

Pilot Scale Multi-stage CSTR에서 전분질 원료를 이용한 알콜 생산

남기두* · 이인기 · 조훈호 · 김운식 · 서근학¹ · 류병호²
일산실업(주) 연구실, ¹부산수산대학교 화공학과, ²경성대학교 식품공학과

Alcohol Productivity Using Starchy Raw Material in Pilot Scale Multi-stage CSTR

Nam, Ki-Du*, In-Ki Lee, Hoon-Ho Cho, Woon-Sik Kim,
Kuen-Hack Suh¹ and Beung-Ho Ryu²

Lab. II San Trading Co. Ltd, Pusan 608-044, Korea

¹Department of Chemical Engineering, National Fisheries
University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

²Department of Food Science and Techonolgy, College of Engineering,
Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract — In order to induce the rapid alcohol fermentation through the increases of the cell density in a continuous alcohol fermentation of naked barley, the single-cultivation with *S. cerevisiae* IS-019(SCM, ordinary control), mixed-cultivation with *Saccharomyces uvarum* IS-026 having a flocculent ability and *S. cerevisiae* IS-019(MCM), and mash recirculation by single-cultivation of *S. cerevisiae* IS-019(MRM) modes were investigated. The cell mass in the mixed-cultivation mode was about 10% higher than that of ordinary control but the final alcohol yield was slightly decreased. When recycled the mash with the flow rate of 7 l/h from V_6 to V_5 fermentors under the ordinary control, the cell density was distributed at $140\sim 170\times 10^6$ cells/ml depending upon the fermentors-orders, higher about 20% than that of the ordinary control. Under these conditions the alcohol productivity of the maximum and the overall was 12.16 g/l·h with an alcohol of 7.6% at the V_5 fermentor and 1.19 g/l·h with an alcohol of 8.94%, respectively. For higher cell mass it was more effective to apply the mash recirculation mode with the single-cultivation of *S. cerevisiae* IS-019 in a pilot scale multi-stage CSTR.

주정 생산은 지금까지 면허 제조업으로서 정부의 보호하에 농산물 정책 및 관련 행정부의 기본 농업 정책 방향에 크게 좌우되어 왔다. 최근에는 시장 개방과 더불어 주정 및 주류 제조업 분야에서도 큰 변화가 예고되고 있다. 특히 주류 제조면허 개방으로 전통 소주 발매를 시발로 주류 제품의 고급 및 다양화의 경쟁 시대가 도래되어 전통 희석식 소주 시장의 잠식이 우려되는 바 기존 주정 업체도 새로운 주정 수요 창출을 모색하고 장기적으로는 산·학·연이 협동하여 대체 에너지 개발에 관심을 돌리게 되는 등 주정 업체에도 기술 개발만이 경쟁력 확보의 최선의

방법임을 재인식하게 되었다. 이 같은 현실과 국가 대체 에너지 개발 정책에 부응하여 그 동안 음용 알콜 생산 경험과 축적된 기술을 바탕으로 국내 주정제조 회원업체들은 대한알콜산업기술연구조합을 결성하고, 1 kl/D 연료용 무수 알콜 생산을 위한 pilot plant 가동을 시작하여 시작품을 생산하기에 이르렀다(1).

음용 및 연료용 알콜 생산성은 경제성과 직결되는 바 종래 제조 공법보다 경제성이 우수한 새로운 알콜 발효(2) 및 정제 기술 개발(3-10)에 관한 연구가 많이 진행되었다. 특히, 연속 발효 공법은 생산성이 높고 자동화가 용이하여 제품 생산 원가를 줄일 수 있으며, 고정화 또는 새로운 균주를 이용한 연속 발효(11-16), 발효 과정에서 생성된 알콜을 연속적으로 회수하여 생성된 알콜 농도 저해(alcohol inhibition)를 경감시켜

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, mash recirculation, alcohol productivity, alcohol fermentation

*Corresponding author

알콜발효를 촉진하는 vacuum fermentation, 반응조 내에 흐름을 plug flow에 접근할 수 있도록 개선한 bioreactor(12, 17, 18)를 이용한 고생산성 발효 및 공정의 최적화(19-21)에 대해 보고되고 있을 뿐만 아니라 일부 산업 생산 규모에 응용되고 있는 실정이다. 또한 숙성 발효를 위하여 전분질 원료의 알콜 발효시 발효 mash중의 효모균체를 원심분리기를 이용하여 분리할 때 mash중의 입자가 큰 부유성 물질이 원심분리기(Yeast separator)의 nozzle을 막기 때문에 연속 및 안정적인 운전이 많은 문제점이 수반되므로 응집성효모를 이용하여 효모균체 농도 증가를 시도하고 있다(22, 23).

본 연구자들은 우리나라 원료 특수성을 고려하여 다양한 전분질 발효에 적합하고 작업 신속성이 뛰어난 multi-stage CSTR 공정을 개발하여 보고한 바 있다(24). 본 연구는 이 공정을 활용하여 연속 발효 공정에서 가장 심각한 오염 방지 및 감소를 위하여 발효조내 고농도 효모균체 유지를 목적으로 발효 mash 재순환을 통한 발효수율 검토, 응집성 효모의 이용 가능성 및 주정 발효에 널리 이용되고 있는 효모인 *S. cerevisiae*와 응집성 효모인 *S. uvarum*을 혼합 배양하여 wash out 방지효과, 균체농도, 생산성 변화를 검토한 결과를 보고코저 한다.

재료 및 방법

사용 균주 및 배지

당 연구실 보존 균주인 *S. cerevisiae* IS-019와 응집성이 우수한 *S. uvarum* IS-026을 사용 하였고, 계대용 YPD배지는 Yeast extract 2 g, Bact-peptone 5 g, Glucose 100 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001 g을 수도물로서 1l로 하고 pH 5.5로 조절하여 살균 후 사용하였다.

원료

원료는 경남 일원에서 입고되는 쌀보리를 분쇄하여 20 mesh screen을 통과한 미분쇄 가루를 사용하였으며 원료의 dry matter 87.5%, 전분가는 66.12%였다.

Multi-stage CSTR 공정의 운전

70% 에탄올과 증기로서 전공정을 살균하였다. 쌀보리의 연속 발효를 위하여 발효 mash는 원료 245 g/l를 잘 혼합하여 공정의 slurry stock vessel(V_1)에 1일 2회 제조 공급하였으며 diaphragm pump(Yaskawa Electrics Japan)로 cooker에 연속적으로 정량

공급하면서 예비 및 주증자를 각각 60°C /5.4 min 및 95°C /60 min 하여 당화조(V_3)에 이송한다. 이 당화조에서 액상당화 효소를 넣고 60°C /8 hrs 동안 당화시킨 후 효모 배양조(V_4) 및 발효조(V_5)에 이송하여 호기적 조건(0.025 vvm)으로 효모 배양과 발효를 수행하였다. 이때 $V_6 \sim V_{10}$ 까지는 혐기적 조건으로 발효를 수행하였으며 발효조의 교반 속도는 쌀보리 mash의 특성상 점도가 높으므로 cassava보다 50% 증가시켜 당화조 및 발효조 $V_5 \sim V_7$ 은 225 rpm, $V_8 \sim V_{10}$ 은 150 rpm으로 운전하였다(24). 발효 과정중 품온 상승은 내부 냉각기에 의해 30~32°C로 조절하였다.

알콜발효

Multi-stage CSTR 공정의 운전법에 따라 조제된 당화 mash를 이용하여 효모 배양조(V_4) 및 발효조(V_5)에 이송하고 전배양된 종균을 접종 확대 배양한 다음 발효조에서 *S. cerevisiae* IS-019의 단독배양(SCM), IS-019와 응집능력이 있는 *S. uvarum* IS-026을 혼합배양(MCM) 및 발효 mash 재순환법(MRM)으로 알콜발효를 수행하였다.

분석 방법

에탄올 농도, 효모 농도, 당분석은 8시간 간격으로 1일 3회 분석하여 평균하였고, 액화 및 당화 효소의 역가 분석은 전보(24)와 같이 분석하였다. 사용한 효소를 분석한 결과 Denmark NOVO사의 내열성 alpha-amylase인 T120L(EC 3.2.1.1)은 92300 units/g, 액상당화 효소(AMG, NOVO)인 amyloglucosidase(EC 3.2.1.3)는 16000 units/g였다.

결과 및 고찰

단독(SCM) 및 혼합배양(MCM)에 의한 알콜발효

Multi-stage CSTR 공정의 증자기 공급용 slurry는 오염을 우려하여 처음에는 4시간 간격으로 조제 공급하였으나 정상 발효 상태하에서는 1일 2회 12시간 분(24 l, DS 24.5%)을 조제하여 slurry stock vessel (V_1)에서 정량적으로 cooker(V_2)에 공급하였으며, 이에 따라 mash의 총당 농도를 연속운전 기간 동안 보다 안정적인 수준으로 유지할 수 있었다. 14일간 연속 운전 중 *S. cerevisiae* IS-019 균주를 단독사용하였을 때 평균 총당 17.61%, 알콜 농도 8.96%, 발효 후 잔당 1.95%, 발효수율 0.454 g ethanol/g glucose를 유지하여 회분식 발효수율(24)보다 높았다.

정상 상태에서 무균적으로 발효 mash와 같은 당

Table 1. Kinetic data obtained from SCM¹⁾, MCM²⁾ and MRM³⁾ for a continuous alcohol fermentation of naked barley in a pilot scale multi-stage CSTR (Unit=%)

| Running time (day) | SCM | | | MCM | | | MRM | | |
|--------------------|------------------|---------|-------------------|-------|---------|------|-------|---------|------|
| | TS ⁴⁾ | Alcohol | RTS ⁵⁾ | TS | Alcohol | RTS | TS | Alcohol | RTS |
| 1 | 19.02 | 9.02 | 1.82 | 10.47 | 8.97 | 2.01 | 17.21 | 8.92 | 2.12 |
| 2 | 18.32 | 8.95 | 1.76 | 17.87 | 8.96 | 1.97 | 17.15 | 8.88 | 2.12 |
| 3 | 18.08 | 8.96 | 1.72 | 17.93 | 8.94 | 1.97 | 17.22 | 8.89 | 2.14 |
| 4 | 17.94 | 8.97 | 1.74 | 17.92 | 8.93 | 1.97 | 17.20 | 8.88 | 2.16 |
| 5 | 17.83 | 8.97 | 1.74 | 17.76 | 8.90 | 1.94 | 17.08 | 8.89 | 2.12 |
| 6 | 17.81 | 8.97 | 1.76 | 17.67 | 8.89 | 1.97 | 17.10 | 8.90 | 2.09 |
| 7 | 17.80 | 8.97 | 1.81 | 17.64 | 8.88 | 2.01 | 17.10 | 8.90 | 2.08 |
| 8 | 17.79 | 8.96 | 1.83 | 17.64 | 8.87 | 2.06 | 17.09 | 8.89 | 2.10 |
| 9 | 17.76 | 8.94 | 1.85 | 17.62 | 8.84 | 2.10 | 17.13 | 8.87 | 2.11 |
| 10 | 17.69 | 8.94 | 1.88 | 17.61 | 8.82 | 2.14 | 17.16 | 8.86 | 2.10 |
| 11 | 17.65 | 8.95 | 1.90 | 17.57 | 8.80 | 2.17 | 17.16 | 8.85 | 2.09 |
| 12 | 17.65 | 8.96 | 1.93 | 17.59 | 8.80 | 2.16 | 17.18 | 8.84 | 2.09 |
| 13 | 17.62 | 8.96 | 1.94 | 17.60 | 8.80 | 2.17 | 17.22 | 8.84 | 2.09 |
| 14 | 17.61 | 8.96 | 1.95 | 17.56 | 8.81 | 2.15 | 17.29 | 8.83 | 2.10 |

*Above all mean figures were calculated based on the three times analytical values per day, regularly.

**The operation was carried out under the conditions of the air flow rate, 0.025 vvm and mash feed rate, 2 l/h at V₅ fermentor, respectively.

¹⁾SCM=Single cultivation mode by *S. cerevisiae* IS-019, ²⁾MCM=Mixed cultivation mode by *S. cerevisiae* IS-019 and *S. uvarum* IS-026, ³⁾MRM=Mash recirculation mode by *S. cerevisiae* IS-019, ⁴⁾TS=Total sugar, ⁵⁾RTS=Total residual sugar

도에서 전 배양된 응집성 효모인 *S. uvarum* IS-026 5 l(효모농도; 120×10^6 cells/ml)를 V₅에 접종하여 혼합배양시킨 다음 알콜 발효를 시킨 결과 14일간 평균 총당 17.56%, 알콜 농도 8.81%, 잔당 2.15%, 발효수율 0.454 g ethanol/g glucose가 유지되었고, 단독배양구(SCM)가 혼합배양(MCM)에 비하여 발효 후 잔당은 0.2%가 낮았다(Table 1). 이때 알콜발효는 V₅~V₆에서 발효성 당의 83~86%가 알콜로 전환되어 여기서 주로 품온이 상승하였으므로 내부에 설치된 냉각기로 발효조 온도를 30~32°C로 조절하였다. 또한 효모농도는 혼합배양이 단독배양보다 약 10% 정도 증가하였고, 응집성 효모는 전체 효모 분포의 약 20% 정도 증가하였으며, 응집성 효모는 20~40개의 세포들이 모여 하나의 응집괴(Bulk)를 형성하였으나 *S. cerevisiae* IS-019와 공침효과는 매우 적은 것으로 관찰되었다.

발효 mash 재순환(MRM) 효과

초기 발효 속도를 증가시켜 알콜 농도를 4% 이상 유지하면 배지 오염을 현저히 감소시킬 수가 있다. 따라서 본 발효 공정에서는 주정 발효 원료 중 가장 오염이 잘 되는 쌀보리의 수율 증가를 위해 첫단계

발효조인 V₅에 비교적 높은 알콜 및 효모농도를 확보코저 발효 mash 7 l/h를 V₆에서 V₅로 재순환시켰다. 14일 동안 운전하면서 얻은 결과는 Table 1과 같이 평균 총당 17.29%, 알콜 8.83%, 잔당 2.1%, 발효수율 0.461 g ethanol/g glucose이었고, mash를 재순환시키므로서 효모 농도가 mash를 재순환하지 않는 단독배양에 비하여 전체적으로 약 20% 정도 증가되었다. 이때 효모농도는 혼합배양의 $125-150 \times 10^6$ cells/ml보다 높은 $140-170 \times 10^6$ cells/ml가 mash 재순환법에 의해 유지되었으며, Table 2와 3에 나타난 바와 같이 초기효모 균체증식 및 발효가 왕성한 V₅의 초기적 조건하에서 발효 알콜 생산성은 12.16 g/l·h로 mash를 순환하지 않는 시험구보다 증가하였다. 발효 초기에 비교적 높은 효모의 농도유지에 의해 신속한 초기 발효를 유도하므로써 세균오염을 억제할 수 있으며, 발효과정중에 mash를 methylene blue로서 염색하여 현미경으로 관찰하였던 바 세균성 오염없이 효모 상태가 양호하였다.

알콜 생산성 비교

S. cerevisiae IS-019 단독배양에 의한 연속발효의 경우, 생산성은 V₅에서 알콜농도 6.54%에서 10.46 g/l·

Table 2. Comparison of kinetic data obtained from a continuous fermentation using naked barley by SCM and MCM

| Fermentor no. | SCM | | | |
|-----------------|-------------------------------|----------|-------------------------|---------------------------------------|
| | EtOH PD ¹⁾ (g/l·h) | EtOH (%) | Yield ²⁾ (%) | Cell mass (×10 ⁶ Cells/ml) |
| V ₅ | 10.46 | 6.54 | 72.75 | 141 |
| V ₆ | 5.05 | 7.58 | 84.32 | 135 |
| V ₇ | 2.92 | 8.76 | 97.44 | 133 |
| V ₈ | 1.98 | 8.90 | 99.00 | 126 |
| V ₉ | 1.49 | 8.96 | 99.67 | 124 |
| V ₁₀ | 1.20 | 8.99 | 100 | 120 |
| Fermentor no. | MCM | | | |
| | EtOH PD ¹⁾ (g/l·h) | EtOH (%) | Yield ²⁾ (%) | Cell mass (×10 ⁶ Cells/ml) |
| V ₅ | 11.02 | 6.88 | 77.24 | 155 |
| V ₆ | 4.94 | 7.41 | 83.07 | 145 |
| V ₇ | 2.91 | 8.74 | 97.98 | 136 |
| V ₈ | 1.96 | 8.82 | 98.88 | 130 |
| V ₉ | 1.48 | 8.90 | 99.78 | 128 |
| V ₁₀ | 1.19 | 8.92 | 100 | 125 |

¹⁾Ethanol productivity, ²⁾Relative ethanol yield

*The operation was carried out as in Table 1.

h였고, V₁₀에서 알콜농도 8.99%에서 1.20 g/l·h였다. *S. uvarum* IS-026과 혼합배양을 했을 때 V₅에서 알콜농도 6.88%에서 11.02 g/l·h였으나 V₁₀에서 알콜농도 8.92%에서 1.19 g/l·h였다. 이때 효모농도는 발효조에 따라 단독배양과 혼합배양법에서 각각 120~141 ×10⁶ cells/ml 및 125~155 ×10⁶ cells/ml가 유지되었다(Table 2).

발효 초기단계에서 높은 효모농도를 유지하면 발효가 왕성하게 진행되어 생성된 알콜에 의하여 오염이 감소되므로 발효수율이 증가한다. 따라서 높은 효모농도 유지를 위하여 효모분리기(yeast separator, nozzle type, Alfa-Laval, Sweden)가 당밀 및 B-starch를 이용한 알콜생산 공정에 산업적으로 활용되고 있으나, 쌀, 쌀보리, 겉보리, 고구마, cassava 등 다양한 주정 발효의 원료를 사용하는 국내 실정에는 안정적인 연속운전이 효모분리기의 nozzle 막힘현상으로 매우 어렵다. 따라서 발효능은 다소 떨어지나 응집성이 우수한 *S. uvarum* IS-026과 *S. cerevisiae* IS-019와 혼합배양을 하여 연속발효를 시도한 결과 효모농도가 약 10% 정도 증가되었으나 최종 발효수율은 떨어지는 경향을 보였다. 이것은 효모균주의 상호 생리적 결합에서 기인된 것으로 사료되나 더욱 연구검토가 필요하다고 판단된다.

효모 재순환법에서 알콜 생산성은 알콜농도 7.6%

Table 3. Comparison of kinetic data obtained from a continuous fermentation using naked barley by MRM

| Fermentor no. | MRM | | | |
|-----------------|-----------------|----------|-----------|---------------------------------------|
| | EtOH PD (g/l·h) | EtOH (%) | Yield (%) | Cell mass (×10 ⁶ Cells/ml) |
| V ₅ | 12.16 | 7.60 | 85.01 | 170 |
| V ₆ | 5.15 | 7.72 | 86.35 | 165 |
| V ₇ | 2.88 | 8.63 | 96.53 | 158 |
| V ₈ | 1.97 | 8.88 | 99.33 | 152 |
| V ₉ | 1.49 | 8.92 | 99.78 | 147 |
| V ₁₀ | 1.19 | 8.94 | 100 | 140 |

*The operation conditions are the same as in Table 2.

에서 12.16 g/l·h로서 V₁₀에서 알콜농도 8.92%에서 1.19 g/l·h의 최종 생산성보다 10.2배에 달했으며, 단독 효모에 의한 연속발효에서 발효 mash를 V₆에서 V₅에 7l/h로 재순환시켰을 때 효모농도가 140~170 ×10⁶ cells/ml로서 단독 및 혼합배양법보다 각각 10~20% 증가되었다(Table 3). 따라서 *S. cerevisiae* IS-019의 단독배양법에서 발효 mash의 재순환에 의해 효모농도를 효과적으로 증가시킬 수가 있었으며, V₁₀에서 효모농도는 140 ×10⁶ cells/ml가 유지되어 생산성은 알콜농도 8.94%에서 1.19 g/l·h로서 종래 회분식 산업적 규모의 생산성 0.61 g/l·h보다 약 2배가 증가되었다. 발효 mash중에 고농도 효모 유지는 알콜 생산성 증가에 중요한 인자이므로 효모분리기 연속가동을 위한 발효 mash의 전처리공정 개발 및 최적 공정 운전방법에 대하여 검토하고 있다.

요 약

쌀보리의 연속 발효에서 효모균체 농도를 증가시켜 발효를 촉진코저 *S. cerevisiae* IS-019의 단독배양(SCM), IS-019와 응집능력이 있는 *S. uvarum* IS-026을 혼합배양(MCM) 및 발효 mash 재순환법(MRM)을 검토하였다. 혼합 배양법에서 약 10%의 균체가 대조구보다 증가하였으나 최종 알콜농도는 약간 감소하였다. 단독배양에서 발효조 V₆에서 V₅로 7l/h 유량으로 재순환시켰을 때 균체는 발효조에 따라 140~170 ×10⁶ cells/ml가 분포되었으며 대조구보다 약 20% 정도 증가하였다. 이 조건하에서 V₅에서 최고 생산성은 알콜농도 7.6%에서 12.16 g/l·h였고, overall 생산성은 알콜농도 8.94%에서 1.19 g/l·h였다. 보다 높은 효모균체 농도유지를 위해서는 Pilot scale multi-stage CSTR에서 mash 재순환과 효모 단독배양이 효과적이었다.

참고문헌

1. "수송용 연료로 이용할 에탄올 생산을 위한 공장 규모 연구". 1993. 92년차 보고서, 동력자원부 921C 205-502DG1.
2. Saiki T. 1987. New technology of ethanol fermentation. *微生物* 3: 554-564.
3. Tegtmeier. 1985. Process design for energy saving ethanol production. *Biotechnol. letters* 2: 129-134.
4. European patent application. 1979. Distillation method and apparatus for making motor fuel grade anhydrous ethanol. Application No. 7910 4007. 4.
5. Eilis, G. 1981. Ethanol production by vapor compression distillation. Final report. DOE/R5/10240-2.
6. JUS/APL QM-81-066. April 1981. Technical feasibility of use of eastern geothermal energy in vacuum distillation of ethanol fuel. Final report by Carltech associates, contract no. 601437-S.
7. Sheldon, R.A. and E.V. Tompson. 1978. Dependence of diffusive pervaporation rate on upstream and downstream pressures. *J. Membr. Sci.* 4: 115-127.
8. Mulder, M.H.V., J. Oude Hendrickman, H. Hege-man, and C.A. Smolders. 1983. Ethanol-water separation by pervaporation. *J. Membr. Sci.* 16: 269-284.
9. Okada, T. and T. Matsumura. 1991. A new transport model for pervaporation. *J. Membr. Sci.* 59: 133-150.
10. Alcohol Division & Alcohol Administration Office, 1992. Ethyl Alcohol for Industrial Use in Japan. Basic Industry Bureau.
11. Whitney, G.K., C.R. Murray, I. Russell, and G.G. Steward. 1985. Potential cost saving for fuel ethanol production by employing a novel hybrid yeast strain. *Biotechnol. letters* 7: 359-354.
12. Melick, M.R., M.N. Karim, J.C. Linden, B.E. Dale, and Pal Mihaltz. 1987. Mathematical modeling of ethanol production by immobilized *Zy-momonas mobilis* in a packed bed fermentor. *Biotechnol. Bioeng.* 29: 370-382.
13. Godia, F., C. Cacas, and C. Sola. 1987. A survey of continuous ethanol fermentation systems using immobilized cells. *Process Bioindustry*, April. 43-48.
14. Barros, M.R. Aires, J.M.S. Cabral, and J.M. Novais. 1987. Production of ethanol by immobilized *Saccharomyces bayanus* in an extractive fermentation system. *Biotechnol. Bioeng.* 29: 1097-1104.
15. Mitani, Y., Nishizawa Y. and Nagai S. 1984. Ethanol production by immobilized cells with forced substrate supply. *J. Ferment. Technol.* 3: 249-253.
16. Hacking, A.J., I.W.F. Taylor, and C.M. Hanas. 1984. Selection of yeast able to produce ethanol from glucose at 40°C. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 19: 361-363.
17. Hamamci, H. and Dewey D.Y. Ryu. 1988. Effect of oxygen on ethanol fermentation in packed-bed tapered-column reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28: 515-519.
18. Greenshields, R.N. and E.L. Smith. 1971. Tower-fermentation systems and their application. *The Chem. Engineer.* 182-189.
19. Dourado, A., G. Goma, U. Aluquerque, and Y. Sevely. 1987. Modeling and static optimization of the ethanol production in a cascade reactor. I. modeling. *Biotechnol. Bioengin.* 29: 187-194.
20. Dourado, A., J.L. Calvet, Y. Sevely, and G. Goma. 1987. Modeling and static optimization of the ethanol production in a cascade reactor. II. static optimization. *Biotechnol. Bioeng.* 29: 195-203.
21. Bowman, L. and Edwin Geiger. 1984. Optimization of fermentation conditions for alcohol production. *Biotechnol. Bioeng.* 29: 1942-1947.
22. Netto, C.B. and G. Goma. 1987. Ethanol fermentation by flocculent yeast: on the kinetics of biomass accumulation. *Biotechnol. Bioeng.* 30: 320-324.
23. Robert, H.D. and Charles S. Parnham III. 1988. Competitive yeast fermentation with selective flocculent and recycles. *Biotechnol. Bioeng.* 33: 767-776.
24. 남기두, 이인기, 조훈호, 최명호, 김운식. 1992. Pilot scale multi-stage CSTR에서 전분질 원료의 에탄올 발효. *한국산업미생물학회지.* 20: 324-328.

(Received October 7, 1993)