

고정화 효모를 이용한 맥주의 연속 숙성공정 개발

¹박상재·†이올락·¹김상호·²최차용
¹두산인재기술개발원, †대전산업대학교 화학공학과, ²서울대학교 응용화학부
(접수: 2000. 7. 2., 게재승인: 2000. 8. 29.)

Development of Continuous Beer Maturation Process Using Immobilized Yeast

¹Sang-Jae Park, †Youl-Lark Lee, ¹Sang-Ho Kim, and ²Cha-Yong Choi
†Department of Chemical Engineering, Taejon National Univ. of Technology, Taejon 300-717, Korea
¹Doosan Technical Center, 39-13 Sungbok-Ri, Suji-Yub, Yongin-Si, Kyunggi-Do 449-840, Korea
²Division of Chemical Engineering, Seoul National University, Seoul 151-744, Korea
(Received: 2000. 7. 2., Accepted: 2000. 8. 29.)

Continuous processes using immobilized yeast were investigated in order to shorten beer maturation time. Three silica-based ceramic media and one cellulose-based medium were used. Diacetyl (DA) was one of the most distinctive compounds causing immature flavors. Heat treatment of green beer (GB) to convert α -acetolactate to DA was essential to shorten the time for beer maturation. The longer heat treatment time was needed at the lower temperature. Oxygen concentration in GB had a large influence on the conversion of α -acetolactate to DA. The lower the oxygen concentration in GB, the lower conversion ratio to DA. Heat treated GB was fed continuously to four kinds of immobilized yeast columns. DA concentration after immobilization columns was reduced to less than 0.1ppm at 3~5°C and 80~150 minutes retention time in all columns tested. This concentration is enough to fit the quality specification of commercialized product. Formation of α -acetolactate from residual sugars was higher in ceramic media column than cellulose media column. The taste of beers from test processes were not the same as that of traditionally produced beer, but no off-flavors were detected in test samples, which shows that immobilized yeast columns have potentials as rapid processes for beer maturation.

Key Words : immobilized yeast reactor, beer maturation, immobilization media, diacetyl, heat treatment

서론

맥주 제조 공정은 크게 맥아, 전분, 홉 등을 당화하고 혼합하는 맥즙 제조 공정, 대부분의 발효가 일어나는 전발효, 잔당의 발효 및 숙성이 이루어지는 후발효(숙성), 여과 및 제품화 공정으로 구분할 수 있다. 기존의 맥주 발효 공정은 회분식으로 운전되어 제조 기간이 4~6주로 길고, 공장의 건설 시 전체 투자비 중 발효 및 숙성 설비 부분의 투자비가 차지하는 비중이 15~20% 정도로 높다. 이를 개선하기 위하여 보다 생산성이 높은 연속식 맥주 생산공정의 개발이 필요하게 되었다. 맥주의 제조는 원료의 영향을 많이 받는 부분으로 연속식 공정의 필요성만 제기되는 단계이며, 전발효 부분

은 맥주의 맛에 매우 큰 영향을 주는 부분으로 아직 연속 공정이 연구만 되는 단계이고 일부 개발된 공정도 개선의 여지가 많으며(1,2), 후발효 부분은 숙성 단계로 미숙취의 제거가 주목적인데 고정화 효모반응기를 이용한 공정시간의 단축이 시도되고 있다(3,4). 전체 공정 중 숙성 단계에서 소요되는 시간이 전체 공정 중 70% 수준으로 매우 길며, 그에 따라 장시간 많은 물량을 저온 보관하여야 하므로 설비투자비와 운전비의 부담이 크다. 따라서 숙성 공정의 단축이 건설비 및 운전비 절감에 매우 효과적일 수 있음을 짐작할 수 있다.

맥주의 제조 시 중요하게 여기는 것은 제품의 맛과 향이다. 맥주의 향과 맛을 내는 에스테르류, 유기산류 및 고급알콜류는 Figure 1에 나타난 바와 같이 대부분 전발효 과정에서 생성되며 후발효 시에는 전발효 기간 중 생성되었던 미숙취 성분(Alpha hydroxy acids, AHA)이 효모에 의해 제거된다. 따라서 전발효는 향기성분을 생성하므로써 맛을 내는 공정이고, 후발효는 미숙취를 제거함으로써 맛을 완성하는 공정이라고 볼 수 있다. 맛의 경우 현재 분석하는 항목의 경우 대

†Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Taejon National University of Technology, Taejon 300-717, Korea
Tel : +82-42-630-0447, Fax : +82-42-630-0346
E-mail : yllee@hyunam.tnut.ac.kr

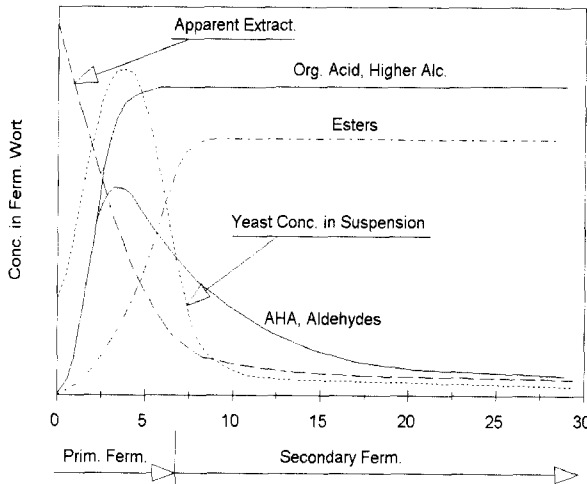


Figure 1. Formation and reduction of flavor substances during beer fermentation. AHA : Alphahydroxyacids

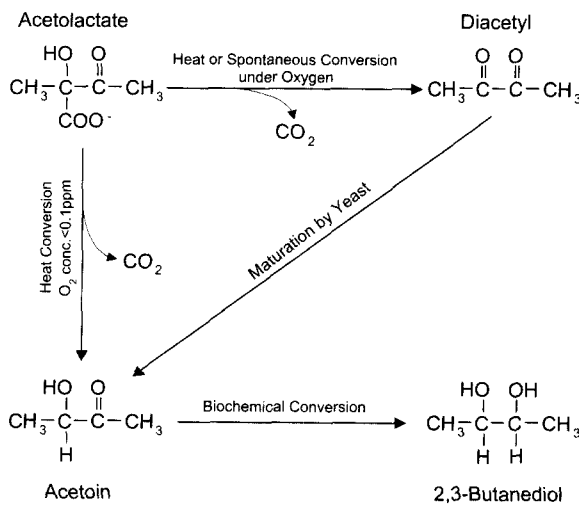


Figure 2. Schematic diagram of α -acetolactate conversion to diacetyl, acetoin and 2,3-butanediol at heat treatment.

부분이 전발효 말기에 생성이 완료되며(5) 이 기간에 미숙취를 낸다고 알려진 물질도 함께 생성된다. 후발효 기간에 제일 큰 변화를 보이는 물질은 diacetyl로 미숙취를 내는 물질로 알려져 있다. Diacetyl은 전구체인 α -acetolactate의 열화학적 전환에 의해 생성되고 이것은 다시 효모내의 효소에 의해 taste threshold value가 높은 acetoin 또는 2,3-butanediol로 전환된다(Figure 2).

기존의 숙성공정의 경우 0~5°C의 저온에서 정지상태로 행해지므로 전구체가 diacetyl로 변환되는 속도가 매우 느리며 대부분의 효모가 바닥에 가라 앉으므로 생화학적 반응도 매우 느려져 숙성에 긴 기간이 소요되는 것이다. 이러한 숙성 mechanism에 착안하여 유전자 조작(6,7), 효소의 첨가(8) 고정화 공정의 응용(9) 등의 방법이 시도되어 왔다.

열처리와 고정화 효모 반응기를 활용하여 숙성기간을 단축하려는 시도가 일부 외국의 맥주회사에서 있어왔으나, 아직 그 구체적 내용은 잘 알려져 있지 않은 상태이다. 본 연구에서는 국내 기업 및 자체적으로 개발한 세라믹 재질의 담체를

사용하여 현장에 적용할 수 있는 실용적인 숙성 공정을 개발하기 위한 기초 연구로써 열처리 및 고정화 효모반응기 운전 에 미치는 각종 운전 변수에 관하여 고찰하고 실용화가 가능한 담체를 선정하였다.

재료 및 방법

담체, 균주, 배지 및 전발효 맥주

효모 고정화용 담체로는 FLO, HAN, G-2 및 GDC를 사용하였다. FLO는 동양난 재배시 보습용으로 사용되는 다공성 화산석을 1-2.5 mm크기로 파쇄 후 600°C로 1.5시간 태우고 이를 다시 1 N HCl 용액으로 2 시간 처리하여 불순물을 제거하여 제조하였다(10). HAN은 실리카를 1-2 mm 크기로 염과 함께 성형, 소결한 후 염을 녹여내는 방법으로 제조한 담체로 한국유리(주)로부터 제공받았다(11). G-2는 실리카 재질의 담체를 고상포말법(12)으로 만든 후 1-2.5 mm의 크기로 파쇄한 것으로 쌍용양회(주)로부터 제공받았다. GDC (Spezyme GDC^(R), Finnsugar Co., Ltd., Finland)는 Cellulose를 고분자와 혼합하여 압출 성형한 것으로 크기가 0.8-1.5 mm인 것을 사용하였다.

고정화에 사용한 균주는 오비맥주(주)에서 맥주의 생산을 위해 사용하고 있는 *Saccharomyces uvarum* E2를 사용하였으며 slant상태로 냉장고에 보관하면서 맥즙(wort)에서 배양 후 사용하였다.

Seed culture 및 효모의 배양을 위해 사용한 맥즙은 오비맥주(주) 공장에서 생산되는 것을 Gelman 0.45 μ m Filter로 여과 후 사용하였고 숙성효과를 확인을 위해 사용한 맥주는 오비맥주(주) 공장에서 전발효가 끝난 맥주를 Gelman 0.45 μ m Filter로 여과하여 효모를 제거한 후 사용하였다.

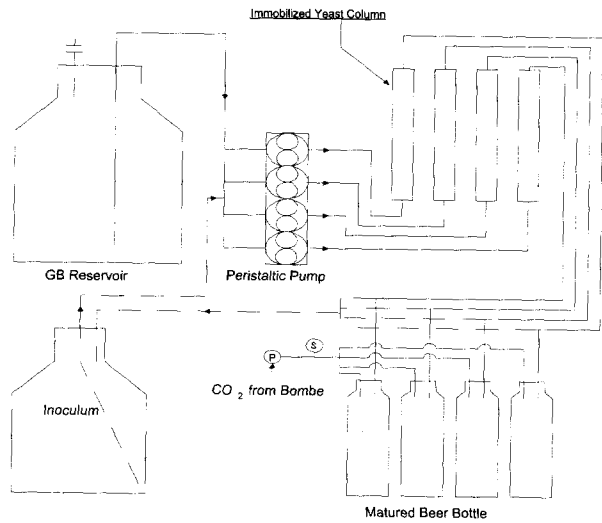
고정화된 효모 농도의 측정

효모가 고정화된 세라믹 담체 1 mL 정도를 시험관에 넣은 후 5 mL의 NaCl (2%, w/v) 용액을 넣고, Vortex mixer로 담체가 완전히 회전할 정도로 15 초간 섞어 준 후 따라내는 과정을 반복하여 모은 전체 탈착액을 Haemacytometer로 효모의 수를 계수하고, 담체무게 또는 충전 부피당 균수로 환산하였다(10).

Flavor, 유기산, 아미노산, 당, 금속이온 및 산소농도 분석

Flavor류와 vicinal diketone (diacetyl, 2,3-pentanediol)은 GC (Shimadzu-14B, FID detector, Alltech AT-1 column 및 ECD detector, 10% DEGS on Chromosorb W-HP 100/120 mesh column)를 사용하여 분석하였다. 유기산은 탈기한 시료 10 mL에 내부표준물질 (Hexanedioic acid) 300 μ L를 넣고 섞은 후 screw cap tube에 1 mL을 취하고, 메탄올 2 mL, 진한황산 300 μ L를 넣고 55°C에서 30분간 열처리, 상온으로 냉각하는 방법으로 methylation하여 methyl ester를 만들고, 이를 chloroform을 사용하여 추출한 후 하층의 클로로포름 층에서 1 μ L를 GC(Shimadzu-14B, FID detector, Supelco WAX column)에 injection하여 분석하였다.

아미노산은 Shimadzu LC-10A (Fluorescence detector, C18 column), 당류는 Shimadzu LC-10A (RI detector, YMC-Polyamine



P : Pressure Gauge
S : Safety Valve

— : Flow for Maturation --- : Flow for Immobilization

Figure 3. Schematic diagram of 100 mL packed-bed beer maturation system.

II column)를 각각 사용하여 분석하였다. Oxalate는 Ion chromatography (DIONEX사 column)로 분석하였다.

산소함량은 0.1 ppm 이하의 농도도 측정 가능한 Digox EX-401 D.O. meter (Hoffmans, Brazil)를 사용하였다.

관능 검사

맥주의 품질을 평가하는 관능검사는 오비맥주(주) 관능검사원들을 대상으로 Ranking Test의 방법으로 실시하였다.

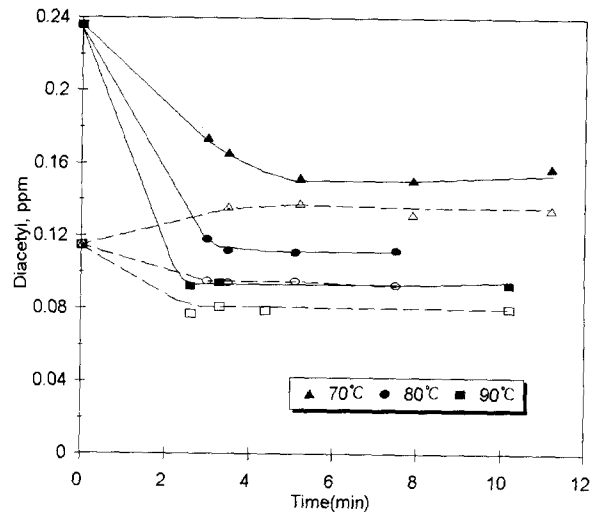
장치 및 방법

맥주의 연속숙성은 Figure 3과 같은 장치를 이용하였다. 미숙성맥주 (Green Beer, GB)는 오비맥주 서울공장에서 전발효가 끝난 것을 산소와 접촉하지 않게 1 µm sheet filter (SCENK, Germany)로 여과한 후 60°C에서 30분간 열처리한 후 유리병 (5L)에 옮기고, 이를 0~5°C로 보관하면서 고정화 컬럼에 공급하였다. 용량 100 mL인 4개의 칼럼에 각각 GDC, HAN, G-2, FLO담체를 충전하고 충전한 담체는 121°C에서 20분간 멸균한 후 사용하였다. 효모는 2×10⁸cells/mL 농도의 배양액 1 L를 peristaltic pump를 이용하여 체류시간 2시간의 속도로 4°C에서 10시간동안 column에 순환시키면서 고정화시켰다. 숙성 test시 컬럼을 통과한 맥주는 0°C로 보관하면서 적정 시간 간격으로 sampling하였고, 전체 시스템은 발효시 생성되는 이산화탄소로 인한 기포의 발생을 막기위해 압축 이산화탄소를 이용하여 1~2 Kg/Cm²의 압력을 유지하였다.

결과 및 토론

GB의 열처리 효과

기존의 숙성공정이 4~5주라는 오랜기간을 필요로한 이유는 diacetyl (DA)의 전구체인 α-acetolactate가 DA로 전환되는 spontaneous conversion (Figure 2)의 진행이 느렸기 때문으



— : Total diacetyl; --- : Free diacetyl.

Figure 4. Influences of heat treatment temperature and time on α-acetolactate conversion to diacetyl in green beer.

로 고속 숙성을 위해서는 이 과정을 단축해야만 한다. 이를 위해 전발효가 끝난 GB에서 효모를 제거하고, 이를 열처리하여 전구체의 농도를 최소화하는 공정이 필요하게 된 것이다. Figure 4에서와 같이 열처리 온도와 시간의 변화에 따른 α-acetolactate의 전환은 온도가 높을수록 α-acetolactate가 DA로 전환되는 양은 적어지고, 전환에 소요되는 시간도 짧아 지게되어 70°C이상인 경우 4분이면 전환이 완료되었다. 온도가 높을수록 처리시간이 짧은 것은 이 반응이 열화학반응이기 때문이다. 열처리온도의 경우 70°C에 비해 80, 90°C에서 total diacetyl의 농도가 현저히 감소하는 결과를 보였다. 여기서 total diacetyl은 DA자체 (free diacetyl)와 DA로 전환될 수 있는 전구체를 합한 양이다. Total DA가 열처리에 의해 현저히 감소하는 것은 전구체인 α-acetolactate가 열처리에 의해 DA외에 acetoin으로 직접 전환되기 때문으로, 본 실험결과는 Kamiya 등의 연구결과(13)와 일치하였다. GB중의 bisulphite도 α-acetolactate와 complex를 형성하여 열처리 후 생성되는 DA의 농도를 낮추는 역할을 한다고 알려져 있으나 (14) 본 연구에서는 이에 대해 구체적으로 분석하지 않았다. 한편, 전구체의 전환에도 불구하고 80, 90°C의 경우 free DA의 농도가 오히려 줄어드는 것은 열처리에 의해 DA자체도 다른 물질로 변환되는 것으로 추정되는데 본 연구에서는 그 경로와 변환된 물질을 확인할 수 없었다. 온도, 시간외에 산소 농도가 GB의 열처리에 중요한 변수로 나타났다(Figure 5). 산소농도 0.1 ppm 이하에서는 α-acetolactate가 DA로 거의 전환되지 않고 산소농도가 높아질수록 DA로 가는 비율이 현저히 높아짐을 알 수 있었다. Figure 5의 결과는 α-acetolactate는 산소의 농도에 따라 acetoin과 DA로 전환되는 비율이 달라 산소농도가 0.1 ppm 이하일 경우 acetoin으로 전환되는 비율이 높아지고, 산소농도가 높을 경우 DA로 전환되는 비율이 높아진다는 사실과 일치하였다(13). 따라서 열처리 후의 DA 농도를 최소화 하기 위해서는 열처리전의 전발효 맥주의 이송 및 효모 제거 공정에서 공기와의 접촉을 최소화하는 것이 매우 중요함을 알 수 있다. 순수물질의 경우 1 ppm이상의

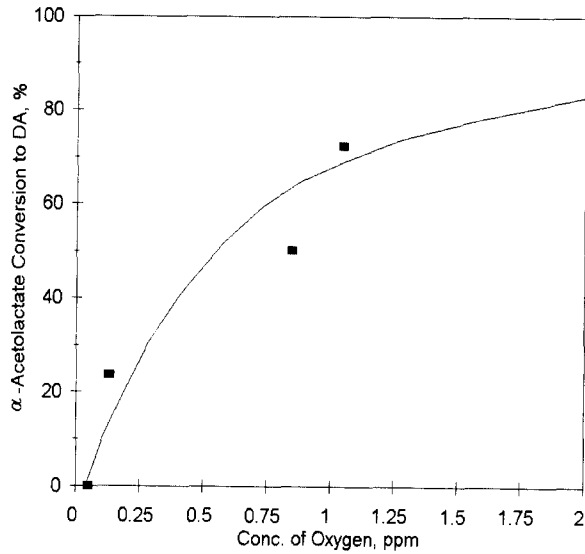


Figure 5. Influence of oxygen concentration on α -acetolactate conversion to diacetyl during heat treatment.
Heat treatment condition : 4 minutes at 70°C.

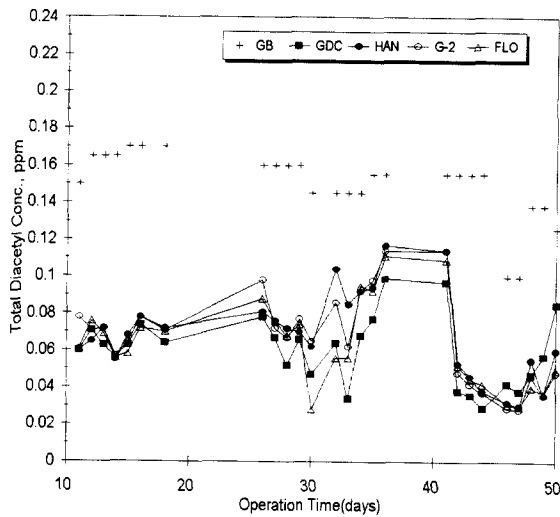


Figure 6. Total diacetyl concentration changes during long term operation of columns.
Operation condition : retention time of 60~180 minutes at 3~5°C.

산소농도에서 모든 전구체가 DA로 전환된다는 Kamiya 등의 연구결과(13)와는 달리 맥주 중에서는 1 ppm의 농도에서도 소량의 전구체는 DA 외의 물질로 전환되는 것으로 보아 전구체의 전환에 앞서 언급하였던 bisulphite와 같은 물질이 작용한 결과로 생각된다.

Diacetyl의 제거

고정화 효모 컬럼을 통과한 맥주 중의 TDA의 농도는 Figure 6에서와 같이 모든 종류의 담체 column에서 Taste Threshold Value인 0.1 ppm 이하로 낮아져 이들 담체는 모두 고속 숙성을 위하여 사용가능함을 알 수 있었다. 일부 구간에서 0.1 ppm이상의 수치가 관찰되었으나 이는 장기간의 연속운전에 따르는 장치상의 문제로 인한 이상 결과로 사료된다. 단

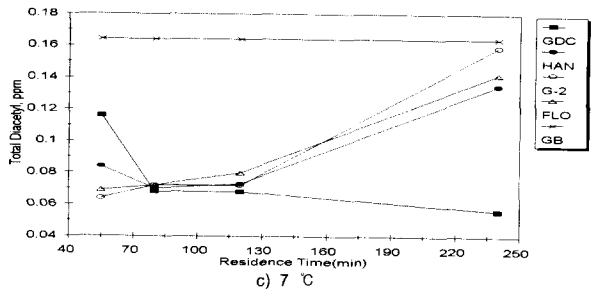
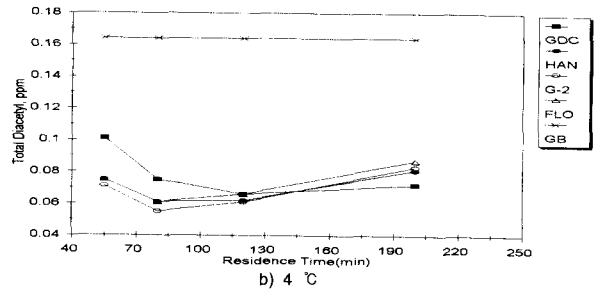
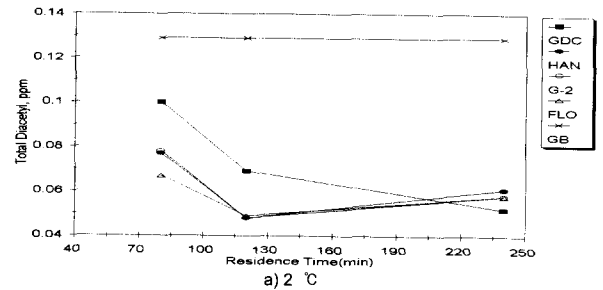


Figure 7. Influences of retention time on total diacetyl concentration of finished beer.

순 DA대신에 TDA사용한 것은 숙성과정이 끝나서 효모를 제거할 경우 전구체도 결국 DA로 바뀌어 제품속에 포함되기 때문이다. 담체간의 특징을 비교하기 위하여 온도와 체류시간을 달리하면서 맥주 중의 TDA농도의 변화를 조사한 결과 Figure 7에 나타낸 바와 같이 세라믹 담체와 셀룰로오스 담체간에는 최적 운전조건에 있어 다소의 차이가 있었다. 세라믹 담체의 경우 체류시간이 길어질수록 TDA의 농도가 낮아졌으나 일정 체류시간 이상에서는 TDA의 농도가 오히려 증가하였으며 GDC의 경우 체류시간이 길수록 TDA의 농도가 낮아져 대조를 이루었다. TDA의 제거 측면에서만 본다면 체류시간이 길어지는 것은 반응시간이 길어진다는 의미이므로 체류시간이 길어질수록 그 농도가 낮아지는 것이 당연하다. 세라믹 담체의 경우 일정 체류시간 이상에서 TDA농도가 높아지는 것은 전발효 맥주 중에 남아있는 당분이 발효되면서 새롭게 전구체인 α -acetolactate를 생성하기 때문이다. GDC의 경우에 이러한 현상이 일어나지 않는 것은 고정화된 효모의 농도가 세라믹 담체의 경우의 1/2 - 1/3에 지나지 않아 상대적으로 발효의 속도가 낮기 때문으로 생각된다. GDC의 경우도 만일 체류시간을 본 실험에서보다 더 길게 한다면 마찬가지로 현상이 일어날 것으로 추정된다. 이상의 결과를 바탕으로 각 운전조건하에서 제거되는 DA의 농도를 비교하면 Figure 8에 나타낸 바와 같이 고정화 효모 반응기에 의한 맥주 숙성의 경우 담체의 종류 및 온도에 따라 최적의 체류 조

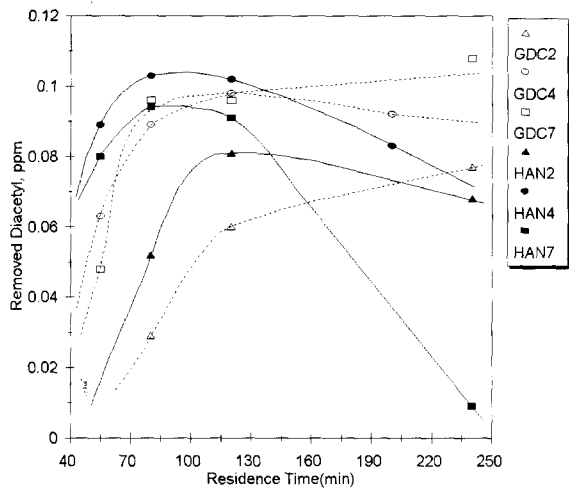


Figure 8. Influences of residence time on diacetyl removal with different media and operation conditions.
GDC, HAN : Media 2, 4, 7 : Operation temperature(°C)

건이 있음을 알 수 있었다. 현실적으로 요구되는 맥주 중의 diacetyl 농도는 0.1 ppm이하이므로 이 농도를 유지할 수 있는 컬럼의 운전조건을 Table 1에 보였다. 숙성시간 및 결보기 당도의 변화 모두를 고려한다면 HAN 담체가 GDC에 비해 보다 낮은 온도에서 사용가능함을 알 수 있다. 이상의 결과에서 숙성공정을 DA의 농도 감소만을 기준으로 삼는다면 기존의 4~5주의 숙성기간이 80~150분으로 단축 될 수 있음을 알 수 있다.

결보기 당도의 변화

당분의 경우 전발효 단계에서 대부분 발효에 이용되고 후 발효로 넘어갈 때에는 소량의 당만이 남게 된다. 이 양은 3% Pl (Plato) 정도로 후발효를 거치면서 0.5~0.8% Pl 정도 소모 되고 최종적으로는 2.2~2.5% Pl 정도의 당분이 제품중에 남게 된다. 이것이 기존의 후발효 공정이므로 고정화 효모 컬럼 역시 제품의 품질을 동일하게 유지하기 위해서는 최종 당분의 농도를 동일한 수준으로 유지할 필요가 있다. 결국 전 발효 조건이 기존의 공정과 동일한 경우 컬럼을 통과하면서 0.5~0.8%의 당의 소비가 일어나야 한다. 그러나 고정화 칼럼에서 새로운 DA의 생성없이 소비가능한 당도는 0.1~0.3% Pl 정도이므로 (Table 1) 고정화 컬럼으로 기존의 후발효를 대체하기 위해서는 전발효를 기존의 공정보다 0.2~0.7%Pl 정도 더 진행시켜야 한다는 것을 알 수 있다. 특히 GDC 담체의 경우 고정화 컬럼을 지나면서 발효의 진행이 상대적으로 적으므로 전발효 단계에서 당을 거의 완전히 발효시켜야

Table 1. Comparison of apparent attenuation changes at different operation conditions.

	Temperature(°C)	Residence Time	Attenuation
GDC	2	above 200min.	~0.05%Pl
	4	100~180min.	0.15~0.20%Pl
	7	above 80min.	0.14~0.20%Pl
HAN	2	100~180min.	0.10~0.25%Pl
	4	70~120min.	0.20~0.32%Pl
	7	70~100min.	0.19~0.29%Pl

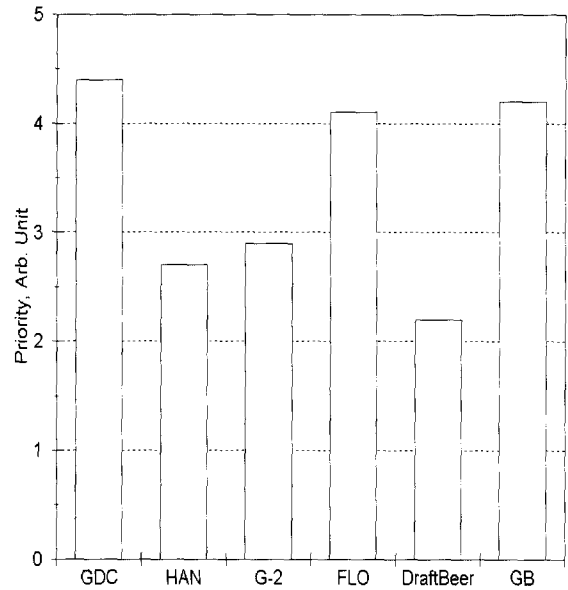


Figure 9. The result of panel test (Ranking test).
Priority is in the range of 1 to 6. 1 is preferred to 6.
Draft Beer : matured beer by conventional maturation process; GB : Immatured beer.

한다. 따라서 체류시간이 길어짐에 따라 당의 발효와 함께 DA가 생성되므로 DA가 과도하게 생성되지 않도록 당의 발효를 조절할 수 있도록 각각의 담체에 적절한 운전조건을 잡아야 함을 알 수 있다.

관능 검사

고정화 컬럼을 통과한 맥주를 판매용 제품과 동일한 농도가 되게 희석하고 적정수준으로 carbonation 시킨 후 ranking test의 방식으로 관능검사를 실시한 결과를 Figure 9에 보였다. 가장 선호도가 높은 sample은 기존공정에 의해 제품화된 상품 생맥주였고, 다음으로 HAN 담체의 컬럼을 통과한 것이었다. 고정화 효모 컬럼을 이용하여 숙성한 맥주 중에서는 HAN 담체가 충전된 컬럼이 제일 선호도가 높았고, GDC 담체가 고정화된 컬럼의 경우 선호도에 있어 제일 낮은 결과를 보였다. 그러나, 이 결과는 sample의 제조상 기존의 제품과 동일한 설비와 과정을 따르지 못했기 때문에 절대적인 비교치로 채택하기에는 무리가 있으나, 적어도 고정화 효모 컬럼을 이용하여 고속 숙성한 맥주의 경우 특별히 문제가 될 정도의 품질의 차이점을 찾을 수 없으므로 현장 생산공정에 적용할 수 있는 가능성이 충분히 있다는 결론을 내릴 수 있었다.

요 약

맥주의 숙성기간을 단축시키기 위해 네 종류의 고정화용 담체를 활용한 고정화 효모 반응기를 시험하였다. 전발효가 끝난 Green Beer (GB)를 효모를 제거하고 열처리할 경우 처리온도가 높을수록 전구체인 α-acetolactate의 diacetyl로의 전환율이 낮고 전환속도도 빨라 70°C이상의 온도에서는 4분이면 충분하였다. GB 중의 산소농도는 전구체에서 DA로의 전환율에 매우 큰 영향을 끼쳤는데 그 농도가 낮을수록 전환율

이 낮았으며 0.1 ppm 이하의 농도에서는 거의 대부분의 전구체가 DA이외의 물질로 전환되었다. 열처리한 전발효 맥주를 HAN, G-2, FLO, GDC 담체 column에 3~5°C, 체류시간 80~150분으로 통과시킬 경우 diacetyl 농도를 상품 맥주의 품질로 적합한 0.1 ppm이하로 떨어뜨릴 수 있어서 시험한 담체 모두 맥주 숙성용 효모고정화용 담체로의 실용화 가능성이 있었다. 이 때 세라믹 담체 column의 경우 GDC 담체 column에 비해 미발효된 잔당의 발효에 의한 새로운 DA 전구체의 생성이 많았다. 위와 같은 방법으로 생산한 맥주를 공장에서 기존의 방법으로 생산한 맥주와 맛을 비교한 결과 미세한 차이가 있으나 불쾌한 느낌을 주는 이취등은 발견되지 않아 고정화 효모 반응기에 의한 고속 숙성공정의 현장적용 가능성이 높음을 확인할 수 있었다.

감 사

본 연구를 위해 담체를 제공해준 쌍용양회(주), 한국유리(주), Kirin 맥주(주) 그리고 연구결과와 공개를 허락해 준 두산 인제기술개발원에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Curin, J., B. Pardonova, M. Poledinikova, H. Sedova, and M. Kahler(1987), Beer production with immobilized yeast. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, 433-440.
2. Inoue, T.(1988), Immobilized cell biotechnology-a new possibility for brewing?. *ASBC Journal*, **46(3)**, 64-66.
3. Matsuzawa, K., T. Yoshimura, K. Nakahara, N. Takahashi, and N. Hashimoto(1995), Small Scale Brewing at Kirin Kyoto Mini-Brewery and Views on the Future Microbrewery Business in Japan. *MBAA Technical Quarterly*, **32(4)**, 231-237.
4. Nakanishi, K., T. Onaka, T. Inoue, and S. Kuno(1985), A new immobilized yeast reactor system for rapid production of beer. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, 331-338.
5. Kaneda, H., and S. Koshino(1995), Shelf life studies of beer. *Nihonjojokyoikaisi*, **90(3)**, 167-72.
6. Inoue, T., J. Tanaka, and S. Mitsui(1993), in JAPANESE TECHNOLOGY REVIEWS, Section E, Volume 2, Number 1:Recent Advances in Japanese Brewing Technology, Isao Karube ed. Gordon and Breach Science Publishers, New York, 45-105.
7. Shindo, S., H. Sahara, S. Koshino, and H. Tanaka(1993), Control of diacetyl precursor[α -acetolactate] formation during alcohol fermentation with yeast cells immobilized in alginate fibers with double gel layers. *J. Ferment. & Bioeng.*, **76(3)**, 199-202.
8. Linko, M., M.L. Suihko, J. Kronlof, and S. Home(1993), Use of brewer's yeast expressing α -acetolactate decarboxylase in conventional and immobilized fermentations. *MBAA Technical Quarterly*, **30**, 93-97.
9. Pajunen, E., V. Mäkinen, H. Lommi, and M.S. Loisa (1990), Method for the continuous maturation of fermented beer. *US Patent* 4,915,959.
10. Park, S.J.(1996), Studies on the development of beer maturation process using immobilized yeast, Ph.D. Dissertation, Dept. of Chemical Technology, Seoul National University, Seoul.
11. Lee, J.Y., and C.S. Choi(1994), Method for producing porous sintered glass media with open pores, *Korea Patent* 75,635.
12. Suzuki, A., S. Matsuda, T. Narumiya, and F. Odaka (1990), Bioreactor using open-cell porous ceramic carrier. WO 90/01538.
13. Kamiya, T., K. Kajinon H. Hiratsu, M. Mawatari, and T. Inoue(1993). A new schema for the conversion of acetolactate in young beer. *MBAA Technical Quarterly*, **30**, 14-15.
14. Lommi, H., E. Pajunen, and A. Gronqvist(1990), Immobilized yeast reactor speeds beer production. *Food Technology*, 128-133.