,000
Total nitrogen (mg/l)	807
Total phosphorus (mg/l)	n.d.
Color	Brown
Temperature (°C)	70~80

n.d. = not detect.

Collection (ATCC)에서 분양받은 *A. niger* ATCC 9142로서 균주의 활성을 유지하기 위하여 potato dextrose agar (PDA, Difco Lab., Detroit, U.S.A.) 배지에서 7일 마다 한번씩 계대 배양하였다. 전배양은 300 ml의 진탕플라스크에 폐액을 100 ml정도 넣고 면전을 한 후, 121°C에서 15분간 멸균하여 실온으로 냉각한 다음 무균실에서 PDA 배지로부터 포자를 접종하여 30°C에서 200 rpm의 조건으로 진탕배양기에서 2일간 배양하였다. 전배양액은 본 배양 배지 부피비의 2%이내가 되도록 접종시켰다. 타피오카 주정증류 폐기물을 발효기질로 사용하여 총 환원당 농도가 50 g/l가 되도록 농축한 후, 진탕배양기에서 플라스크배양을 행하였다. 발효실험 장치는 플라스크 진탕배양기(Philip Harris Co.)를 사용하였으며, 회전속도는 200 strokes/min, 온도는 30°C로 유지하였다.

**분석**

본 실험에 사용된 시료분석법은 미국 공중보건협회의 표준시험법을 기준으로 하였으며[1], 측정방법과 기기는 Table 2에 나타내었다.

**구연산의 분석방법** - 구연산 분석은 Marier와 Boulet 방법[10]을 이용했다. 즉 1 ml의 시료에 1.3 ml의 pyridine을 넣어 세게 흔들어 준 후, 5.7 ml acetic anhydride를 넣고 교반한 후, 30°C 항온조에서 1시간 반응시켜 발색시킨다. 발색된 시료의 흡광도는 자외선 분광광도계 (Shimadzu Model U-3210, Japan)를 이용하여 420 nm에서 측정하였다.

**환원당의 분석방법** - 환원당 분석은 Dinitrosalicylic acid (DNS)법[3]에 의하여 측정했으며, 이 방법은 0.25 g의 3,5-Dinitrosalicylic acid와 Rochelle Salt 75 g을 2 M NaOH (4 g NaOH를 5 ml 증류수에 녹임) 50 ml에 첨가하여 녹인 후, 증류수로 250 ml가 되게 희석해서 DNS시약을 만든다. 1 ml의 시료에 DNS 시약 1 ml를 혼합하여 100°C에서 10분 동안 가열하여 발색시킨 후, 실온으로 급냉하여 570 nm에서 자외선 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하고 그에 따른 환원당의 농도를 구하였다.

Table 2. Major instruments used for analyzing wastes.

Item	Method and/or Instrument
pH	pH meter (PRESTO-TEC Co.)
COD	Potassium dichromate reflux method
Metal ions	Atomic absorption spectrometer (Varian)
Total nitrogen	Kjeldahl method
Total phosphorus	Stannous chloride method

**건조균체의 중량 측정방법** - 균체 건조무게의 측정은 배양액중에서 시료를 취하여 원심분리한 후, 침전된 균체를 다시 0.85% NaCl 용액으로 2~3번 세척하여 원심분리하고, 증류수로 다시 2~3번 세척하여 105°C에서 24시간 건조한 다음, 데시케이터에서 30분간 방냉하여 무게를 측정하였다.

**결과 및 고찰**

**배양온도에 따른 영향**

*A. niger*에 의한 구연산 발효에서 배양온도와 구연산 생성과의 관계는 사용균주, 배양방법, 영양조건에 따라 약간의 차이가 있으나, 당질계의 구연산 발효에서는 일반적으로 25~35°C가 최적온도로 알려져 있으며, Doegler[6] 등은 26~28°C가 적당하다고 하였다. 본 연구에서는 구연산 생성에 대한 온도 의존성을 알아 보기 위하여 반응온도를 각각 25°C, 30°C 및 35°C로 하여 *A. niger* ATCC 9142 균주로 타피오카 주정증류폐기물을 12일간 표면 발효하면서 발효시간에 따른 구연산 및 균체농도를 측정하여 Fig. 1과 2에 나타난 바와 같이 배양온도를 25°C, 30°C 및 35°C로 증가시켰을 때, 6일에서의 구연산 농도는 각각 5.1, 6.09 및 3.62 g/l로 나타났고, 균체농

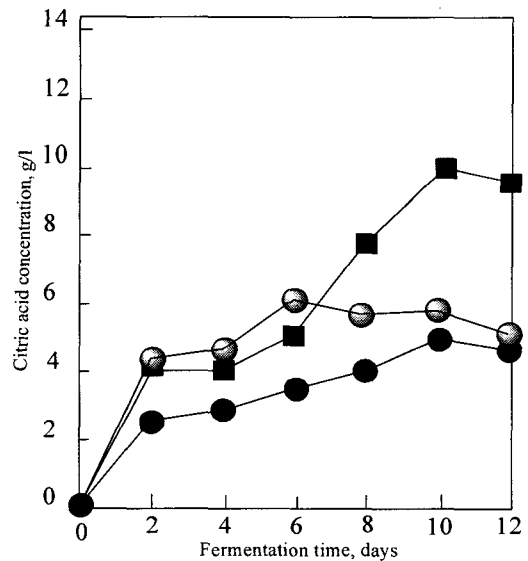


Fig. 1. Effect of temperature on citric acid production. (■: 25°C, ●: 30°C, ●: 35°C)

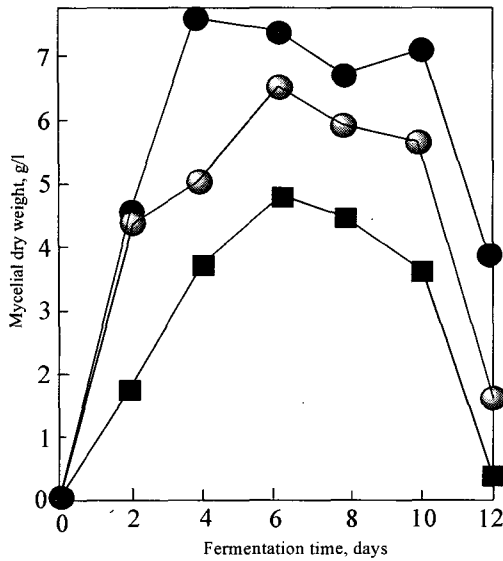


Fig. 2. Effect of temperature on mycelial growth. (■: 25°C, ●: 30°C, ●: 35°C)

도는 각각 4.9, 6.6 및 7.45 g/l로 나타났다. 온도변화에 따른 구연산 생성량은 6일까지는 온도가 30°C에서 가장 많았으며, 발효기간이 길어질수록 구연산 생성량의 증가는 아주 완만하였다. 또한 균체 생성량은 온도가 높을수록 증가하였다. 따라서 당을 이용한 *A. niger* 균주 발효시에는 높은 온도가 균체 생육을 빠른 속도로 증가시킬 뿐만 아니라 상당량의 당이 CO<sub>2</sub>로 산화되기 때문에 구연산 생산이 떨어진다고 생각되었다.

**초기 pH의 영향**

구연산 및 균체생산에 있어서 pH의 영향을 조사하기 위하여 타피오카 주정증류 원폐기물 (pH 4.3)을 1 N NaOH 및 1 N HCl를 사용하여 초기 pH를 2, 3, 5, 6으로 조절하여 *A. niger* ATCC 9142 균주를 30°C에서 10일간 발효시켜 발효시간에 따른 구연산 및 균체농도를 측정하여 비교한 결과를 Fig. 3과 4에 나타내었다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 초기 pH 변화에 따른 구연산 농도는 pH가 4.3인 타피오카 주정증류 원폐기물에서 발효하였을 때 구연산 생성량이 8일에 6.37 g/l로 가장 많았으며, pH가 4.3에서 멀어질수록 구연산 생성량이 급격히 줄어들음을 알 수 있었다. pH변화에 따른 균체농도는 pH 2와 3에서는 거의 증가하지 않으나 pH 4에서부터 균의 생육이 급격히 증가하여 pH 5에서 10.55 g/l로 생육이 가장 좋았으며, 그 이상의 pH에서는 균의 생육이 거의 일정함을 알 수 있었다. 따라서 최적 초기 pH는 원폐수의 pH와 거의 일치하므로 공장규모의 운전시에는 pH를 조절하지 않고 배양이 가능하다고 생각 된다.

**질산암모늄 농도의 영향**

질소원으로서 질산암모늄을 첨가하였을 때의 구연산 및

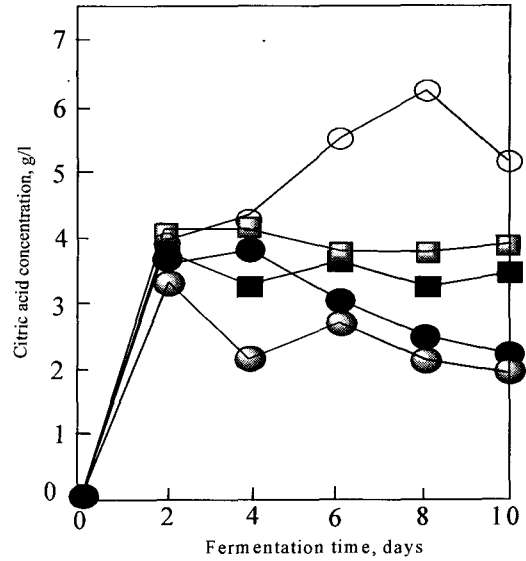


Fig. 3. Effect of initial pH on citric acid production. (●: pH=2, ●: pH=3, ○: pH=4.3, ■: pH=5, ■: pH=6)

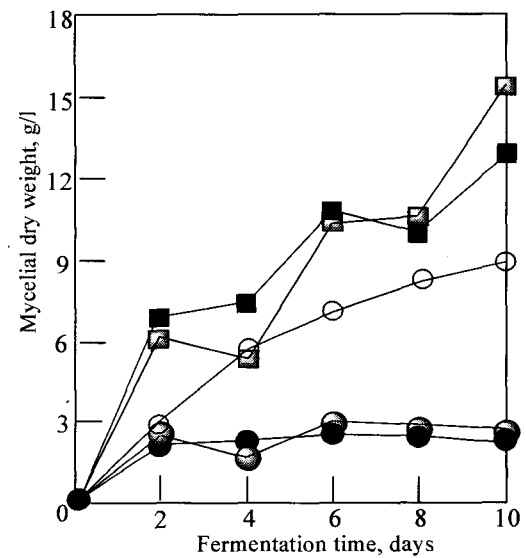


Fig. 4. Effect of initial pH on mycelial growth. (●: pH=2, ●: pH=3, ○: pH=4.3, ■: pH=5, ■: pH=6)

균체생성의 영향을 살펴보기 위해서 타피오카 주정증류 폐기물에 질산암모늄을 각각 0, 1, 2, 3 및 4 g/l를 첨가하여 *A. niger* ATCC 9142 균주를 30°C에서 10일간 진탕배양시켰을 때 구연산 및 균체농도의 변화를 Fig. 5와 6에 나타낸 바와 같이 질산암모늄을 전혀 첨가하지 않았을 때는 구연산 및 균체농도가 6.09 및 9.55 g/l 얻어졌고, 이때의 구연산 농도는 질산암모늄을 첨가하였을 때 보다 훨씬 많이 생성되었으며, 질산암모늄 농도가 증가할수록 구연산 생성량은 감소되었다. 이는 과량의 NH<sup>4+</sup>이 Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) 경로상의 fructose 6-phosphate에서 fructose 1,6-diphosphate로 분해할 때 phosphofructose kinase의 활성을 저해시켜 구

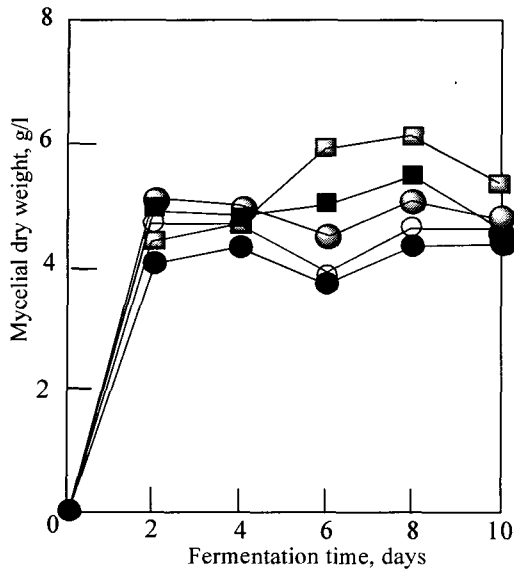


Fig. 5. Effect of addition of nitrogen compound on citric acid production. (□: no addition, ■: 1 g/l, ●: 2 g/l, ○: 3 g/l, ●: 4 g/l)

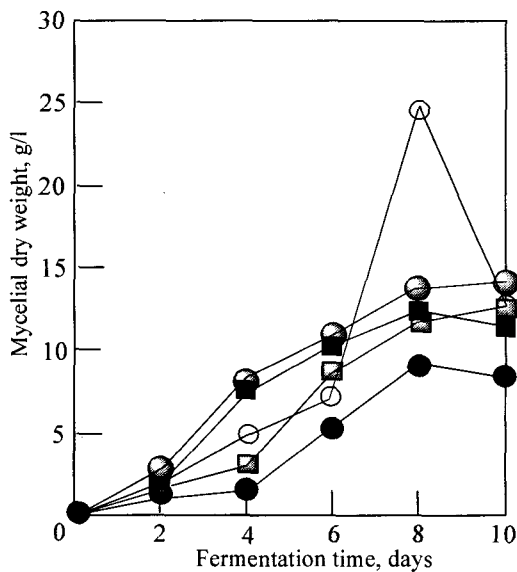


Fig. 6. Effect of addition of nitrogen compound on mycelial growth. (□: no addition, ■: 1 g/l, ●: 2 g/l, ○: 3 g/l, ●: 4 g/l)

연산을 만드는 원료가 되는 피루브산의 생산을 중단시키기 때문이라고 생각되었다[8]. 또한 균체농도는 질산암모늄의 농도가 3 g/l까지는 균체에 별 영향이 없었으나 그 이상에서는 균체성장이 감소하였다. 이는 폐기물이 어느 정도의 질소원을 가지고 있기 때문에 *A. niger*의 균체 성장에 더 이상의 영향을 미치지 않는 것으로 생각되었다.

**인산칼륨 농도의 영향**

인산염의 첨가가 구연산 및 균체생성에 미치는 영향을 알

아보기 위하여 타피오카 주정증류 폐기물에 인산칼륨을 각각 0, 0.5, 1, 2 및 3 g/l를 첨가하여 *A. niger* ATCC 9142 균주를 30°C에서 10일간 진탕배양한 결과를 Fig. 7과 8에 나타내었다. 구연산의 농도는 인산칼륨을 첨가하지 않았을 때 6.37 g/l로 최대치를 보이며 인산칼륨의 농도가 증가할수록 구연산 생성량이 감소하는 경향을 보여준다. 균체농도는 인산칼륨의 농도가 증가하여도 별다른 변화가 없었으나 인산칼륨의 농도가 높은 3 g/l에서는 균체농도가 줄어듦을 알 수 있었다.

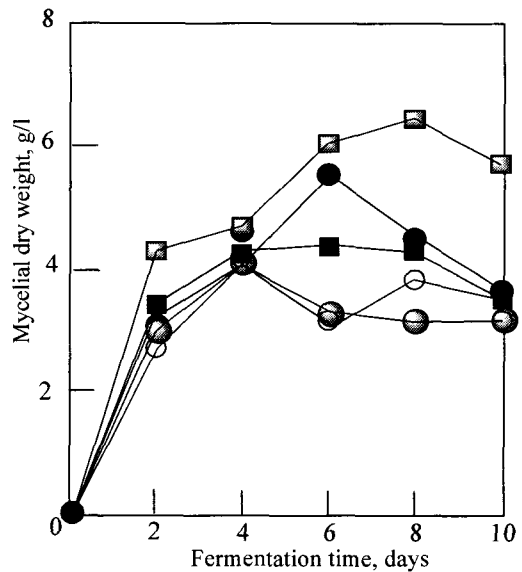


Fig. 7. Effect of added phosphate on citric acid production. (□: no addition, ●: 0.5 g/l, ■: 1 g/l, ○: 3 g/l, ●: 4 g/l)

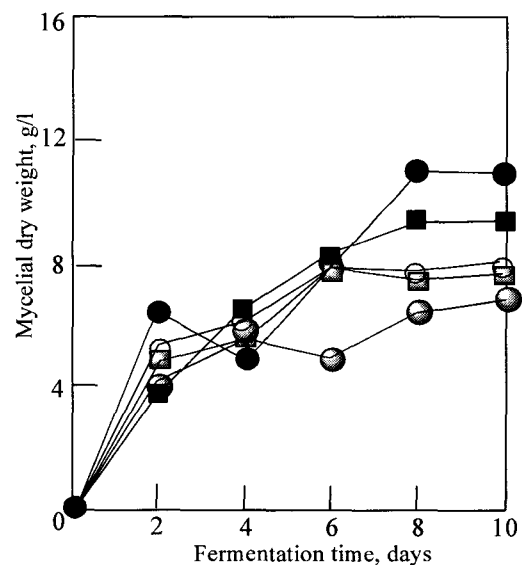


Fig. 8. Effect of added phosphate on mycelial growth. (□: no addition, ●: 0.5 g/l, ■: 1 g/l, ○: 2 g/l, ●: 3 g/l)

**망간이온 농도의 영향**

본 연구에서는 망간을 0, 0.0125, 0.025, 0.0375 및 0.05 g/l로 첨가하여 *A. niger* ATCC 9142 균주를 이용하여 30°C에서 10일간 진탕배양하여 그 결과를 Fig. 9와 10에 나타내었다. Mn<sup>2+</sup>를 첨가하지 않았을 때는 구연산 농도가 6.09 g/l로 가장 많이 생산 되었고 Mn<sup>2+</sup>의 농도가 증가함에 따라 구연산 농도는 감소하였으며 균체농도는 거의 일정하게 얻어졌다. 타피오카 주정증류 폐기물은 원자흡광 광도법 (Atomic Absorption Spectrometer, Model; Varian Spectra A-30)으로

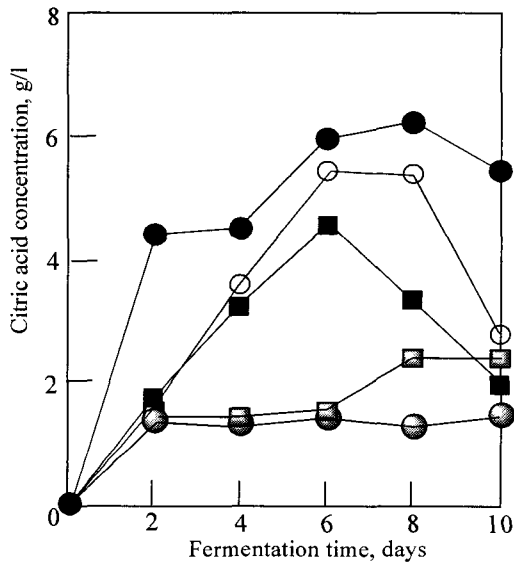


Fig. 9. Effect of added phosphate on citric acid production. (●: no addition, ○: 0.0125 g/l, ■: 0.025 g/l, ◆: 0.0375 g/l, ▲: 0.05 g/l)

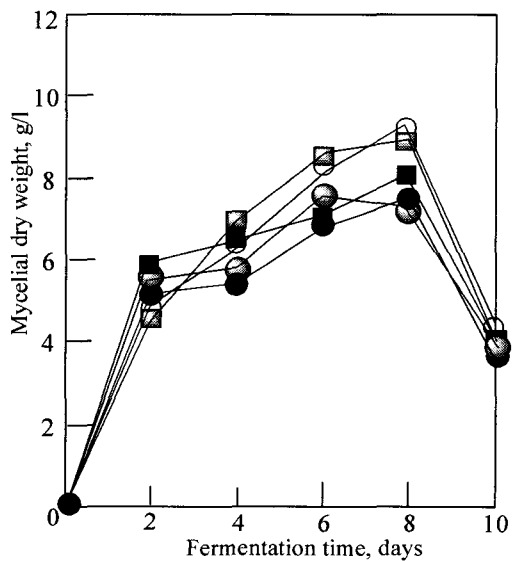


Fig. 10. Effect of added manganese on mycelial production. (●: no addition, ○: 0.0125 g/l, ■: 0.025 g/l, ◆: 0.0375 g/l, ▲: 0.05 g/l)

분석한 결과 타피오카 주정증류 폐기물 자체에 0.016 g/l의 망간이 존재하는 것을 알았으며, Mn<sup>2+</sup>의 농도가 낮은 경우는 구연산 생산이 망간의 영향을 전혀 받지 않으나 Mn<sup>2+</sup>의 농도가 0.0375 g/l 이상에서는 구연산 생성량이 급격히 줄었는데 이는 Kissler[7] 등의 보고와 같이 망간농도가 증가하면 미생물의 세포벽에 존재하는 β-glucan의 함량이 증가하기 때문으로 생각된다.

**저분자 알코올류의 첨가물에 따른 영향**

주정증류 폐기물을 원료로하여 구연산을 생산할 경우에는 배지내의 무기염이 존재하므로 저분자 알코올류 등의 구연산 생산 촉진제를 첨가하여 구연산 생성을 촉진시킬 수 있을 것으로 생각되었다. 본 실험에서는 타피오카 주정증류 폐기물을 기본 발효기질로 하여 methanol, ethanol, isopropanol 및 n-propanol의 첨가가 구연산 발효에 미치는 영향을 조사하였다. 메탄올의 농도를 각각 0, 1, 2, 3 및 4% (v/v)가 되도록 조절하여 *A. niger* ATCC 9142 균주를 30°C에서 10일간 진탕 배양하면서, 발효시간 및 메탄올 농도변화에 따른 구연산 및 균체농도의 변화를 관찰하여 Fig. 11 및 12에 나타내었다. 균체농도의 변화는 Fig. 12에서 보는 바와 같이 메탄올을 2% 첨가한 경우가 다른 경우보다 높았으며, 구연산 농도는 Fig. 11에서 보여지는 바와같이 1%의 메탄올을 첨가하였을 때 7.55 g/l로 가장 많이 생성되었으나 2% 이상에서는 오히려 구연산 농도가 감소함을 알 수 있었다. Fig. 13과 14에서 알 수 있는 바와 같이 구연산 및 균체농도는 첨가물을 전혀 첨가하지 않았을 때 각각 6.41, 6.2 g/l이고 메탄올을 첨가하였을 때에는 8.97, 7.95 g/l, 에탄올을 첨가하였을 경우에는

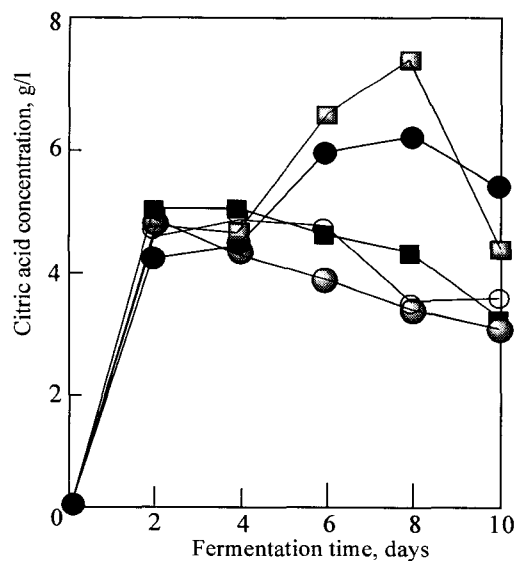


Fig. 11. Time course profiles of citric acid production with various initial methanol concentration. (●: no addition, ■: 1%, ◆: 2%, ○: 3%, ▲: 4%)

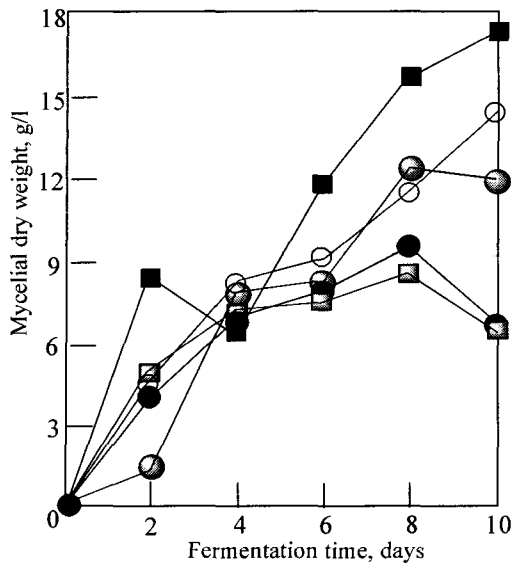


Fig. 12. Time course profiles of mycelial growth with various initial methanol concentration. (●: no addition, ■: 1%, ■: 2%, ○: 3%, ●: 4%)

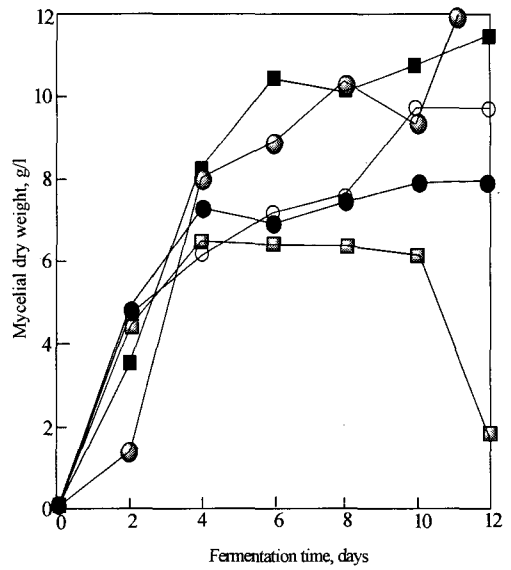


Fig. 14. Effect of ethanol, isopropanol or *n*-propanol on the mycelial growth. (■: no addition, ○: ethanol, ●: methanol, ■: isopropanol, ●: *n*-propanol)

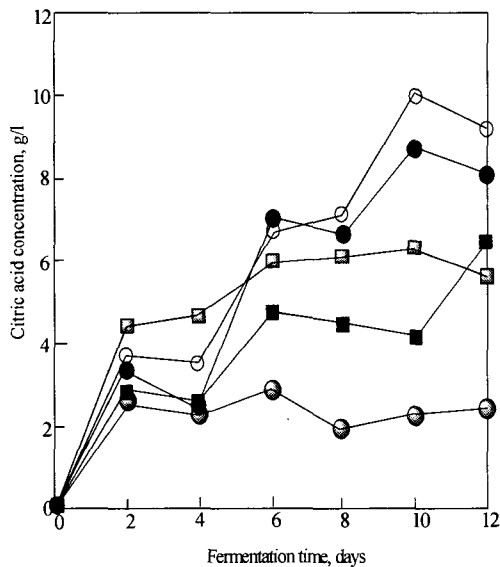


Fig. 13. Effect of ethanol, isopropanol or *n*-propanol on the production of citric acid. (■: no addition, ○: ethanol, ●: methanol, ■: isopropanol, ●: *n*-propanol)

9.82, 9.6 g/l로 전혀 첨가하지 않았을 때 보다는 메탄올이나 에탄올을 첨가하였을 때 균체농도 및 구연산 생성량이 향상됨을 알 수 있었다. 이는 Scragg의 보고[11]와 같이 메탄올과 에탄올은 균체증식 및 구연산 생성에 나쁜 영향을 미치는 중금속 물질의 작용을 저해시키고 미생물의 투과성을 증가시키기 때문에 구연산 생산을 증가시키는 것으로 여겨진다. 한편 isopropanol 및 *n*-propanol은 kojic산 발효에서는 매우 유용한 물질로 알려져 있지만 구연산 생성에 있어서는 이들을 첨가하지 않은 경우보다 구연산 생성을 저해하는 것을 알 수

있었다. 이는 저분자 알코올류는 구연산 생성을 촉진시키는 반면 긴사슬의 알코올류는 *A. niger*의 생육을 촉진시켜 이미 생성된 구연산은 이들 증식성 균체가 약해지기 때문에 구연산 생산이 떨어진다고 생각되었다.

### 요 약

주정공장에서 배출되는 타피오카 주정증류 폐기물을 발효 기질로 하여 플라스크 진탕배양기에서 *A. niger* 균주를 이용하여 폐기물 처리 및 구연산을 생산하는 실험에서 다음과 같은 결과를 얻었다. *A. niger* ATCC 9142 균주를 사용하여 배양온도를 25°C, 30°C 및 35°C로 변화하여 발효하였을 때 구연산 농도는 30°C에서 6.09 g/l로 최대가 되었으며, 플라스크 진탕배양기의 배양온도를 30°C로 유지하면서 초기 pH를 조절하여 발효를 행한 결과, pH 4.3인 원폐수에서 구연산 생성량이 6.37 g/l로 가장 높았다. 질소원, 인산원 및 금속이온이 구연산 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 및 Mn<sup>2+</sup>를 첨가한 결과 이들 첨가물들이 구연산 생산을 감소시켰고, methanol, ethanol, isopropanol 및 *n*-propanol의 첨가가 구연산 발효에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험에서는 methanol과 ethanol의 첨가가 구연산 생성을 촉진시켰다.

### 참 고 문 헌

1. APHA. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th eds., Amer. Publ. Health Assn.
2. Bang, B. H. 2000. Citric acid production from glucose and

- pumpkin by using immobilized bead of *Aspergillus niger*. *Korean J. FOOD & NUTR.* **13**, 328-333.
3. Chaplin, M. F. and J. F. Kennedy. 1986. Carbohydrate Analysis. 3, IRL press.
  4. Cho, J. W., J. S. Lee and S. I. Hong. 1994. Citric acid production by extractive fermentation. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **9**, 406-411.
  5. Cocker, R. and R. N. Greenshield. 1997. In genetics and physiology of *Aspergillus niger*. pp. 361-390, Academic Press, N. Y.
  6. Doelger, W. P. and S. C. Prescott. 1934. Citric acid fermentation. *Ind. Eng. Chem.* **26**, 1142-1149.
  7. Kisser, M., C. P. Kubick and M. Rohr. 1980. Influence of manganese on morphology and cell wall composition of *A. niger* during citric acid fermentation. *Microbiolol.* **128**, 26-33.
  8. Krumphanzel, V., B. Sikyta and Z. Vanek. 1982. Overproduction of microbial products. pp. 254-263, Academic Press, N. Y.
  9. Lee, Y. H., M. G. Suh, K. T. Chung and Y. K. Jeong. 2004. Optimal condition for citric acid production from milk factory waste water by using the immobilized cells of *Aspergillus niger*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **32**, 154-157.
  10. Marier, J. R. and M. Boulet. 1958. Direct determination of citric acid in milk and improved pyridine-citric acid anhydride method. *J. Dairy Sci.* **41**, 1683-1692.
  11. Scragg, A. H. 1988. Biotechnology for engineers; biological systems in technology processes. pp. 321-336, Ellis Horwood Limited, Chichester.
  12. Suh, M. G., K. H. An and S. K. Song. 1992. Treatment of alcoholic distillery wastes through citric acid fermentation. *HWAHAK KONGHAK.* **30**, 473-479.
  13. Suh, M. G., K. H. Suh and S. K. Song. 1990. Studies on saccharification and citric acid fermentation of alcoholic distillery waste. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **5**, 382-390.