

한국 재래간장의 한외여과시 막의 분획분자량 크기가 투과간장의 투과속도와 품질에 미치는 영향

최종동 · 권광일 · 정현채 · 임무혁* · 최 청 · 최광수

영남대학교 식품가공학과
*경인 지방 식품의약품안전청

Effects of Molecular Weight Cut-off Size of Membrane on the Flux and Quality of Permeate during Ultrafiltration of Korean Conventional Soy Sauce

Jong-Dong Choi, Kwang-Il Kwon, Hyun-Chae Chung, Moo-Hyeog Im*,
Cheong Choi and Kwang-Soo Choi

Department of Food Science & Technology, Yeungnam University
*Kyungin regional Food & Drug Administration

Abstract

This study was carried out to investigate the possibility of the application of the ultrafiltration technique, to solve various problems such as browning, flavor deterioration and so on occurring during sterilization of *kanjang*. The effects of molecular weight cut-off size of membrane, filtration pressure and agitation speed (cross flow rate) of feeding *kanjang* in the filtration unit on the flux, total permeate volume, chemical composition, light absorbance and total viable counts of permeates was investigated using batch type flat membrane ultrafiltration testing unit. The higher flux, total permeate volume, pure extract content and absorbancy of permeate could be obtained by the membrane with the larger molecular weight cut-off size, the higher cross flow rate and filtration pressure during the initial few hours of the ultrafiltration test of *kanjang* although the flux of permeate diminished gradually in the course of ultrafiltration operation. Yet no significant differences in pH, NaCl, total nitrogen and free amino acid content were found between permeate *kanjang* samples. Both permeates from membrane with molecular weight cut-off size of 10 and 200 kilodaltons were proved to be free from microbes in ultrafiltration test of *kanjang*.

Key words: *kanjang*(soy sauce), ultrafiltration, flux, chemical composition

서 론

재래간장의 발효에는 세균, 사상균, 젖산균 및 효모와 같은 많은 미생물이 관여하여 일반적으로 간장은 제조공정에 여과공정과 살균공정을 포함하고 있다. 특히 발효식품에서는 숙성된 제품이 더 이상의 발효가 진행되지 않게 하고 유통 및 저장 안정성을 부여하기 위하여 살균공정은 필수 불가결한 과정이다.

Corresponding author: Kwang-Soo Choi, Department of Food Science and Technology, College of Natural Resources, Yeungnam University, 214-1 Dae-dong, Kyongsan-si, Kyungsangbuk-do 712-749, Korea

지금까지의 재래간장의 살균은 일반적으로 장시간 직접 가열하는 방식을 이용하였다. 최광수 등(1998)은 재래매주와 간장에 널리 분포하고 있으며, 재래간장에서 분리한 세균 *Bacillus subtilis* var. *globigii*는 내열성이 매우 강하여 $D_{100^{\circ}\text{C}}$ 값이 10.5분으로서 가열만으로 살균할 경우 장시간이 필요하며, UHT 살균이 바람직하다고 하였다. 하지만 간장을 가열처리 할 경우 다음과 같은 문제점을 가지고 있다. 열교환기 사용으로 인한 에너지 과소비, 주기적인 산 세정으로 인한 산 세정 폐수 발생, 열교환기 공간, 운전비용, 설비비용 발생, 냉각시설 필요, 사균, 미분해 단백질, 잡성분 제거 불가능 등을 들 수 있으며(장규섭, 1999), 또한 향기성

분의 손실, 지나친 갈색화 및 가열취의 발생과 같은 문제점이 있을 것이다.

간장산업에서의 이러한 문제점은 막분리 공정으로 해결될 수 있을 것으로 생각된다. 막분리 기술을 간장 산업에 이용하면, 가열하지 않으므로 가열취의 발생을 방지하고, 색소의 분해 및 식품 갈변 등이 일어나지 않으므로 제품의 품질 및 영양가의 손실을 최대한 방지하며, 증발 공정이 없기 때문에 휘발성 성분의 손실이 적어 식품 본연의 향기를 갖게 할 수 있을 것으로 생각된다.

막 이용기술을 간장산업에 이용한 연구로, Kusudo *et al.*(1981)은 살균한 간장의 찌꺼기로부터 간장을 회수하기 위하여 막여과를 이용하였고, 坂本明彦 등(1986)은 평막 종류별로 일본 간장의 여과실험을 실시하고 성분분석을 실시하였으며, Sasaki *et al.*(1993)도 막여과에 따른 장류의 성분과 성질을 조사하고, 분획분자량이 클수록 평균 투과유속이 크다고 하였다. 이처럼 간장의 막여과는 간장의 색 안정성을 통한 품질향상을 위하여 주로 이용되었다. 하지만 내열성 호기성 세균수가 많은 전통간장에 대한 한외막여과에 관한 연구는 없었다. 그래서 본 연구에서는 평막한외여과막 모듈을 이용하여 교반속도, 압력 및 막의 종류에 따른 간장의 한외여과 실험을 실시하고 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

전통식으로 제조하여 6개월간 숙성한 간장을 유압식 가압 여과기로 압착하여 간장을 얻고, 이 간장을 다시 Plate and Frame Filter(Armfield, England)로 여과한 간장을 한외여과용 간장으로 사용하였다.

한외여과실험 장치

Plate and Frame Filter로 여과한 공시 간장 300 mL를 평막한외여과막 모듈(Membrane Filter UHP-76K module: Advantec, Japan-최대용량 380 mL, Fig. 1 참조)을 이용하여 한외여과실험을 실시하였으며, 한외여과에 사용한 module은 막표면적 0.0045 m^2 , 높이 13 cm이고 질소가스에 의한 압력조절과 교반장치로 구성되어 있다.

모든 실험은 실온(25°C)에서 실시하였고, flux는 시간과 한외여과기의 단위면적에 대한 permeate 간장의 부피로 측정하였으며($\text{l/m}^2 \cdot \text{h}$), permeate 간장의 미생물과 성분을 분석 비교하였다.

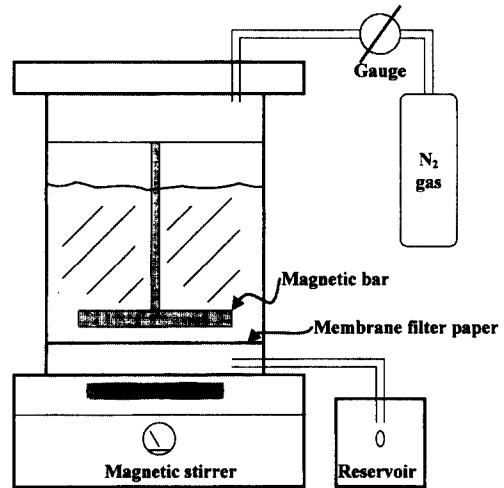


Fig. 1. Scheme of ultrafiltration unit (Membrane Filter UHP-76K, Advantec, Japan).

호기성 세균

시료 간장을 멸균증류수로 10배 단계 희석한 후 희석액 1 mL를 aerobic count petrifilm plate(3M, U.S.A.)에 접종하여 30°C 에서 48시간 배양한 후 붉은 색으로 염색된 colony 수를 측정하였다(하상도, 1996).

수분, 총질소, NaCl 및 pH 측정

AOAC법(1995)에 따라 수분은 상압 가열건조법으로 측정하였고, 총질소는 Kjeldahl법으로 측정하였으며, NaCl은 AgNO_3 적정법을 사용하였고, pH는 pH meter(Hanna, USA)로 측정하였다.

순추출물

정제해사를 증발집시에 취하여 $105 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 항량을 구한 후, 시료 일정량을 취하고 수분을 증발시켜 추출물의 함량을 측정하고, 여기에 식염의 양을 감하여 순추출물로 하였다(연세대학교 식품공학과, 1975).

갈색도

Permeate 간장 5 mL를 취하여 증류수로 10배 희석한 다음 $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter로 여과한 후, 이 액을 spectrophotometer(Pharmacia, Sweden)를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정한 후 희석배수를 곱하였다(박승규 등, 1990).

Lactic acid

Yoda *et al.*(1980)의 방법에 따라 간장 시료를 일정한 비율로 희석하고 $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter로 여과

한 후, 효소막을 이용한 YSI 2700 Select Biochemistry Analyzer(YSI Inc., U.S.A.)를 이용하여 분석하였다.

유리 아미노산

간장 10 mL와 methanol 10 mL를 잘 혼합하여 소금성분과 단백질성분을 침전시키고, 상정액 30 μl를 취하여 Woo와 Lee(1995)의 방법에 따라 유리 아미노산을 유도체화 시킨 후 GC로 분석하였다. Capillary column(Ultra-2, 0.32 mm×50 m)이 장착된 GC(DS 6200, Donam system Inc., Korea)를 사용하였으며, carrier gas는 질소를 사용하였다. 이때 injector와 detector(FID)의 온도는 각각 230°C와 250°C이었으며, 칼럼온도는 150°C에서 10분간 유지시킨 다음, 300°C까지 승온(6°C/min)시키고, 10분간 유지하였다.

결과 및 고찰

교반속도가 한외여과에 미치는 영향

Table 1과 2는 분획분자량 200,000 dalton의 한외여과용 평막을 사용하여 질소압력을 4 kg/cm²으로 고정하고 교반속도를 각각 250 rpm과 100 rpm으로 조절하여 여과한 permeate 간장의 성분을 분석한 결과이다.

250 rpm과 100 rpm의 교반속도 차이에 따른 permeate 간장의 일반성분 비교에서는 큰 차이가 없었으며, 유리아미노산의 함량도 비슷하여 교반속도가 여과 간장의 성분에 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

Table 1. Compositions of permeate *kanjang* filtered at different agitation speed and N₂ gas pressure

	Types of <i>kanjang</i>			
	A	B	C	D
Lactic acid	1.11	1.11	1.13	1.14
NaCl	20.46	20.46	21.04	20.02
Pure extract (%)	5.10	5.54	5.10	6.34
Total nitrogen	1.12	1.14	1.15	1.13
Moisture	74.44	74.15	73.86	73.64
pH	5.67	5.61	5.75	5.65
OD ¹⁾	2.50	2.42	2.97	3.87
Viable count	-	-	-	1.4×10 ⁵

A: *kanjang* filtered by UF membrane at 250 rpm, 4 kg/cm² N₂ pressure, MW cut-off size 200,000 dalton.

B: *kanjang* filtered by UF membrane at 100 rpm, 4 kg/cm² N₂ pressure, MW cut-off size 200,000 dalton.

C: *kanjang* filtered by UF membrane at 250 rpm, 2 kg/cm² N₂ pressure, MW cut-off size 200,000 dalton.

D: *kanjang* filtered by Plate and Frame Filter.

¹⁾OD: optical density at 500 nm.

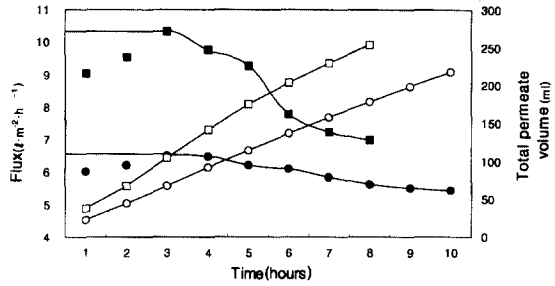


Fig. 2. Changes in flux and total permeate volume at different agitation speed with MW cut-off size 200,000 dalton. —■—: flux(l/m² h) at 4 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm; —●—: flux(l/m² h) at 4 kg/cm² N₂ pressure, 100 rpm; —□—: total permeate volume(mL) at 4 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm; —○—: total permeate volume(mL) at 4 kg/cm² N₂ pressure, 100 rpm.

Plate and Frame Filter로 여과한 간장과 한외여과 간장을 비교하면 순추출물과 OD 값에서 상당한 차이를 보였다. 한외여과 간장에서 순추출물과 OD 값이 낮았는데, 이것은 한외여과에 의한 미생물, 고분자 단백질과 미세 부유 물질이 제거되었기 때문인 것으로 생각되었다. 한외여과로 색깔이 옅어진 간장을 얻을 수 있었으며 또한 세균을 완벽하게 제거할 수 있었다. 이것으로 보아 분획분자량 200,000 dalton의 막으로 한외여과시킴으로써 재래간장에 내열성균으로 존재한다고 보고된 *Bacillus subtilis* 같은 세균(최광수 등, 1998)을 완전히 제거할 수 있어서 간장을 장시간 끓여서 살균할 때 야기되는 간장의 품질손상을 방지하고 저장성을 부여할 수 있을 것임을 할 수 있었다.

Fig. 2는 flux와 총 permeate의 양을 나타낸 결과이다. 초기 3시간까지는 안정된 flux를 보이지 못하였는데, 이것은 여과에 의한 module 내부 간장의 감소로 교반속도가 영향을 받았기 때문인 것으로 생각되었다. 교반속도 250 rpm이 교반속도 100 rpm보다 높은 flux를 보여주었으며, 200 mL를 여과하는데 소요된 시간도 교반속도 250 rpm의 경우 약 6시간이 소요된 반면 교반속도 100 rpm에서는 약 9시간으로 많은 시간이 필요하였다. 하지만 250 rpm의 경우 시간의 경과에 따라 flux가 급격히 감소하였지만, 100 rpm에서는 시간의 경과에 따른 flux의 감소가 완만하였다.

Membrane Filter UHP-76K module을 이용한 한외여과에서 교반속도는 여과 간장의 성분에는 크게 영향을 주지 않았지만, flux에는 큰 영향을 주어 교반속도, 즉 cross flow rate가 빠르면 flux가 높아짐을 알 수 있었다.

Table 2. Amino acid compositions of permeate *kanjang* obtained at different agitation speed and N₂ gas pressure (Unit: mg%)

	Types of <i>kanjang</i>			
	A	B	C	D
Alanine	265.06	276.76	265.30	250.41
Glycine	118.84	114.15	107.58	98.38
Valine	150.89	187.25	157.05	165.46
Leucine	188.37	187.97	210.25	225.56
Isoleucine	128.45	128.83	139.06	152.31
Proline	90.83	99.35	121.31	80.59
Methionine	32.79	52.66	33.24	44.24
Serine	71.12	86.22	93.57	96.95
Threonine	99.05	100.07	98.69	107.94
Phenylalanine	128.87	121.32	141.66	124.83
Aspartic acid	56.62	66.03	40.61	72.17
Cystine	28.31	52.70	35.37	29.86
Glutamic acid	535.42	513.43	514.00	502.87
Lysine	296.05	289.19	227.57	293.82
Arginine	51.58	18.34	32.01	30.60
Histidine	110.85	114.70	68.70	94.11
Tyrosine	57.07	78.66	54.48	66.86
Total Amino Acid	2,410.17	2,487.63	2,340.45	2,436.96

A, B, C and D: Same as Table 1.

압력이 한외여과에 미치는 영향

Table 1과 2는 한외여과용 평막여과 장치 UHP-76K를 이용하여 분획분자량 200,000 dalton의 막으로 교반속도 250 rpm에서 질소압력을 각각 4 kg/cm²과 2 kg/cm²로 조절하여 여과한 permeate 간장의 일반성분 및 아미노산 함량을 분석한 결과이다.

여과압력에 따른 permeate 간장의 일반성분과 아미노산 함량에는 큰 차이를 보이지 않았으며, 세균은 완벽하게 제거되었다. Plate and Frame Filter 여과 간장과 비교하면 순추출물과 OD값에서 차이를 보였다.

Fig. 3은 질소압력에 따른 flux와 총 permeate의 양을 나타낸 결과이다. Flux는 4 kg/cm²으로 여과하는 것이 2 kg/cm²으로 여과하는 것보다 높았지만, 여과 시간의 경과에 따른 급격한 flux의 감소를 보여주었다. 여과 6시간 이후부터는 오히려 2 kg/cm²이 높은 flux를 보여주었다. 200 mL를 여과하는데 소요된 시간은 4 kg/cm²의 경우 6시간이었으며 2 kg/cm²의 경우 약 7시간이었다.

Fig. 4는 압력과 교반속도의 조절에 따른 전통간장의 한외여과 실험에서 8시간 동안의 평균 flux를 나타낸 결과이다. 높은 압력과 빠른 교반속도에서 평균 flux

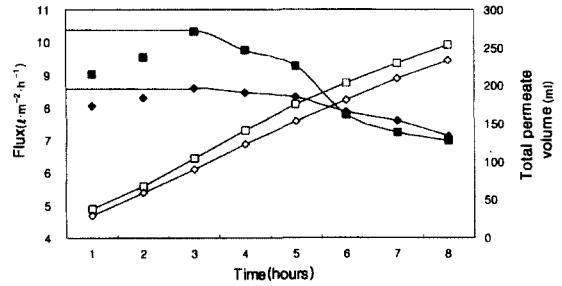


Fig. 3. Changes in flux and total permeate volume of *kanjang* filtered under different N₂ pressure with MW cut-off size 200,000 dalton. —■—: flux(l/m² h) at 4 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm; —◆—: flux(l/m² h) at 2 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm; —□—: total permeate volume(mL) at 4 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm; —◇—: total permeate volume(mL) at 2 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm.

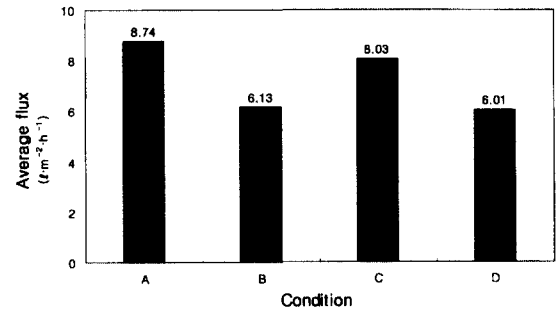


Fig. 4. Average flux during 8 hours filtering operation with MW cut-off size 200,000 dalton. A: average flux(l/m² h) at 4 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm; B: average flux(l/m² h) at 4 kg/cm² N₂ pressure, 100 rpm; C: average flux(l/m² h) at 2 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm; D: average flux(l/m² h) at 2 kg/cm² N₂ pressure, 100 rpm.

Table 3. Compositions of permeate *kanjang* filtered with different MW cut-off sizes

	Types of <i>kanjang</i>		
	A	B	C
Lactic acid	1.09	1.11	1.14
NaCl	20.90	20.46	20.02
Pure extract (%)	4.88	5.10	6.34
Total nitrogen	1.12	1.12	1.13
Moisture	74.22	74.44	73.64
pH	5.75	5.67	5.65
OD ¹⁾	1.61	2.50	3.87
Viable count	—	—	1.4 × 10 ⁵

A: *kanjang* filtered by UF membrane, MW cut-off size 10,000 dalton, 4 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm.

B: *kanjang* filtered by UF membrane, MW cut-off size 200,000 dalton, 4 kg/cm² N₂ pressure, 250 rpm.

C: *kanjang* filtered by Plate and Frame Filter.

¹⁾OD: Optical density at 500 nm.

가 빨랐으며, flux는 교반속도, 즉, cross flow 속도에 큰 영향을 받는 것으로 나타났다. Kawaguchi *et al.*(1982)은 장류의 한외여과에 있어서 flux는 압력과 교반속도에 비례한다고 하였는데 전통간장에서도 같은 결과를 보여주었으며, 우리 전통간장도 한외여과에 의하여 완벽한 제균과 품질향상을 시킬 수 있음을 평막 실험을 통하여 확인하였다.

Table 4. Amino acids content of permeate *kanjang* filtered with different MW cut-off sizes

(Unit: mg%)

	Types of <i>kanjang</i>		
	A	B	C
Alanine	272.07	265.06	250.41
Glycine	117.84	118.84	98.38
Valine	188.81	150.89	165.46
Leucine	184.78	188.37	225.56
Isoleucine	128.85	128.45	152.31
Proline	101.74	90.83	80.59
Methionine	51.19	32.79	44.24
Serine	83.19	71.12	96.95
Threonine	99.09	99.05	107.94
Phenylalanine	119.24	128.87	124.83
Aspartic acid	65.69	56.62	72.17
Cystine	50.86	28.31	29.86
Glutamic acid	530.34	535.42	502.87
Lysine	284.83	296.05	293.82
Arginine	18.01	51.58	30.60
Histidine	110.81	110.85	94.11
Tyrosine	76.45	57.07	66.86
Total Amino Acid	2,483.79	2,410.17	2,436.96

A, B and C: Same as Table 3.

막의 분획분자량 크기가 간장의 한외여과에 미치는 영향

Table 3과 Table 4는 한외여과 장치 UHP-76K를 이용하여 분획분자량 10,000 dalton과 분획분자량 200,000 dalton의 막으로 질소압력 4 kg/cm², 교반속도 250 rpm에서 여과한 permeate 간장의 성분을 분석한 결과이다.

전체적인 성분과 유리아미노산 함량은 비슷하였으나 순추출물과 OD에서는 차이를 보였다. 이러한 차이는 분획분자량의 차이에 따른 미세한 입자의 투과정도의 차이 때문인 것으로 생각되었다. 분획분자량 10,000 dalton 막과 200,000 dalton 막으로 여과한 간장 permeate의 OD값은 각각 1.61과 2.50이었는데 Plate and Frame Filter 여과간장의 OD값 3.87과 비교해볼 때 막여과로 간장의 색소를 일부 제거할 수 있을 것으로 생각되었다. 실제 permeate 간장의 색이 많이 투명하게 된 것을 관찰할 수 있었다.

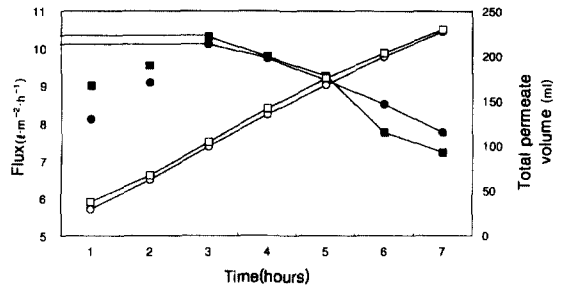


Fig. 5. Changes in flux and total permeate volume of *kanjang* filtered with different MW cut-off sizes under 4 kg/cm² N₂ pressure and 250 rpm. —●—: flux(l/m² h), MW cut-off size 10,000 dalton; —■—: flux(l/m² h), MW cut-off size 200,000 dalton; —○—: total permeate volume(ml), MW cut-off size 10,000 dalton; —□— total permeate volume(ml), MW cut-off size 200,000 dalton.

Fig. 6. Average flux through different MW cut-off size under 4 kg/cm² N₂ pressure and 250 rpm. ■: 10,000 dalton, □: 200,000 dalton.

Fig. 5는 분획분자량 200,000 dalton과 10,000 dalton의 여과막으로 4 kg/cm², 250 rpm에서의 flux와 총 permeate의 양을 나타낸 결과이다. 여과 시작 후, 4시간까지는 200,000 dalton에서 flux가 빨랐으나 4시간 이후부터는 10,000 dalton에서 flux가 빠르게 나타났다. 7시간 경과 후 200,000 dalton과 10,000 dalton의 총 permeate의 양은 각각 229.27 mL와 226.82 mL로 큰 차이를 보이지 않았다.

Fig. 6은 200,000 dalton과 10,000 dalton 여과막의 평균 flux를 나타낸 결과이다. 7시간의 여과 전과정에서 200,000 dalton의 평균 flux가 빠르게 나타나 분획 분자량이 큰 여과막을 사용할수록 평균 flux는 크다는 Sasaki et al.(1993)의 결과와 일치하였다. 하지만 시간이 경과할수록 200,000 dalton과 10,000 dalton 평막사이의 평균 flux의 차이는 줄어들어, 처음 1시간 동안의 평균 flux가 각각 9.0과 8.1 l/m²·h이던 것이 7시간 뒤는 각각 9.0과 8.9 l/m²·h로 그 차이가 현저하게 줄어들었다.

200,000 dalton과 10,000 dalton의 평막을 이용한 여과실험에서 10,000 dalton으로 색이 더욱 옅어진 간장을 얻을 수 있었으나, permeate 간장의 전체적인 성분 분석 결과, 제균 효능 및 flux를 비교하면 큰 차이가 없었다.

요 약

본 연구는 재래간장의 가열살균에서 야기되는 간장의 갈변과 향기손상 등의 문제점을 해결하기 위하여 간장의 한외여과법 이용 가능성을 조사하기 위하여 수행되었다.

회분식 평막한외여과장치(Membrane Filter UHP-76K)를 사용하여 막의 분획분자량 크기, 여과압력 및 장치 내의 간장의 교반속도가 투과액 간장의 투과속도, 투과량, 성분함량, 흡광도 및 총균수에 미치는 영향을 조사하였다.

여과 초기 수시간 동안은 교반속도, 압력 및 분획분자량 크기가 클 때 더 많은 투과액량과 높은 투과속도를 나타내었고, 순추출물 함량과 흡광도도 또한 높았다. 그러나 투과액의 pH, NaCl, 총질소, 유리아미노산 함량은 이들 요인에 따른 현저한 차이는 보여주지 않았다. 또 10 kilodalton과 200 kilodalton막 양자 모두

완전한 제균능을 보여주었다.

감사의 글

본 연구는 1998년도 과학기술처 선도기술개발사업의 연구비에 의하여 수행된 연구결과의 일부로서 이에 깊이 감사드립니다.

문 헌

- 박승규, 한창근, 경규향, 유양자. 1990. 간장의 저장 중 갈색화반응에 대한 산소의 영향. 한국식품과학회지 **22**(3): 307-311
- 연세대학교 식품공학과. 1975. 식품공학실험. 탐구당, 서울, 대한민국
- 장규섭. 1999. 막분리 공정의 발효식품에의 응용. 식품과학과 산업 **32**(3): 2-13
- 최광수, 최청, 송규환, 이춘우, 임무혁, 최중동, 정현채, 손준호, 이선호. 1998. 생물공학적인 기법에 의한 전통 장류의 제품화 연구-전통간장의 산업화 연구-. 과학기술부
- 하상도. 1996. 식품내의 미생물 분리를 위한 dryfilm 방법의 평가연구. 산업미생물학회지 **24**(2): 178-184
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., USA.
- Kawaguchi, S., A. Asaie and Y. Harada. 1982. Ultra filtration of shoyu-sediment. *J. Japan Soy Sauce Research Institute* **8**(3): 127-130
- Kusudo, S., Y. Hamamoto and T. Miyake. 1981. Application of membrane to soy sauce (Part 2)-Filtration of soy sauce precipitates by SF filter-. *J. Japan Soy Sauce Research Institute* **7**(3): 108-111
- Sasaki, S., M. Nishibe, K. Noguchi and K. Inamori. 1993. Studies on membrane filtration of soy sauce(Part I) Membrane filtration of raw soy sauce. *J. Japan Soy Sauce Research Institute* **19**(1): 9-16
- Woo, K.L. and D.S. Lee. 1995. Capillary gas chromatographic determination of proteins and biological amino acids as N(O)-tert-butyl(dimethylsilyl) derivatives. *J. Chromatography* **B665**: 15-25
- Yoda, K., R. Urakabe and T. Tsuchida. 1980. Enzyme electrode provided with immobilized enzyme membrane. US Patent 4,240,889
- 坂本明彦, 平栗義廣, 村上 孟, 兼松善範, 本川保之. 1986. 膜法による火入醬油の濾過. 日本醬油研究所雜誌 **12**(3): 81-94