

고정화 효모를 충전한 column형 reactor에 의한 정어리 어간장의 속성 연속발효

김성준* · 신동분 · 류병호

*부산시 보건환경연구원, 경성대학교 식품공학과

Continuous Rapid Fermentation of Sardine Soy Sauce by Using Column Type Reactor Packed Immobilized Yeast Cells

Seong-Joon Kim*, Dong-Bun Shin and Beung-Ho Ryu

*Public Health Environment Institute of Pusan
Department of Food Science and Technology, Kyungsoong University

Abstract

This present study was carried out particularly focusing on rapid fermentation of soy sauce by using column type reactor (30 cm×5 cm) packed each immobilized cells of *Pediococcus halophilus* R-22, *Saccharomyces rouxii* R-60 and *Candida etchellsii* H-50. When immobilized *P. halophilus* R-22 by column type reactor was performed continuously fermentation, lactic acid was produced 0.62~0.64% during 25 days and then decreased gradually after 30 days. *S. rouxii* R-60 was produced the 2.1~2.5% ethylalcohol constantly for 35 days and also *C. etchellsii* H-50 was produced 14~16 mg/l 4-ethylguaiacol for 35 days and then this products were decreased gradually after fermentation of 40 days. Final products of fish sauce contained 1,721.6 mg% total nitrogen, 1,584.1 mg% amino-nitrogen, 0.75% lactic acid, 2.7% ethylalcohol and 18.2 mg/l 4-ethylguaiacol.

Key words: rapid fermentation, sardin soy sauce, immobilized cells, 4-ethylguaiacol

서 론

어간장은 어류의 자체효소와 부차 미생물에서 분비되는 효소에 의하여 속성되어 만들어지므로 영양학적인 면에서는 대두간장에 비하여 손색이 없으나 어취로 인하여 일반식품으로 널리 애용되지 못하고 있다. 그러므로 어간장의 어취를 없애고 일반인이 애용할 수 있는 조미료로 만들기 위해서는 재래식 방법을 탈피하여 개량식 방법으로 어간장을 만드는 것이 필요하다.

대두를 원료로한 간장의 제조는 간장향기의 주성분인 알코올류와 4-ethylguaiacol을 많이 분비하는 균주의 육종^(1,2), 균주의 고정화에 의한 향기성분이 우수한 간장의 제조^(3,4) 그리고 고정화 균체를 충전한 bioreactor를 사용한 간장의 속성발효^{5,6} 등이 개량식 방법으로 실용화 단계에 있다.

따라서 본 연구는 어취가 거의 없고 풍미가 우수한 간장을 발효시킬 목적으로 *Pediococcus halophilus*, *Saccharomyces rouxii* 및 *Candida etchellsii*의 균주를 고정

화하여 column형 reactor에 충전하여 속성발효시켜 제품의 품질을 검토하였다.

재료 및 방법

균주

본 실험에 사용된 균주는 유산균인 *Pediococcus halophilus* R-22와 효모인 *Saccharomyces rouxii* R-60과 *Candida etchellsii* H-50을 사용하였다⁽¹⁰⁾.

Pediococcus halophilus R-22는 10% 어간장, 5.0% glucose, 0.5% polypepton, 8% 식염 및 1.5% agar, pH 4.0을 물 1l에 녹여 사용하였고, *Saccharomyces rouxii* R-60과 *Candida etchellsii* H-50은 10% 어간장, 5% glucose, 0.5% yeast extract, 8% 식염 및 1.5% agar, pH 5.0을 물 1l에 녹여 사용하였다.

정어리 분해액의 조제

정어리(*Sardinops melanostica*; 체중 75~83g, 체장 16~22 cm)를 1990년 1월 5일 부산 자갈치시장에서 구입하여 사용하였다.

정어리를 chopper를 마쇄하여 전보⁽¹⁰⁾와 같은 배합비율로 하여 잘 섞은 후 50°C로 조절된 진탕 항온수조에서

Corresponding author: Beung-Ho Ryu, Department of Food Science and Technology, Kyungsoong University, 110-1, Daeyeundong, Namgu, Busan, 608-736, Korea

48시간 동안 가수분해⁽¹¹⁾하여 여과하고 90°C 에서 2시간 가열처리한 후 다시 여과하여 발효원액을 사용하였다.

균체의 고정화담체의 제조

담체로는 agar, colloidal silica(Snowtex 40 ; particle size 9~13 nm, 40% SiO₂, Nisan Kagaku Co.)를 5N-HCl로 pH 7~8이 되도록 조절한 후 3% 알긴산소다 용액을 가하여 colloidal silica 용액과 3% 알긴산소다를 1 : 5의 비율이 되도록 혼합하여 사용하였다⁽¹²⁾. 고정화는 류등⁽¹³⁾의 방법에 따라 만들었다.

Column형 reactor에 의한 발효

간장의 연속발효장치는 유리로 만든 column형(용량 300 ml, 높이 30 cm, 직경 28 mm)의 유동식 reactor를 사용하였다. 본 발효장치는 소정의 균체고정화 bead를 무균적으로 충전한 다음 peristaltic pump를 사용하여 밑에서 위로 발효원액을 공급하면서 발효하여 여과하도록 만들었다(Fig. 1).

어간장의 성분분석

수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 Semi-micro Kjeldahl법, 당은 Somogyi법, 염분은

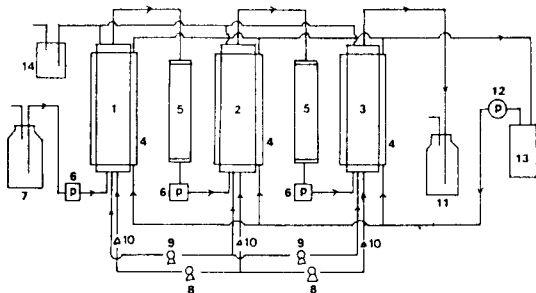


Fig. 1. Schematic diagram of the column type reactor

- 1. reactor packed immobilized cells of *P. halophilus* R-22, 2. reactor packed immobilized cells of *S. rouxii* R-60, 3. reactor packed immobilized cells of *C. etchellsii* H-50, 4. water jacket, 5. ceramic filter, 6. peristaltic pump, 7. koji hydrolyzate vessel, 8. air, 9. N₂ gas, 10. air filter, 11. harvest tank, 12. pump, 13. warm water pool, 14. gas outlet.

Mohr법, 그리고 휘발성염기질소(VBN)는 미량확산법 등의 상법으로 정량하였고, 아미노태 질소는 동염법⁽¹⁴⁾으로 비색 정량하였다.

유산의 정량은, 각각의 배양액을 여과(0.45 μm 여과지)하여 10배 희석하여 gas-chromatography로 분석하였다⁽¹⁰⁾.

알코올류의 정량은 gas-chromatography(GC)법에 의하여 측정하였다⁽¹⁰⁾. 즉 각각의 배양액을 여과하여 25배 희석한 후 GC에 2 μl를 주입하였고 내부표준물질로는 cyclohexanol을 사용하였다.

4-ethylguaicol의 분석은, 마개가 부착되어 있는 20 ml 시험관에 시료 5 ml, 식염 1g, 초산에칠 2 ml를 가하여 10분간 진탕시켜 추출한 후 5°C 에서 원심분리(4,000 rpm)하여 분리된 초산에칠층만을 분리한 다음(3회 반복) 내부표준물질로 2,3,5-trimethyl-phenol을 가하여 GC로 분석하였다⁽²⁾.

생균수의 측정은 Hemacytometer(Superior, Germany)로 측정하였다.

결과 및 고찰

고정화 담체의 선택

발효방법이 많이 개량되면서 식품분야에서도 bioreactor를 이용한 균체의 고정화 시스템에 의한 발효법이 많이 연구되고 있다⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. 균체의 고정화 담체는 균의 종류, 기질의 종류 및 농도에 따라 그 생산성이 많이 차이가 나므로 담체의 선정이 중요하다. 본 실험에서는 고정화 담체 중 일반적으로 식품에 많이 사용하고 있는 agar, polyacrylamide, sodium alginate, κ-carageenan 및 colloidal silica와 sodium alginate의 혼합물을 사용하여 실험하였다.

Table 1에 나타난 바와 같이 고정화 담체 중 3.5% sodium alginate와 colloidal silica : sodium alginate(1 : 5)의 담체가 lactic acid, ethylalcohol 및 4-ethylguaicol의 생성량이 많았다. sodium alginate gel은 산성, 알칼리성에서도 안정하고 고온에서 발효하여도 안정하며 일정한 압력에 견디므로 현재 많이 사용하고 있으나^(18,19) 고농도의 식염 농도에서 장시간 발효시키면 gel이 붕괴되지만, colloidal silica : sodium alginate(1 : 5)는 gel이 강하여 고농도 식염에서도 안정하므로 이를 어간장의 발효용 고정화 담체로 사용하였다⁽²⁰⁾.

Table 1. Lactic acid, ethylalcohol and 4-ethylguaicol contents by immobilized cells of *P. halophilus* R-22, *S. rouxii* R-60 and *C. etchellsii* H-50 using various polymer matrices

Wet cell (g)	Matrices	Concentration of matrices (%)	Lactic acid (%)	Et-OH (%)	4-EG (mg/l)
0.5	polyacrylamide	6.5	0.62	2.1	13
0.5	sod. alginate	3.5	0.68	2.6	20
0.5	κ-carageenan	3.0	0.60	1.7	18
0.5	colloidal silica : sod. alginate (1:5)	10.0	0.66	2.0	20

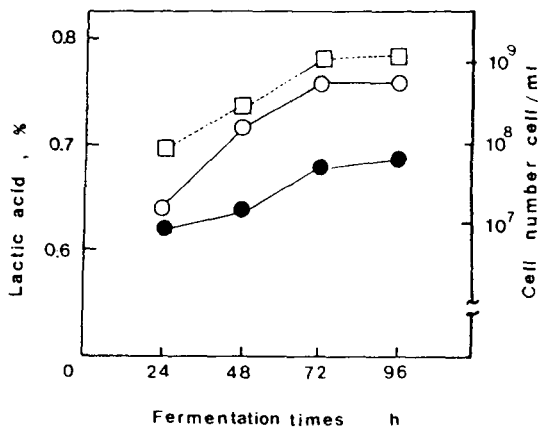


Fig. 2. Productivity of lactic acid fermentation by immobilized *P. halophilus* R-22 cells in the column type reactor

lactic acid; ○—○, cell number in gel; □—□, cell number in fermentation liquid; ●—●

Column형 reactor의 발효에서 얻은 어간장의 성분분석 정어리를 마쇄한 육을 가수분해시켜 여과한 후 *P. halophilus* R-22, *S. rouxii* R-60 및 *C. etchellsii* H-50의 고정화 균체를 충전한 column형 reactor를 이용하여 최적조건 하에서 발효하여 얻은 어간장은 총질소가 1,721.6 mg%, 아미노태 질소가 1,584.1 mg%이었고 이때의 pH는 5.4이었다.

한 등⁽¹¹⁾은 고등어를 원료로한 어간장의 제조에서 어간장 완제품의 총질소 함량은 1,621~1,641 mg%, 아미노태 질소의 함량은 1,424~1,425 mg%라고 하였다.

고정화 균체의 증식과 발효성

P. halophilus R-22, *S. rouxii* R-60 및 *C. etchellsii* H-50의 균체를 각각 고정화하여 온도, pH, 식염의 농도 및 aeration 등의 최적조건 하에서 column형 reactor로 발효하여 균체의 증식과 lactic acid, ethylalcohol 및 4-ethylguaiacol의 생산성을 검토하였다.

Fig. 2는 *P. halophilus* R-22의 고정화 균체에 의한 발효시 생균수와 lactic acid의 생성을 나타내었다. 균체의 증식은 발효 24시간에서 72시간 까지는 증가하다가 96 시간부터는 증가하지 않았다. 젓산은 발효개시 24시간 부터 서서히 증가하다가 72시간부터는 일정한 함량을 유지하였다. Osaki 등⁽³⁾은 간장 발효액에 의한 *P. halophilus*의 젓산 발효는 발효초기에는 젓산이 서서히 생성되다가 발효시간이 경과하면 일정량을 유지하였다고 보고하였다.

Fig. 3은 *S. rouxii* R-60의 고정화 균체에 의한 column형 reactor에서 최적조건 하에서 알코올 발효를 시킨 결과이다. *S. rouxii* R-60의 균체고정화에 의한 gel과 발효된 용출액의 생균수는 발효시간의 경과에 따라 증

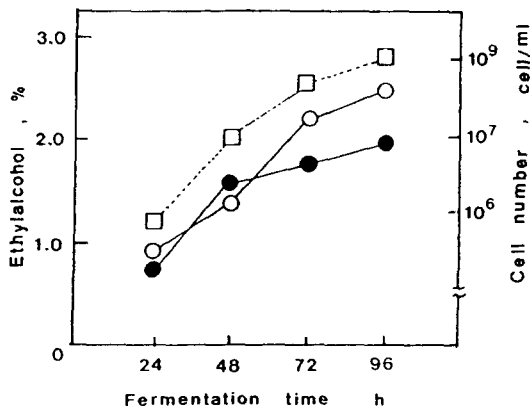


Fig. 3. Productivity of ethylalcohol fermentation by immobilized *S. rouxii* R-60 cells in the column type reactor

ethylalcohol; ○—○, cell number in gel; □—□, cell number in fermentation liquid; ●—●

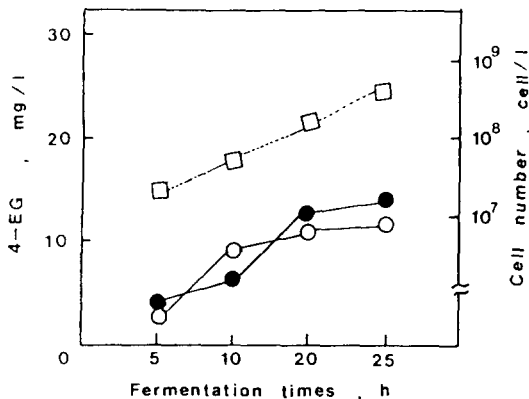


Fig. 4. Productivity of 4-ethylguaiacol (4-EG) fermentation by immobilized *C. etchellsii* H-60 cells in the column type reactor

4-EG; ○—○, cell number in gel; □—□, cell number in fermentation liquid; ●—●

가하다가 발효 96시간에서는 gel내 1.8 × 10⁶ cells/ml, 용출액은 1.0 × 10⁷ cells/ml이었으며, 알코올 생성은 발효 96시간에는 2.3% 생성되었다. 채래식 간장의 경우 발효 초기에는 알코올 생성이 거의 없으나 발효중기부터 생성되어 간장에는 약 2.0% 정도의 알코올이 생성된다.

Fig. 4는 *C. etchellsii* H-50의 균체 고정화에 의한 4-ethylguaiacol의 생성과 gel내와 용출액의 생균수를 측정된 결과이다. 4-Ethylguaiacol의 함량은 발효 10시간 부터 증가하다가 발효 20시간 이후부터는 일정한 함량을 유지하였다. 고정화 균체에 의한 발효시 gel내와 용출액의 생균수는 4-ethylguaiacol의 생성과 비슷한 경향으로 생균수의 변화는 없었다.

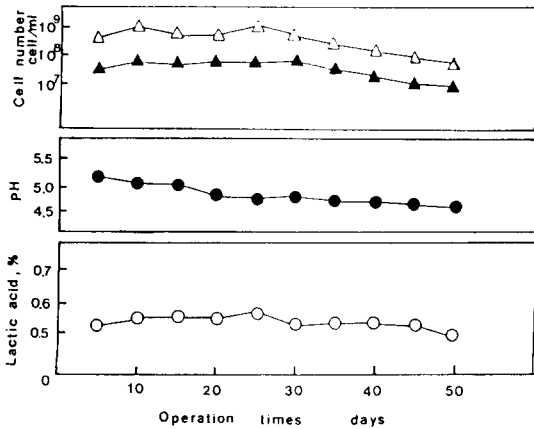


Fig. 5. Time courses of continuous fish sauce fermentation in column type reactor containing immobilized cells of *P. halophilus* R-22

△—△; cell number in gel, ▲—▲; cell number in effluent

일반적으로 재래식 간장의 발효에 있어서는 간장 발효초기에는 유산과 알코올이 많이 생성되고 4-ethylguaiacol은 발효 6개월 이상의 기간이 경과되어야 비로소 생성된다^(3,4).

4-Ethylguaiacol은 간장의 주요한 향기성분으로 간장의 후숙효모인 *C. etchellsii*와 *C. versatilis*에서 생성되며 간장에는 1~3 ppm 정도 들어 있다⁽²⁾. 그러나 본 실험에서 *C. etchellsii* H-50을 균체 고정화하여 발효하면 발효 5시간 경과시에는 3 ppm 정도가 생성되며, 발효 20시간 경과시에는 약 12 ppm 정도가 생성되었다.

이러한 실험결과는 간장의 독특한 향기성분을 생성하는 *C. etchellsii*나 *C. versatilis*의 고정화 담체를 column형 reactor에 넣어 발효시킨 결과와 비슷하였다^(4,9).

Column형 reactor에 의한 연속발효

간장을 연속적으로 만들기 위하여 *P. halophilus* R-22, *S. rouxii* R-60 및 *C. etchellsii* H-50의 균체를 각각 고정화하여 column reactor에 충전한 다음 최적조건 하에서 50일간 발효하였다.

P. halophilus R-22의 고정화 균체에 의한 어간장발효 중 유산의 연속발효

P. halophilus R-22의 고정화 균체에 의한 유산의 연속발효는 Fig. 5와 같다.

어간장 발효시 *P. halophilus* R-22의 균체 고정화에 의한 유산의 생성은 발효기간이 25일까지는 일정량 생성되다가 발효 30일부터는 약간 감소하는 경향이였다. pH는 발효를 시작할 때 pH 5.2이었으나 발효기간이 경과할수록 pH는 점차적으로 낮아지는 것을 볼 수 있는데 이는 *P. halophilus* R-22로 발효시 유산이 생성되기 때

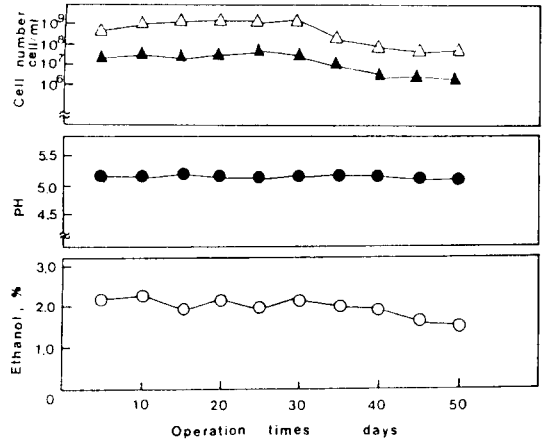


Fig. 6. Time courses of continuous fish sauce fermentation in column type reactor containing immobilized cells of *S. rouxii* R-60

△—△; cell number in gel, ▲—▲; cell number in effluent

문이다.

Gel내와 유출액의 생균수는 발효 50일 동안 큰 변화를 거의 찾아볼 수 없었다. 본 연구결과는 小瀬 등⁽²⁰⁾과 Osaki 등⁽³⁾의 간장 발효시 *P. halophilus*에 의한 연속발효의 연구결과와 비슷한 결과였다.

S. rouxii R-60의 고정화 균체에 의한 어간장발효 중 알코올의 연속생산

S. rouxii R-60의 고정화 균체를 이용하여 column형 reactor에서 연속발효한 결과는 Fig. 6과 같다.

50일간 발효시 발효시작 5일부터 35일까지 알코올의 함량은 2.1~2.5% 정도로 안정적으로 생산되다가 35일부터는 약간 감소하기 시작하여 발효 50일 경과시에는 1.7% 정도의 알코올이 생산되었다. 재래식 간장은 발효 3개월부터 알코올발효가 시작되어 발효 6개월 정도에서 2.0~2.5%의 알코올이 생성된다⁽⁹⁾. 알코올 발효기간 중 50일까지 pH는 거의 변화가 없었다.

장기간의 발효로 인하여 gel내의 생균수가 발효 30일 이후부터는 감소하는 경향이 있는데 이는 발효과정 중 gel이 염분에 의하여 조금씩 붕괴되거나 gel내에 피막이 형성되어 gel과 기질의 접촉이 떨어지기 때문이다.

Hamada 등⁽⁴⁾은 *Zygosaccharomyces rouxii*의 고정화 균체를 air-lift column에 충전한 모델실험에서 간장을 발효하여 50일 동안 일정한 농도의 알코올이 생성되었다고 하였다.

小瀬 등⁽²⁰⁾은 bioreactor를 이용한 *Zygosaccharomyces rouxii* 고정화 균체의 80일간의 간장발효시 1.6~2.0%의 알코올을 얻었고, 재래식 간장보다 간장을 만드는 시간을 단축시켰다고 하였다.

Horitsu 등⁽²¹⁾은 효모의 고정화 균체에 의한 50일 동

안의 발효에서 2.5%의 알코올을 생성하였고, 발효기간 동안 알코올 생성에는 큰 변화가 없었다고 하였다.

그리고 생균수가 *S. rouxii* R-60의 고정화 균체에 의한 발효 30일까지는 gel 내에는 $1.0\sim 4.0\times 10^8$ cells/ml, 유출발효액은 $1.0\sim 5.0\times 10^7$ cells/ml로 안정된 상태였으나 발효 35일부터는 다소 감소하는 경향이였다. 이는 장기간 발효 중 gel의 붕괴와 고정화 균체와 기질의 접촉이 떨어지고 따라서 균체의 활성이 저하되기 때문이다.

C. etchellsii H50의 고정화 균체에 의한 어간장 발효 중 4-ethylguaiacol의 생성

어간장 발효시 *C. etchellsii* H-50의 균체 고정화에 의한 4-ethylguaiacol의 생성은 Fig. 7에서 보는 바와 같다.

4-ethylguaiacol의 생성은 발효 5일부터 30일까지는 14 mg/l 정도로 일정하게 생성되었으며, 발효 35일부터는 서서히 감소하기 시작하여 발효 50일에서는 10 mg/l 정도였다.

그리고 발효 중의 pH는 거의 변화가 없었으며, 발효 5일부터 30일까지는 생균수의 변화는 gel내의 $1.0\times 10^8\sim 4.0\times 10^8$ cells/ml였고, 발효 유출액에는 $2.0\times 10^7\sim 1.0\times 10^6$ cells/ml였다.

4-ethylguaiacol은 간장의 품질에 큰 영향을 주는 간장

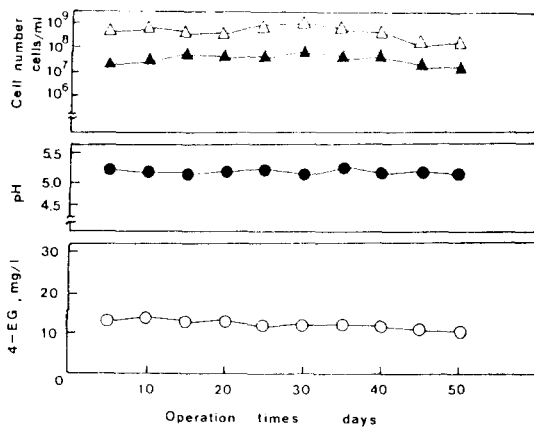


Fig. 7. Time courses of continuous fish sauce fermentation in column type reactor containing immobilized cells of *C. etchellsii* H-50

△-△; cell number in gel, ▲-▲; cell number in effluent

특유의 향기성분으로 간장 발효시 *torulopsis*속에서 생성된다고 하였다⁽²⁰⁾.

Hirotzu 등⁽²¹⁾은 *C. versatilis*의 균체 고정화에 의한 bioreactor의 발효에서 공기와 질소를 일정량 주입하여 약 23 mg/l의 4-ethylguaiacol을 얻었다고 하였고, Hamada 등⁽⁴⁾은 *C. versatilis*의 균체 고정화에 의한 발효에서 약 18 mg/l의 4-ethylguaiacol을 얻었다고 하였다.

野田 등⁽⁹⁾은 *C. versatilis*의 고정화 균체에서 4-ethylguaiacol은 발효개시 24시간부터 생성되어 발효 7일째 최고에 달하다가 발효 16일부터는 일정한 양을 유지하였다고 보고하였다. 재래식 간장의 발효에서는 발효 6개월 이후에 1~3 ppm 정도 생성되고 간장에도 1~3 ppm 정도 들어 있다. 그러나 *C. etchellsii* H-50의 고정화 균체의 bioreactor를 이용한 실험에서 4-ethylguaiacol을 다량 얻을 수 있으므로, 실제 산업적으로 활용한다면 우수한 품질의 간장을 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

연속발효에 의한 어간장의 알코올 및 phenol 성분

P. halophilus R-22, *S. rouxii* R-60 및 *C. etchellsii* H-50의 각각의 균체를 고정화하여 column형 reactor에서 발효하여 얻은 어간장의 알코올 및 phenol 성분은 Table 2와 같다.

S. rouxii R-60의 고정화 균체에 의한 발효액은 ethylalcohol이 2.7%로 시판되는 특급간장의 2.3%보다 약간 높았고 n-propylalcohol이 4.6 mg/l, isobutylalcohol이 8.8 mg/l로 시판특급 간장보다 높았으며, 특히 isoamylalcohol은 18.1 mg/l, 2-phenylethanol은 26.3 mg/l로 시판 특급간장의 10.3 mg/l, 7.0 mg/l 보다 훨씬 많은 함량이였다. 野田 등⁽⁹⁾은 bioreactor를 이용한 간장의 연구에서 이러한 현상을 고정화 균체를 이용한 알코올 발효의 특징이라고 지적하였다.

그리고 간장 특유의 성분인 4-ethylguaiacol은 *C. etchellsii* H-50의 고정화 균체에 의한 발효에서 18.2 mg/l로 시판 특급 간장의 2.2 mg/l에 비하여 약 8배 정도 높은 함량이였다.

감사의 말

이 논문은 1991년도 미원(주) 부설 한국음식문화 연구원의 연구비 지원에 의하여 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

Table 2. Alcohols and phenolic compounds of fish sauce prepared by each immobilized cells of *P. halophilus* R-22, *S. rouxii* R-60 and *C. etchellsii* H-50 (mg/l)

	Ethyl alcohol ¹⁾	n-Propyl alcohol	Isobutyl alcohol	n-Butyl alcohol	Isoamyl alcohol	2-Phenyl ethanol	4-Ethyl guaiacol	4-Ethyl phenol
Fish sauce	27	4.6	8.8	trace	18.1	26.3	18.2	trace
Soy sauce ²⁾	2.3	2.6	6.2	1.8	10.3	7.0	2.2	trace

¹⁾percentage, ²⁾Soy sauce(super grade) obtained from market

요 약

본 연구는 간장의 속성발효를 하기 위하여 *Pediococcus halophilus* R-22, *Saccharomyces rouxii* R-60과 *Candida etchellsii* H-50의 균체를 고정화하여 충전한 column형 reactor에 정어리 분해액을 주입하면서 연속적으로 속성발효를 시도하였다.

Column형 reactor에서 *P. halophilus* R-22의 고정화 균체의 연속적 속성 발효시 유산의 생성은 발효 25일까지는 0.62~0.64%이었고 30일 이후부터는 약간 감소하였다. *S. rouxii* R-60 고정화 균체의 연속적 속성 발효시 시작일부터 35일까지는 ethylalcohol이 2.1~2.5%로 거의 일정하게 생성되었고 40일 이후에는 약간 감소하였다. *C. etchellsii* H-50 고정화 균체의 발효에서는 35일까지는 4-ethylguaiaicol의 함량이 14~16 mg//로 거의 일정하게 생성되었으나 발효 40일 이후 약간 감소하였다.

Column형 reactor의 발효에서 얻은 어간장의 성분을 분석한 결과 총질소는 1,721.6 mg%, 아미노태 질소는 1,584.1 mg%, 유산은 0.75%, ethylalcohol은 2.7%, 4-ethylguaiaicol은 18.2 mg//이었다.

문 헌

1. 森 治産：醬油의 酵母(その 動態と 育種). 日本醸造協會誌, 69, 303(1971)
2. 横塚 保, 左左木正典, 布村伸作 淺尾保保夫：醬油의 香. 7(1), 日本醸造協會誌, 75, 516(1980)
3. Osaki, K., Okamoto, Y., Akao, T., Nagata, S. and Takamatsu, H.: Fermentation of soy sauce with immobilized whole cells. *J. Food Science*, 50, 1289(1985)
4. Hamada, T., Ishiyama, T. and Motai, H.: Continuous fermentation of soy sauce by immobilized cells of *Zygosaccharomyces rouxii* in an airlift reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 31, 346(1989)
5. 山田哲也, 水瀬古茂樹, 坪内一夫, 久 松眞：醬油製造法 바이오リアクターによる 研究. 三重大學生物資源紀要, 2, 17(1989)
6. 濱田孝可, 茂田井廣：固定化 바이오リアクターになる 醬油釀造味液의 製造. 日本醸造協會誌, 84(2), 83(1989)
7. 掘津浩章：醱酵固定化法を 導入した 醬油製造方法. *Bio-Industry*, 4(3), 198(1987)

8. 掘津浩章：河野克典, 間世田雄人, 河合啓一；セラミックスリアケになる 醬油の 新し 製造法(第 2報). 日本農學會學誌 昭化 第 62年 度大會講演要志. p.139(1987)
9. 野田義治, 大場和徳, 楠田秀喜, 中野正路：바이오リアクターを利用した しょうゆの研究. 日本醬油研究, 15(5), 177(1989)
10. 류병호, 김성준, 신동분：고정화균체를 이용하여 속성 발효시킨 정어리 어간장의 젖산, 알코올 및 4-ethylguaiaicol의 함량. 한국식품과학회지, 24(5), 456(1992)
11. 한봉호, 배태진, 조덕현, 김종철, 김병삼, 최수일：酵素 分解法에 의한 개량 漁醬油의 속성 製造 및 品質에 關한 研究. 韓國水産學會誌, 23(2), 109(1990)
12. Fukushima, Y., Okamura, K., Imai, K. and Motai, H.: A new immobilization technique of whole cells and enzyme with colloidal silica and alginate. *Biotechnol. and Bioeng.* 32, 584-594(1988)
13. Nam, K.D., Chio, M.H., Kim, W.S., Kim, H.S. and Ryu, B.H.: Simultaneous saccharification and alcohol fermentation of unheated starch by free, immobilized and coimmobilized systems of glycoamylase and *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Ferment. Technol.*, (Japan), 66, 427(1988)
14. Spies, T.R. and Chambers, D.C.: Spectrophotometric analysis of amino acid and peptides with their copper salt. *J. Biol. Chem.*, 191, 787-789(1951)
15. Onaka, K., Okamoto, Y., Inoue, T. and Kubo, S.: Beer brewing with immobilized whole cells. *J. Food Sci.*, 50, 1289(1985)
16. Mori, A.: Production of vinegar by immobilized cells. *Process Biochem.*, 20, 67(1985)
17. 류병호, 김혜성, 노명훈, 박법규, 정종순, 배기철：세포 융합과 고정화 시스템을 이용한 L-lysine의 생산성 향상. 한국식품과학회지, 21(1), 154(1989)
18. Yongsmitth, B. and Chutima, K.: Production of Vitamin B₁₂ by living bacterial cells immobilized in calcium alginate gels. *J. Ferment. Technol.*, 64(61), 593(1983)
19. 中西一弘：食品工業界 바이오リアクターの 現状と 展望. 日本醬油研究, 16(3), 72(1990)
20. 小瀬古茂秀, 久 松眞, 山田哲也：바이오リアクターによる 醬油製造法의 研究. 三重大學生物資源紀要, 2, 187(1989)
21. Horisu, M., Maseda, Y. and Kawai, K.: A new process for soy sauce fermentation by immobilized yeasts. *Agric. Biol. Chem.*, 54(2), 295(1990)

(1992년 12월 29일 접수)