

## 해양심층수 및 Protease 고생산성 *Bacillus subtilis* DH3으로 제조한 된장(Doenjang)의 품질특성

정희경 · 정유석 · 윤광섭<sup>1</sup> · 김대익 · 홍주현<sup>†</sup>

(재)대구테크노파크 바이오산업지원센터, <sup>1</sup>대구가톨릭대학교 식품외식산업학부

### Quality Characteristics of Soybean Paste (Doenjang) Prepared with *Bacillus subtilis* DH3 Expressing High Protease Levels, and Deep-Sea Water

Hee-Kyoung Jung, Yoo-Seok Jeong, Kwang-Sup Youn<sup>1</sup>, Dae-Ik Kim and Joo-Heon Hong<sup>†</sup>

Bio Industry Center, Daegu Technopark, Daegu 704-801, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

#### Abstract

We examined the quality characteristics of soybean paste prepared using *Bacillus subtilis*DH3, which expresses high levels of protease, and deep-sea water. The protease activity of Doenjang prepared with *Bacillus subtilis* DH3 was  $278.83 \pm 1.68$  units/mL/min. Protease and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition activities increased with aging, for up to 30 days. The electron-donating ability (EDA) of Doenjang PD(Doenjang fermented with protease producing *B. Subtilis* DH3) was  $61.27 \pm 0.42\%$ , whereas Doenjang M (traditional Doenjang fermented with meju and salt) had a lower value of  $14.47 \pm 0.41\%$ . The mineral content of Doenjang PD was higher than that of Doenjang M. The overall acceptability of Doenjang PD was better than that of Doenjang M.

**Key words** : soybean paste, *Bacillus subtilis*, deep sea water, protease, quality characteristics

#### 서 론

우리나라 전통 식문화 중 대표적인 식품인 된장은 숙성 시 세균, 곰팡이, 효모 등 여러 미생물이 복합적으로 관련되어지는 반고체상의 대두발효식품이다(1). 된장은 예로부터 조미식품으로서의 역할을 담당해 왔으며 아미노산, 유기산, 미네랄 및 비타민 등을 풍부하게 함유하고 있는 영양원(2)이며, 항암효과(3), 항돌연변이원성(4), 혈전용해능(5), 항염증효과(6), 항고혈압효과(7) 등 다양한 생리활성을 가지고 있는 기능성 소재이기도 하다. 된장의 다양한 생리활성은 아직 명확히 규명되지는 않았으나 미생물에 의해 발효과정 중 생산되는 2차 대사산물에 의한 것으로 알려져 있다

(8). 또한 발효과정 중의 미생물은 protease, amylase, lipase 등을 생산하여 된장의 원료를 단백질과 탄수화물 및 지방 등의 가용성 성분으로 분해시켜 된장의 맛과 향을 결정시킨다. 따라서 된장 발효에 있어 미생물은 된장 제조 시 기능성 뿐만 아니라 풍미에 있어서도 중요한 역할을 담당하고 있으며, 된장의 생산 공정에 있어서도 유용 미생물의 적용은 중요하다. 이에 Kim 등(9)은 우리나라 전통 메주에서 분리한 균주를 이용하여 콩알 메주를 제조하였으며, Youn 등(10)은 *Bacillus natto*와 *B. licheniformis*를 starter로 하여 풍미를 향상시키고자 하였다.

최근 식품산업에서는 국민들의 건강에 대한 관심의 증대로 영양원에 있어 칼슘, 마그네슘 등 미네랄에 대한 중요성이 높아짐(11)에 따라 식품, 의료, 미용분야에서 해양 심층수를 이용한 제품이 활발하게 개발되고 있다(12). 해양심층수란 “태양광이 도달하지 않는 수심 200 m 이상의 깊은

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : betabio@ttp.org,  
Phone : 82-53-602-1821, Fax : 82-53-602-1898

바다에 존재하여 수온이 연중 2°C 이하로 안정되어 있는 청정한 해수”로서 미국 및 일본 등 주요 선진국에서는 일찍부터 해양심층수의 자원적 특성에 주목하여 기초연구를 실시하고 있다(13). Moon 등(14)은 청정한 해양심층수와 현대적인 건조기법을 이용한 고품질 소금의 제조를 모색하고, 수평식 분무 소금의 미네랄 함량을 비교한 결과 Ca, K 및 Mg 등 무기질 함량이 높다고 보고하였다. 된장에서도 역시 영양성의 강화를 위해 Ham 등(13)이 해양심층수염을 이용하여 개량식 된장을 제조하였다. 그러나 해양심층수를 이용하여 발효시킨 된장은 단지 된장의 고유 기능인 조미식품으로써 된장의 영양원만을 보강했을 뿐이며, 우리나라의 전통 발효식품인 된장의 우수한 생리기능성을 증진시키고자 하는 연구는 거의 없어 영양성과 기능성을 모두 갖춘 된장에 대한 개발은 여전히 미진한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 된장의 영양성과 기능성을 향상시키기 위해 해양심층수와 protease 고 생산성 미생물을 이용하여 된장의 미네랄 성분과 대두의 유용 펩타이드 함량을 증가시켜 ACE 저해활성과 항산화능을 가지는 고부가가치 기능성 된장을 제조하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### Protease 생산성 미생물 분리

Protease 고생산성 미생물 분리를 위한 시료는 알알이식품(주)에서 전통적인 제조방식으로 자연 발효시켜 제조한 재래식 된장을 이용하였다. 즉, 시료 10 g에 멸균 생리식염수 90 mL를 첨가 하여 단계별로 희석시킨 희석액을 영양한천배지(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 100 µL씩 도말한 다음 30°C에서 24시간 배양하여 생육한 단일집락의 미생물을 순수분리한 후, 영양한천배지에 2%의 skim milk를 첨가하여 제조한 배지를 이용하여 분리한 균을 재접종하여 30°C에서 24시간 배양하여 투명환이 생성되는 균주를 분리하였다.

### Protease 효소 활성 측정

Protease 활성 측정을 위한 조효소액은 영양배지(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 분리한 미생물을 백금이를 이용하여 접종하여 30°C에서 2일간 배양한 다음 10,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상등액을 이용하였다. 효소 반응액은 조효소액 0.5 mL, 기질로 0.6% casein 2.5 mL, 1/15 M phosphate buffer 용액(pH 7.0) 1 mL를 혼합하여 37°C에서 30분간 반응 시킨 다음 0.44 M trichloroacetic 2.5 mL를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응이 종료된 효소 반응액은 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상등액 0.5 mL에 0.55 M NaCO<sub>3</sub> 5 mL와 folin-ciocateu 시약 0.5 mL를 혼합하여 37°C에서 30분간 발색시킨 후 분광광도계(Ultraspec

2100pro, Amersham Co., Sweden)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 효소활성은 1분간 1 µg에 해당하는 tyrosine을 생성하는 효소의 양을 1 unit로 정의하였다(7).

### 된장 제조

된장의 제조는 Yang 등(2)의 방법에 따라 메주 17 g, 염도 17%로 조절한 해양심층수 83 g을 충분히 혼합 한 후 총 무게의 2%(w/w) 농도로 분리 미생물의 배양액을 접종하고 30°C에서 30일간 발효시켜 제조하였으며 일반 된장은 메주와 정제염을 이용하여 상기와 동일한 배합비로 제조하였다.

### 미생물동정

선발된 protease 고생산성 균주의 동정은 현미경의 형태학적 특성을 조사한 후 Promega 사의 Wizard Genomic DNA Kit를 이용하여 chromosomal DNA를 정제 한 후 primer 27F(5'-AGA GTT TGA TCA TGG CTC AG-3')와 1492R(5'-ACC TTG TTA CGA CTT)을 이용하여 선발균주의 16S rDNA를 PCR 증폭 후, 증폭된 유전자 단편은 Solgent 사(대전)에 의뢰하여 염기서열을 결정하였다. 분리된 미생물의 partial 16S rDNA는 blast program(NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)을 이용하여 NCBI에 등록된 염기서열과 비교하여 상동성을 조사하였다.

### 된장 열수 추출물 제조

된장의 열수 추출물 제조는 된장 10 g에 100 mL의 물을 첨가하여 95°C에서 3시간 동안 수욕상에서 추출한 후 그 추출액을 6,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 상등액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 여과액을 동결건조기(VFDT 00505-3085, Biocryos Co., Korea)를 이용하여 건조하였다.

### 전자공여능 측정

전자공여능은 1,1 diphenyl-2picrylhydrazyl(DPPH, Sigma Co., USA)의 환원력을 이용한 Kim 등(16)의 방법으로 측정하였다. 된장 동결건조 분말을 1 mg/mL 농도로 멸균증류수에 용해시킨 시료 200 µL에 DPPH 용액(4×10<sup>-4</sup> M DPPH in ethanol 100 mL) 800 µL를 가한 후 absolute ethanol을 2 mL 첨가하고 10초간 혼합한 다음 실온에서 15분간 반응시킨 후 시료를 첨가하지 않은 대조구와 흡광도 차이를 아래와 같이 백분율로 계산하였다.

$$\text{Electron-donating ability (\%)} = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100$$

Ac : 대조구의 흡광도

As : 시험구의 흡광도

### ACE 저해활성 측정

ACE(Angiotensin converting enzyme) 저해 활성은 Cushman과 Cheung의 방법(17)을 변형하여 측정하였다. 동결 건조된 된장 분말을 10 mg/mL 농도로 50 mM phosphate buffer (pH 8.3)에 용해시킨 시료 50  $\mu$ L에 ACE 효소액 100  $\mu$ L와 기질인 5 mM hip-purl-his-leu (HHL, Sigma-Aldrich chemical Co., MO, USA) 200  $\mu$ L를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 용액을 250  $\mu$ L 첨가하고 반응을 정지시켰다. 여기에 1.5 mL ethyl acetate를 가하여 20초 동안 충분히 혼합시킨 후 원심분리 하여 ethyl acetate층만을 회수하고 80°C에서 ethyl acetate를 모두 건조시켜 제거하고 잔사에 1 M NaCl<sub>2</sub> 3 mL를 첨가하여 용해시킨 다음 228 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식에 따라 ACE 저해율을 계산하였다.

$$\text{ACE inhibition (\%)} = \frac{(Ac - Acb) - (As - Asb)}{Ac - Acb} \times 100$$

Ac : 대조구의 흡광도

Acb : 대조구 공시료의 흡광도

As : 시험구의 흡광도

Asb : 시험구 공시료의 흡광도

### 무기질함량 분석 및 갈색도 조사

해양심층수첨가에 따른 된장의 미네랄 성분 분석은 건조된 분쇄시료 0.5 g을 건식법으로 전처리하여 유도결합플라즈마 분광기(ICP-AES, Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrophotometer, IRIS Interpid II XSP, Thermo, USA)를 이용하여 분석하였다. 또한 광학적 특성으로 된장의 갈색도는 된장의 열수추출물을 분광광도계(Ultraspex 2100 pro, Amersham Co., Sweden)을 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다.

### 관능평가

관능평가는 바이오산업지원센터 연구원 15명을 관능요원으로 선정하여 훈련한 후 다음과 같은 특성에 대하여 평가하였다. 관능검사 항목은 색, 향, 맛, 전체적인 기호도에 대해 5점 채점법(1점 : 매우 나쁘다, 2점 : 나쁘다, 3점 : 보통이다, 4점 : 좋다, 5점 : 매우 좋다)으로 점수를 나타내었다. 평가 결과의 통계처리는 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, version 10.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)를 이용하여 분석하였으며 검사한 항목에 대해 유의수준 5% 미만에서 차이를 확인하였다.

## 결과 및 고찰

### Protease 생산성 미생물 분리

전통적 방식으로 제조한 된장으로부터 15종의 균주를

분리할 수 있었으며, 4종의 균주가 skim milk agar에서 분해 환을 생성하여 protease 활성이 있는 균주로 선별하였다. Protease 활성을 나타내는 DG1, DG6, DH3, DH4 균주를 영양배지에서 배양하여 배양 상등액의 protease 생산성을 조사한 결과, DH3이 15.32±0.7(unit/mL/min)로 가장 우수하였다(Fig. 1).

Protease는 효소 시장규모에서 60%를 차지하고 있으며, 효소 공업에서 그 이용이 증가되고 있는 추세이다(18). 따라서 protease 균주의 확보를 위해 토양(19), 멸치젓(20), 청국장(21) 등으로부터 protease 생산성 *Bacillus* 속의 균주 분리가 시도되었으나 이들의 protease 활성은 2~13(unit/mL/min)로 활성이 미약하여 protease 고 생산성 균주에 대한 미생물자원의 지속적 확보가 필요한 실정이다. 본 연구에서 된장으로부터 분리된 DH3은 보고된 protease 생산성 균주(19-21)보다 다소 우수하였으며 DH3은 돌연변이와 같은 균주육종을 통해 충분한 활성 증대가 가능 할 것으로 사료되어 산업적 활용이 기대된다.

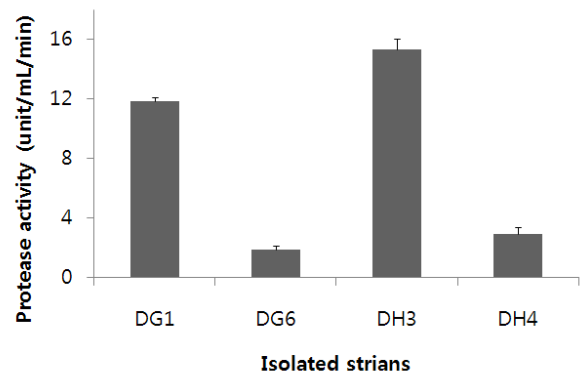


Fig. 1. Protease activities of isolated strains. Results are expressed as means with SD (error bar) of triplicate determinations.

DG1, DG6, DH3 and DH4 as proteolytic strains were isolated from Korean traditional soybean paste.

### 된장의 protease 활성

Protease 생산성 균주를 접종하여 된장을 발효시켜 protease 활성을 측정한 결과, DG6가 37±1.12(unit/mL/min)로 가장 낮았으며 DH3을 접종시킨 된장이 278.83±1.68(unit/mL/min)로 protease 생산성이 우수하였다(Fig. 2). 현재, 시판되고 있는 된장은 일반적으로 1960년대 도입된 대두와 밀기울을 혼합하여 사용하는 속양식으로 풍미와 영양가가 크게 떨어진다(22). 된장 발효에 관여하는 미생물이 생산하는 protease는 대두단백질의 소화성과 영양성 개선에 큰 역할을 하며 아미노태 질소 함량과도 연관성이 있어 된장 특유의 맛을 내는데 중요한 역할을 한다(16). 따라서 protease 활성이 높은 균주인 DH3을 사용하여 재래식 된장을 개량하여 제조 할 경우, 대두 원료만의 사용으로 재래식 된장의 고유 영양성과 풍미를 유지시킴과 동시에 대두 분해

력을 높여 속성발효를 시켜 된장의 대량생산도 가능할 것으로 생각된다.

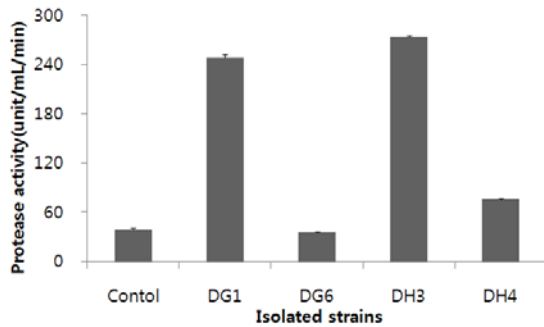


Fig. 2. Protease activities in Doenjang fermented with the isolated strains and deep sea water. Results are expressed as means with SD (error bar) of triplicate determinations.

DG1, DG6, DH3 and DH4 as proteolytic stains were isolated from Korean traditional soybean paste.

**Protease 고 생산성 미생물 동정**

선별균주인 DH3의 형태학적 특성은 그람양성 간균이었으며 partial 16S rDNA의 NCBI의 blast 조사한 결과, *Bacillus subtilis*에 99% 상동성을 나타내어 *B. subtilis* DH3으로 명명하였다(data 미제시).

**Protease 활성 및 ACE 저해활성**

대두 등 일부 식품에서는 식품 성분 중의 단백질이 protease에 의해 가수 분해되어 유용 펩타이드를 생성시킴에 따라 ACE(Angiotensin converting enzyme) 저해 활성을 나타낸다고 보고되고 있다(23-25). 따라서 본 연구에서는 해양심층수로 된장을 제조 시 상기에서 분리한 protease 고 생산성 균주 *B. subtilis* DH3을 접종시켜 유용 펩타이드의 생산 증가를 통해 ACE 저해활성을 향상시키고자 하였다.

해양심층수를 첨가하고 *B. subtilis* DH3을 접종하여 발효시킨 된장(Doenjang PD)과 염수와 메주로만 발효시킨 된장(Doenjang M)의 발효기간에 따른 protease 및 ACE 저해 활성은 protease의 경우 20일에서 30일 경과시 그 증가율이 가장 높았으며 발효 30일 후 동결건조 분말(10 mg/mL)의 ACE 저해활성은 각각 14.11±0.13%, 88.43±0.61%를 나타내었다. 이러한 결과는 *Bacillus*속을 이용하여 제조한 청국장 ACE 저해활성이 단지 45.2%를 나타내는 것(27)과 비교시 된장 PD의 ACE 저해활성은 매우 우수하였다. 고혈압은 대표적인 성인병으로 모든 순환기계 질병의 원인으로 알려져 있으며, 대부분의 고혈압 치료약은 ACE 저해제로 알려져 있다(24). 따라서 *B. subtilis* DH3을 이용하여 ACE 저해활성이 높은 된장의 섭취는 고혈압의 예방에 있어 도움을 줄 수 있을 것으로 기대되어진다.

Table 1. Protease activity and ACE (angiotensin converting enzyme) inhibitory activity by Doenjang PD and Doenjang M fermented for 30 days

Type of Doenjang	Fermentation time(days)	Protease activity (unit/mL/min)	ACE inhibitory activity(%)
Doenjang PD <sup>1)</sup>	10	79.29±0.75 <sup>3)</sup>	31.53±0.87
	20	138.18±1.17	75.59±0.57
	30	273.53±1.57	88.43±0.61
Doenjang M <sup>2)</sup>	10	4.08±0.75	-
	20	14.23±0.56	5.14±0.82
	30	35.78±0.79	14.11±0.13

<sup>1)</sup>Doenjang PD ; Doenjang fermented with protease producing *B. subtilis* DH3 and deep sea water during 30 day at 30°C.

<sup>2)</sup>Doenjang M ; Traditional Doenjang fermented with meju and salt water during 30 day at 30°C.

<sup>3)</sup>The results are expressed as mean±standard deviation of triplicate experiments.

**항산화 활성**

발효기간에 따른 된장 PD와 된장 M의 항산화 활성을 측정된 결과, 된장 PD와 된장 M 모두 발효 시간이 증가할수록 항산화 활성은 증가하였다(Table 2). 특히 된장 PD는 발효 30일째 61.27±0.42%의 전자공여능을 나타내어 14.47±0.41%인 Doenjang M과 비교시 약 5배정도 항산화능이 높았으며 이는 항산화제인 ascorbic acid 100 ppm의 전자공여능 59.23±0.32%와 유사하였다. 또한 ACE 저해활성과 유사하게 발효기간 10일과 20일에서 항산화 활성이 급격히 증가 하였으나 그 이후 항산화 활성의 증가율은 다소 감소하였다.

Table 2. Electron-donating ability of Doenjang PD and Doenjang M fermented for 30 days

Type of Doenjang	Days	Electron-donating ability (%)		
		10	20	30
Doenjang PD <sup>1)</sup>		21.23±0.70 <sup>4)</sup>	55.13±0.75	61.27±0.42
Doenjang M <sup>2)</sup>		7.03±0.31	13.33±0.47	14.47±0.41
Ascorbic acid (100 ppm) <sup>3)</sup>				59.23±0.32

<sup>1)</sup>Doenjang PD ; Doenjang fermented with protease producing *B. subtilis* DH3 and deep sea water during 30 day at 30°C.

<sup>2)</sup>Doenjang M ; Traditional Doenjang fermented with meju and salt water during 30 day at 30°C.

<sup>3)</sup>Positive control.

<sup>4)</sup>The results are expressed as mean±standard deviation of triplicate experiments.

**무기질 함량 및 갈색도**

무기질 함량을 분석한 결과, 된장 PD는 K, Ca 및 Mg가 각각 1.347 g/100 g, 0.749 g/100 g 및 1.187 g/100 g 으로 나타나 된장 M보다 많은 함량을 나타내었다(Table 3). 이러한 결과는 Lee 등(29)은 해양심층수는 K, Ca, Mg 함량이 높아 참외 절임에 해양심층수를 사용하여 K, Ca, Mg의 함

량을 증가시켰다고 보고와 유사하였다. 된장에서 갈변물질에 따른 갈색도의 증가는 항산화능 증가에 영향을 미친다고 보고(28)되고 있다. 된장 PD와 된장 M의 열수 추출물을 420 nm에서 흡광도를 이용하여 갈색도를 측정된 결과, 된장 PD가 1.54±0.13로 된장 M의 0.82±0.05로 갈색도가 높게 나타났다. 된장의 갈변화는 비효소적인 갈변과 효소적인 갈변으로 구분되는데 비효소적인 갈변은 발효에 관여하는 미생물이 분비하는 전구물질에 의한 melanin과 같은 흑색소에 의한 것이며, 효소적인 갈변은 발효에 관여하는 미생물 중에서 *Bacillus* 속 의해 생성된 tyrosinase에 의한 촉매작용에 기인하는 것으로 알려져 있다(30).

**Table 3. Mineral contents of Doenjang PD and Doenjang M fermented after 30 days**

	Doenjang PD <sup>1)</sup>	Doenjang M <sup>2)</sup>
K (g/100 g)	1.347	0.177
Ca (g/100 g)	0.749	0.279
Mg (g/100 g)	1.187	0.443

<sup>1)</sup>Doenjang PD ; Doenjang fermented with protease producing *B. subtilis* DH3 and deep sea water during 30 day at 30°C.

<sup>2)</sup>Doenjang M ; Traditional Doenjang fermented with meju and salt water during 30 day at 30°C.

### 관능평가

본 연구에서 protease 고 생산성 균주인 *B. subtilis* DH3와 해양심층수로 제조한 된장 PD와 일반 재래방식으로 제조한 된장 M을 15명의 요원을 대상으로 관능검사를 실시한 결과, 맛, 향 및 전체적 기호도에서 된장 PD가 된장 M보다 우수하였다(Table 4). 그러나 색의 경우 된장 M이 된장 PD보다 우수하였는데 그 이유는 된장 PD의 갈색도 증가에 따라 기호도가 낮아진 것으로 생각된다.

**Table 4. Results of panel test between Doenjang PD and Doenjang M fermented for 30 days**

Test parameters	Doenjang PD <sup>1)</sup>	Doenjang M <sup>2)</sup>	T-value
Color	2.6±0.5 <sup>3),4)</sup>	4.0±0.7	-5.7
Flavor	3.4±0.5	3.1±0.6	1.6
Taste	4.3±0.5	3.3±0.5	5.6
Total	4.3±0.8	3.1±0.6	4.3

<sup>1)</sup>Doenjang PD ; Doenjang fermented with protease producing *B. subtilis* DH3 and deep sea water during 30 day at 30°C.

<sup>2)</sup>Doenjang M ; Traditional Doenjang fermented with meju and salt water during 30 day at 30°C.

<sup>3)</sup>The results are expressed as mean±standard deviation.

<sup>4)</sup>5 scale evaluation : 1, ver bad; 2, bad; 3, average; 4, good; 5, very good. Significantly different from doenjang group at p<0.05.

### 요 약

된장의 영양성과 기능성을 향상시키기 위해 해양심층수와 protease 고 생산성 미생물을 이용하여 개량식 된장을 제조하여 다양한 기능적 특성을 조사하였다. Protease 활성은 재래식 된장에서 분리한 DH3을 접종시킨 된장이 278.83±1.68(unit/mL/min)로 가장 우수하였다. Protease 활성과 ACE저해 활성은 발효기간이 길어질수록 증가되었으며 발효 30일 후 된장M과 된장 PD의 동결건조 분말(10 mg/mL)의 ACE 저해활성은 각각 14.11±0.13%, 88.43±0.61%로 조사되었다. 발효 기간이 30일 경과한 후, 항산화활성은 된장 PD가 61.27±0.42%로 된장 M의 14.47±0.41%보다 약 5배정도 활성을 나타내었으며 무기질함량은 된장 PD가 K, Ca 및 Mg의 함량이 각각 1.347 g/100 g, 0.749 g/100 g 및 1.187 g/100 g로 된장 M의 함량보다 높게 나타났다. 관능평가 결과 맛, 향, 전체적 기호도에서 된장 PD의 평가 점수가 된장 M에 비해 더 높게 측정되어 관능적으로 양호함을 확인하였다.

### 참고문헌

- Ahn, S.C. and Bog, H.J. (2007) Consumption pattern and sensory evaluation of traditional doenjang and commercial doenjang. *Korean J. Food Culture*, 22, 633-644
- Yang, S.H, Choi, M.R., Ji, W.D., Chung, Y.G. and Kim, J.K. (1994) The quality of Doenjang (soybean paste) manufactured with *Bacillus brevis*. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 23, 980-985
- Choi, S.Y., Cheigh, M.J., Lee, J.J., Kim, H.J., Hong, S.S., Chung, K.S. and Lee, B.K. (1999) Growth suppression effect of traditional fermented soybean paste(Doenjang) on the various tumor cell. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 458-463
- Rhee, C.H., Kim, W.C., Rhee, I.K., Lee, O.S. and Park, H.D. (2006) Changes in the physicochemical property, angiotensin converting enzyme inhibitory effect and antimutagenicity during the fermentation of Korean traditional soy paste (Doenjang). *Korean J. Food Preserv.*, 13, 603-610
- Ra, K.S., Oh, S.H., Kim, J.M. and Suh, H.J. (2004) Isolation of fibrinolytic enzyme and β-glucosidase producing strains from Doenjang and optimum conditions of enzyme production. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 33, 439-442
- Ahn, S.K. and Hong, K.W. (2005) Hyaluronidase

- inhibitory activity of extracts from doenjang, chungkookjang and miso. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 34, 1119-1123
7. Kim, D.Y., Lee E.T. and Kim, S.D. (2003) Purification and characterization of fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus subtilis* K7 isolated from Korean traditional soy sauce. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 46, 176-182
  8. Kim, B.S., Rhee, C.H., Hong, Y.A., Woo, C.J., Jang, C.M., Kim, Y.B. and Park, H.D. (2007) Changes of enzyme activity and physiological functionality of traditional *Doenjang* during fermentation using *Bacillus* sp. SP-KSW3. Korean J. Food Preserv., 14, 545-551
  9. Kim, D.Y., Lim, D.W., Bai, S. and Chun, S.B. (1997) Fermentation characteristics of whole soybean *Meju* model system inoculated with *Bacillus* strains. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 1006-1015
  10. Youn, K.C., Kim, D.H., Kim, J.O., Park, B.J., Yook, H.S., Cho, J.M. and Byun, M.W. (2002) Quality characteristics of the *Chungkookjang* fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *B. licheniformis* J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31, 204-210
  11. Lee, S.W., Kim, H.J., Moon, D.S., Kim, A.R. and Jeong, I.H. (2007) Characteristics of Tofu coagulants extracted from sea tangle using treated deep ocean water. J. Kor. Fish. Soc., 40, 113-116
  12. Yoo, S.H., Kim, H.J. and Moon, D.S. (2007) Demand analysis on the deep sea water products. Ocean Policy Res., 22, 35-65
  13. Ham, S.S., Kim, S.H., Yoo, S.J., Oh, H.T., Choi, H.J. and Chung, M.J. (2008) Antimutagenicity and cytotoxic effects of methanol extract from deep sea water salt and sea tangle added soybean past (*Doenjang*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 37, 416-421
  14. Moon, D.S., Kim, H.J., Shin, P.K. and Jung, D.H. (2005) Characteristics of chemical contents of horizontal spray salts from deep ocean water. J. Korean Fish. Soc., 38, 65-69
  15. Kim, J.H., Yoo, J.S., Lee, C.H., Kim S.Y. and Lee, S.K. (2006) Quality properties of soybean pastes made from Meju with mold producing protease isolated from traditional Meju. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 49, 7-14
  16. Cheung, H.S. and Chushman, D.W. (1974) Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol., 24, 2227-233
  17. Lee, J.E. and Bai, D.H. (2004) A thermostable protease produced from *Bacillus* sp. JE 375 isolated from Korean soil. Korean J. Food Sci. Technol., 36, 105-110
  18. Kim, K.P., Kim, N.H., Lee, C.H., Woo, C.J. and Bae, D.H. (2002) Isolation and characterization of protease producing bacteria from soil. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31, 754-759
  19. Cha, Y.J., Lee, E.H., Lee, K.H. and Chang, D.S. (1988) Characterization of the strong proteolytic bacteria isolated from low salt fermented anchovy and of protease produced by that strain. Bull. Korean Fish. Soc., 21, 71-79
  20. Ahn, Y.S., Kim, Y.S. and Shin, D.H. (2006) Isolation, identification, and fermentation characteristics of *Bacillus* sp. with high protease activity from traditional cheonggukjang. Korean J. Food Sci. Technol., 38, 82-87
  21. Choi, D.W. (2003) A plan for improving quality of traditional soybean paste. Korean J. Food Nutr., 16, 218-223
  22. Suh, H.J., Kim, Y.S., Chung, Kim, Y.S. and Lee, S.D. (1996) Functionality and inhibitory effect of soybean hydrolysate on angiotensin-converting enzyme. Korean J. Food Nutr., 9, 167-175
  23. Lee, H.O. and Kim, D.S. (1999) Angiotensin-1 converting enzyme inhibitory activity of algae. J. Korean Fish. Soc., 32, 427-431
  24. Kim, S.B., Lee, T.G., Park, Y.B., Yeum, D.M, Kim, O.K., Do, J.R. and Park, Y.H. (1994) Isolation and characteristics of angiotensin- I converting enzyme inhibitory activity of peptic hydrolyzates of anchovy muscle protein. Bull. Korean Fish. Soc., 27, 1-6
  25. Park, D.C., Park, J.H., Cu, Y.S., Han, J.H., Byun, D.S., Kim, E.M., Kim, Y.M. and Kim, S.B. (2000) Effects of salted-fermented fish products and their alternatives on angiotensin converting enzyme inhibitory activity of kimchi during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 32, 920-927
  26. Kim, S.D. (2005) Antimicrobial and ACE inhibitory activities of chungkookjungs prepared with various *Bacillus* sp. isolated from traditional chungkookjang. Catholic Univ. of Daegu. J. Nat. Sci., 3, 79-85
  27. No, J.D, Lee, D.H., Lee D.H., Choi, S.Y., Kim, N.M. and Lee, J.S. (2006) Changes of quality and physiological functionality during the fermentation of doenjungs made by isolated nuruk mold and commercial nuruk mold. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 35, 1025-1030
  28. Kim, H.J., Sohn, H.J., Chae, S.H., Kwak, T.K. and Yim, S.K. (2002) Brown Color characteristics and antioxidizing activity of doenjang extracts. Korean J. Soc. Food Cookery Sci., 18, 644-654

29. Lee, G.E., Kim, S.K., Kim, J.O. and Kim, M.L. (2003) Comparison of quality characteristics of salted muskmelon with deep sea water salt, sun dried and purified salts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32, 840-846
30. Kwon, S.H., and Shon, M.Y. (2004) Antioxidant and anticarcinogenic effects of traditional doenjang during maturation periods. Korean J. Food Preserv., 4, 461-467

---

(접수 2009년 2월 19일, 채택 2009년 5월 15일)