J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.
31(2), 211~215(2002)

한국 전통 메주 유래의 *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae* 및 *Absidia corymbifera*가 생성하는 Protease의 특성

임성일† · 곽은정 · 최신양 · 유진영
한국식품개발연구원 생물공학연구본부

Characteristics of Protease Produced by *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae* and *Absidia corymbifera* from Korean Traditional *Meju*

Seong-Il Lim†, Eun-Jung Kwak, Shin-Yang Choi and Jin Young Yoo
Division of Chemistry and Biotechnology, Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

Abstract

Protease production and its characteristics were investigated for *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae* and *Absidia corymbifera* which were isolated from Korean traditional *meju*. The optimum culture conditions of the strains for the production of protease in basic medium [wheat bran : 1% glucose solution=1 : 1 (w/v)] were 30°C and 4 days. The optimum pH and temperature for the enzyme activity of crude enzymes produced by *Rhizopus sto-lonifer*, *Rhizopus oryzae* and *Absidia corymbifera* were pH 6.0 and 50°C, respectively. The enzymes were relatively stable at pH 4.0~7.0, at temperature below 40°C, and at NaCl concentration lower than 16%. The K_m value for Hammastein casein was 3.3×10^{-4}, 0.75×10^{-4} and 1.3×10^{-4} M, and V_{max} value was 17.2 μg/min, 9.4 μg/min and 7.8 μg/min, respectively.

Key words: *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae*, *Absidia corymbifera*, protease, *meju*

서 론

사회구조의 급진적 변화로 현재 가정에서 제조되던 장류가 산업화되어 장류업체에서 제조되어 시판되고 있기는 하지만 전통장류와의 거리감은 점차 넓게 벌어지고 있다. 장류가 가진 영양적인 가치 뿐만 아니라 최근 장류가 지닌 기능적인 면(1)이 밝혀짐으로써 전통 장류에 대한 인식도가 점차 높아지고 있고 또한 제조방법의 재현에 대한 관심 역시 높아가고 있다. 이에 장류 업체들은 전통 장류의 생산공정을 재현하여 산업화하고자 하는 노력을 하고 있다. 그러나 대부분의 산업체들은 아직도 전통적인 방법을 사용하지 않고 있으며 가정에서도 제조방법이 전수되지 않아 전통적인 장류 제조방법이 줄어들고 있는 실정이다. 특히 전통 메주의 제조과정 중에는 자연상태에서 유래된 수십 종의 사상균과 세균들이 복합적으로 작용하므로 제품의 표준화가 어렵고, 제조기간도 약 2개월이 소요되는 등, 현재 메주를 직접 만들어 장류를 제조하는 것이 매우 어려운 현실이다. 전통 장류의 산업화를 위해서는 전통 메주를 얼마나 현대화된 시설로 제조하느냐에 따라서 성패가 좌우될 것이다.

현재, 대량생산 체제를 구축한 생산업체에서는 콩알메주를 이용한 일본식 장류의 제조공정을 적용하고 있다. 콩알메주의 제조에는 *Aspergillus oryzae*나 *Aspergillus sojae*를 사용하는 것이 일반적이며, 경우에 따라 *Bacillus* sp.를 이용하기도 한다. 따라서 콩알메주에 관한 연구도 *Asp.* sp.(2-5)와 *Bacillus* sp.(6-9)를 이용한 발효공정 중 생화학적 변화와 이를 이용한 제품의 평가 등에 집중되었다. 그러나 이렇게 산업화된 생산 시스템에서 제조된 장류의 맛이나 영양학적인 성분 등은 전통 장류와는 상당한 차이가 있는 것으로 평가되고 있다. 여기에는 원료, 발효기간 등의 요소가 전통 장류 제조공정과 다른 이유도 있으나 메주의 발효과정에 관여하는 균주의 차이가 가장 큰 원인인 것으로 보여진다.

전통 메주는 원래 자연환경에 의존하여 만들어지므로 그 품질이 균일하지 않아 장류의 대량 생산을 위하여 적합하지 않다. 따라서 체계적인 제조공정이 확립되어 이를 이용한 메주의 생산이 이루어져야 할 것이다. 이 공정의 설정을 위해서는 우선 적합한 종균이 개발되어야 하고 발효공정이 개발되어야 하는 것이 중요한 과제이다.

한편, 메주에 금이간 틈 사이로 구석진 부분에서는 다양한 거미줄 곰팡이로 *Rhizopus* sp. 및 *Absidia* sp.의 종들이 발견되었다는 보고가 있다(10). 이들 균들은 지역마다, 특정한 간장이 잘 된다는 메주와 비교하여 균의 서식이 일정하지는 않다. 이들 균주를 단독으로 접종하여 메주를 담았을 때는 전

†Corresponding author. E-mail: silim@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9277, Fax: 82-31-780-9234

통적인 맛이 있으나 강하지 않았다고 한다. 산업화된 장류에서는 이러한 접합균이 발견된 예는 없었으나, 관심을 가지고 있는 형편이다. Yoo(11)는 우선 접합균들이 지역과 계절에 따라 다르게 서식하여 메주의 성분을 발효하는 것은 이들 균이 분비하는 효소에 의해서 이루어지는 것으로 보고한 바 있다. 주로 메주 성형 후 2~3일 간의 건조기간 동안 메주 발효에 관련되는 것은 접합균으로 단백질과 지방 성분에 변이를 주는 것으로 생각되고 있다. 메주에서 분리된 접합균의 역할은 아직까지 식품학에서 고찰된 부분이 없고, 단지 오염균으로 보는 경우가 많다. 그러나 농가에서 만들어지는 전통 메주에서는 접합균으로 *Rhizopus, Absidia*나 *Mucor*가 계속하여 발견되고 있어 전통 장류의 산업화를 위해서는 이들 접합균에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구팀은 이미 재래식 메주로부터 단백질 분해 활성이 있는 균주들을 선별한 바 있다(11). 그 중 *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae* 및 *Absidia corymbifera*와 같은 접합균의 단백질분해 효소의 생산과 그 효소적 특성을 조사하여 장류 제조에 있어 이들 세 균주의 이용 가능성을 조사하고자 한다.

재료 및 방법

공시균주

재래식 메주 유래의 균주로 Yoo(11)가 분리한 *Rhizopus stolonifer, Rhizopus oryzae* 및 *Absidia corymbifera*를 실험에 사용하였다.

효소생산조건

기본배지는 밀기울 배지를 사용하였다. 밀기울 10 g과 1% glucose 용액 10 mL를 혼합하여 15 lbs 하에서 1시간 동안 가압 살균한 후 공시균을 1백금어씩 접종하여 30°C에서 배양하였다. 단 배양시간별 실험 이외에는 배양시간을 4일간으로 하였다. 조효소액은 배양된 밀기울 배지에 3배(w/v)의 증류수를 가하여 균질화시킨 후, 4°C에서 6시간 교반하여 효소를 추출하고 밀기울을 cheese cloth로 분리한 다음 16,000×*g*에서 30분간 원심분리하여 얻었다.

단백질분해 활성

효소활성측정은 Hagihara의 방법(12)에 준하여 측정하였다. 즉, 효소액 0.5 mL에 0.1 M phosphate buffer(pH 6.0) 1 mL를 가한 다음, 기질용액(0.6% Hammarstein casein, pH 6.2)를 넣고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 0.44 M trichloroacetic acid(TCA) 2.5 mL를 넣어 반응을 중지시키고 실온에서 10분간 방치한 다음 원심분리시켜 상등액 1 mL에 0.55 M Na_2CO_3 용액 10 mL와 1 N Folin & ciocalteus' reagent 용액 1 mL를 넣어 37°C에서 30분간 발색시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 단위는 37°C에서 효소액 1 mL가 1분 동안에 1 μg의 tyrosine을 유리시키는 것을 1 unit로 하였다.

조효소액의 pH에 의한 영향

pH의 영향은 universal buffer pH 3.0~10.0(13)까지의 범위에서 조효소액과 기질을 혼합하여 37°C, 30분간 반응시킨 후 효소활성을 측정하였으며, pH 안정성은 조효소액을 pH 3.0~10.0까지의 범위에서 각 pH별로 30°C에서 1시간 정치한 후 pH 6.0으로 환원시킨 다음, 37°C에서 30분간 조효소액과 기질을 반응시켜 잔존 효소활성을 측정하였다.

조효소액의 온도에 의한 영향

온도의 영향은 pH 6.0의 0.1 M phosphate buffer와 조효소액, 기질을 혼합한 후, 20~60°C의 각 온도에서 반응시켜 효소활성을 측정하였으며, 온도의 안정성은 각 온도에서 조효소액을 1시간 정치시킨 다음, 기질과 혼합 후 37에서 30분간 반응시켜 잔존 효소활성을 측정하였다.

조효소액의 염에 의한 영향

염도에 의한 영향은 조효소액의 NaCl의 농도를 0~16%로 조절하여 30°C에서 1시간 정체시킨 후 잔존활성을 측정하였고 금속이온에 대한 영향은 각종 금속염을 2×10^{-3} M이 되도록 pH 6.0의 증류수에 녹이고 금속이온 용액 0.5 mL와 효소액 0.5 mL를 섞어 30°C에서 60분간 정치한 다음 잔존 효소활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

효소생산을 위한 최적조건

Rhizopus stolonifer, Rhizopus oryzae 및 *Absidia corymbifera*의 protease 생산을 위한 최적 배양온도, pH 및 배양시간은 Fig. 1에서와 같이 30°C에서 4일간이었으며 초기 pH는 효소생산에는 그의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. *Aspergillus oryzae* KC-15와 *Aspergillus fumigatus* 유래 protease 활성은 72시간 배양 시 최대인 Lee와 Chung(14) 및

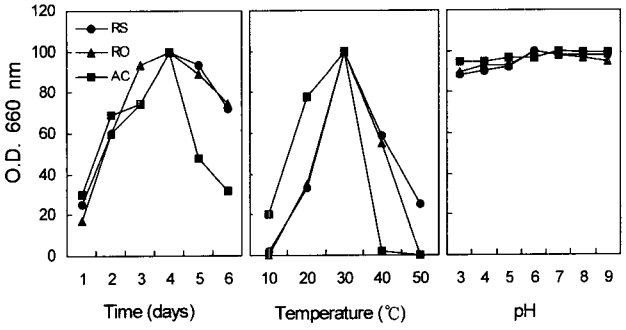

Fig. 1. Effects of incubation time, temperature and initial pH on the production of protease from *Rhizopus stolonifer* (RS), *Rhizopus oryzae* (RO) and *Absidia corymbifera* (AC).
Enzymatic activities at different time intervals were measured at pH 6.0 and 30°C. Enzymatic activities at different temperatures were measured at pH 6.0 for 4 days incubation. Enzymatic activities at different pH were measured at 30°C for 4 days incubation.

Cha와 Choi(15)의 보고와 비교해 볼 때 공시균주들의 효소 생산 속도가 다소 미약한 것으로 나타났다.

효소의 특성

세 균주 유래 조효소액의 효소활성에 미치는 온도의 영향을 조사한 결과, Fig. 2와 같이 세 균주 모두 최적온도는 50°C였으며 50°C 이상에서 점차 효소활성이 감소하였다. *Asp. oryzae*(11)의 alkaline protease의 최적온도는 40°C이며, *Asp. wentti*(16)는 40~50°C, *Mucor racemosus*(17)와 *Syncephalastrum racemosum*(18)은 각각 50°C로 대부분의 사상균 protease의 최적온도가 45~55°C인 것과 유사한 결과를 얻었으나 *Rhizopus chinensis*(19) 산성 protease의 경우는 60°C로 차이가 있었다. 한편, 열에 대한 안정성을 조사한 결과, Fig. 2와 같이 40°C 이상에서 급격히 효소활성이 실활되어 고온에서 불안정한 것으로 나타났다. 이 결과는 *Asp. oryzae* 유래의 fungal protease가 60°C에서 10분간 처리로 완전히 실활(11)되며 *M. racemosus*와 *S. racemosum*의 경우 40°C 이상에서 급격히 활성이 저하되는 결과와 유사하였다.

조효소의 pH에 대한 영향은 Fig. 3에서와 같이 모두 최적 pH 6.0으로써 이들 효소들은 약산성에서 최고의 활성을 띄는 것으로 나타났다. 메주 유래의 *Asp. oryzae* ML-27과 *Asp. wentti* 유래의 protease가 pH 7.0~11.0의 범위에서 95%이상의 활성이 확인됨으로써 alkaline protease인 Yoo(11) 및 Lim (16)의 보고와 비교해 볼 때 *Asp. oryzae*와 *R. oryzae*의 효소활성 최적 pH에는 큰 차이가 있었으며, *M. racemosus*(17)의 경우는 최적 pH가 6.0으로 유사한 결과를 얻었다. 세가지 조효소의 pH 안정성은 Fig. 3에서와 같이 pH 4.0~7.0의 산성 영역에서 비교적 안정한 것으로 나타나 이들 *Rhizopus*

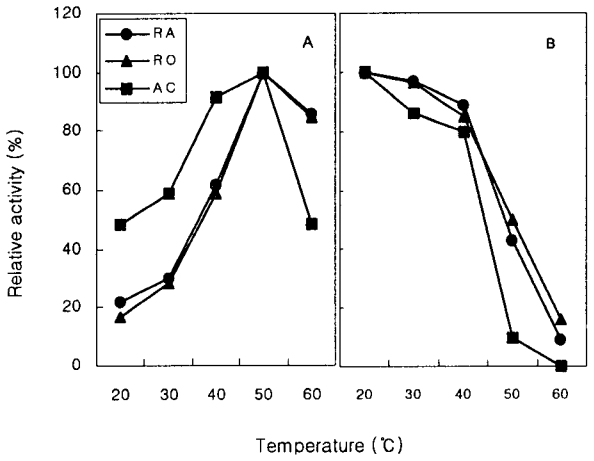

Fig. 2. Effect of temperature on activity (A) and stability (B) of protease from *Rhizopus stolonifer* (RS), *Rhizopus oryzae* (RO) and *Absidia corymbifera* (AC).
(A) Proteolytic activity was measured after reacting mixture of Hammastein casein and enzymes for 30 min at several temperatures. (B) Proteolytic activity was measured after following treatments with enzymes during 1 hr at several temperatures, mixing with substrate and reacting for 30 min at 37°C.

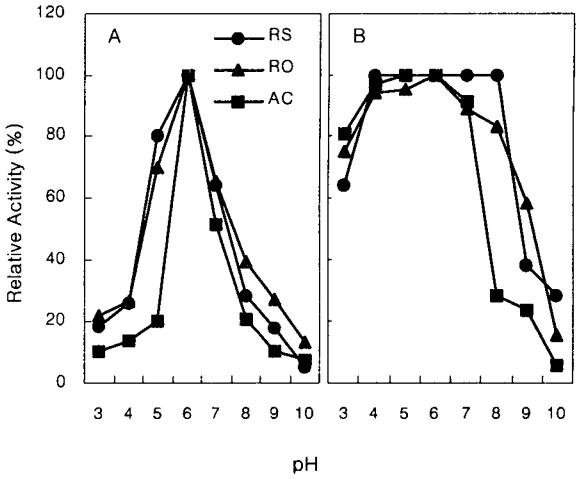

Fig. 3. Effect of pH on activity (A) and stability (B) of protease from *Rhizopus stolonifer* (RS), *Rhizopus oryzae* (RO) and *Absidia corymbifera* (AC).
(A) Proteolytic activity was measured after reacting mixture of Hammastein casein and enzymes for 30 min at several pH. (B) Proteolytic activity was measured after following treatments with enzymes during 1 hr at several pH, mixing with substrate and reacting for 30 min at 37°C.

sp.와 *Absidia* sp. 곰팡이는 *Asp. oryzae* 유래 protease의 pH 안정범위가 6.0~11.0이고 *Asp. wentti* protease의 pH 6.0~11.0인 Yoo(11) 및 Lim(16)의 보고와 비교해 볼 때 완전히 다른 효소적 특성을 가지고 있는 것으로 나타났으며 *M. racemosus*(17)의 pH 2.0~5.0 범위, *S. racemosum*(18)의 pH 4.0~6.0 범위에서 안정하다는 결과와도 다소간 차이가 있는 것으로 나타났다

본 효소의 기질특이성은 0.6%의 Hammastein casein과 isolated soybean protein, bovine serum albumin을 조제하여 60분간 단백질 가수분해활성을 조사한 결과, Fig. 4에서와 같이 세 가지 효소 모두 Hammastein casein>isolated soybean protein>bovine serum albumin 순으로 활성이 높

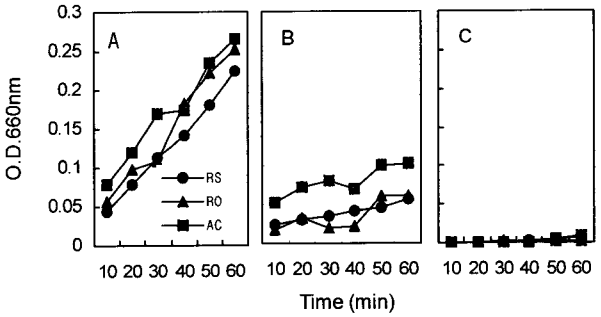

Fig. 4. Hydrolysis of Hammastein casein (A), isolated soybean protein (B) and bovine serum albumin (C) by protease from *Rhizopus stolonifer* (RS), *Rhizopus oryzae* (RO) and *Absidia corymbifera* (AC).
Hydrolysis was investigated by measurement of proteolytic activities after reacting mixture of each substrate (0.6%) and each enzyme for 30 min at 37°C.

게 나타났으며 isolated soybean protein의 가수분해활성은 비교적 낮게 검출되었고 bovine serum albumin 기질 분해력은 거의 검출되지 않았다. 이 결과는 *Asp. fumigatus*의 alkaline protease가 Hammastein casein에 기질특이성을 가지고 있다는 Cha와 Choi의 보고(15)와 유사한 결과를 얻었다.

이들 효소의 염분에 의한 영향은 Fig. 5에서와 같이 측정범위인 16% 이내의 염도에서 활성 변화가 거의 없는 것으로 나타나 된장의 염도가 15% 이하인 점을 고려할 때 이들 곰팡이 유래의 효소는 된장의 숙성기간 동안 계속적으로 대두단백질의 가수분해에 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

금속이온에 대한 영향을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 금속이온이 첨가되지 않은 대조군의 효소활성(O.D. 660 nm에서의 흡광도)은 *R. stolonifer*가 0.13, *R. oryzae*가 0.12, *A. corymbifera*가 0.15이었으며 이때의 흡광도를 100으로 하여 조효소액의 금속이온에 대한 영향을 조사하였다. 그 결과 세 가지 효소는 대부분의 금속이온에 대하여 영향을 받지 않았으나 *R. oryzae*는 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$가 존재할 때 잔존활성이 39%로써 Mg^{2+}에 대해 상당히 활성이 저해되는 것으로 나타났다. *Asp. niger* 및 *Asp. wentti*가 분비하는 알칼리성 protease의 경우, Ca^{2+}에 의해서 활성이 약간 증대 또는 보호된다는 Lim(16) 및 Kazuo 등(20)의 보고와 본 연구의 *R. oryzae*의 결과가 유사한 것으로 나타났으나 *Asp. wentti*의 경우

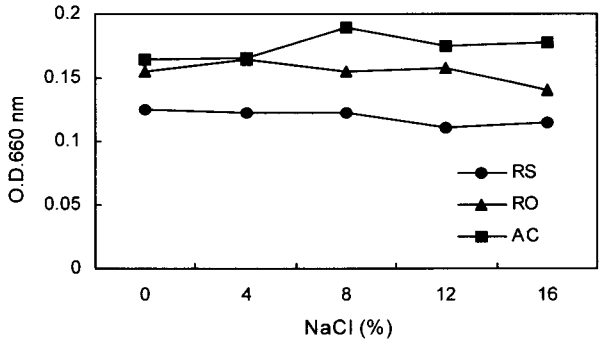

Fig. 5. Effect of NaCl concentration on protease activities from *Rhizopus stolonifer* (RS), *Rhizopus oryzae* (RO) and *Absidia corymbifera* (AC).
Enzyme activity was measured after regulating NaCl concentration of enzyme solution by 1~16%, treatment during 1 hr at 30°C, mixing with substrate and reacting during 30 min at 37°C.

Table 1. Effects of metal ions on protease activity

Ion	Metal	Relative activity (%)		
		RS	RO	AC
	None	100.0	100.0	100.0
Ba^{2+}	$BaCl_2 \cdot 2H_2O$	83.5	118.0	74.8
Ca^{2+}	$CaCl_2$	85.5	96.8	113.9
Cu^{2+}	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	116.8	116.3	90.8
Fe^{2+}	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	84.0	93.7	116.3
Mg^{2+}	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	93.8	38.8	104.7
Mn^{2+}	$MnSO_4$	111.3	98.2	85.2
Pb^{2+}	$Pb(CH_3COO)_2$	99.4	84.9	99.8
Zn^{2+}	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	106.1	103.2	97.4

The reaction mixture, consisted of 0.5 mL enzyme solution and 0.5 mL metal ion solution (2 mM), was incubated at 30°C for 60 min and the residual activities were assayed.
RS: *Rhizopus stolonifer*, RO: *Rhizopus oryzae*, AC: *Absidia corymbifera*.

Mg^{2+}에 대해 거의 영향을 받지 않아 *R. oryzae*와는 상이한 결과로 나타났다.

기질농도와 효소활성과의 관계를 검토하기 위하여 Hammarstein casein을 0.164×10^{-4}~1.313×10^{-4} M로 기질농도를 달리하였을 때 효소활성의 변화를 측정한 후 Lineweaver-Burk plotting한 결과, Fig. 6과 같이 *R. stolonifer* 효소액은 K_m값이 3.3×10^{-4} M, V_{max}값이 17.2 μg/min이었고, *R. oryzae* 효소액은 K_m값이 0.75×10^{-4} M, V_{max}값이 9.4 μg/min이었으며 *A. corymbifera*의 K_m값이 1.34×10^{-4} M, V_{max}값이 7.8 μg/min이었다. 메주 유래의 다른 곰팡이와 비교해 볼 때 기질결합력인 K_m값은 *Asp. wentti*(16)의 3.0×10^{-4} M, *Asp. oryzae*(11)의 2.0×10^{-4} M, *M. racemosus*(17)의 0.9×10^{-4} M, *S. racemosum*(18)의 0.6×10^{-4} M과 큰 차이가 없는 반면, 가수분해 최대속도인 V_{max}값은 *Asp. wentti*의 151.5 μg/min, *Asp. oryzae*의 74.5 μg/min과 비교해 약 1/10의 수준이었으며 *M. racemosus*의 5.93 μg/min, *S. racemosum*의 2.14 μg/min과 유사하였다.

이러한 결과로부터 *R. stolonifer*, *R. oryzae* 및 *A. corymbifera* 세 균주 유래의 효소는 *Aspergillus* sp. 유래의 효소와는 상이한 효소적 특성을 가지고 있으며 단백질 기질에 대한 가수분해 속도가 현저히 낮고 이들 세 균주를 이용하여 각각의 콩알메주를 제조하였을 때, *Aspergillus* sp. 균주를 이용한 메주와는 달리 점성물질이 형성되지 않은 점(11)으로 보아,

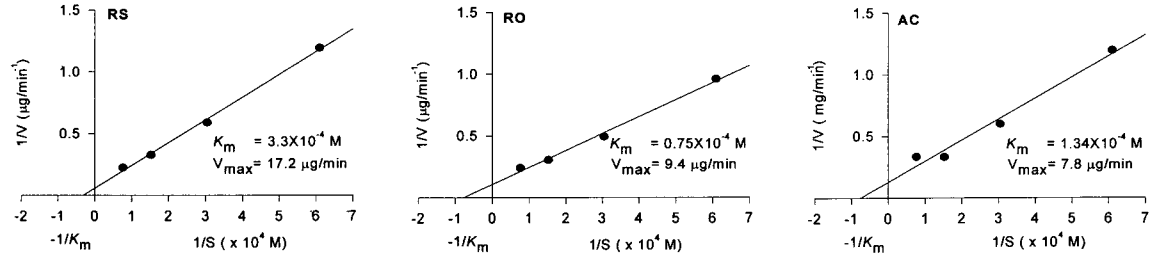

Fig. 6. Lineweaver-burk plot for hydrolysis of H. casein by protease from *Rhizopus stolonifer* (RS), *Rhizopus oryzae* (RO) and *Absidia corymbifera* (AC).

상기 세 균주는 단일 균주를 이용한 메주의 제조공정에는 적합성이 떨어지는 것으로 사료된다.

요 약

전통 메주의 산업화를 위해서는 먼저 제조공정이 확립되어야 하며 이를 위해서는 적합한 종균이 개발되어야 한다. 재래식 메주로부터 *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae* 및 *Absidia corymbifera*를 분리하여 균주 유래 protease의 특성을 조사하여 장류산업에 있어 기초자료로 이용하고자 한다. 세 균주를 각각 배양한 밀기울 배지에서의 protease 최적 생산조건은 모두 30°C, 4일간이었으며 초기 pH에 의한 영향은 없었다. 30°C에서 4일간 각 균주를 배양하고 증류수로 조효소액을 추출하여 효소작용을 위한 최적 pH와 온도를 조사한 결과, 각각 pH 6.0, 50°C였고 pH 4.0~7.0의 범위인 약산성 영역과 40°C이하에서 안정하였다. 된장의 염도 범위를 고려해서 16% 이내의 염도에 의한 영향을 조사한 결과, 염농도는 효소활성에 거의 영향을 미치지 않았다. *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae* 및 *Absidia corymbifera*로부터 유래된 각 효소액의 Hammastein casein 기질에 대한 결합력과 가수분해속도를 비교한 결과 K_m은 각각 3.3×10^{-4}, 0.75×10^{-4}, 1.3×10^{-4} M로 상호간에 큰 차이가 없었으며, V_{max}도 17.2 μg/min, 9.4 μg/min, 7.8 μg/min으로 유사하였다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 3차 기획과제의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사합니다.

문 헌

1. Kim SH, Choi NS, Lee WY, Lee JW, Kim DH. 1998. Isolation of *Bacillus* strains fibrinolytic enzymes from *doenjang*. *Korean J Microbiol* 34: 87-90.
2. Kang HJ, Park ES, Yoon S. 1984. Interaction of phytic acid with minerals during *meju* preparation. *Korean J Food Sci Technol* 16: 403-407.
3. Kim SS. 1978. Effect of *meju* shapes and strains on the quality of soy sauce. *Korean J Food Sci Technol* 10: 63-72.
4. Lee CJ, Hoh HS. 1976. Standardization of Korean soy sauce. *Korean J Food Sci Technol* 8: 247-252.
5. Park CK, Nam JH, Song HI, Park HY. 1989. Studies on the shelf-life of the grain shape improved meju. *Korean J Food Sci Technol* 21: 876-883.
6. Chang YC, Lee KH, Kim SY, Jo YL, Kim JK. 1992. Proteainase produced by *Bacillus licheniformis* SSA3-2M1. *Korean J Microbiol* 30: 239-245.
7. Ju HK, Ro SK, Im MH. 1972. Studies on the fermentation of soy sauce by bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 4: 276-284.
8. Kim DH, Lim DW, Bai S, Chun SB. 1976. Fermentation characteristics of whole soybean *meju* model system inoculated with 4 *Bacillus* strains. *Korean J Food Sci Technol* 29: 1006-1015.
9. Suh JS, Lee SG, Ryu MK. 1982. Effect of *Bacillus* strains on the *chungkook-jang* processing. *Korean J Food Sci Technol* 14: 309-314.
10. Yoo JY. 1998. Study on the commercialization of traditional *meju*. *Research report of MOST* N1070-0964, p 583-639.
11. Yoo JY. 2001. A Comprehensive studies on the development of Korean traditional foods with high qualities. *Research report of department of agriculture and forestry*, GA0211-0102.
12. Hagihara B. 1956. *Method of enzyme vol* II. Asahousyoten, Tokyo.
13. Perrin DD, Dempsey B. 1974. *Buffers for pH and metal ion control*. 1st ed. Chapman and Hall, London. p 155.
14. Lee MJ, Chung MJ. 1980. Studies on the production of protease by *Aspergillus oryzae* KC-15 and characteristics of the enzyme. *Korean J Appl Microbiol Bioeng* 8: 77-85.
15. Cha WS, Choi C. 1989. Characteristics and action pattern of protease from *Aspergillus fumigatus*. *J Korean Soc Food Nutr* 18: 348-355.
16. Lim SI. 2000. Purification and characterization of protease produced by *Aspergillus wentti* isolated from Korean traditional *meju*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 161-167.
17. Lim SI, Yoo JY. 1999. Characteristics of fungal protease produced by *Mucor racemosus f. racemosus* from Korean traditional meju. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 27: 466-470.
18. Lim SI, Yoo JY. 1999. Purification and characteristics of protease produced by *Syncephalastrum racemosum* PDA132-2 from Korean traditional *meju*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1010-1016.
19. Fukumoto J, Tsuru O, Yamamoto T. 1967. Studies on mold protease. Part I, Purification, crystallization and some enzymatic properties of acid protease of *Rhizopus chinesis*. *Agric Biol Chem* 31: 710-717.
20. Kazuo S, Kyo S, Kinichi M. 1985. Purification and some properties of serine protease from a mutant of *Aspergillus niger*. *J Ferment Technol* 63: 479-485.

(2001년 11월 26일 접수; 2002년 2월 26일 채택)