

*K. fragilis*에 의한 돼지감자의 에탄올 발효에 관한 연구

허병기 · 유진선 · 양지원
인하대학교 공과대학 생물공학과, *화학공학과
**한국과학기술대학 화학공학과

Ethanol Fermentation by *K. fragilis* from Jerusalem Artichoke

Byung Ki Hur, Jin Seon Yu*and** Ji Won Yang,
Department of Biological Engineering, *Chemical Engineering
Inha University
*Department of chemical Engineering Korea Institute of Technology,

ABSTRACT

Fermentation characteristics of Jerusalem Artichoke of yeast *K. fragilis* CBS 1555 were investigated experimentally and quantitatively according to the change of initial sugar concentrations and initial PHs of fermentation broth. Initial sugar concentrations employed were 26, 45, 65, 105, 180, and 215g/l. And initial PHs of fermentation broth were 3, 5.5, 7 and 9. The maximum specific growth rate was observed as 0.4hr⁻¹ at 65g/l of initial sugar concentration. The maximum specific alcohol production rate was 1.68g/g·hr at 105g/l of initial sugar concentration. Cell yield and ethanol yield represent the maximum values such as 0.14 and 0.49 respectively when the initial sugar concentration was 25g/l. The maximum of ethanol fermentability, 97% was obtained at the initial concentrations, 26 and 45g/l. However, the maximum of total ethanol yield productivity was 2.78g/l·hr when the initial concentration was 215g/l. And also the optimum PH was found 5.5 for both specific growth rate and specific alcohol production rate.

서 론

태양에너지는 매분 1내지 1.9cal/cm²(1)의 비율로 지구 상에 조사되며 그 양은 연간 7.2×10²⁰Kcal에 이른다. 이 중 약 1000분의 1이 광합성에 의하여 고정되어 약 15~20×10¹⁰ 톤의 바이오매스가 생성된다(2). 바이오매스를 대별하면 미생물이 에너지를 고정하여 생산하는 단세포계 바이오매스, 수목류·초목류 및 작물류로 구성되는 육생계 바이오매스, 녹조·갈조·홍조류등의 수생계 바이오매스, 인축에 의한 배설물 또는 도시에서 발생하는 쓰레기등의 잔류성 바이오매스가 있다. 그러나 대체에너지원으로 중요시되는 자원은 육생계 바이오매스이다. 특히

재배에 의하여 생산되는 바이오매스는 공업용, 사료용, 식용 및 대체에너지원으로서 그 중요성이 날로 증가되고 있다.

바이오매스는 발효, 혐기성소화, 생물학적 광분해, 연소등의 방법에 의하여 에탄올, 메탄올, 메탄, 고체들의 연료로 전환되어 에너지로 활용되고 있으며 이중 에탄올은 석유에너지를 이용하는 내연기관에 적합하다. 에탄올은 전분, 이눌린, 당질을 발효하여 생산하고 있다. 전분질을 함유하는 작물로는 고구마, 감자, 쌀, 보리, 옥수수등이 있으나 원료가격이 너무 고가라는 큰 단점은 가지고 있다. 당질원료로 가장 흔한 썬루오스는 가수분해 후 알콜발효를 해야 하는등 그 공정이 아직 경제적이지 아니라는 단점을 내포하고 있다. 광합성 효율, 재배의

경제성 및 알콜생산의 용이성들을 고려하여볼때 돼지감자가 알콜발효에 적합한 작물이라는 연구결과가 발표되어 있다(3, 4).

돼지감자의 조성은 품종이나 재배조건, 수확시기, 저장상태등에 따라 다르기는 하나 Table 1(5)과 같다. 성분중의 이눌린은 과당(3-D-fructofuranose)이 β -1, 2결합으로 연결된 중합체로서 다당류의 일종이다(6).

Table 1. Components of Jerusalem Artichoke.

COMPONENT	CONTENT(%)
Moisture	79.74
Inulin	17.00
Protein	1.76
Ash	1.25
Lipid	0.24

돼지감자를 원료로한 알콜생상공정은 i) 탄수화물인 이눌린을 미생물 또는 미생물이 분비하는 효소에 의하여 가수분해시켜 얻은 과당을 효모에 의하여 알콜발효하는 공정(7,8,9), ii) 이눌린을 산 가수분해시킨 후 효모에 의하여 알콜발효하는 공정(10), iii) 이눌린 분해효소와 알콜발효효소를 동시에 생산하는 미생물에 의한 알콜발효공정(11,12)으로 분류할 수 있다.

세번째 공정에 사용되는 균주에는 *Kluyveromyces marxianus* 또는 *Kluyveromyces fragilis*가 있으며, 각 균주에 대한 알콜생성경향, 균체생성경향 및 pH, 온도등의 변수가 반응특성에 미치는 영향에 대한 연구가 주종을 이루고 있다(13~16). 그러나 아직 이들 균주에 대한 반응특성을 조성인자(기질의 농도, 생성물의 농도)와 환경인자(온도, pH등)의 함수관계로 체계화하는데 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 위의 사항을 고려하여 균주 *K. fragilis*의 돼지감자 발효에 대한 반응특성치를 기질의 농도, 알콜의 농도 및 pH의 함수로 체계화하여 *K. fragilis*를 사용한 돼지감자의 알콜발효공정설계에 관한 몇가지 기초자료를 얻고자 하였다.

실험재료 및 방법

균주

본 실험에서 사용한 균주는 타균주에 비하여 알콜발효능이 높은 것으로 보고된 *kluyveromyces fragilis* CBS 1555(17)를 사용하였다. 접종용 균주는 YM배지를 사

용, 35°C에서 24시간 진탕배양하여 이용하였다. Table 2는 본 실험에 사용한 YM배지의 조성을 나타내고 있다.

Table 2. Components of culture medium

Component	Content (g/l)
Glucose	40
Fructose	10
Yeast Extract	3
Malt extract	3
Peptone	5

발효기질

본 실험에서는 돼지감자 착즙을 알콜발효의 기질로 사용하였다. 괴경기 전 처리 방법으로는 여러가지가 발표되어 있으나(13,14,15,18,19), 본 실험에서는 괴경을 깨끗이 세척한 후 121°C의 Autoclave에서 1시간 정도 증자한 후 착즙하였다. 이때 착즙은 각 종 부유물이 존재하므로 4,000 rpm으로 30분동안 원심분리시켜 얻은 상등액을 본 실험에 사용하였다. 이 경우 착즙의 농도는 100배지 150g/l 정도였다.

실험장치 및 운전조건

돼지감자의 알콜발효실험은 진탕배양기를 이용하였으며, 반응온도는 35°C, 분당 왕복회전수는 110으로 하였다.

총당의 분석

총당은 Anthrone법(20)을 사용하여 분석하였으며, 분석방법은 다음과 같다. 발효시작 후 일정시간마다 발효액을 채취하여 효모를 원심분리시킨후 얻은 상등액을 당농도가 10배지 40 μ g/ml의 범위에 있도록 희석한다. 희석액 1.9ml을 시험관에 넣고 열음중탕 내에서 액의 온도를 2배지 4°C로 유지시키면서 Anthrone시약 4.1ml을 천천히 가하여 시료를 만든다. 제조된 시료를 95°C항온수조에서 10분간 가열한 다음 즉시 실온으로 냉각시킨후 분광광도계(Shimadzu, UV-120-02)를 사용하여 620nm에서 흡광도를 측정하고 표준당농도곡선 Fig. 1로부터 총당의 농도를 구하였다.

알콜농도분석

알콜농도는 Gas Chromatography (Shimadzu, GCR1A;TCA)를 사용하였고 iso-propanol을 Standard로

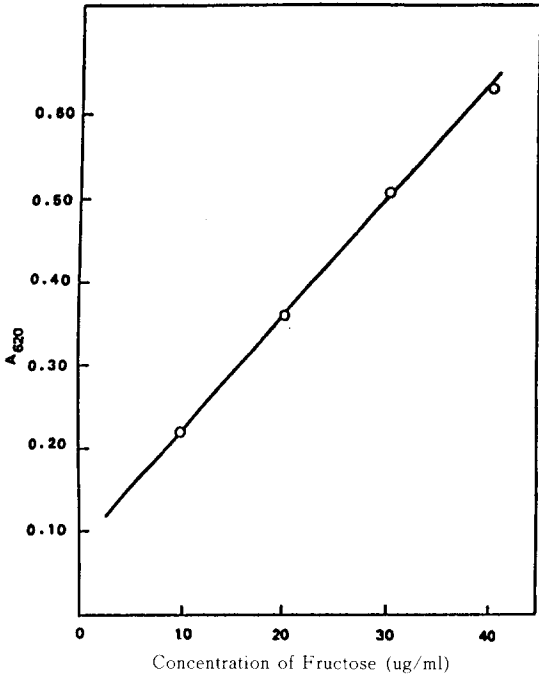


Fig. 1. Calibration curve for determining total sugar by Anthrone test.

시료에 첨가하여 분석하였다. 5 μ l Syringe를 사용하였으며 주입량은 1 μ l로 하였다. Table 3는 알콜분석을 위한 Gas Chromatography의 운전조건을 나타내고 있다.

Table 3. Operation Conditions of TCD gas Chromatography.

Column	1/8 inch stainless steel tube, 4 ft length packing material : Porapak Q 80 -- 100 mesh	
Carrier gas	Helium	30 ml/min
Temperature	Oven	150°C
Control	Injector	170°C
	Detector	170°C
Sensitivity	Attenuation	16

균체량 측정

발효액을 시험관에 넣고 4,000rpm에서 30분동안 원심분리하고 상등액을 제거한 후 얻은 효모를 3회 세척한후 105°C로 유지된 건조기에서 24시간 이상 건조하면서 무

게를 측정하여 시간에 따른 무게의 변화가 멎을때 량을 균체량으로 하였다

pH 측정

발효액의 pH는 효모를 원심분리 시킨 후 얻은 상등액을 이용하여 측정하였으며 이때 사용한 pH meter는 Corning-120이었다.

초기 당농도의 영향

균주를 삼각플라스크 내의 YM배지에 접종한후 진탕 배양기를 이용하여 35°C, pH5.5에서 24시간 동안 배양한 후 알콜발효를 위하여 준비된 삼각플라스크 내의 기질에 접종시켰다. 이때 접종용 균주액은 15%(v/v)가 되도록 하였다. 기질의 초기 농도변화에 따른 균주의 발효특성을 규명하기 위하여 이용된 기질의 농도는 26, 45, 65, 105, 145, 180 및 215g/l이었으며, 35°, pH5.5에서 총 52시간 동안 발효시켰다.

각기질의 농도에서 발효시간에 따른 알콜생성량, 균체 생성량, 기질의 감소량을 측정하기 위하여 발효시작후 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 28, 30, 44, 52시간마다 시료를 채취하여 각 시료의 알콜, 균체 및 기질의 농도를 G.C, U.V, 건조기를 사용하여 측정하였다.

초기 pH의 영향

기질의 초기pH가 발효특성에 미치는 영향을 규명하기 위하여 기질의 당농도들 65, 75 및 95g/l로 하고 각 기질에 대한 초기pH값을 3, 5.5, 7 및 9로 고정시킨후 온도 35°C에서 총 52시간동안 발효시키면서 시간에 따른 pH의 변화, 알콜, 균체 및 기질의 변화량을 측정하였다.

결과 및 고찰

Kinetic parameter의 계산

본 연구에서 고찰한 Kinetic parameter는 비성장속도, 알콜의 비생성속도, 균체수율, 에탄올수율, 에탄올발효 등, 총괄에탄올생성물등이 있으며, 다음과 같은 방법에 의하여 계산하였다.

비성장속도(Specific growth rate, μ)는 대수기에서 발효시간에 대한 균체량의 변화량을 측정하여 (1)식에 의하여 계산하였고, 전 구간에 대하여는 식(2)에 의하여 계산하였다.

$$\mu = \frac{1}{t} \ln \frac{X^2}{X^1} \dots\dots\dots (1)$$

$$\mu = \frac{1}{x} \frac{dX}{dt} \dots\dots\dots (2)$$

위식에서,

μ : Specific growth rate(hr⁻¹)

X: Cell mass(g/l)

알콜비생성속도(Specific ethanol production rate, V)는 대수기에서의 알콜비생성속도는 (3)식에 의하여 계산하였고, 전 구간에 대하여서는 식(4)에 의하여 계산하였다.

$$q_p = \frac{1}{X} \frac{\Delta p}{\Delta t} \dots\dots\dots (3)$$

$$U = \frac{1}{X} \frac{dp}{dt} \dots\dots\dots (4)$$

위식에서 g_p 는 대수기에서의 알콜비생성속도, Δp , Δt 는 대수기에서의 알콜농도변화 시간변화등을 나타내며, y 는 임의의 발효시간에서의 알콜비생성속도를 의미한다.

균체수율(Cell mass yield)은 균체량의 농도가 최대인 점에서 소모된 기질에 대한 생성된 균체량의 비로 정의되는 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$Y_{x/s} = - \frac{\Delta X}{\Delta S} \dots\dots\dots (5)$$

위식에서 $Y_{x/s}$ 는 균체수율, Δx 는 균체의 생성량, Δs 는 기질의 소모량을 나타낸다.

에탄올 수율(Ethanol yield)은 알콜의 농도가 최대인 점에서 소모된 기질에 대한 생성된 알콜량의 비로 정의되는 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \dots\dots\dots (6)$$

위식에서 $Y_{p/s}$ 는 에탄올수율, Δp 는 알콜생성량, Δs 는 기질의 소모량을 의미한다.

에탄올발효능 (Ethanol Fermentibility)은 총당에 대한 알콜로 전환된 당의 비로 정의되는 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$F = \frac{S_e}{S_T} \times 100 \dots\dots\dots (7)$$

위식에서 F는 에탄올발효능, S_e 는 에탄올로 전환된 당, S_T 는 총당을 나타낸다.

총괄에탄올생성율(Overall ethanol yield productivity, Q)은 발효기간 중 알콜농도가 최대인 점에서의 알콜생성량과 소요된 시간의 비로 다음 식에 따라 계산하였다.

$$Q = \frac{P_{max}}{t} \dots\dots\dots (8)$$

위식에서 Q는 총괄에탄올생성율, P_{max} 는 알콜의 최대생성량, t 는 시간을 의미한다.

기질의 초기농도가 발효특성에 미치는 영향

Fig. 2와 Fig. 3은 초기 당농도가 26, 45, 65, 105, 145, 180, 215g/l인 경우에 발효시간에 따른 총당, 알콜, 균체량 및 pH의 변화량을 나타내고 있다. 이들 실험결과로부터 앞절의 발효 특성치를 계산하면 Table 4와 같은 결과를 얻게 된다.

실험결과에 의하면 비성장속도의 최대값은 기질의 초기 농도가 65g/l일때 0.40hr⁻¹로써 가장 큰 값을 나타내었으며 당농도의 증가에 따라서 그 값이 감소하는 경향을 나타내었다. Fig. 4는 초기 당농도의 변화에 따른 최대 비성장속도의 변화 경향과 알콜의 비생성속도 변화 경향을 도시한 것이다. 본 연구의 결과에 의하면 *K. Fragilis*의 비성장속도는 초기 당농도 65g/l까지는 기질의 저해영향을 받지 않으나 그 이상에서는 기질의 저해영향이 있음

Table 4. Kinetic parameters of *K. fragilis* according to initial

parameters							
initial sugar concentration	μ_{max}	qp(V)	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$	Y	F	Q
26 g/l	0.29	1.35	0.14	0.49	96	97	1.54
45 g/l	0.38	1.51	0.11	0.42	82	97	1.34
65 g/l	0.40	1.43	0.096	0.48	94	90	1.11
105 g/l	0.34	1.68	0.06	0.42	82	94	2.22
145 g/l	0.25	1.39	0.06	0.40	78	94	2.69
180 g/l	0.25	1.54	0.05	0.42	82	93	2.51
215 g/l	0.13	1.29	0.04	0.40	78	93	2.78

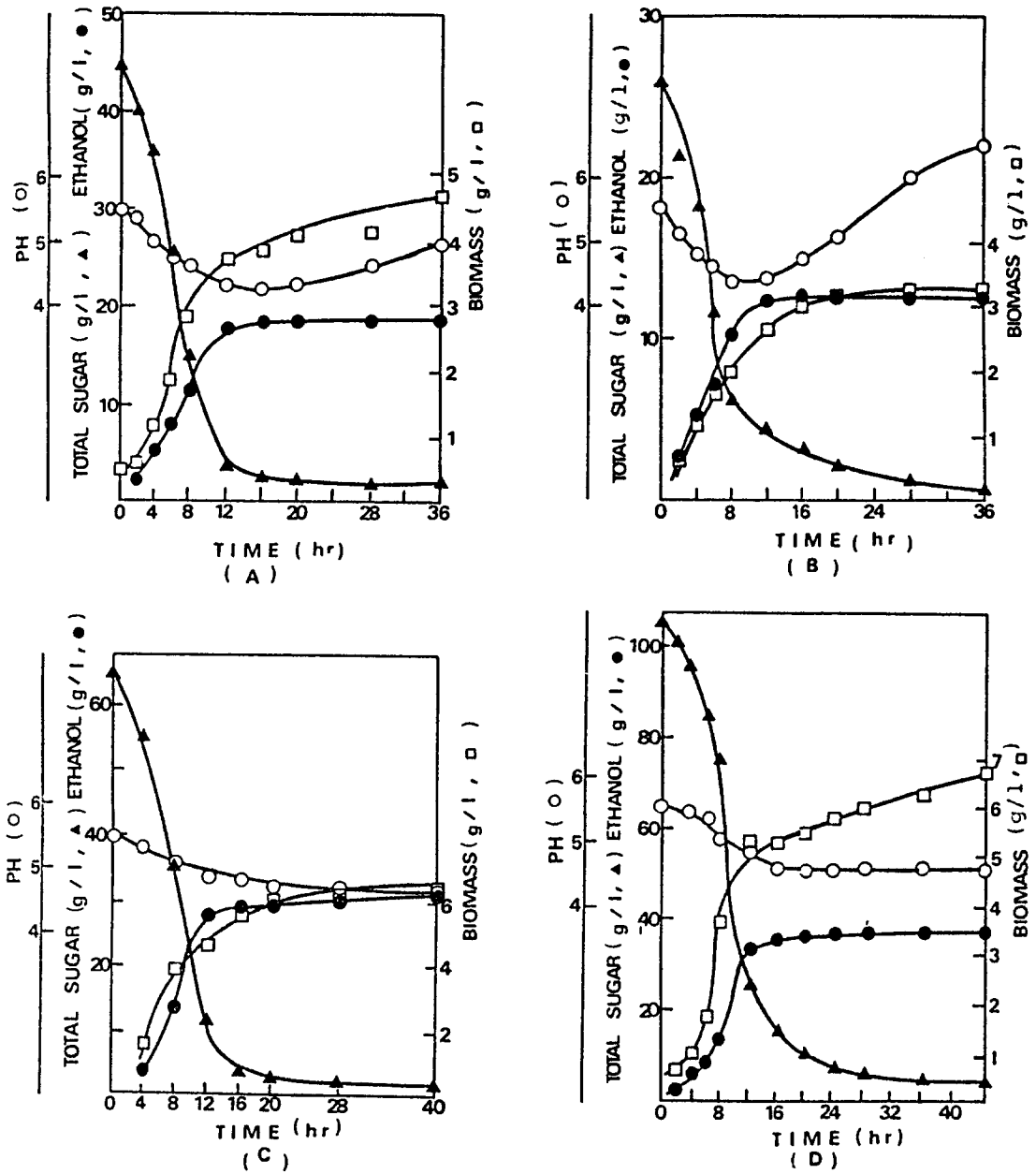


Fig. 2. Batch fermentation of *K. fragilis* on Jerusalem Artichoke Juice containing; (A)=26, (B)=45, (C)=65, (D)=105g/l total sugar.

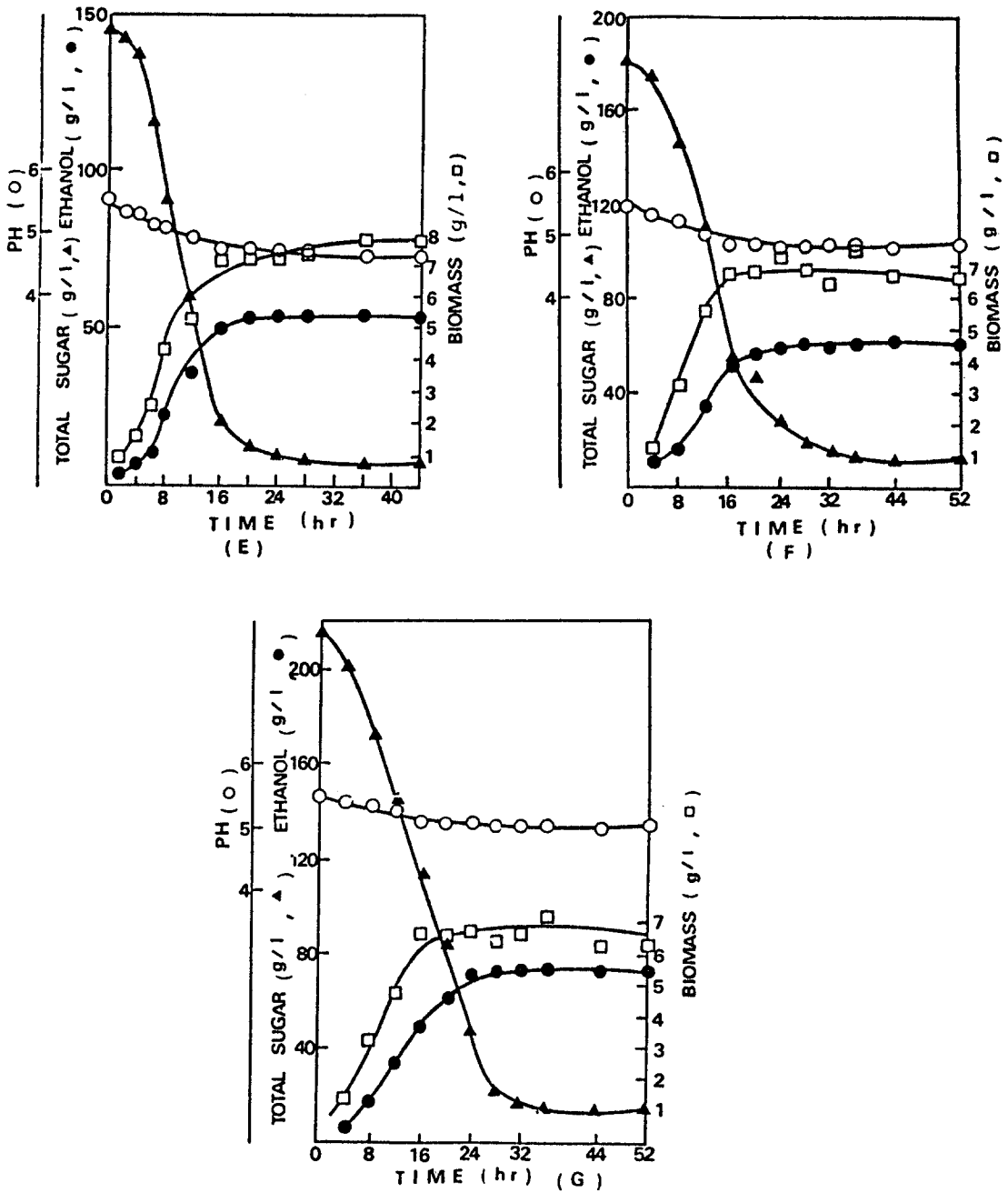


Fig. 3. Batch fermentation of *K.fragilis* on Jerusalem Artichoke Juice containing; (E)=145, (F)=180, (G)=215g/l total sugar.

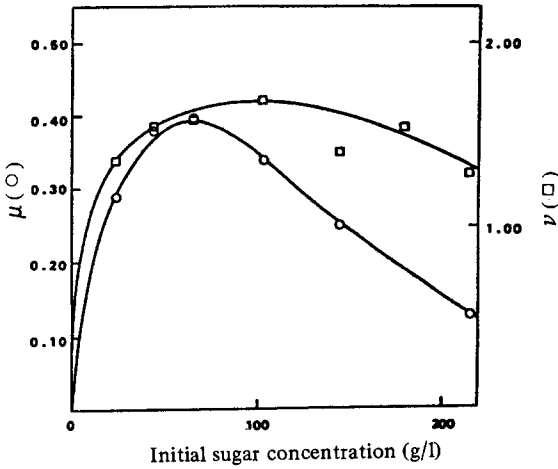


Fig. 4. Variation of kinetic parameters μ, ν with initial sugar concentration.

을 알 수 있었다. 효모인 경우 대부분 당농도가 100g/l이상이 되면 기질의 저해영향이 나타나며, 175g/l이상이면 균체 성장에 많은 지장을 초래하는 것으로 보고되어 있다 (21).

알콜의 최대 비생성속도는 초기 당농도가 105g/l일때 1.68g/g·hr로서 가장 높은 값이었다. μ_{max} 에 대한 초기 당농도와 V_{max} 에 대한 초기 당농도가 일치하지 않았다. 이것은 빠른 균체의 성장이 곧 빠른 알콜 생성의 조건이 아님을 나타내고 있다. Margaritis(22)등은 *K. marxianus*의 최대 V_{max} 으로 1.7을 얻었는데 본 연구의 실험결과와 거의 일치함을 알 수 있다.

균체수율은 당농도가 가장 묽은 26g/l에서 최대값 0.14를 나타내었으며, 당농도의 증가에 따라 감소경향을 보였다. Fig. 5는 초기 당농도 변화에 따른 균체수율($Y_{x/s}$)과 에탄올수율($Y_{p/s}$)로 도시한 것이다.

당농도가 묽은 환경에서 균체수율이 높은 것은 기질의 저해작용이 없을 뿐만아니라 생성된 알콜에 의한 성장저해작용 또한 적기 때문인 것으로 해석된다.

에탄올수율 또한 초기 당농도 26g/l일때 0.49로서 최대 값을 나타내었으며 당농도의 증가에 따라 감소현상을 나타내었다. 그러나 그 감소경향은 균체수율에 비하여 훨씬 완만하게 변화감을 알 수 있었으며 초기농도 26g/l내지 215g/l사이에는 에탄올수율값이 0.4내지 0.5사이로 분포되었다.

알콜발효능은 저농도인 25g/l와 45g/l에서 모두 97%를 나타내어 최대값을 나타내었다. 그러나 고농도에서는 기질저해작용으로 말미암아 알콜발효능이 떨어짐을 알 수 있었다.

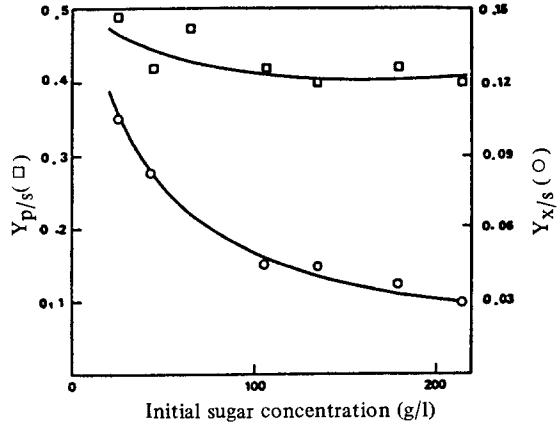


Fig. 5. Variation of kinetic parameters $Y_{p/s}, Y_{x/s}$ with initial sugar concentration.

총괄에탄올생성율은 초기 당농도의 증가에 따라 증가하는 경향을 나타내어 초기 당농도 215g/l일때 2.78g/l로 가장 높은 값을 나타내었다. 발효 초기에는 기질의 저해작용에 의하여 균의 성장 및 알콜의 생성이 완만하였으나 대수기에 접어들면서 그 속도가 급격히 증가 됨으로 말미암아 총괄에탄올생성율 또한 증가된 것으로 해석할 수 있다.

초기 pH가 발효특성에 미치는 영향.

초기 pH가 *K. fragilis*의 발효특성에 미치는 영향을 구명하기 위하여 기질의 초기 농도를 65, 75, 95g/l로 하고 각 기질의 초기 pH를 3, 5.5, 7, 9로 하여 발효시간에 따른 총당, 알콜, 균체량 및 pH를 측정하였다. Table 5은 위의 실험결과를 사용하여 계산한 발효특성치를 표시하고 있다.

Fig. 6은 초기 당농도 65, 75 및 95g/l일때 초기 pH변화에 따른 최대 비성장속도를 도시한 것이며 Fig. 7은 초기 pH변화와 알콜의 최대 비생성속도 사이의 함수관계를 나타낸 것이다.

최대 비성장속도와 알콜의 최대 비생성속도를 pH 5.5 일때 각각 0.40 및 1.60을 나타내었다. 이 결과는 Inulinase 생성에 대한 최적 pH값과 일치함을 알 수 있었다.

균체 및 에탄올수율 역시 Inulinase의 활성이 최적인 pH 5.5에서 최대값 0.096, 0.5를 나타내었으며 pH변화에 따른 균체수율 및 에탄올수율의 변화경향은 비성장속도 및 알콜의 비생성속도 변화경향과 비슷하였다.

알콜발효능은 pH 5.5내지 7범위에서 96내지 98%로서 가장 높은 값을 나타내었으며 잔당농도는 5g/l미만이었다.

Table 5. Kinetic parameters according to initial PH.

Sugar Conc. (%)	PH	μ	q_p	$Y_{x/s}$	$Y_{p/s}$	Y	F	Q
65	3	0.17	0.80	0.072	0.49	96	95	1.10
	5.5	0.40	1.40	0.096	0.50	98	97	1.11
	7	0.31	1.02	0.092	0.48	94	96	1.06
	9	0.25	1.07	0.065	0.45	88	95	0.96
75	3	0.14	1.02	0.054	0.45	88	96	1.12
	5.5	0.34	1.60	0.094	0.47	92	97	1.20
	7	0.36	1.41	0.095	0.45	88	97	1.16
	9	0.30	1.26	0.080	0.44	86	92	1.11
95	3	0.13	0.91	0.045	0.43	84	92	1.84
	5.5	0.26	1.09	0.085	0.44	86	98	2.17
	7	0.24	1.33	0.084	0.39	76	97	1.80
	9	0.16	0.93	0.097	0.37	73	96	1.39

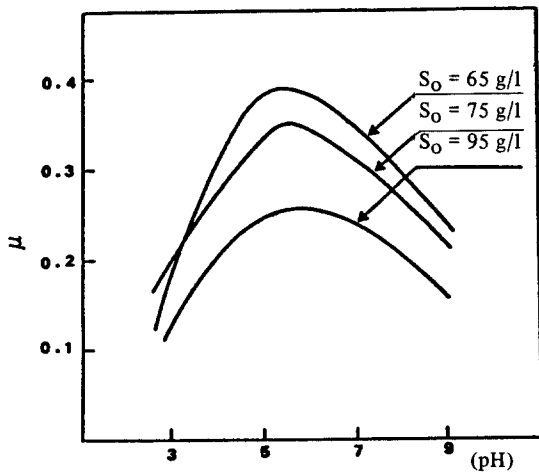


Fig. 6. Variation of kinetic parameter μ with pH.

총괄에탄올수율 역시 pH값 5.5에서 최대값 2.17을 나타내었으며 pH가 5.5보다 감소하거나 증가하는 경우 모두 총괄에탄올수율은 감소하였다.

요 약

K. fragilis 를 이용한 왜지감자의 알콜발효에서 초기 당농도 및 초기pH가 발효특성치에 미치는 영향을 실험을 통하여 규명하였으며 그 결과를 종합하면 다음과 같다.

1) 최대 비성장속도 (μ_{max})는 초기 당농도 65g/l에서 0.40hr⁻¹로서 가장높은 값을 나타내었다.

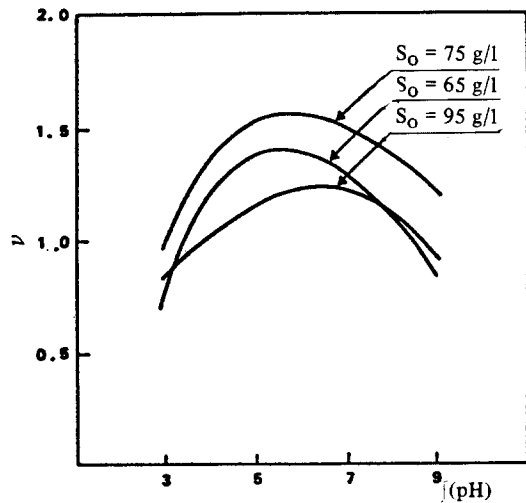


Fig. 7. Variation of kinetic parameter ν with pH.

2) 최대 비알콜생성속도(V_{max})는 초기 당농도 105g/l에서 1.68g/ghr로서 가장높은 값을 나타내었는데, 이것은 빠른 균체의 성장이 곧 빠른 생성물 생성의 조건이 아님을 뜻한다고 여겨지며, 저농도 기질에서 기질 및 생성물의 저해를 적게 받는 것을 알 수 있었다.

3) 균체($Y_{x/s}$) 및 메탄올수율($Y_{p/s}$)은 저농도 기질인 당농도 26g/l에서 각각 0.14, 0.49로서 최대 값을 나타내었다.

4) 알콜발효능(F)는 기질농도 26, 45g/l에서 97%로서 가장 높았고, 잔당의 농도도 5g/l미만이 었다.

5) 총괄에탄올생성물(Q)은 고농도 기질인 당농도

215g/l에서 2.78g/g·hr로서 가장 높았다.

6) 효모 *K. fragilis*가 분비하는 Inulinase의 생성 최적 pH인 5.5에서 최대 비성장속도 0.40, 최대 비알콜생성속도 1.60, 균체수율 0.096, 에탄올수율 0.49로서 최대 값을 나타내었다.

사 용 기 호

F	:Ethanol fermentibility (%)
P	:Maximum ethanol concentration (g/l)
ΔP	:Ethanol produced (g/l)
Q	:Overall ethanol productivity (*ethanol/l·hr)
qp	:Specific ethanol production rate (*alcohol/g cell mass·hr)
ΔS	:Total sugar consumed(g/l)
se	:Sugar converted to ethanol (g/l)
st	:Total sugar (g/l)
t	:time (hr)
$Y_{p/s}$:Ethanol yield (*ethanol/*sugar)
$Y_{x/s}$:Cell mass yield(*cell/*sugar)
μ	:Specific growth rate (hr ⁻¹)
V	:Specific ethanol production rate (*alcohol/*cell mass·hr)

참 고 문 헌

1. M. Calvin (1976), *Photochem. Photobiol.* **23**, 425
2. E.T. Reese and A. Weiss(1972), *Adv. in Biochem. Eng.* **2**, 181. Springer Verlag Berline, Heidelberg, New York.
3. D.G. Dorrel and B.B. Chubey (1977), *Can. J. Plant Su.*, **57**, 591.

4. E. Sebert (1971), *Organic Gardening and Farming*, **17**, 90.
5. S.E., Flaming and J.W.D. Groot Wassink(1970), *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **12**, 1.
6. W. Pilink and G.J. Vervelde, Z. Aker and Pflanzenbau (1976), **142**, 153
7. Windish (1893), *Zeit. F. Spiritusindust*, **43**, 653, 804.
8. 朝井勇宣 (1937), *日本醸學*, **15**, 771.
9. R. Vadas (1934), *Chemik, Zeit.*, 249.
10. 武富, 四星, *工業化學雜誌(日本)*, **342**, 501 (1926)
11. Windish (1916), *Zeit. F. Spiritusindust*, **39**, 314 (1916)
12. L.D. Christensen and E.I. Fulmer, U.S. (1937) Patent 2,085,003.
13. J.P. Gauraud and P. Galzy (1981), *Biotech. Bioeng.* **23**, 1461.
14. A. Magaritis and P. Bajpai (1982), *Biotech. bioeng.*, **24**, 1473.
15. A. Magaritis and P. Bajpai (1982), *Biotech. Bioeng.*, **24**, 1483 (1982)
16. Z. dunjak, N. Kosaric and S. Kliza(1982), *Biotech. Bioeng.*, **24**, 2297.
17. 유 연우, 김 철호, 김 수일, (1983) 한국농화학회지, **26**, 119
18. K. Windish (1920), *Z.F. Spiritusind ust*, **43**, 203.
19. L.A. Underkofler, W.K. Mopherson and E.I. Fulmer, *Ind. Eng. Chem.*, **29**, 1160
20. Weiner (1978), *J. Ind. Brew*, **84**, 222 (1978)
21. M. Novak, P. Strehaiano, M. Moreno and G. Goma (1981), *Biotech. bioeng.*, **23**, 201 (1981)
22. Z. Duvnjak, N. Kosaric and R.D. Hayes (1981), *Biotechnol. Lett.*, **3**, 589.

(Recieved February 1, 1989)