

에탄올 발효의 선진기술

— 대체연료로서의
에탄올 생산 —



方 元 基

(고대 농대 농화학과 교수 · 이학박사)

■ 目 次 ■

- I. 머리말
- II. 재래적 에탄올 발효기술
- III. 새로운 에탄올 발효기술
- IV. 맺는 말

I. 머리말

1973년 제 1차 기름파동과 1979년 제 2차 기름파동을 겪으면서 전 세계는 다시 한 번 화석 연료의 경제적 측면과 매장량에 대해 심각하게 생각하게 되었다. 화석연료는 일반적으로 세 가지 장점을 가지고 있다. ① 천연 저장성이어서 손쉽게 에너르기로 사용할 수 있다. ② 일을 생성하기 위한 높은 열 용량을 지니거나, 열역학적인 효율을 지닌다. ③ 에너르기가 고밀도로 저장되어 있다.(23,300~55,900KJ/kg). 그러나, 화석연료는 두가지 극복할 수 없는 단점을 지닌다. ① 자원이 한정되어 있다. ② 화석연료의 사용에 의한 환경오염의 문제를 일으킨다. 석유의 궁극적인 가채연수는 앞으로 82년 정도로 추산하고 있다. 이와 같이 화석연료가 제한적이고, 환경오염의 원인이기 때문에 미래의 대체연료로서 제안된 것의 하나가 유기폐기물과 biomass의 연료로의 전환이었다. Biomass는 비화석 탄소로서 연속적으로 재생산이 가능하다. 이를 biomass는 광합성에 의해 생산되며 지구상에서 매년 $146 \pm 87 \times 10\text{tons}$ 의 탄소가 고정화되는 것으로 추산되고 있다. 상기의 유기폐기물이나 biomass는 생물학적 연료(biofuel)인 메탄가스나 에탄올 등으로 전환이 가능하다. 그러나 에탄올이 석유대체연료로써 가장 적당하다는 것은 다음과 같은 이유에서이다. ① 현존하는 기술로 생산되어 쉽게 이용할 수 있는 액체이다. 석유에서와 같이 연료로 이용되기 전에 가공이 필요없다. ② 재생 가능한 자원으로부터 생산되며 연료로서 뿐만 아니라 다른 화학물질의 생산에 사용이 가능하다. ③ 에탄올연료는 석유보다 깨끗이 연소하며, 환경오염을 일으키지 않는다. 또한 환경에 누출되었을 경우, 쉽게 미생물에 의해 파괴된다. ④ 에탄올은 다양한 천연자원으로부터 생산될 수 있다. 때문에 에탄올의 생산은

특정지역에 가장 알맞게 개발될 수 있다. ⑤ 농산폐기물로 부터 생산된 에탄올은 식품, 의약, 효소 등의 생산을 위해 미생물기질로 다시 사용될 수 있다. 특히 내연기관의 연료로서, 발효에탄올은 이미 브라질, 미국, 알젠틴, 필리핀에서 자동차연료로 실용화되어 있다. 브라질에서는 무수에탄올을 가솔린에 20% 섞어 쓰고 있으며(gasohol), 에탄올을 100% 이용하는 에탄올 자동차가 1985년 250만대 제조되었다. 미국에서도 에탄올은 옥탄가의 개량제로서, 또한 가솔린의 무연화를 더욱 추진하기 위해 옥수수로 부터 생산한 발효에탄올을 10% 혼합한 gasohol이 미중서부의 Corn belt 각 주에서 사용되고 있다.

발효법에 의한 에탄올생산은 그 동안 매우 다양하게 발전되어, 상품가치가 높은 에탄올 음료를 제조하는데 크게 기여해 왔다. 그러나 석유대체 연료로서 에탄올을 생산하는 경우에는 기존의 공정과 생산에 아직 기술혁신의 여지가 남아 있다. 예를 들면, 공정의 간소화, 공정의 에너르기 절약화, 수율 및 반응·속도의 향상 등이다. 본고에서는 먼저 재래의 에탄올 발효법을 간단히 기술하고, 새로이 개발되어 공업화 되었거나, 공업화를 위해 pilot plant 규모로 시험 중인 새로운 발효기술에 대해 기술하려 한다.

II. 재래적 에탄올 발효기술

에탄올 발효에 사용되는 기질은 대개 다음과 같이 4가지로 분류된다. ① 옥수수, 밀, 보리 및 다른 곡류로 부터 나온 곡류전분 ② 사탕수수, 사탕무우와 수수로 부터 나온 당류 ③ 페프제조나 식품가공 후에 부산물로 나오는 탄수화물을 지닌 아황산 페프액 및 유장 ④ 목재 및 농산물 폐기물로 부터 나온 섬유질, 이상의 발효기질 중 ④번의 섬유질을 제외하고

모든 기질이 현재 에탄올을 공업적으로 생산하는데 사용되고 있다.

1. 곡류전분으로 부터 에탄올 생산

곡류전분으로 부터 에탄올을 생산하는데는 다음과 같은 발효기술들이 사용되었다.

1) 밀기울Koji법

밀기울과 왕겨를 같은 양 섞어 증자한 것에 *Aspergillus oryzae* 또는 *A. usamii*를 번식시킨 후, 이를 고체Koji를 증자한 술덧에 5~10%(대전분)을 첨가하여 당화를 한다. 그 다음 효모를 접종하여 발효시키는 방법이다.

2) Amylo법

전분질원료의 증자술덧에 amylo균 (*Amylomyces rouxii*=*Mucor rouxii*)의 포자를 직접 접종한 후, 통기배양하여 전분을 당화시킨다. 다음에 효모를 접종하여 에탄올 발효시키는 방법이다.

3) Amylo·밀기울Koji절충법

*Aspergillus oryzae*의 밀기울Koji로 전분을 액화한 술덧에 amylo법의 술밑을 첨가하여 에탄올발효를 수행하는 방법이다.

4) 액체Koji법

밀기울고체Koji 대신 액침배양에 의한 액체Koji를 만들어 전분당화를 시키고 여기에 amylo법의 술밑을 가해 에탄올발효를 시킨다. 이 때 사용되는 균주는 *Aspergillus awamori*의 변종이다.

5) 세균amylase·액체Koji병용법

세균의 amylase (*Bacillus subtilis*)를 액체Koji에 첨가하여 전분의 당화를 가속화시킨 후 에탄올발효를 수행하는 방법이다.

6) 효소제 첨가법

전분을 당화하기 위해 *Rhizopus sp.*나 *Aspergillus sp.*에서 분리한 glucoamylase를 사용하는 방법으로 당화후, 에탄올발효를 수행한다.

2. 당 및 당밀로부터 에탄올 생산

당 및 당밀로부터 에탄올을 생산하는 데는 다음과 같은 발효기술들이 사용되어 왔다.

1) 회분식 발효

하나의 발효조에 효모의 영양분이 첨가된 당을 채워 효모를 접종한 후, 에탄올발효를 수행하는 가장 일반적인 방법이다.

2) 주기적 첨가발효

회분식발효에서 고농도의 당을 사용하는 경우, 효모가 고농도의 당에 의해 증식이 늦게되며 발효시간이 지연된다. 이를 피하고 에탄올의 수율을 높이기 위해 주기적으로 당을 첨가하면서 발효시키는 방법이다.

3) Melle-Boinet의 반연속발효

이 방법의 특징은 발효가 끝난 술로부터 원심분리기에 의해 효모를 다시 회수하여 사용하는 효모재사용 방법이다. 현재 브라질전역에 걸쳐 사용하고 있는 방법이다.

4) 다단연속교반발효

교반기가 달린 발효조를 2~3개 직렬로 나열하여 연속적으로 에탄올발효를 행하는 방법이다.

5) 탑형발효조에 의한 연속발효

1965년 APV사가 개발한 탑형 발효조로서, 화란의 맥주공장에서 맥주의 연속생산에 사용한 방법이다. 이 방법은 당밀이나 아황산필프폐액으로부터의 에탄올생산에 사용이 가능하다.

6) 연속감압발효

에탄올의 농도가 높으면 효모가 에탄올에 의해 저해를 받기 때문에 에탄올의 생산성과 증식율이 저하한다. 감압발효는 생성된 에탄올을 그대로 증류회수하고, 연속적으로 에탄올을 생성하는 방법이다.

그 외에 아황산필프폐액 및 유장으로부터 에탄올 생산은 상기 2 항에서 기술한 방법 중에

한가지 방법으로 에탄올생산이 가능하다.

III. 새로운 에탄올 발효기술

여기서 기술하는 에탄올 발효기술은 이미 공업화 되었거나, pilot plant 단계에 있는 것을 말한다. 때문에 아직 실험단계에 있는 섬유소 및 오탄당으로부터의 에탄올 생산은 제외되었다.

1. 고체 발효법 (solid phase fermentation)

1) Ex-Ferm process

Guatemala의 중남미 공업기술연구소에서 C. Rolz 등이 개발한 방법이다. 이 방법에서는 사탕수수가 에탄올을 생산하기 위해 사용된다. 재래적으로는 사탕수수로부터 당을 압축 또는 추출하여 발효하였지만, 이 새로운 방법에서는 추출과 발효를 동시에 수행하기 때문에 Ex Ferm process라고 한다. 깨끗이 쟁은 사탕수수의 줄기로부터 잎을 제거한 후, wood chipper로 사탕수수의 줄기를 0.5~2.2cm의 크기로 잘라 chip 혹은 bead 형태로 만든다. 이들 chip 혹은 bead는 그대로 에탄올 생산에 사용될 수 있거나, 또는 건조한 후 저장하면서 사용할 수도 있다. 에탄올 발효조에 이들 chip 혹은 bead를 넣어준 다음 사탕수수와 물의 비가 약 1:1.4의 중량비가 되도록 끓는 물을 주입한다. 이렇게 함으로써 살균효과를 기대할 수 있기 때문이다. 그 다음 발효조를 30°C로 냉각한 후 효모를 접종한다. 발효조에서 당분이 사탕수수의 조직으로부터 추출됨에 따라 발효가 진행된다. 당의 회석율이 높은 경우에는 6~7 시간, 또 회석율이 낮은 경우에는 24시간으로 발효가 종료된다. 발효종료후 사탕수수의 chip과 bead는 압착되어 제거되고, 이때 나온

착즙과 에탄올은 다시 발효조로 반송된다. 이 때 새로운 chip과 bead가 첨가되어 2 번째 발효가 진행된다. 이와 같은 조작을 3 회 반복하는 것에 의해 최종 에탄올 농도는 7g/100mℓ 가 된다. 이 방법의 장점은 다음과 같다.

① 발효의 최종단계에서 당농도가 저하하기 때문에 당분의 추출이 완전히 이루어진다. 또한 생성된 에탄올이 사탕수수의 조직세포에 침투하여 조직을 파괴시키기 때문에 당의 추출을 쉽게 한다.

② 당밀과 사탕수수의 즙을 발효할 때는 영양물질로서 무기질소를 첨가해야하나, 이 방법에서는 효모가 지닌 단백질분해 효소의 작용으로 사탕수수내의 유기질소의 이용이 가능하다.

이상의 방법으로 사탕수수가 지닌 당의 99% 이상이 발효된다.

2) CSIRO법

Australia의 연방과학공업연구소 (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization)에서 K. D. Kirby 및 G. J. Mardor가 개발한 방법으로, 사탕무우를 원료로 하는 에탄올 발효법이다. 재래적으로는 사탕무우를 제단기로 2~3mm 두께로 잘라 60~80°C의 물에서 당을 추출하여 약 12% (중량)의 당액을 얻어 발효하였기 때문에 발효종료 후의 에탄올 농도는 6%정도 이었다.

CSIRO 법에서는 먼저 사탕무우를 기계적으로 펄프화하여 약 3mm의 입방체로 만든다. 그 다음 1M의 황산을 가해 pH를 4.5로 조정하고, 이 펄프에 10% (중량)의 압착 뼁효모 혼란액을 가한다. 그 다음 충분히 교반해 가면서 25~30°C에서 발효시킨다. 약 10~16시간 후에 펄프를 압착하여 섬유를 제거하고, 효모의 대부분을 함유하는 액은 원심분리한다. 이때 분리한 효모는 다음의 발효에 재사용하나 필요한 경우에는 새로운 효모를 첨가한다. 발효가 끝난 후에 에탄올의 농도는 약 9.5%이다. 이

방법의 장점은 당추출장치가 불필요하므로 설비비가 현저히 경감된다. 또한 담금수가 적어 발효조의 용량이 적고, 에탄올의 농도가 높아 에너지 값도 적게 듈다.

3) 무증자 발효법

종래 전분질 원료를 사용하여 에탄올을 생산할 때는 전분의 증자는 전분의 당화를 위해 필수적이었다. 이와 같은 증자과정은 전분의 종류에 따라 다르기는 하지만, 에탄올 발효에 투입되는 총 에네르기의 20~30%를 차지한다. 발효공정 중에 소모되는 에네르기를 절약하기 위해 최근 무증자 발효법이 개발되어 공업화 되었다. N. Matsumoto 등은 옥수수를 건식 분쇄기로 분쇄하여 입경이 350μm 보다 큰 것이 약 60%가 되게 하였다.

이와 같이 분쇄된 옥수수에 증류잔액을 지닌 담금수를 1:2의 중량비를 가해 혼합한 후, 즉시 당화효소제 (Rhizopus로부터 만든 효소제로 protease, cellulase 및 pectinase가 함유되어 있다)를 첨가하여, 교반해 가면서 미리 효모가 배양되어 있는 발효조로 보낸다. 이 때 발효온도는 26~32°C였으며 96시간 후 최종 에탄올 농도는 14.5% (v/v) 이었다.

2. 고정화 증식균체에 의한 에탄올 발효

발효공업에 있어서 원하는 물질을 대량으로 생산하기 위해서는 설비비 및 작업비를 경감시키는 연속발효가 유리한 것으로 생각되어 왔다. 에탄올을 연속적으로 생산하기 위하여 고안된 기술중의 하나가 고정화 증식균체에 의한 에탄올 발효법이다. 고정화 증식균체에 의한 에탄올 발효의 장점을 검토해 보면 다음과 같다. ① 반응조내의 균체농도가 다른 방법(회분식발효, 균체재순환발효, 생균체연속발효) 보다 높다. 때문에 에탄올생성속도를 증가시키는 것이 가

능하다. ② 생균체의 연속발효에서 문제가 되는 균체의 wash out가 없다. ③ 희석율을 높임으로써, 또는 높은 균체농도 때문에 잡균오염을 방지할 수 있다. ④ 균체가 고분자의 젤내에 포획되어 있어 협기상태이기 때문에 고수율의 에탄올 생산성을 기대할 수 있다. 이상의 장점은 설비를 간소화하고, 작업요원을 감소시키는 등의 경제적 효과가 있다. 그러므로 최근에 새로운 담체의 개발 및 효모 혹은 세균의 고정화에 대한 연구가 대단히 많이 수행되었다. 일본에서는 고정화 생균체에 의한 에탄올 생산을 공업화하기 위해 다수의 기업이 pilot plant 규모로 에탄올 생산을 시험하고 있다. 현재 일본의 三樂ocean주식회사에서 가동하고 있는 pilot plant (150ℓ 용반응기 - 3개 연속) 생산규모를 보면 다음과 같다. 효모를 광경화성 수지 ENTG-3800에 막상으로 고정화시켜 탑형반응조를 만들었다. 이 반응조에 당밀희석액(당농도 20%)을 연속적으로 공급하여 3,800시간 이상 에탄올을 생산하였다. 이때 에탄올의 함량은 10~10.5% (v/v) 이었다. 고정화 증식균체에 의한 에탄올 생산이 아직 공업화되지 않은 것은 다음과 같은 문제점이 있기 때문인 것으로 생각된다.

① 최종 에탄올 농도가 기존 발효기술에 비해 낮다(10% v/v 정도). 종류에네르기가 기존기술에 비해 더욱 소요된다. ② 장기간 연속 사용으로 에탄올에 의한 고정화 균체의 사멸이 있다. ③ 상온에서 장시간 당이 공급되기 때문에 잡균이 오염된다. 앞으로 이상과 같은 몇 가지 문제가 효과적으로 해결된다면, 고정화 증식균체에 의한 연속 에탄올생산은 곧 공업화될 전망이다.

3. 세균에 의한 에탄올발효

1928년 P. Lindner에 의해 멕시코 전통주인

Pulque로부터 최초로 에탄올을 생산하는 세균이 분리되어 *Thermobacterium mobile* 이라 명명되었다. 현재는 이 균이 *Zymomonas mobilis*로 불리워진다. 1952년 당대사경로인 Entner-Doudoroff 경로가 밝혀짐에 따라, 후에 *Z. mobilis*도 이 대사경로에 따라 에탄올이 생산되는 것이 확인되었다(Fig. 1). 기존의 에탄

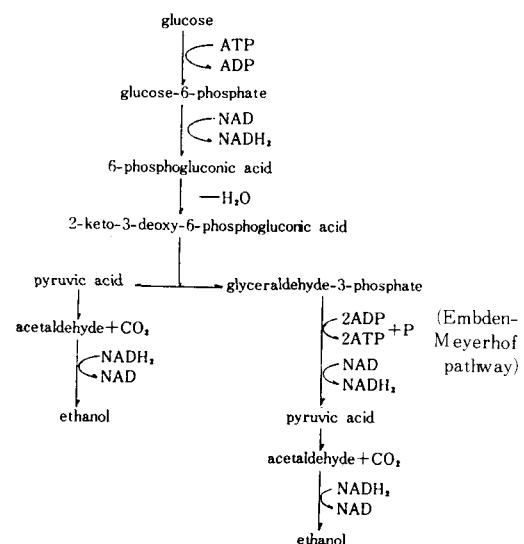
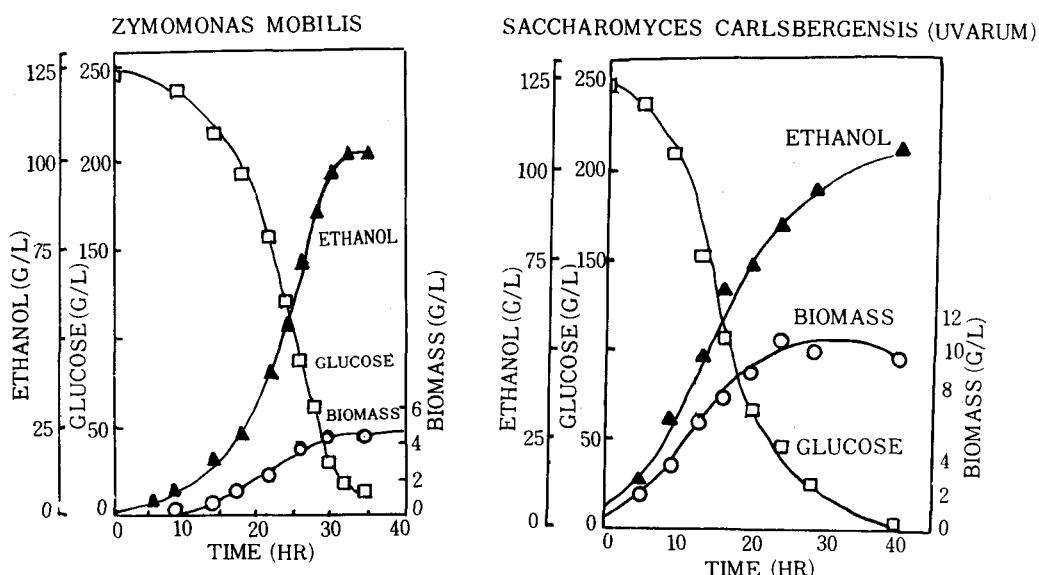


Fig. 1. Ethanol production pathway by *Zymomonas mobilis*

을 생산에 사용되어 온 효모 *Saccharomyces sp.*와 *Z. mobilis*에 의한 에탄올생산능을 비교해 보면 (Tab. 1), *Z. mobilis*에서는 에탄올생산이 1.9M을 초과하며, 이론치의 96~97%에 달한다. 효모로 얻어지는 값보다 매우 높다. 더우기 이 수치는 포도당의 농도가 10~20%의 경우이며, 25%로 되면 다소 생성율은 낮아지나 92.5%이다. 이것에 비해 *Saccharomyces carlsbergensis*의 경우에는 25%의 당농도에서 에탄올의 생성율은 86%이었다. 생성되는 균체량도 양자간에는 현저한 차이가 있어 (Fig. 2) 세균에 있어서 생성균체량은 효모의 경우의 반이하이다. 이와 같은 것은 에탄올 생성경로가

Table 1. Kinetic Parameters for *Z. mobilis* and *S. Carlsbergensis*

	<i>Z. mobilis</i>				<i>S. Carlsbergensis</i>
	10	15	20	25	25
• Glucose conc (%)					
Specific growth rate μ (h^{-1})	0.212	0.165	0.146	0.133	0.055
Specific ethanol production rate q_p (g/g/h)	2.50	2.52	2.49	2.53	0.87
Specific glucose uptake rate q_s (g/g/h)	5.47	5.22	5.15	5.45	2.05
Cell Yield Y (g/g)	0.038	0.036	0.028	0.019	0.033
Ethanol yield $Y_{p/s}$ (g/g)	0.491	0.490	0.496	0.472	0.438
Relative ethanol yield (%)	96.3	96.1	97.2	92.5	85.9

Fig. 2. Growth and ethanol production curves of *Z. mobilis* and *S. carlsbergensis*

달라 생성ATP량의 차이에 의한 것이지만, 생성균체가 반 이하이면서 효모의 경우와 같이 30~40시간에 발효를 끝내며 거의 동량의 에탄올을 생성한다는 것은 단위균체당 대사속도, 에탄올의 생산속도가 세균의 경우에 효모보다 훨씬 크다. 이와 같은 사실을 Tab. 1에서 보면 세균은 효모보다 2~3 배 크다. 그러나 이 수치는 작은 편이며 1980년 B.H. Lavers등의 발표에 의하면 (Tab. 2), 당의 대사속도는 *Z. mobilis* 경우 10.5g/g/h이고 *S. cerevisiae*의 경

Table 2. Kinetic parameters for *Z. mobilis* and *S. cerevisiae*

	<i>Z. mobilis</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Glucose conc(%)	10	10
Specific growth rate μ (h^{-1})	0.43	0.35
Specific ethanol production rate q_p (g/g/h)	5.67	0.67
Specific glucose uptake rate q_s (g/g/h)	10.5	1.75

우는 1.75g/g/h 이었다. 에탄을 생산속도는 세균에 있어서는 5.67g/g/h 이었으며, 효모에서는 0.67g/g/h 이었다. *Z. mobilis*을 사용하여 에탄올을 생산시, 상기에서와 같은 장점과 다른 장점을 요약해 보면 다음과 같다. ① 당대사속도와 에탄을 생산속도가 빠르다. ② 소비당에 대한 에탄을 수율이 높다. ③ 연속배양에서 균체를 재사용하면 극히 큰 에탄을 생산성을 얻을 수 있다. ④ 효모에서와 같이 산소공급이 필요없어 배양이 간단하다. ⑤ 보다 높은 온도에서 발효가 가능하다. ⑥ 에탄을 내성은 우세하지 않지만, 보다 강한 내성을 지닌 변이주를 얻는 것이 가능하다. ⑦ 유전자 조작에 의해 탄소원의 범위 확대는 다양한 균의 개량을 생각할 수 있다. 이와 같은 이유로 세균 *Z. mobilis*에 의한 에탄을 생산은 많은 연구자들의 관심을 끌었으며, 또한 실험실적 규모로 연속적으로 에탄올을 생산하는 것도 발표되었다. C. Rogers 등에 의하면 *Z. mobilis*의 균체농도를 38g/l 로 하고, 100g/l 의 포도당을 회석율 2.7h^{-1} 로 공급하면서 에탄올을 연속생산할 때 에탄을 생산성이 120g/l/h 이었다. 이 수치는 효모를 이용하였을 때의 최고 생산치인 $30\sim40\text{g/l/h}$ 보다 매우 큰 것이었다. 최근 서독 율리히 국립 원자력 연구소의 생물공학 연구소에서 H. Sahm 등은 *Z. mobilis*에 의한 에탄을 생산을 연구하여 공업화 시키는데 성공하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 135g/l 의 포도당을 지닌 배지를 회석율 0.07h^{-1} 로 900시간 이상 계속 공급하였을 때, 약 64g/l 의 에탄올이 연속적으로 생산되었다. 이 때 사용한 발효조는 연속교반 발효조이었다 (Fig. 4). 이 같은 실험결과는 그대로 서독의 포도당 제조공장인 Pfeifer and Langen회사로 옮겨져 공업화되었다. 이 회사에서 사용하는 에탄을 발효공정 flow-sheet를 보면 Fig. 5와 같다. 여기서 사용하는 발효조는 70m^3 용이며, 120g/l 의 포

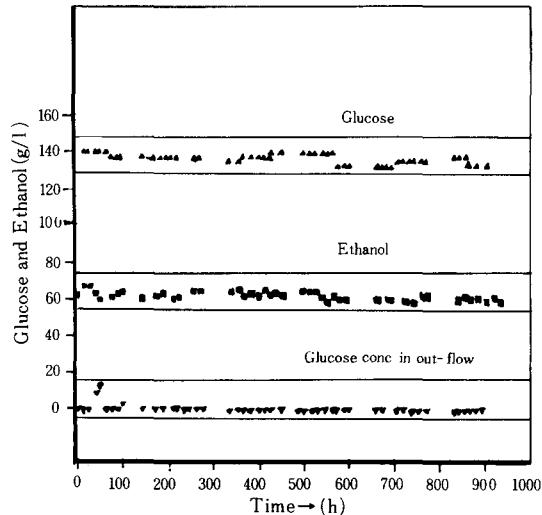


Fig. 3. Continuous ethanol production by *Z. mobilis* (Dilution rate; 0.07h^{-1})

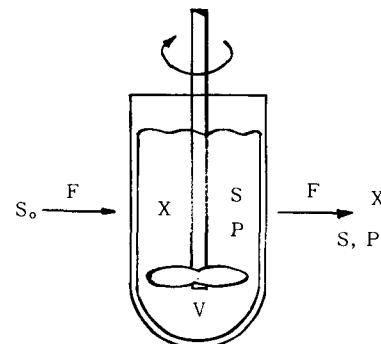


Fig. 4. Continuous stirred tank reactor

S_0 : Substrate conc. in flow in

S : Substrate conc. in out flow

X : Cell mass in reactor and out flow

F : Flow rate

V : Reactor volume

도당을 회석율 $0.06\sim0.08\text{h}^{-1}$ 로 계속 공급하였을 때, 포도당의 99%가 에탄올로 전환된다. 이 때 에탄올의 생산성은 $3.5\sim4.5\text{g/l/h}$ 이다. 이 공장은 매일 96% 에탄올로 $10,000\text{l}$ 의 에탄올을 생산하고 있다. 또한 이 공정 (Fig. 5)

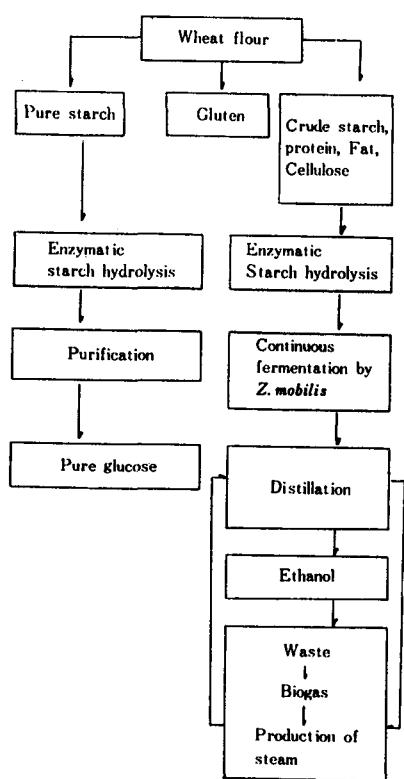


Fig. 5. Flow sheet of industrial ethanol production from wheat flour

에서 특기할 만한 것은 발효폐기물을 그대로 biogas로 전환하여 에탄올의 증류에너르기를 사용하는 점이다.

IV. 맷 는 말

이상에서 기술한 바와 같이 에탄올을 생산하는 기술은 다양하다. 우리나라로 선진공업국이 됨에 따라 점점 에너르기의 소비량이 증가하고 있다. 또한 최근의 국내 자동차산업의 급격한 성장은 더욱 많은 에너르기를 요구하고 있는 실정이다. 다른 나라에서와 같이 국내의 주류업계나 발효업계는 21세기를 준비하는 각으로 대체에너르기를 신중히 검토할 시기이다. 몇몇 국가를 제외하고 각 국가마다 biomass의 생산에 제약이 있어 경제적으로 대체에너르기

를 생산하기가 어려운 점도 있으나 값이 싼 섬유질이나 오탄당(주로 xylose) 등으로부터 효율적으로 에탄올을 생산할 수 있다면 자원문제에 있어서 비관적인 것만은 아닌 것으로 생각된다. 앞으로 각 회사의 연구소마다 대체에너르기로써의 에탄올에 대해 철저한 조사가 있기를 바라고, 동시에 실험연구에 많은 투자가 있기를 바라는 마음 간절하다.

参考文献

1. N. Kosaric et al; *Adv. in Appl. Microbiol.* 26, 147 (1980)
2. 日本農藝化學會編集：バイオマス，朝倉書店 (1985)
3. 花井四郎：*醸酵と工業* 39, 627 (1981)
4. N. Kosaric et al : *Biotechnology* 3 ,H. J. Rehm and G. Reed ed. 255 (1983)
5. C. Roly et al: *Biotechnol. Bioeng* 21, 2347 (1979)
6. K. D. Kirby and C. J. Mardon: *Biotechnol, Bioeng.* 22, 2425 (1980)
7. N. Matsumoto et al (1982) : *Agri Biol, Chem.* 46, 1549 (1982)
8. ハホ佳明：*醸酵と工業*, 41, 728 (1983)
9. 前田英勝：*醸酵と工業*, 39, 796 (1981)
10. Rogers et al: *Adv. Biochem. Eng.* 23, 37 (1982)
11. Rogers et al: *Biotechnology Letters*, 1, 165 (1979)
12. B. H. Lavers et al: *VIIth International Ferm. Symp.* London, Ontario (1980)
13. H. Sahm and S. Bringer-Meyer: *Proceedings of the Symp on Alcohol Ferm and Plant Cell Culture*, Helsinki, 4, 121 (1986)
14. KFA Bericht: *Biotechnologie, Mikrobiologie* (1987)