

효율적 숙신산 생산을 위한 다양한 아민추출제와 용매를 이용한 아세트산의 선택적 추출제거

허윤석 · ¹홍연기 · 전영시 · †홍원희
한국과학기술원 생명화학공학과, ¹충주대학교 회공생물공학과
(접수 : 2005. 6. 17., 게재승인 : 2005. 6. 24.)

Selective Removal of Acetic Acid for the Effective Production of Succinic Acid using the Various Amine Extractants and Solvents

Yun Suk Huh, Yeon Ki Hong¹, Young-Si Jun, and Won Hi Hong†

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology,
373-1 Guseong-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-701, Korea

¹Department of Chemical and Biological Engineering, Chungju National University,
123 Geomdan-ri, Iryu-myeon, Chungju, Chungbuk 380-702, Korea

(Received : 2005. 6. 17., Accepted : 2005. 6. 24.)

Succinic acid has recently been drawing much interest as a raw material for biodegradable polymer. In this study acetic acid was removed by reactive extraction with various amines dissolved in various diluents. Distribution coefficients were determined as the kind of amines, diluents, and pHs of continuous phase. The extraction capacity increased with the polarity of diluent and the decrease of pH from the artificial binary solution. Based on the different extractability for succinic acid and acetic acid from the artificial binary solution, the removal of acetic acid from fermentation broth was investigated using various amines and diluents. In addition, the extractability and selectivity of CLA for succinic acid and acetic acid from fermentation broth were higher than that of straight solvent extraction.

Key Words : Succinic Acid, Acetic acid, Reactive Extraction, amine, diluent, CLA, fermentation

서 론

숙신산 (succinic acid; SA)은 4개의 탄소로 이루어진 TCA 회로의 중간생성물인 dicarboxylic acid로서, 비록 낮은 농도로 존재하지만 모든 식물세포나 동물세포에서 발견되는 화학물질이다. 숙신산이나 그 유도체들은 고분자, 식품, 제약, 화장품 산업 등에 널리 이용되어 왔다. 특히, 숙신산은 석유화학공업의 발달과 함께 활발한 생산이 이루어진 합성고분자의 취약점인 난분해성을 극복할 수 있는 생분해성 고분자의 모노머 (monomer)로서의 이용가치가 증가하고 있다 (1, 2). 숙신산은 주로 maleic anhydride로 합성되는 화학적 방법에 의해 생산되어 왔으나 최근 들어 발효에 의한 생산

방법이 연구되고 있다. 그러나 발효에 의한 숙신산의 생산 공정에서의 문제점은 발효생성물에 의한 생성물저해이다. 이때 가장 문제가 되는 것은 숙신산과 동시에 생성되는 아세트산이다. 대표적인 숙신산 생산균주인 *Anareobiospirillum succiniciproducens*의 경우 약 8 : 3, *Mannheimia succiniciproducens*의 경우 약 5 : 1의 비율로 숙신산과 아세트산이 동시에 생성된다(3, 4). 이는 발효수율을 떨어뜨릴 뿐만 아니라 숙신산의 회수과정에 있어서도 불순물로 작용하게 된다. 따라서 정제된 숙신산을 얻기 위해서는 발효액으로부터 아세트산을 포함한 불순물의 선택적 제거 및 숙신산 정제공정이 요구된다(5, 6).

지금까지 발효에 의하여 생산된 숙신산의 정제 방법으로는 여과-침전법, 결정화법, 액-액 추출법 등 여러 가지가 있다. 하지만 이러한 정제 방법은 고분자 합성을 위한 단량체 생산을 위해서는 높은 정제비용과 더불어 순도가 낮다는 단점을 가지고 있다.

반응 추출 (reactive extraction)은 추출제 (extractant)를 유기용매에 용해하여 수용액상의 용질을 계면에서 반응시켜

† Corresponding Author : Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Daejeon 305-701, Korea

Tel : +82-42-869-3919, Fax : +82-42-869-3910

E-mail : whhong@kaist.ac.kr

분리하는 화학정제공정으로서 기존의 정제방법에 비하여 추출속도가 매우 크다. 또한 추출 후에 역추출을 실시하여 유기용매를 재활용할 수 있고 선택도가 매우 높아 높은 추출 효율을 보이며 적절한 용매의 선택은 기존의 분리방법보다 에너지를 절감시킬 수 있다(7-9). 유기산의 반응추출은 주로 긴사슬 아민을 이용하여 아민과 카르복실산과의 복합체를 형성시켜 유기상으로 분리해낸다. 이러한 아민을 이용한 추출은 아민의 염기성을 이용한 것으로 산과 반응하여 염을 형성한다는 사실에 근거해서 행해진다. 그러나 수용액상이나 발효액에 공존하는 여러 성분 중 필요한 성분만 선택적 추출(selective extraction)하기 위해서는 추출제 및 용매의 선택이 중요하다(10, 11). 추출에서 용매는 목적성분(용질)과 추출제 간에 화학반응을 원활하게 하기 위해서 사용하는 용매로서, 생성물(복합체)의 용해도가 적어, 반응이 진행되면서 생성물이 반응계 밖으로 제거되는 효과 때문에 반응을 촉진시킨다. 이 때문에 반응추출에서 용매의 선택은 중요하다(7, 11).

또한 최근에는 기존의 반응추출의 교반에 따른 에너지 소비와 상분리의 어려움을 극복하기 위해서 콜로이드 액상 에이프론(colloidal liquid aphrons; CLA)을 이용한 유기산 추출에 대한 연구가 진행되고 있다(12, 13). CLA란 수용성 계면활성제 필름으로 둘러싸여 있는 콜로이드형 구형 액적이 연속상에 분산되어 있는 형태를 말한다. CLA 표면을 둘러싸고 있는 계면활성제 층은 추출제를 포함한 에이프론을 추가적인 기계적 교반 없이 연속상에 분산시킬 수 있게 하며 이에 따른 물질전달 속도 상승을 가져올 수 있게 한다(14).

본 연구에서는 숙신산과 아세트산(acetic acid; AA)의 반응추출에서 가장 적합한 추출제 및 용매를 선택하기 위하여 추출제로는 Amberlite LA-2와 tri-n-octylamine (TOA) 및 tri-octylmethyl ammoniumchloride (TO-MAC; Aliquat 336)을, 용매로는 케로진(kerosene), 1-옥탄올(1-octanol)을 사용하여 숙신산의 선택적 반응추출에 대한 특성을 연구하였다. 또한 숙신산과 아세트산이 혼합된 수용액의 실험결과를 바탕으로 실제 *Mannheimia succiniciproducens* 균주의 발효액에 적용하였고, 추출제의 추출효율증가를 위해 CLA를 이용하여 숙신산의 추출특성을 고찰하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 2차 아민 Amberlite LA-2는 Merck Co.를 사용하였고, 3, 4차 아민 TOA 및 Aliquat 336은 Aldrich Co.의 99% 이상의 순도를 가진 시약을 실험 시 정제하지 않고 그대로 사용하였다.

반응추출에 사용된 활성 회석제는 99% 이상의 순도를 가지는 Aldrich사의 1-옥탄올, 케로진이며 실험 시 추가적인 정제 없이 그대로 사용하였다.

숙신산(Sigma Co.)과 아세트산(Junsei Co.)은 순도 99%의 시약을 증류수에 용해시켜 사용하였고, 혼합 수용액의 초기 숙신산 및 아세트산의 농도는 50, 10 g/L로 실제 숙

신산 발효에서 최대 농도를 고려하여 수용액을 제조하였다. 실제 숙신산 발효액은 *Mannheimia succiniciproducens* (KCTC 0769 B) 균주로부터 발현된 배지액(broth solution)을 이용하여 실험에 이용하였다. 발효액의 초기 농도는 숙신산 25.6 g/L이었고, 아세트산은 5.4 g/L였다.

콜로이드 액상 에이프론(CLA)의 제조

CLA는 4 g/L의 수용성 음이온성 계면활성제(sodium dodecyl benzene sulfonate; SDBS)와 0.1% (v/v)의 유기상 비이온성 계면활성제(tergitol-15-S-3)를 이용하여 제조하였다. 먼저 SDBS 계면활성제를 강하게 교반하여 거품형태로 형성 후, 0.1% tergitol이 첨가된 추출제용액을 거품으로 형성된 SDBS에 천천히 주입하며 3000 rpm으로 강하게 교반하면 수 마이크로론에서 50 마이크로론에 크기의 CLA를 제조할 수 있다.

실험 방법 및 분석

반응추출을 위해 준비된 샘플 수용액 10 ml과 아민을 포함한 유기용매 10 ml를 25 ml 바이얼에 넣고 정해진 온도를 유지하며 1000 rpm으로 2시간 동안 추출하였다. 그리고 추출 후 원심분리기에서 4000 rpm에서 15분간 상 분리를 실시하여 잔류 수용상과 잔류 유기상을 분리하였다.

숙신산 및 아세트산의 농도를 결정하기 위해서 HPLC를 사용하였다. HPLC에 장착된 컬럼은 Supelco사의 Supelcogel C-610H (300 mm × 7.8 mm, USA)를 사용하였다. 이동상은 10.2 mM의 H₃PO₄ 수용액을 0.6 mL/h로 흘려주었고, 검출은 UV-detector (Waters 2487)를 이용하여 210 nm에서 분석하였다.

결과 및 고찰

모사 수용액으로부터 추출제 및 용매의 종류에 따른 숙신산 추출특성

본 연구에 사용된 추출제의 농도는 0.5 mol/kg extractants/diluents이었다. Fig. 1과 2에서 여러 추출제와 수용상의 pH에 따른 숙신산 및 아세트산의 분배계수 변화를 나타내었다. 추출평형에 도달한 후에 숙신산 및 아세트산이 수용상과 유기상에 분배되는 정도를 나타내기 위한 분배계수는 다음과 같이 정의된다.

$$D_i = \frac{C_i^{org}}{C_i^{raf}} \quad (1)$$

여기에서 C_i^{org} 는 평형에 도달한 유기상에서의 i 성분의 농도(mol/kg)이며 C_i^{raf} 는 평형에 도달한 수용상 즉 잔류상에서의 i 성분의 농도를 말한다. Fig. 1과 2에서 보는 바와 같이 분배계수는 pH가 증가함에 따라 낮아지며 특히 2, 3차 아민의 경우 숙신산의 pK_A값(pK_{A1} = 4.207, pK_{A2} = 5.635)과 아세트산의 pK_A값(pK_{A1} = 4.76)을 전후로 하여 급격한 변화가 있음을 확인할 수 있다. 이는 2, 3차 아민의 경우 대부분 비해리산과의 반응을 하므로 pK_A값 이상

의 pH에서는 거의 모든 숙신산 및 아세트산이 해리된 형태로 존재하기 때문이다. 즉, pH값이 증가한다는 것은 해리산의 농도가 증가한다는 것이며, 이는 2, 3차 아민이 반응할 수 있는 site를 가진 숙신산 및 아세트산이 거의 존재하지 않음을 의미한다. 그러나 4차 아민염인 Aliquat 336의 경우 pH 변화에 따른 분배계수의 변화가 2, 3차 아민에 비해 상대적으로 크지 않음을 볼 수 있다. 이는 4차 아민의 경우 숙신산 및 아세트산의 해리여부가 추출능에 큰 영향을 주지 않기 때문에 분배계수의 변화는 크지 않았다. 또한 희석제가 각 산의 추출도에 미치는 실험결과와 활성희석제인 1-옥탄올과 비활성희석제인 케로진에 따라 각 추출제의 분배계수 거동이 변화하였다. 2, 3차 아민의 경우 활성희석제인 1-옥탄올을 이용할 때보다 높은 분배계수 값을 보였으며, 4차 아민의 경우에는 비활성희석제에서 보다 높은 분배계수 값을 나타내었다. 이는 2, 3차 아민의 경우 비활성희석제보다는 활성희석제에 대한 용해도가 크기 때문에 추출도가 증가하며, 이와 달리 4차 아민의 경우에는 비활성희석제에서 용해도가 증가하기 때문으로 해석된다.

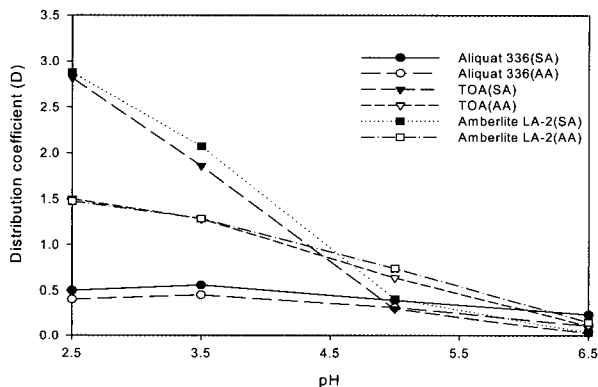


Figure 1. Effect of various amine extractants on the distribution coefficient for succinic acid and acetic acid at 1-octanol as active diluent (initial concentration of succinic acid and acetic acid in artificial binary solution are 50 g/L and 10 g/L, respectively).

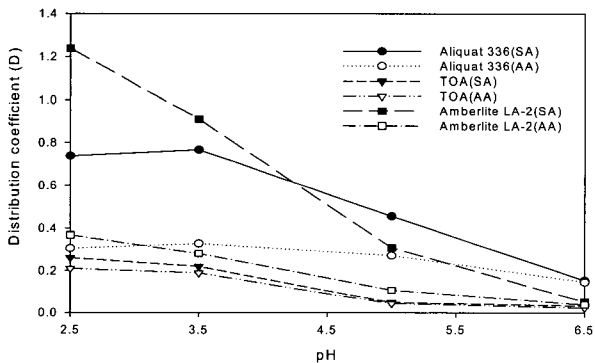


Figure 2. Effect of various amine extractants on the distribution coefficient for succinic acid and acetic acid at kerosene as inactive diluent (initial concentration of succinic acid and acetic acid in artificial binary solution are 50 g/L and 10 g/L, respectively).

또한 전체적인 분배계수를 비교할 경우, 활성희석제인 1-옥탄올이 비활성희석제에 비하여 높은 분배계수 값을 나

타내었다. 이는 일반적으로 반응추출은 용질과 용매의 용해도인자의 차이가 작을수록 즉, 수용액상에서 용질과 물의 용해도 인자의 차이가 클수록 유기상에 대한 분배계수가 커지기 때문에 추출도가 증가한다(15). 1, 2차 유기산인 아세트산과 숙신산에 대한 선택적 추출에 대한 영향을 볼 때 아세트산의 분배계수 값이 보다 높았으며, pH에 따라 아세트산과 숙신산의 분배계수 값이 변화함을 확인 할 수 있었다. 활성희석제를 사용한 2, 3차아민의 경우 pH값이 약 4.5근처에서 아세트산의 분배계수 값보다 숙신산의 값이 커지는 거동을 보였고, pH값이 낮을수록 아세트산에 대한 선택도가 증가하였다. 그러나 4차 아민의 경우에는 pH에 따라 분배계수나 선택도에 대한 변화가 거의 없었다. 비활성희석제를 사용한 경우에는 2, 4차아민이 비교적 낮은 pH에서 아세트산에 대한 선택도가 높게 나타났다.

결론적으로 2, 3차 아민을 이용하여 유기산을 추출할 경우 활성희석제를, 4차 아민의 경우에는 비활성희석제를 사용하는 것이 보다 높은 유기산 분배계수 값을 얻을 수 있었다. 또한, 2, 3차 아민의 경우 pH 변화에 따라 분배계수의 값이 변화하는 특성을 이용하여 특정유기산을 선택적으로 추출할 수 있음을 알 수 있었다.

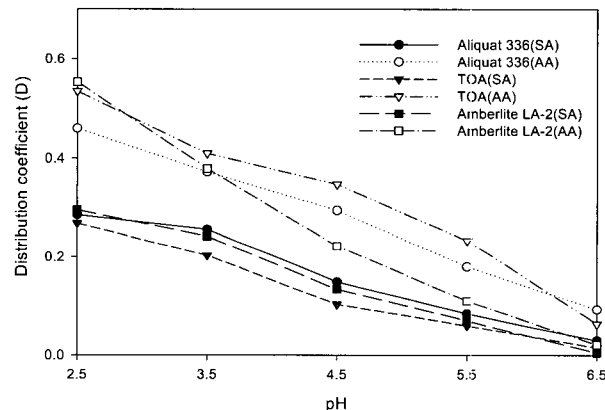


Figure 3. Effect of various amine extractants on the distribution coefficient for succinic acid and acetic acid at 1-octanol as active diluent (initial concentration of succinic acid and acetic acid in fermentation broth are 25.6 g/L and 5.4 g/L, respectively).

발효액으로부터 추출제 및 용매의 종류에 따른 숙신산 추출특성

활성용매인 1-옥탄올과 비활성용매인 케로진을 희석제로 하여 실제 발효액으로부터 각 아민의 종류에 따른 추출특성의 변화를 Fig. 3과 4에 나타내었다. 실제 발효액을 이용한 경우 숙신산 및 아세트산에 대한 분배계수 값이 크게 감소함을 볼 수 있다. 이는 모사 수용액에 비해 실제 발효액에는 여러 가지 불순물로 인해 숙신산 및 아세트산의 추출이 저해를 받기 때문이다. 반면에 4차 아민 염인 Aliquat 336이 사용된 경우 모사 수용액의 분배계수 값과 거의 차이가 없었다. 또한 희석제의 종류에 따른 분배계수의 경향을 비교해 볼 때, 활성희석제인 1-옥탄올을 이용한 반응추출이 대부분의 pH영역에서 보다 높은 추출능을 보였으나, 4차 아민의 경우에는 모사 수용액에서의 결과와

유사하게 비활성 희석제인 케로진에서 더욱 높은 분배계수 값을 나타내었다. Fig. 3과 4에서 보는 바와 같이 숙신산과 아세트산의 분배계수 값을 모사 수용액과 비교해 볼 때, 대부분의 pH영역에서 아세트산의 분배계수 값이 숙신산보다 높음을 확인 할 수 있었다. 이는 배지조성에 포함되어 있는 여러 염들에 대하여, 아세트산보다는 숙신산에 대한 추출 저해가 컸음을 앞선 연구결과를 통해 확인할 수 있었다. 발효를 통한 숙신산 생산 공정에 이러한 추출 거동을 적용하기 위해서는 불순 유기산인 아세트산을 추출하여 제거함으로써 숙신산을 정제하는 분리방법으로 응용할 수 있다(6, 12).

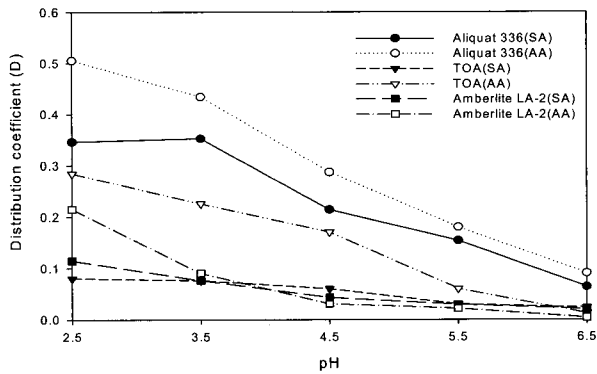


Figure 4. Effect of various amine extractants on the distribution coefficient for succinic acid and acetic acid at kerosene as inactive diluent (initial concentration of succinic acid and acetic acid in fermentation broth are 25.6 g/L and 5.4 g/L, respectively).

발효액으로부터 아세트산의 효율적인 제거특성 및 조건을 찾기 위해 숙신산에 대한 아세트산의 선택도 (α ; separation factor)를 다음과 같이 정의하였다.

$$\alpha_{AA/SA} = \frac{(C_{AA}^{org}/C_{SA}^{org})}{(C_{AA}^{raf}/C_{SA}^{raf})} = \frac{C_{SA}^{raf}}{C_{SA}^{org}} \frac{C_{AA}^{org}}{C_{AA}^{raf}} = \frac{D_{AA}}{D_{SA}} \quad (2)$$

Fig. 5와 6은 발효액으로부터 반응추출 시 숙신산에 대한 아세트산의 선택도에 대한 결과를 보여주고 있다. 활성 희석제인 1-옥탄올의 경우 pH의 값이 증가함에 따라 선택도가 증가함을 나타내고 있다. 그러나 pH가 6.5인 경우 선택도가 가장 높은 값을 나타내고 있으나, 분배계수의 값과 비교해 볼 때 선택도는 높지만 실제로 추출되는 절대적인 양은 매우 적음을 알 수 있다. 아민의 종류에 따른 아세트산의 선택도는 3차 아민인 TOA가 거의 대부분의 pH영역에서 가장 효과적임을 볼 수 있다. 비활성희석제인 케로진의 경우 pH값이 증가함에 따라 선택도는 감소하는 경향을 보였다. 그러나 4차 아민인 Aliquat 336은 모든 희석제에서 pH에 따른 선택도의 영향이 크게 변화하지 않았다. 이는 앞서 언급한 바와 같이 유기산의 해리여부가 추출능에 큰 영향을 주지 않기 때문에 pH에 따른 아세트산 및 숙신산의 추출능이 크게 변하지 않음을 보여주는 것이다. Fig. 6에서도 pH 6.5에서 선택도의 급격한 변화는 분배계수의 값이 매우 작은 영역에서 나타나는 값으로서

실제로 추출되는 양은 매우 적으므로 Fig. 6의 결과만으로 적합한 선택도를 판단할 수 있는 기준으로 보기는 다소 무리가 있다. 따라서 분배계수와 선택도를 모두 고려할 때 추출제는 3차 아민인 TOA를 이용하여 pH 값이 4.5에서 5.5 사이에서 추출할 때 아세트산을 효과적으로 제거할 수 있음을 확인할 수 있다.

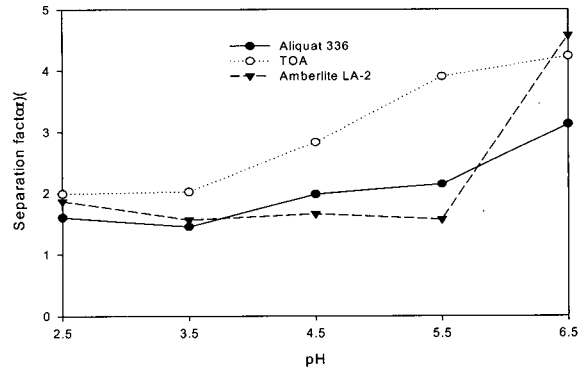


Figure 5. Effect of various amine extractants on the separation factors for acetic acid to succinic acid in fermentation broth at 1-octanol as active diluent.

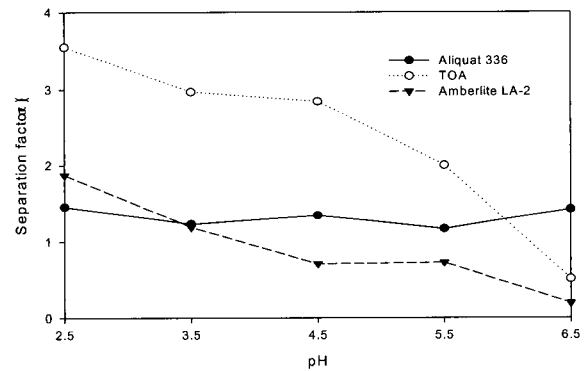


Figure 6. Effect of various amine extractants on the separation factors for acetic acid to succinic acid in fermentation broth at kerosene as inactive diluent.

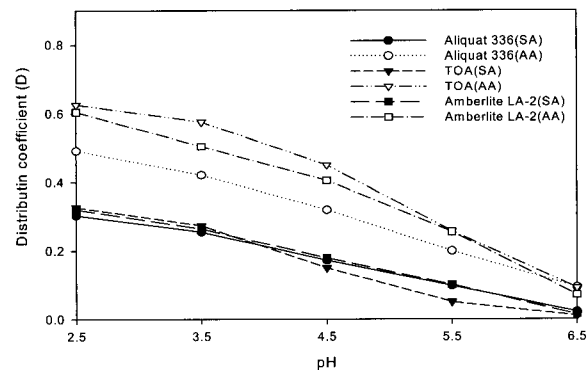


Figure 7. Effect of CLAs with various amine extractants on the distribution coefficient for succinic acid and acetic acid at 1-octanol as active diluent (initial concentration of succinic acid and acetic acid in fermentation broth are 25.6 g/L and 5.4 g/L, respectively).

위의 결과를 바탕으로 추출능이 우수한 활성회석제인 1-옥탄올을 이용하여 추출제가 계면활성제로 둘러 싸여있는 팔로이드형 구형 액적인 CLA를 제조하여 선택적 반응추출에 적용하는 연구를 수행하였다. Fig. 7은 pH변화에 따른 여러 아민들로 제조된 CLA를 이용한 반응추출의 분배계수 값을 보여주고 있다. Fig. 3과 비교할 때, CLA를 이용한 반응추출의 경우 pH변화에 따른 분배계수의 값이 다소 증가함을 알 수 있다. 또한 CLA의 장점은 표면을 둘러싸고 있는 계면활성제 층이 추출제를 포함한 에이프론을 추가적인 기계적 교반 없이 연속상에 분산시킬 수 있게 하며 이에 따른 물질전달 속도 상승을 가져와 빠른 반응추출 거동을 보인다. 그러나 CLA를 이용한 반응추출에서 CLA가 안정적으로 존재하지 않고 깨지는 경향을 관찰할 수 있었다. 이는 발효액 배지 속에 있는 여러 가지 염의 영향 때문이다. 이는 CLA의 바깥쪽 에이프론과 연속상과의 경계면에 있는 수용상 음이온 계면활성제가 연속상에 존재하는 다양한 양이온의 염들과 결합하는 힘에 의하여 계면이 불안해지면서 CLA가 깨지게 되기 때문이다. 따라서 숙신산 발효 배지의 조성에 따른 CLA의 안정성 극복을 위한 연구가 진행 중에 있다.

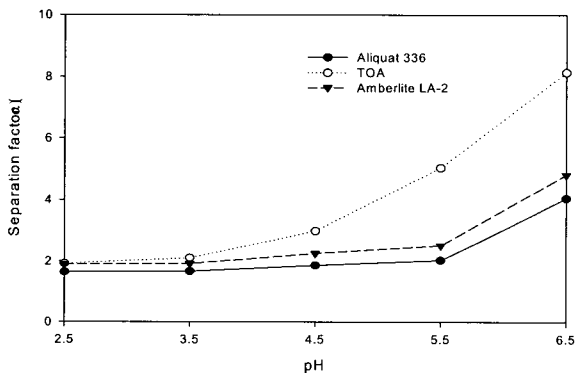


Figure 8. Effect of CLAs with various amine extractants on the separation factors for acetic acid to succinic acid in fermentation broth at 1-octanol as active diluent.

Fig. 8은 여러 아민 추출제를 통해 제조된 CLA를 이용하여 pH변화에 따른 선택도를 나타내고 있다. Fig. 5의 활성회석제를 이용한 여러 아민에 대한 선택도 결과와 유사하게, CLA를 이용한 선택도도 pH값이 증가함에 따라 높아짐을 볼 수 있다. pH 변화에 따라 선택도는 TOA > Amberlite LA-2 > Aliquat 336의 순서로 감소하였다. 위에서 언급했던 바와 같이, 여러 추출제를 이용한 CLA의 선택도 값은 pH 6.5에서 가장 우수한 결과를 나타내고 있으나 실제적으로 추출되는 절대적인 양은 매우 적음을 확인할 수 있다. 따라서 Fig. 7과 8의 분배계수와 선택도를 통해 가장 적합한 아세트산 추출 제거는 pH 4.5에서 5.5 범위에서 수행하는 것이 효과적임을 알 수 있다.

요 약

최근 들어 카르복실산 중에서 숙신산은 생분해성 고분

자의 원료물질로서 주목받고 있다. 본 연구에서는 다양한 아민추출제 및 회석제를 이용한 반응추출을 통해 숙신산 및 아세트산의 선택추출에 대한 연구를 하였다. 그 결과 활성회석제의 경우 2, 3차 아민의 추출능이 우수하였고, 비활성회석제의 경우에는 4차 아민의 추출능이 보다 높게 나타났다. 전체적인 분배계수 값을 비교할 때 활성회석제를 이용한 반응추출이 효과적임을 알 수 있었다. 또한 실제 발효액을 이용한 반응추출 실험결과, 모사 수용액에 비하여 추출능이 현저히 감소함을 볼 수 있었는데 이는 발효액에 들어있는 여러 가지 불순물들이 반응추출을 저해하기 때문이다. 여러 불순물들에 대한 반응추출의 저해 영향은 아세트산에 비해 숙신산이 컸으며, 이를 통해 실제 발효액에서 숙신산을 정제하기 위해서는 불순물로 존재하는 아세트산을 선택적으로 추출하여 제거하는 분리공정을 적용하는 것이 효과적임을 알 수 있었다. 추출제의 물질전달 및 보다 빠른 반응성의 향상을 위해 CLA에 대한 분배계수 및 선택도 실험을 수행한 결과, pH 변화에 따라 분배계수 및 선택도가 증가함을 알 수 있었다.

감 사

본 연구는 한국과학재단지정 초정밀생물분리기술연구센터의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Jain, M. K., R. Datta, and J. G. Zeikus (1989), High-value organic acids fermentation-emerging processes and products, In *Bioprocess Engineering: the First Generation*, T. K. Ghosh, ed., p366-398, Ellis Harwood press, Chichester.
- Zeikus, J. G., M. K. Jain, and P. Elankovan (1999), Biotechnology of succinic acid production and markets for derived industrial product, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **51**, 545-552.
- Glassener, D. A., P. Elankovan, D. R. Beacom, and K. A. Berglund (1995), Purification process for succinic acid produced by fermentation, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **51/52**, 73-82.
- Hong, S. H., J. S. Kim, S. Y. Lee, Y. H. In, S. S. Choi, J.-K. Rih, C. H. Kim, H. Jeong, C. G. Hur, and J. J. Kim (2004), The genome sequence of the capnophilic rumen bacterium *Mannheimia succiniciproducens*, *Nat. biotechnol.* **22**, 1275-1281.
- Hong, Y. K. and W. H. Hong (2005), Removal of acetic acid from aqueous solutions containing succinic acid and acetic acid by tri-n-octylamine, *Sep. Purif. Technol.* **42**, 151-157.
- Huh, Y. S., Y. K. Hong, W. H. Hong, and H. N. Chang (2004), Selective extraction of acetic acid from fermentation broth produced by *Mannheimia succiniciproducens*, *Biotechnol. Lett.* **26**, 1581-1584.
- Tamada, J. A., A. S. Kertes, and C. J. King (1990), Extraction of carboxylic acids with amine extractants. 1. Equilibria and law of mass action modeling. *Ind. Eng. Chem. Res.* **29**, 1319-1326.
- Yang, S.-T., S. A. White, and S.-T. Hsu (1991), Extraction of carboxylic acids with tertiary amine and quaternary amines: Effect of pH, *Ind. Eng. Chem. Res.* **30**, 1335-1342.
- Hong, Y. K. and W. H. Hong (2000), Extraction of succinic acid with 1-octanol/n-heptane solutions of mixed tertiary amine, *Biopro. Biosyst. Eng.* **23**, 535-538.

10. Hong, Y. K. and W. H. Hong (2004), Influence of chain length of tertiary amines on extractability and chemical interactions in reactive extraction of succinic acid, *Korean J. Chem Eng.* **21**, 488-493.
11. Hampe, M. J. (1985), Lösungsmittel-Auswahl bei der Flüssig/Flüssig-Extraktion unter physikalisch-chemischen Aspekten, *Chem. Ing. Tech.* **57**, 669-681.
12. Kim, B. S., Y. K. Hong, and W. H. Hong (2004), Effect of salts on the extraction characteristics of succinic acid by predispersed solvent extraction, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **9**, 207-211.
13. Kim, B. S., Y. K. Hong, and W. H. Hong (2004), Predispersed solvent extraction of succinic acid aqueous solution by colloidal liquid aphrons in column, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **9**, 454-458.
14. Kim, B. S., Y. K. Hong, and W. H. Hong (2002), Effect of pH on the extraction characteristics of succinic acid and its stability of colloidal liquid aphrons, *Korean J. Chem. Eng.* **19**, 669-672.
15. Barton, A. F. M. (1983), CRC handbook of solubility parameters and other cohesion parameters, CRC press, Inc., Boca Raton, Florida.