

감마선 조사가 장류제품의 가수분해효소 활성에 미치는 영향

김동호 · 손준호 · 육홍선 · 김미리* · 차보숙** · 변명우†

한국원자력연구소 방사선식품·생명공학연구팀

*충남대학교 식품영양학과

**수원여자대학 식품과학부

Effects of Gamma Irradiation on the Hydrolytic Enzyme Activities of Korean Soybean-Based Fermented Food

Dong-Ho Kim, Jun-Ho Son, Hong-Sun Yook, Mee-Ree Kim*, Bo-Sook Cha** and Myung-Woo Byun†

Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute,
Taejon 305-353, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Chungnam University, Taejon 305-764, Korea

**Dept. of Food Science, Suwon Woman's College, Suwon 441-748, Korea

Abstract

The effect of gamma-irradiation on the hydrolytic enzyme activities of some Korean soybean-based fermented foods was studied. *Doenjang* (soybean paste), *kanjang* (soy sauce), *kochujang* (red pepper paste), *chungkukjang* and *meju* were prepared and irradiated at 0, 5, 10 and 20 kGy. Then activities of protease, amylase, lipase and fibrinolytic enzyme were determined. Hydrolytic enzyme activities of *meju*, *chungkukjang* and *doenjang* were relatively higher than those of *kanjang* and *kochujang*. Amylase, protease and lipase activities were not affected by 10 kGy and were slightly (about 10%) inactivated by 20 kGy of gamma irradiation, with no statistical significance. Fibrinolytic enzyme was stable in all treatments.

Key words: enzyme activity, fermentation food, irradiation

서론

장류의 발효 및 숙성과정에는 곰팡이, *Bacillus*, 젖산균, 효모 등의 다양한 미생물들이 microflora를 형성하며 이러한 미생물의 작용에 의하여 각 장류의 영양, 맛, 향, 색택, 기능성 등이 결정된다. 장류 미생물의 생화학적 작용은 크게 가수분해효소의 생산에 의한 영양물질의 분해와 유기산, 알코올, 향기성분 등의 이차대사산물 생산으로 구분해 볼 수 있다. 이 중 곰팡이와 *Bacillus*는 주로 메주나 koji의 제조과정에서 가수분해효소를 생산하여 유기물질을 분해하는 역할을, 내열성의 젖산균과 효모는 염을 첨가한 이후의 장류 발효과정에서 이차대사산물을 생산하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (1). 메주나 koji에서 유래한 곰팡이와 *Bacillus*는 염을 첨가한 이후의 장류 발효과정에서는 세포활성이 억제되어 유기물질의 분해나 이차대사산물의 생산 등의 역할을 수행하지는 않는 것으로 보여지나 메주나 koji 제조과정에서 생산된 가수분해효소는 염이 첨가된 이후에도 효소활성이 유지되어 발효과정 중에도 계속적으로 유기물질을 분해하는 역할을 한다(1). 따라서 장류제품은 유통·판매 시점에서도 미생물이

생존해 있고 계속적으로 효소의 작용을 받게 되므로 보존성과 조미식품으로서의 적응성이 제한되는 문제점이 있다(2).

한편, 장류의 보존성 향상을 위한 일반적인 방법으로는 가열살균, 화학보존료의 첨가 등이 사용되고 있으나 열살균은 이송공정 및 열전도도와 같은 공학적 문제(3), 변색(4)이나 물성 변화와 같은 품질열화의 문제, *Bacillus*나 곰팡이의 내열성 포자살균의 어려움 등으로 적용범위가 제한되며 화학보존료의 사용은 전통식품에 보존료를 사용하는 것에 대한 소비자의 심리적 거부감이 문제시되고 있다. 따라서 최근에는 식품고유의 특성에는 영향을 미치지 않고 미생물만을 선택적으로 살균할 수 있는 감마선 조사기술이 장류제품을 비롯한 전통발효식품의 보존 안전성을 확보하기 위한 새로운 기술로 제시되고 있으며 최근 된장, 고추장, 청국장, 메주, 간장에 대한 감마선 조사의 미생물 살균효과와 일반식품학적 품질변화(5-9) 그리고 독성학적 안전성 평가(10)가 보고된 바 있다. 그러나 장류제품에는 다양한 효소들이 잔존하고, 일반적인 식품의 감마선 조사선량에 위해서는 효소의 불활성화가 이루어지지 않는 것으로 알려져 있으므로(11,12) 장류제품에 대한 감마선 조사 이후 미생물은 사멸되지만 잔존

†Corresponding author. E-mail: mwbyun@kaeri.re.kr
Phone: 82-42-868-8060. Fax: 82-42-868-8043

효소는 제품의 특성, 보존성, 기능성 등에 영향을 미칠 수 있을 것으로 보인다.

따라서 본 연구에서는 감마선을 조사한 이후 장류제품에 잔존하는 효소 중, 유기물질의 분해에 관여하는 amylase, protease, lipase의 가수분해효소와 최근 장류의 기능성 물질로 확인된 혈전용해효소(fibrinolytic enzyme)의 활성을 측정하여 감마선 조사가 장류의 효소활성과 품질, 그리고 효소학적 기능성에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료 및 감마선 조사

실험에 사용한 된장(5), 고추장(6), 간장(7), 청국장(8)은 명가식품(괴산, 충북)에서, 메주는 다농식품(괴산, 충북)에서 구입하여 사용하였다. 각 시료는 적정 발효 시점의 가공처리를 하지 않은 반제품을 사용하였으며 제품의 일반성분 및 특성은 선행연구(5-8)에서 시료로 사용한 제품과 동일하였다. 된장, 고추장, 청국장은 poly ethylene 재질의 포장지에 200 g씩, 간장은 200 mL씩, 메주는 한 덩이(100×400×200 mm, 513±16 g)씩 밀봉 포장하여 감마선을 조사하였다. 시료의 감마선 조사는 한국원자력연구소의 선원 100,000 Ci, Co-60 감마선 조사시설(AECL, IR-79, Canada)을 이용하였으며 조사 선량은 실온에서 분당 70 Gy의 선량율로 각각 5, 10, 20 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다.

2.2. 조효소액의 제조

된장, 고추장, 청국장은 각 시료 10 g에 증류수 90 mL를 가하여 mixer(Hanil, FM 680T, Korea)로 60초간 마쇄하고 4°C에서 30분간 교반한 다음 membrane filter(47 mm, 0.45 μm, Millipore)에 여과(Whatman Paper No. 2)하여 그 여과액을 조효소액으로 사용하였으며 간장은 간장 10 mL에 증류수 90 mL를 가하여 희석한 것을 여과하여 사용하였다. 메주는 먼저 분쇄기에서 분말화한 다음 된장과 마찬가지로 희석, 마쇄, 교반 후 여과하여 효소활성 측정을 위한 조효소액 시료로 하였다.

2.3. 효소활성 측정

Amylase : Soluble starch 기질에 조효소액을 반응시켜 생성된 총 환원당의 정량분석을 통하여 액화 및 당화효소를 포함한 총 amylase 활성을 측정하였다. 효소활성의 측정은 1% soluble starch 용액(50 mM phosphate buffer, pH 6.0) 0.9 mL에 0.1 mL의 조효소액을 첨가하여 30°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 생성된 총 환원당량을 DNS법(13)으로 측정하였다. 환원당의 표준곡선은 glucose를 이용하여 계산하였으며 효소의 1 unit는 1분당 1 μmole의 환원당 생성량을 시료 1 g당으로 환산하여 표시하였다.

Protease : Protease활성은 0.5% casein 용액(50 mM phosphate buffer, pH 6.0) 0.9 mL에 0.1 mL의 조효소액을 첨가하여 30°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 생성된 tyrosine량을 Park

과 Oh의 방법(14)으로 측정하였다. 효소 1 unit는 1분당 1 μmole의 tyrosine 생성량을 시료 1 g당으로 환산하여 표시하였다.

Lipase : Kim 등(15)의 방법을 변형하여 다음과 같이 lipase의 효소활성을 측정하였다. 기질용액은 pH 6.0의 50 mM phosphate buffer에 대두유와 염을 첨가하여(soybean oil: 10%, Tween20: 0.01%, calcium chloride: 1 mM, sodium chloride: 5 mM) 사용하였다. 기질용액 0.9 mL에 0.1 mL의 조효소액을 첨가하여 30°C에서 1시간동안 반응시킨 후 이 반응액에 copper reagent(triethanolamine-HCl 18.6 g과 cupric nitrate 6.45 g을 각각 50 mL의 증류수에 녹여 섞고 5 N sodium hydroxide를 넣어 pH 8.0으로 적정한 다음 100 mL의 포화 NaCl용액에 희석한 용액) 2 mL와 extraction solvent(chloroform:n-hexane:ethanol을 49:49:2로 혼합한 용액) 6 mL를 혼합하여 상온의 진탕배양기에서 30분간 반응시켰다. 위 반응액을 12,000×g에서 원심분리하여 상등액을 3 mL 취한 다음 colour reagent(0.25% sodium diethyl dithiocarbamate ethanol) 0.25 mL를 넣어 발색시키고 440 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 유리지방산의 표준곡선은 linoleic acid를 이용하여 계산하였으며 효소의 1 unit는 1분당 1 μmole의 지방산 생성량을 시료 1 g당으로 환산하여 표시하였다.

2.4. Fibrin 분해효소 활성측정

50 mM 인산완충용액(pH 7.0, 0.15 M NaCl 포함)으로 fibrinogen을 최종농도 0.3%가 되도록 완전히 용해시켜 여과지를 통해 여과한 후, 용액 5 mL에 동량의 2% agarose 5 mL를 첨가하여 혼합하였다. 혼합한 용액에 thrombin(100 NIH Unit/mL) 0.1 mL를 첨가하여 충분히 혼합한 후 즉시 petri dish에 붓고 고화시켜 fibrin plate를 제조하였다. 혈전용해효소 활성은 fibrin plate에 pasteur pipette으로 지름 5 mm의 구멍을 만들어 각 시료 20 μL를 주입하고 37°C에서 12시간 반응시킨 다음 이 때 생성된 투명환의 면적을 계산하였으며 대조구로서는 정제된 혈전용해효소인 plasmin(1.0 U/mL)을 사용하였다. 조효소의 혈전용해활성은 대조구의 용해면적에 대한 시료의 용해면적의 상대적인 비율로 환산하여 산출하였다(16).

혈전용해활성(Unit/g) =

$$\frac{\text{시료에 의한 fibrin plate 용해면적}}{\text{Plasmin(1.0 U/mL)에 의한 fibrin plate 용해면적}}$$

2.5. 통계처리

각 실험은 3회의 반복실험으로 하였으며 결과는 SAS package(17)에 의한 분산분석(one-way ANOVA)과 다중범위 시험법(Duncan's multiple range test)으로 유의성을 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 가수분해효소 활성의 변화

실험에 사용된 장류제품의 amylase 활성은 된장 1.20 unit/

g, 고추장 1.92 unit/g, 간장 0.54 unit/mL, 청국장 2.44 unit/g, 메주 3.24 unit/g의 분포를 보여 메주에서 가장 높은 활성을, 간장에서 가장 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 1). 장류제품의 효소활성은 원료, 제조과정, 서식 미생물 등의 조건에 따라 매우 다양한 분포를 나타내므로 각 제품의 효소활성 범위를 규정하기는 어려우나 이러한 amylase 활성 분포는 이미 보고된 장류제품의 범위에 포함되는 수준이었다(14,18-22). 감마선을 조사한 후의 amylase 활성은 모든 제품에서 20 kGy의 조사에 의하여 약간 감소하는 양상이었으나 통계적인 유의차는 없었다($p < 0.05$). 따라서 장류제품에 감마선을 조사하여도 amylase는 불활성화 되지 않는 것으로 확인되었다. 그러나 고추장(18)을 비롯한 장류제품 숙성 중의 효소활성 변화를 살펴본 연구결과에 따르면 amylase 활성과 환원당 함량은 발효 초기와 중기에 급속히 증가하였다가 숙성이 완료된 이후의 보존기간 중에는 점차 감소하는 양상을 보인다고 하였으므로 감마선 조사 여부에 관계없이 장류제품 중의 잔존 amylase 활성이 탄수화물성 물질의 함량 변화에 미치는 영향은 크지 않을 것으로 사료되었다. 이는 감마선을 조사한 고추장 보존 중의 일반품질 변화를 살펴본 Kim 등(6)의 보고에 의해서도 확인할 수 있었다. 즉, Kim 등(6)은 감마선을 조사하지 않은 고추장의 환원당 함량은 보존초기 7.36%에서 보존 12주 후 6.44%로 감소한데 비하여 10 kGy의 감마선 조사구는 보존초기 7.29%이던 것이 보존 12주 후에도 7.21%의 함량을 유지하여 감마선 조사구가 안정적인 품질을 유지하였다고 하였는데 이처럼 감마선 비조사구에서 환원당 함량이 낮아진 것은 보존초기에 $10^3 \sim 10^4$ CFU/g의 수준으로 분포하던 효모와 젖산균이 보존기간의 경과에 따라 10^7 CFU/g까지 증식하

면서 당을 소비한 때문이며 10 kGy의 감마선 조사구에서는 이들 미생물이 사멸되어 당의 소비가 없었기 때문에 환원당의 함량이 안정적으로 유지된 것이라고 보고하였다.

장류제품의 중성 protease 활성은 된장 1.36 unit/g, 고추장 0.13 unit/g, 간장 0.29 unit/mL, 청국장 0.96 unit/g, 메주 1.62 unit/g의 분포를 보여 메주에서 가장 높은 활성을, 고추장에서 가장 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 2). 고추장의 protease 활성이 다른 제품에 비하여 낮은 것은 koji(메주)의 제조과정에서 사용된 미생물과 기질의 차이에 기인한 것으로 보여진다. 즉, 다른 장류제품은 단백질성 원료인 대두를 이용하여 메주와 koji 등을 제조하였고 서식 균주도 protease 생산능이 높은 *Bacillus*인데 비하여, 고추장은 소맥분에 *Aspergillus oryzae*를 접종하여 koji를 제조하고 발효과정에서도 단백질 급원보다는 소맥분을 비롯한 전분질 원료의 함량이 높기 때문에 유도 효소인 protease의 생산이 낮아진 때문으로 해석되었다. 한편, 감마선을 조사한 후 각 장류제품의 protease 활성은, 청국장에서만 비조사구에 비하여 20 kGy 조사구가 15% 내외의 유의적인 효소활성 감소가 있었을 뿐, 된장과 간장에서는 5~10% 내외의 감소가 있었으나 통계적인 유의차는 없었으며($p < 0.05$) 고추장과 메주에서도 유의할만한 변화가 나타나지 않았다. 따라서 20 kGy의 선량범위에서 감마선을 조사한 장류제품의 protease 활성도 amylase와 마찬가지로 대조구에 비하여 최소한 85% 이상의 효소활성이 유지되므로 감마선 조사에 의한 protease의 불활성화는 일어나지 않는 것으로 생각되었다. 따라서 감마선을 조사한 장류제품의 보존기간 동안 잔존 protease 활성과 관련된 일련의 생화학적 변화가 진행될 것으로 보여졌다. 그러나 Kim 등(8)은 감마선을 조사

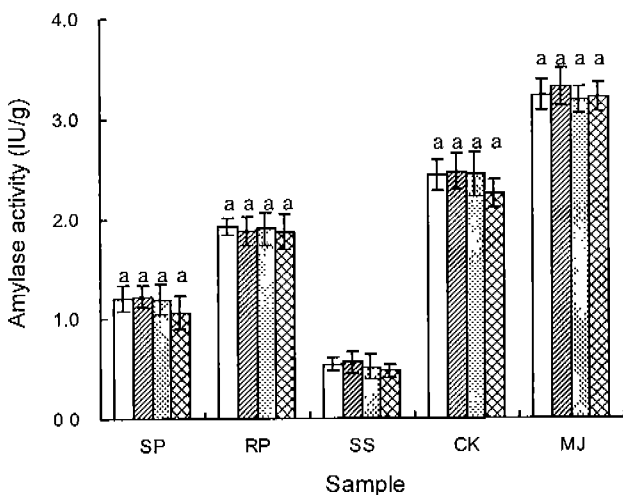


Fig. 1. Effects of gamma irradiation on the activity of amylase in soybean-based fermented food; SP (soybean paste, *doenjang*), RP (red pepper paste, *kochujang*), SS (soy sauce, *kanjang*), CK (*chungkukjang*) and MJ (*meju*). □: 0 kGy, ▨: 5 kGy, ▤: 10 kGy, ▩: 20 kGy. Each column represents means \pm SE, where n=3 and the same alphabets in each sample are not significantly different among groups by Duncan's multiple range test in one way ANOVA ($p < 0.05$).

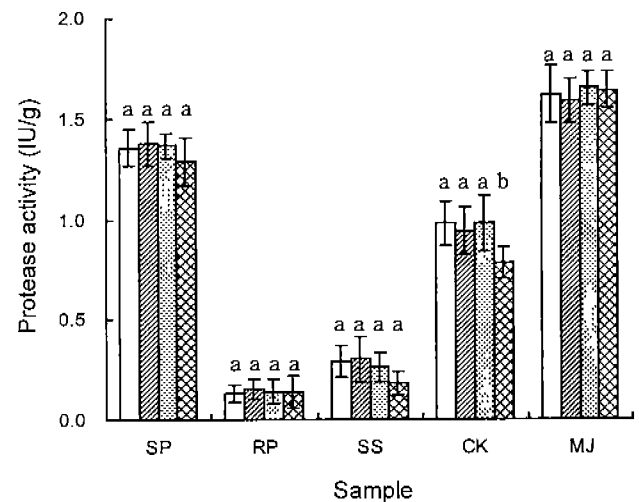


Fig. 2. Effects of gamma irradiation on the activity of protease in soybean-based fermented food; SP (soybean paste, *doenjang*), RP (red pepper paste, *kochujang*), SS (soy sauce, *kanjang*), CK (*chungkukjang*) and MJ (*meju*). □: 0 kGy, ▨: 5 kGy, ▤: 10 kGy, ▩: 20 kGy. Each column represents means \pm SE, where n=3 and the same alphabets in each sample are not significantly different among groups by Duncan's multiple range test in one way ANOVA ($p < 0.05$).

한 청국장 보존 중의 일반품질 변화를 살펴본 연구결과에서, 감마선을 조사하지 않은 청국장은 보존 초기에 비하여 보존 6주 후 200% 이상의 아미노태질소 및 암모니아태 질소의 함량 증가가 관찰되었으나 10~20 kGy의 감마선을 조사한 시료는 50% 정도의 상승에 그쳤으며 이는 아미노태질소 및 암모니아태 질소의 함량 변화에 있어 *Bacillus*를 중심으로 한 미생물의 작용이 가장 직접적인 요소이기 때문이라고 보고하였다. 즉, 감마선 비조사구의 *Bacillus* 밀도는 보존초기 10^8 CFU/g에서 보존기간의 경과에 따라 10^9 CFU/g까지 지속적으로 증식하는데 비하여 10 kGy의 감마선 조사에서는 10^3 CFU/g 이하로, 20 kGy에서는 10^0 CFU/g 이하로 감소하였는데 이러한 미생물의 성장변화가 아미노태질소 및 암모니아태 질소의 함량 변화에 가장 직접적으로 영향을 미친다는 것이다. 이러한 결과는 된장(5), 간장(7), 메주(9)에서도 비슷한 경향이였다. 따라서 감마선 조사가 장류제품의 protease를 불활성화 시키지는 못하지만 질소 성분의 품질변화보다 직접적이고 큰 영향을 주는 *Bacillus* 등의 서식미생물을 효율적으로 제어함으로써 장류제품의 보존성을 확보하기 위한 유효한 방법이 될 수 있을 것임을 확인하였다. 한편, lipase 활성은 고추장의 0.12 unit/g에서 메주의 0.47 unit/g의 분포를 보였으며 감마선을 조사한 후의 lipase 활성은 5~10 kGy의 감마선 조사구에서는 변화가 나타나지 않았고 20 kGy 조사구에서 모두 10% 내외의 감소가 있었으나 통계적인 유의차는 없었다($p < 0.05$) (Fig. 3).

혈전용해 활성의 변화

혈전용해효소는 최근 들어 장류, 젓갈, 김치 등 발효식품의

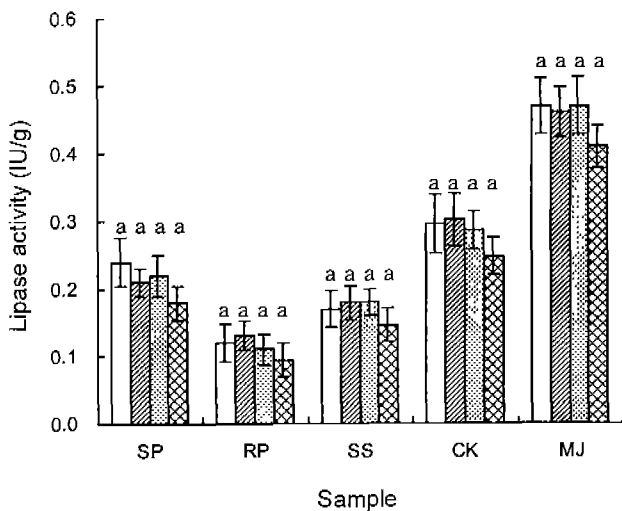


Fig. 3. Effects of gamma irradiation on the activity of lipase in soybean-based fermented food; SP (soybean paste, *doenjang*), RP (red pepper paste, *kochujang*), SS (soy sauce, *kanjang*), CK (*chungkukjang*) and MJ (*meju*). □: 0 kGy, ▨: 5 kGy, □: 10 kGy, ▩: 20 kGy. Each column represents means±SE, where n=3 and the same alphabets in each sample are not significantly different among groups by Duncan's multiple range test in one way ANOVA ($p < 0.05$).

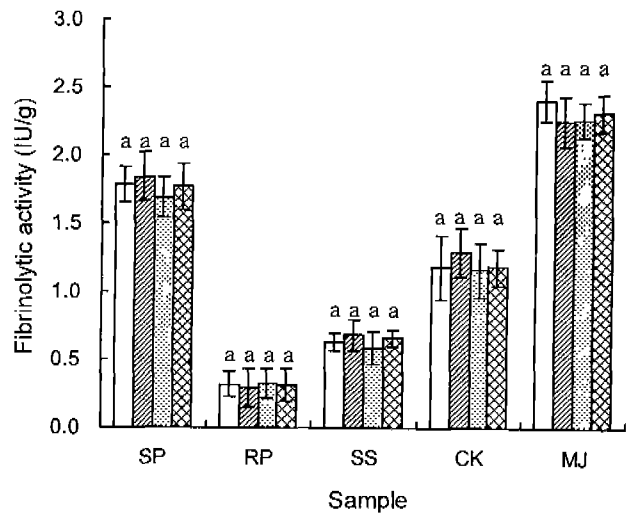


Fig. 4. Effects of gamma irradiation on the activity of fibrinolytic enzyme in soybean-based fermented food; SP (soybean paste, *doenjang*), RP (red pepper paste, *kochujang*), SS (soy sauce, *kanjang*), CK (*chungkukjang*) and MJ (*meju*). □: 0 kGy, ▨: 5 kGy, □: 10 kGy, ▩: 20 kGy. Each column represents means±SE, where n=3 and the same alphabets in each sample are not significantly different among groups by Duncan's multiple range test in one way ANOVA ($p < 0.05$).

새로운 기능성으로 대두되고 있다(16,21-23). 장류제품의 혈전용해 효소는 주로 *Bacillus* 계통의 미생물, 즉 *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pantothenicus* 등에 의하여 생산되며(16) 열안정성 및 장막으로부터 혈액으로의 흡수도가 좋고 fibrin에 대한 specific activity가 높아 식품 및 의약품 분야의 산업적인 적용 가능성이 클 것으로 기대된다(24,25). 실험에 사용된 장류제품의 혈전용해효소 활성은 된장 1.78 unit/g, 고추장 0.32 unit/g, 간장 0.63 unit/mL, 청국장 1.18 unit/g, 메주 2.40 unit/g의 분포를 보여 메주에서 가장 높은 활성을, 고추장에서 가장 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 4). 한편, 청국장의 혈전용해효소 활성이 된장보다 낮은 것은 이 실험에 사용한 청국장이 *Bacillus* 중 상대적으로 혈전용해효소 활성이 낮은 *B. natto*를 starter로 하여 제조되었기 때문으로 보여진다(16). 감마선을 조사한 후의 혈전용해효소 활성은 제품 및 조사선량별로 유의할만한 변화가 나타나지 않았다. 따라서 감마선의 효소적 기능성에는 영향을 미치지 않을 것으로 판단하였다.

이상에서 살펴본 바와 같이 실험에 사용된 장류제품에 감마선을 조사하더라도 가수분해효소와 혈전용해효소 등의 효소활성에는 큰 변화가 없었다. 그러나 선행연구(5-9) 결과에 비추어볼 때, 장류제품 보존 중의 유기물의 분해, 부정적인 품질변화 등은 감마선 조사에 의하여 현저히 억제될 수 있으며 그 주요 요인이 미생물의 성장여부에 있었다고 하였으므로 상대적으로 미생물의 직접적인 역할에 비하여 잔존효소의 활성은 품질변화에 미치는 영향이 크지 않은 것으로 평가되었다. 또한 다른 한편으로는 장류의 효소적 기능성으로 알려진 혈전용해효소 활성을 그대로 유지시키는 긍정적인 효과가 확인되어 감마선 조사가 장류제품의 생화학적, 기능적

특성을 유지시키면서도 미생물을 선택적으로 사멸하여 제품의 보존성 및 안정성을 확보할 수 있는 효과적인 살균방법이 될 수 있을 것으로 평가되었다.

요 약

감마선 조사를 이용한 장류제품의 미생물 살균 시, 감마선 조사가 장류제품의 효소활성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 된장, 고추장, 간장, 청국장, 메주에 5, 10, 20 kGy의 선량으로 감마선을 조사한 다음 amylase, protease, lipase 그리고 혈전용해효소 활성을 비교하였다. 가수분해효소의 활성은 메주, 청국장, 된장에서 대체로 높았고 간장과 고추장은 상대적으로 낮았다. Amylase, protease, lipase의 효소활성은 10 kGy까지의 감마선 조사에 의하여 영향을 받지 않았으며, 20 kGy의 감마선 조사구에서는 10% 내외의 효소활성 감소가 있었으나 청국장의 protease 활성감소(15%)를 제외하고는 통계적인 유의차가 없었다(p<0.05). 혈전용해효소 활성은 20 kGy까지의 감마선 조사에 의해서 효소활성 변화가 없었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력 연구개발사업 및 2000년 한국학술진흥재단의 연구비(KRF-2000-GA0025)에 의하여 수행되었으며 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Lee, H.C. : *Fermentation food*. Sinkwang Press Co., Seoul, Korea, p.28-65 (1999)
2. Kim, D.H., Ahn, H.J., Yook, H.S., Kim, M.J., Sohn, C.B. and Byun, M.W. : Quality properties of gamma irradiated *samjang* (seasoned soybean paste) during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **32**, 396-401 (2000)
3. Cho, W.L., Kim, D.U., Kim, Y.S. and Pyun, Y.R. : Ohmic heating characteristics of fermented soybean paste and *kochujang*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 791-798 (1994)
4. Kwon, D.J., Kim, Y.J., Kim, H.J., Hong, S.S. and Kim, H.K. : Changes of color in *doenjang* by different browning factor. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1000-1005 (1998)
5. Byun, M.W., Kim, D.H., Yook, H.S., Kim, J.O. and Cha, B.S. : Changes of microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *doenjang* (fermented soybean paste). *Food Sci. Biotechnol.*, **10**, 7-11 (2001)
6. Kim, D.H., Yook, H.S., Youn, K.C., Sohn, C.B. and Byun, M.W. : Changes of microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *kochujang* (fermented hot pepper paste). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **33**, 72-77 (2001)
7. Song, T.H., Kim, D.H., Park, B.J., Shin, M.G. and Byun, M.W. : Changes of microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *kangjang* and *shoyu*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **33**, 338-344 (2001)

8. Kim, D.H., Yook, H.S., Youn, K.C., Cha, B.S., Kim, J.O. and Byun, M.W. : Changes of microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *chungkookjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **32**, 896-901 (2000)
9. Kim, D.H., Lee, K.H., Yook, H.S., Kim, J.H., Shin, M.G. and Byun, M.W. : Quality characteristics of gamma irradiated grain shape improved *meju*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **32**, 640-645 (2000)
10. Yook, H.S., Lee, E.M., Kim, D.H., Lee, K.H., Lee, H.J., Lee, Y.N. and Byun, M.W. : Genotoxicological safety on water-soluble fraction of gamma irradiated Korean soybean fermentation foods. *Korean J. Food Hyg. Safety*, **15**, 297-303 (2000)
11. Furuta, M., Ohashi, I., Oka, M. and Hayashi, T. : Irradiation effects on hydrazes for biomedical applications. *Radiat. Phys. Chem.*, **57**, 455-457 (2000)
12. Hwang, H.I. and Hau, L.B. : Effects of ionizing radiation on the enzyme activities and ultrastructural changes of poultry. *Radiat. Phys. Chem.*, **46**, 713-716 (1995)
13. Miller, G.L. : Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, **31**, 426-427 (1959)
14. Park, J.M. and Oh, H.I. : Changes in microflora and enzymes activities of traditional *kochujang meju* during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 56-62 (1995)
15. Kim, C.J., Cheigh, H.S. and Byun, S.M. : A simple and modified photometric method for measuring lipase activity. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 251-253 (1984)
16. Kim, S.H., Choi, N.S., Lee, W.I., Lee, J.W. and Kim, D.H. : Isolation of *Bacillus* strains secreting fibrinolytic enzyme from *doenjang*. *Korean J. Microbiol.*, **34**, 87-90 (1998)
17. SAS Institute, Inc. : *SAS User's Guide*. Statistical Analysis System Institute, 5th ed., Cary, NC, USA (1985)
18. Shin, D.H., Kim, D.H., Choi, U., Lim, M.S. and An, E.Y. : Changes in microflora and enzymes activities of traditional *kochujang* prepared with various raw materials. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 901-906 (1997)
19. Lee, C.J. and Koh, H.S. : Standardization of Korean soy sauce. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **8**, 247-252 (1976)
20. Yoo, J.Y., Kim, H.G. and Kim, W.J. : Physico-chemical and microbiological changes of traditional *meju* during fermentation in Kangweondo area. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 908-915 (1998)
21. Kim, D.H., Lim, D.W., Bai, S. and Chun, S.B. : Fermentation characteristics of whole soybean *meju* model system inoculated with 4 *Bacillus* strains. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 1006-1015 (1997)
22. Suh, J.S., Lee, S.G. and Ryu, M.K. : Effect of *Bacillus* strains on the *chungkookjang* processing. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **14**, 309-314 (1982)
23. Kim, W.K., Choi, K.H., Kim, Y.T., Park, H.H., Choi, J.Y., Lee, Y.S., Oh, H.I., Kwon, I.B. and Lee, S.Y. : Purification and characterization of fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strains CK 11-4 screened from *chungkookjang*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 2482-2488 (1996)
24. Noh, K.A., Kim, D.H., Choi, N.S. and Kim, S.H. : Isolation of fibrinolytic enzyme producing strains from *kimchi*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 219-223 (1982)
25. Sumi, H., Hamada, H., Nakanishi, K. and Hiratani, H. : Enhancement of the fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinase. *Acta Haematol.*, **84**, 139-143 (1990)

(2001년 7월 4일 접수)