

Quality characteristics of buckwheat *Soksungjang* manufactured by *Bacillus subtilis* HJ18-4

Na Young Park, Sun Young Lee, Ji Yeun Kim, Hye Sun Choi*

Department of Agro-food Resources, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-853, Korea

Bacillus subtilis HJ18-4를 이용하여 제조한 메밀 속성장의 품질특성

박나영 · 이선영 · 김지연 · 최혜선*

국립농업과학원 농식품자원부

Abstract

Buckwheat *Soksungjang* (BS) is a *bealmijang* manufactured with buckwheat and soybeans. We manufactured BS using *Bacillus subtilis* HJ18-4 (HJ18-4), which has high enzyme activities and antibacterial effects. HJ18-4 was inoculated in a different process during the BS manufacturing, which was the meju-making time (Treat 1), and the salt water time was added (Treat 2). The physicochemical and microbial characteristics of the BS were analyzed. As a result, the total aerobic counts (7~8 log CFU/mL) in the BS increased after 15 days of fermentation. Especially, Treat 1 showed higher total aerobic counts and amino-type nitrogen (65.38~202.52 mg%) than Treat 2. During the BS fermentation, the reduction of the sugar contents and the enzyme (protease and amylase) activities decreased. In the relative quantitative expression level of PlcR, Treat 1 did not show toxin gene expressions at the end of the fermentation on Day 23. Treat 1 showed suitable *B. cereus* physicochemical quality characteristics and inhibition effects. When the modified-form type of fermented soybean paste was manufactured with a single starter, it could not reproduce the natural fermentation quality. These results suggest that the addition of a starter (HJ18-4) in the *Meju* manufacturing process could enhance the quality characteristics of the manufactured BS via natural fermentation and by suppressing *B. cereus*.

Key words : *Bacillus subtilis* HJ18-4, buckwheat, *Soksungjang*, real time PCR, *Bacillus cereus*

서 론

속성장은 대두를 주원료로 하여 메주를 다른 방법으로 띄우거나, 부재료를 섞어 만든 장으로 별미장이라 한다. 장류는 장맛과 숙성기간에 따라 기본장 3종과 별미장 138종으로 구분된다. 원료와 담금법에 따라서는 된장, 간장, 고추장, 찰장, 물료잡법 및 어육장 등 7품목으로 구성되며 종류는 총 141종으로 분류하였다(1,2). 그 중에서 메밀 속성장은 콩과 메밀을 이용하여 메주를 만들어 제조한 별미장이다.

콩은 쌀을 주식으로 하는 식생활에 있어서 쌀에 부족한 필수 아미노산인 lysine을 공급하여 영양균형을 이루게 해

주는 식품이다(3). 콩 단백질은 glycinin(30%)과 β -conglycinin(40%)로 구성되어 있으며 식품단백질 중에서 영양학적 및 물리화학적 기능이 우수하다(4,5).

메밀(Buckwheat; *Fagopyrum esculentum*)은 마디풀과에 속하는 일년초로 분류학상 곡류와 구별되지만 유사한 특성을 가지고 있으며, 탄수화물, 단백질, lysine, arginine 등의 필수 아미노산, 불포화 지방산, 무기질 및 비타민을 함유하고 있다(6). 메밀에 함유된 flavonoid는 rutin (2-phenyl-3,5,7,3',4'-pentahydroxybenzopyrone), quercetin, isoquercetin, myricetin 등이 있으며 항산화작용, 혈압저하작용, 혈관 수축작용, 항균작용 등이 보고되고 있다(7,8).

장의 중요한 품질 지표인 맛과 향은 *Aspergillus oryzae*, *Bacillus* 속, 효모 및 젖산균 등의 발효미생물에 의해 생성된 아미노산, 유기산, 당 및 휘발성 화합물에 의해 결정된다(9,10). 또한 혈당강하, 항산화(11,12), 고혈압저해효과(13),

*Corresponding author. E-mail : choih9587@korea.kr
Phone : 82-31-299-0572, Fax : 82-31-299-0554

항 돌연변이성(14) 등 각종 생리활성이 있는 것으로 알려져 있으며, 이러한 활성은 미생물에 의한 발효과정 중 생산되는 2차 대사산물에 의한 것으로 보고되었다(15). 기능성물질 생성에 관련된 미생물이 보고되고 있으며, 장류로부터 protease, amylase, lipase 등의 효소 활성 및 혈전용해능이 우수하고 병원성 균에 대한 항균활성 및 내염성이 우수한 균주 분리에 대한 연구가 이루어진 바 있다(15,16). 최근 발효식품의 품질을 향상시키기 위하여 종균 적용 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구는 자연발효 전통메주의 안전성 확보를 통한 품질향상을 위해 효소활성 및 항균효과 우수 발효미생물 *B. subtilis* HJ18-4를 접종하여 제조한 메밀속성장의 발효기간 중 품질 특성을 분석하였다. 자연발효에 의해 제조되는 메밀속성장 발효 중 종균 적용방법을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

B. subtilis HJ18-4 이용 메밀 속성장 제조

콩은 24시간 수침 후, 증자하고 마쇄하였다. 증자 콩(7 kg), 메밀가루(3 kg), 물(600 mL)을 혼합하여 성형(무게 400 g, 지름 15 cm, 두께 2 cm)한 후, 걸말림(24 hr, 23~25°C, RH50%)하고 7일 동안 발효(28°C, RH80%)시켜 메주를 제조하였다. 물은 메주무게의 1.2배(w/w), 소금은 10%(w/w)로 조절하여 혼합한 후, 항아리에 넣어 숙성(20±5°C)시키며 일정기간 마다 시료를 채취하였다. Amylase, protease, cellulase 및 lipase 등의 발효관련 효소활성과 그람 양성균 3종(*B. cereus* KACC 10004, *Staphylococcus aureus* KACC 10778, *Listeria monocytogenes* KACC 10550), 그람 음성균 2종(*Salmonella enterica* KACC 11595, *Escherichia coli* KACC 13821) 및 *Candida albicans* KACC 30062 등의 병원성균에 대해 우수한 항균 효과를 갖는 *B. subtilis* HJ18-4를 starter로 사용하였고 8 log CFU/mL 이상의 농도로 시료량의 2%(w/w)가 되도록 접종하였다. Treat-1은 메주 제조 시 starter를 접종한 처리구이며, Treat-2는 염수 혼합 시 starter를 접종한 처리구이다.

아미노태 질소함량 측정

아미노태 질소함량은 Formol 적정법으로 측정하였다(17). 시료 100 g에 증류수를 가하여 200 mL로 정용한 후, 진탕추출(300 rpm, 20 min)하여 원심분리(8,000 g, 20 min), 여과(Adventec No. 2)하고 20배 희석하였다. 시료 5 mL, 중성 formalin 용액 10 mL 및 증류수 10 mL를 혼합한 용액에 0.5% phenolphthalein 용액을 가하였다. 이에 0.5 N-NaOH를 가하여 미홍색이 될 때까지의 적정량과 blank test의 적정량을 이용하여 산출하였다.

Protease 활성 측정

Protease 활성은 Anson 방법(18)에 따라 측정하였다. 0.2 M phosphate buffer(pH 7.0)로 제조한 0.6% casein 용액 5 mL에 효소액 1 mL를 가하여 반응(37°C, 10 min)시킨 후, 0.44 M trichloroacetic acid(TCA) 5 mL를 가하여 반응정지시켰다. 30분 동안 실온에서 반응한 후, 여과(Whatman No. 2)한 여액 2 mL에 0.55 M Na₂CO₃용액 5 mL 가한 후, folin용액 1 mL를 첨가하여 30분 동안 발색한 후, 흡광도(660 nm)를 측정하였다. 반응 후 분해물의 tyrosine 양은 표준곡선으로부터 측정치에 대한 tyrosine량으로 계산하며 시료 1 g당 tyrosine µg수로 나타내었고, tyrosine 1 µg을 생성하는 능력을 1 unit으로 하였다.

Amylase 활성 측정

Amylase 활성은 dextrinogenic unit of nagase(DUN)법(19)에 의하여 측정하였다. 1% 전분 기질액(pH 7.0) 3 mL에 효소액 1 mL를 넣고 반응(40°C, 10 min)시킨 후, 반응액 1 mL에 0.1 M HCl 10 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 1 mL에 0.005% I₂-0.05% KI용액 10 mL를 넣어 발색시킨 후, 흡광도(660 nm)를 측정하였다. 조효소액 1 mL이 1분 동안 전분 0.1 mg을 분해한 양을 1 unit으로 계산하였다.

환원당 측정

환원당은 dinitrosalicylic acid(DNS) 방법(20)으로 측정하였다. 시료 추출액 1 mL에 DNS 시약 3 mL를 가하여 반응(95°C, 5 min) 및 냉각 한 후에 흡광도(550 nm)를 측정하여 산출하였다.

총 균수, 유산균 수 및 *B. cereus* 균 수 측정

총균 수, 유산균 수 및 *Bacillus cereus* 균 수는 nutrient agar, MRS agar, BL agar 및 *Bacillus cereus* selective agar를 이용하여 측정하였으며, 시료를 단계적으로 희석한 후, 호기 및 혐기적인 조건에서 배양(37°C, 48 hr)하여 계수하였다.

Real-time PCR을 이용한 *B. cereus* toxin 발현량 측정

시료 10 g에 saline 용액 100 mL를 가하여 Bagmixer (Interscience, St Nom, France)를 사용하여 10분 동안 균질화하였다. 이를 원심분리(1,000 rpm, 5 min)한 후, 상등액을 재 원심분리(1,300 rpm, 5 min) 한 뒤 pellet을 TE buffer로 resuspension하여 세 번 washing 하였다. Genomic DNA의 추출은 GenEX genomic Sx kit(GeneAll Biotechnology CO., LTD, Seoul, Korea)를 이용하여 추출하였다. *B. cereus* 유래 독소 유전자 유무를 확인하기 위해 전사조절 단백질인 phospholipase C regulator(AY247971) 발현량을 측정하였으며, 사용된 Primer는 PlcR forward(5'-GTAAATAA-YATCAGRAGATAAATATCC-3'), PlcR reverse (5'-GGAAG-TTGAGTACGATGG-3')를 이용하여 분석하였다. DNA

template 2 μ L, 0.5 μ M의 각각의 primer, SYBR mix(Bio-rad, Hercules, CA, USA) 10 μ L를 혼합하여 총 20 μ L로 분취한 후, polymerase를 활성화(95 $^{\circ}$ C, 3 min) 한 후, 40회 반복반응(95 $^{\circ}$ C, 15 sec/ 58 $^{\circ}$ C 15 sec/ 72 $^{\circ}$ C 20 sec)하여 Real-time PCR System (CFX96, Bio-rad)을 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

아미노태 질소 및 환원당 함량

메주 제조 시 starter첨가 실험구(Treat-1)와 염수 혼합 시 starter첨가 실험구(Treat-2)의 발효중 아미노태 질소함량은 Fig. 1과 같다. 발효 15일에 Treat-1(174 mg%), Treat-2(153 mg%)이었으며, 발효가 진행 될수록 증가하였다. Choi 등(21)의 연구에서 메밀속성장 발효 중 아미노태 질소함량은 발효가 진행됨에 따라 모든 실험구에서 증가하였음을 나타내었고 이는 발효미생물 유래 단백질 분해 효소에 의한 가수분해작용으로 단백질이 펩타이드와 아미노산으로 분해되었기 때문이라고 보고하였다. Treat-1의 아미노태 질소함량이 다른 처리구보다 높은 것으로 보아 메밀 속성장 메주 제조 단계에서 starter 첨가하는 것이 바람직 하였다.

환원당 함량은 Fig. 1에서와 같이 발효 6일 이후로 현저히 감소하였다. Jung 등(22)은 쌀된장 발효 중 환원당은 숙성 초기에 증가하여 숙성 30-50일에 최대치를 보인 후 감소한 것으로 보고 하였으며, 본 연구의 환원당 함량 경향과 유사하였다. 기질로 남아있던 전분질이 발효가 진행됨에 따라, α -amylase 등의 전분 가수분해 효소에 의해 분해된 것으로 판단된다.

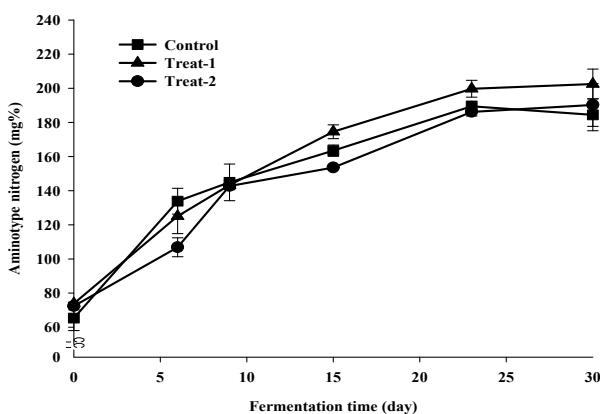


Fig 1. Changes in aminotype nitrogen content of buckwheat *Soksungjang*.

Symbols; -■-; Control, -▲-; Treat-1, -●-; Treat-2

Protease 및 amylase 활성변화

Protease활성은 Fig. 3과 같다. 대조구는 발효 15일째 25 unit/g로 가장 높았으며 Treat-1은 발효 23일째 25 unit/g,

Treat-2는 발효 15일째 24 unit/g로 가장 높았다. 초기 protease 활성 증가는 단백질 분해산물인 아미노산, polypeptide의 증가와 직접적인 상관이 있다고 알려져 있다(23). 발효 15일 이후, 모든 실험구에서 감소하는 경향을 보였는데 이는 숙성 기간이 경과됨에 따라 소금 등의 영향으로 protease활성이 저하와 기질소모 때문이다(24).

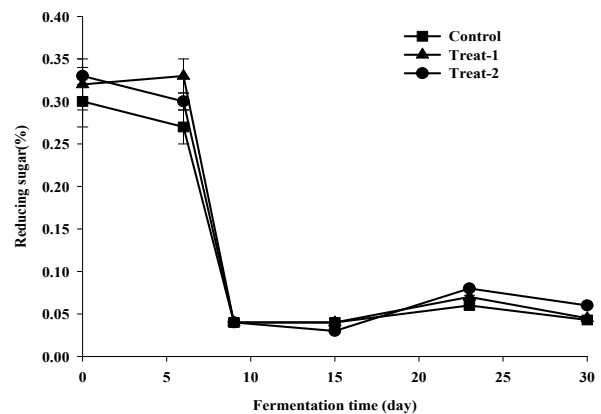


Fig 2. Changes in reducing sugar of buckwheat *Soksungjang*.

Symbols; -■-; Control, -▲-; Treat-1, -●-; Treat-2

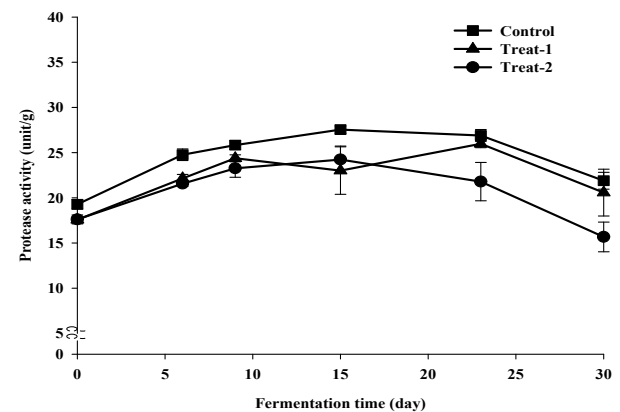


Fig 3. Changes in protease activities of buckwheat *Soksungjang*.

Symbols; -■-; Control, -▲-; Treat-1, -●-; Treat-2

Amylase활성의 경우, Fig. 4에서와 같이 Treat-1, 2는 발효 5일째 35 unit/g로 가장 높았으며 이후로 감소하는 경향을 나타내었다. 발효과정 중, *B. subtilis* HJ18-4를 포함한 발효 미생물이 분비하는 전분분해효소가 영향을 미쳤으며, 또한 amylase 활성은 염에 의해 저해될 뿐만 아니라, 기질이 되는 전분질의 소모에 의한 것으로 생각된다(25,26). Kim 등(27)은 메밀 속성장 유래 효소활성 우수 균주로 제조된 대맥장의 품질특성 규명 연구에서 amylase의 활성이 숙성기간에 따라 급격히 감소하는 것을 확인하였으며 본 실험과 유사한 경향을 나타내었다.

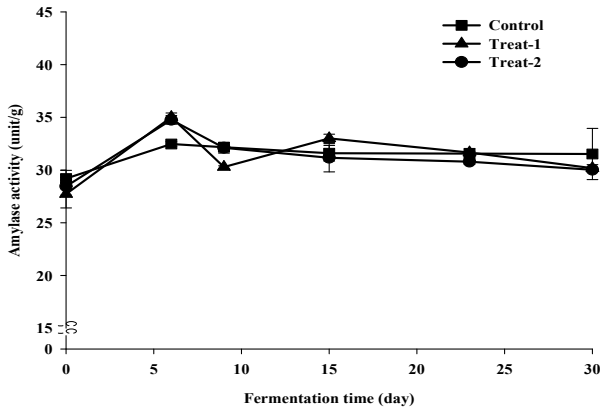


Fig 4 . Changes in amylase activities of buckwheat *Soksungjang*. Symbols; ■; Control, ▲; Treat-1, ●; Treat-2

Real-time PCR 이용 발효 중 *B. cereus* 변화 분석

Real-time PCR을 이용하여 *B. cereus*에 특이적으로 존재하는 transcriptional regulator gene(PlcR)을 증폭시켜 *B. cereus*의 양을 상대비교 하였다. 그 결과 모든 시료에서 1.00×10^3 CFU/g 이하로 검출되거나 PlcR이 발현되지 않았다(Table 1). 대조구의 경우, 발효 0일째는 검출되지 않았고 9일째는 C(t) 37.35였으며 발효23일째는 검출되지 않았다. 이는 자연발효 숙성 중, 1.00×10^3 CFU/g 이하로 생성된 *B. cereus*가 발효가 완료되는 시점인 23일 이후로는 모두 사멸된 것으로 판단된다. Treat-1의 0일째(C(t)33.64)는 대조구 9일째(C(t)37.35) 대비 16배의 높은 수준을 보였으나 발효 9일 이후, 검출되지 않았다. 자연발효 조건에서는 스타터 첨가 메틸숙성장 메주일 지라도 *B. cereus*가 증식될 수 있으나 세균증식에 적합한 수분활성도가 유지되는 염수 첨가 후의 발효과정에서는 항균활성 우수 *B. subtilis* HJ18-4 균주가 발효초반부터 우점종이 되어 *B. cereus*가 감소되었고 발효후반에는 검출 되지 않은 것을 확인할 수 있었다. Lee 등은 *B. subtilis* HJ18-4의 주요한 유용성으로 *B. cereus*에 대한 항균활성을 확인하였다(16). Treat-2의 경우, 발효9일까지는 검출되지 않았으나 발효 23일 5.00×10^2 CFU/g 수준으로 검출되었으며 이는 자연발효상태에서도 검출 될 수 있는 미미한 수준이다. 이는 염수첨가 단계에서 접종한 것으로 발효 중 *B. subtilis* HJ18-4균주가 Treat-1에 비하여

Table 1. Comparison of relative quantitative expression of PlcR from *B. cereus* during buckwheat *Soksungjang* fermentation

	C(t)		
	0day	9day	23day
Control	ND	37.35	ND
Treat-1	33.64	ND	ND
Treat-2	ND	ND	34.80

**Bacillus cereus* KACC10004: 1.00×10^3 CFU/g, C(t):33.73)

우점종으로 분포되지 못한 것으로 보인다. Kwon 등(28)은 *B. subtilis* 168 박테리오신에 노출된 *B. cereus* ATCC 14579의 생균수 변화를 측정하였는데, 박테리오신에 노출되지 않은 대조구의 경우 배양 중, 균수가 증가하였으나, *B. subtilis* 168 박테리오신에 노출된 *B. cereus* 세포의 경우 박테리오신 첨가 3시간 이후부터 생균수가 감소하였다. 유

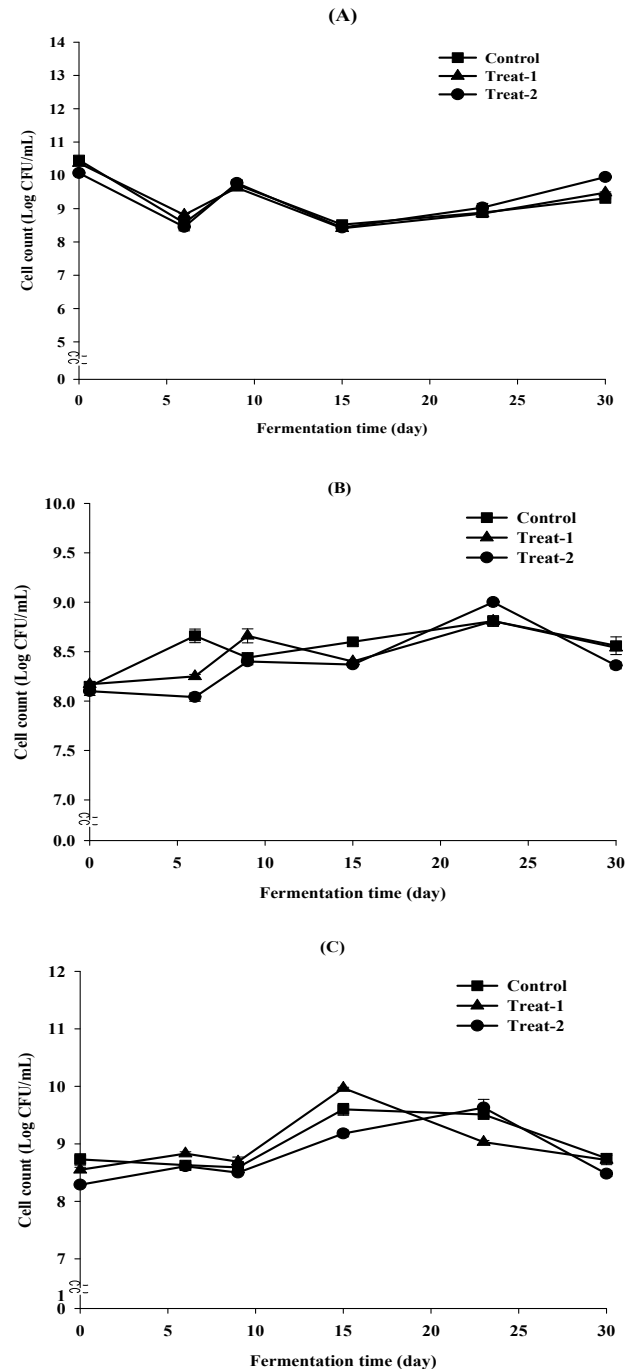


Fig 5. Changes in microorganism during buckwheat *Soksungjang* fermentation.

(A): Total bacteria(aerobic), (B): Lactic acid bacteria(aerobic), (C): Lactic acid bacteria(anaerobic)
 Symbols; ■; Control, ▲; Treat-1, ●; Treat-2

렵의 대표적인 자연발효식품인 치즈의 경우, *Lactobacillus* sp.가 생성한 박테리오신에 의해 오염 및 품질을 조절한다고 보고하였다(29). 이와 같은 연구 결과로 보아 유해균을 억제하는 starter를 사용하면 콩 발효식품 중의 *B. cereus*를 저감화하는 것이 가능하며, 메밀 속성장 메주제조 단계에서 starter를 첨가하는 것이 적합하였다.

Starter 첨가 시기별 총균수 및 유산균수 변화

Fig. 6에서와 같이 총균수(A)는 모든 실험구에서 발효 9일째 9.7 log CFU/mL까지 증가 하였으나 발효 15일에는 감소 하였으며, 발효 25일부터 다시 점차 증가하였다. 유산균(B, C)의 경우, 발효 15~20일 사이에 최대 개체 수를 보였으며 그 이후에는 감소하였다. Kim 등(29)은 김치로부터 분리된 *Lactobacillus* sp.를 접종하여 발효생식을 제조한 결과 발효 48시간 이후에는 존재하는 균이 거의 사멸되었고 60시간 이후에는 검출되지 않아 김치 분리 균주인 *Lactobacillus* 종이 생산하는 bacteriocin의 항균작용이 lactic acid를 비롯한 유기산과 복합작용에 의하여 오염균을 사멸시킨 것을 확인하였다. Rukure(31)는 자연발효에 의한 치즈제조 중 *B. cereus*와 유산균의 생균수를 측정된 결과, 발효초기 유산균과 *B. cereus*의 생균수는 함께 증가하나 유산균수가 10^8 CFU/mL이상으로 일정하게 유지하는 시기 이 후, 부터는 *B. cereus*가 검출되지 않았고, 그 이유는 유산균이 생성하는 박테리오신 및 유기산 등에 의한 것으로 보고하였다. 항균 peptide는 유산균 뿐만 아니라 다양한 세균이 생성할 수 있으며, 본 연구에 사용된 항균효과 우수 *B. subtilis* HJ18-4 균주에 의해 항균물질이 생성되어 발효 초기부터 후반까지 메밀속성장의 안전성 유지에 영향을 미친 것을 알 수 있었다.

요 약

메밀 속성장은 메밀과 콩으로 제조된 별미장이다. 항균 및 효소활성이 우수한 *B. subtilis* HJ18-4 균주를 starter로 사용하여 메밀 속성장을 제조하였다. 메밀 속성장 제조과정 중, starter 첨가 시기는 메주 제조단계(Treat-1) 및 염수 첨가단계(Treat-2)로 접종시기를 달리하였다. 발효 중 아미노테질소 함량, 환원당, 효소활성(protease, amylase)의 이화학적 품질특성과 총균 수, 유산균 수 및 *B. cereus* 양 변화 등의 미생물학적 특성을 분석하였다. 그 결과, 총균 수는 발효 15일부터 7~8 log CFU/mL로 증가되었고 아미노테질소함량은 발효기간 동안 65.38~202.52 mg%로 증가되었다. 반면, 환원당과 효소활성(amylase, protease)은 모든 처리구 에서 감소하였다. 발효기간 중 PlcR 발현에 미치는 영향을 측정한 결과, Treat-1 처리구에서 발효 23일 이후 검출되지 않았다. 메주 제조단계에서 *B. subtilis* HJ18-4를

접종한 Treat-1이 발효관련 이화학적 특성과 *B. cereus* 저해 효과가 우수하였다. 단일 균을 접종하여 제조되는 개량식장 제조 시, 자연발효에 제조된 장의 품질을 재현하기가 매우 어려운 실정이다. 본 연구는 자연발효방법으로 제조되는 메밀 속성장에 항균 및 효소활성이 우수한 *B. subtilis* HJ18-4 균주를 스타터 적용하여 장류 품질개선 방법을 제시하였다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구개발사업(PJ008626, PJ907153)의 지원으로 수행되었습니다.

References

- Hwang HS (1984) Korean Folk Report. Ministry of Culture, Sports and Tourism (MCST). Seoul, Korea, p 183
- Youn SS (1985) Korean Food (History and Cuisine). 4th ed. Suhaksa. Seoul, Korea, p 54-59
- Ju JS (1985) Nutrition of soybean. Korea Soybean Digest 2, 16-19
- Utsumi S, Gidamis AB, Mikami B, Kito M (1993) Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of the soybean proglycinin expressed in *Escherichia coli*. J Mol Biol, 233, 177-178
- Duyu kong be T, Ishige T, Takaiwa F (1997) Molecular design of soybean glycinins with enhanced food qualities and development of crops producing such glycinins. Adu Exp Med Biol, 415, 1-15
- Park JS, Lee TS, Kye HW, Ahn SM, Noh BS (1993) Study on the preparation of kochujang with addition of fruit juices. Korean J Food Sci Technol, 25, 98-104
- Choi YS, Ahn C, Shim HH, Choe M, Oh SY, Lee SY (1992) Effect of instant buckwheat noodle on digestibility and lipids profiles of liver and serum in rats. J Korean Soc Food Sci Nutr, 21, 478-483
- Lee JS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS (1994) Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. Korean J Nutr, 27, 819-827
- Yang SH, Choi MR, Kim JK, Chung YG (1992) Optimization of the taste components composition in traditional Korean soybean paste. J Korean Soc Food Nutr, 21, 449-453

10. Park JS, Lee MY, Kim KS, Lee TS (1994) Volatile flavor components of soybean paste (Doenjang) prepared from different strains. *Korean J Food Sci Technol*, 26, 255-260
11. Kim MH, Lee JH (1994) Antioxidant materials in domestic meju and Doenjang. *J Korean Soc Food Nutr*, 23, 251-260
12. Kurechi T, Kikuda S, Hasunuma M (1981) Inhibition of Nnitrosamine formation by soya products. *Food Cosmet Toxicol*, 19, 425-450
13. Yu RN, Chung DK, Nam HS, Shin ZI (1996) Effect of soybean hydrolysate on hypertension on spontaneously hypertensive rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 25, 1031-1036
14. Park KY, Moon SH, Cheigh HS (1996) Antimutagenic effect of Doenjang (Korean soy paste). *J Food Sci Nutr*, 1, 151-156
15. Kim BS, Rhee CH, Hong YA, Woo CJ, Jang CM, Kim YB, Park HD (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
16. Lee SY, Kim JY, Baek SY, Yeo SH, Koo BS, Park HY, Choi HS (2011) Isolation and identification characteristics of oligotrophic strains with high enzyme activity from buckwheat *Sokseongjang*. *Korean J Food Sci Technol*, 43, 735-741
17. Choi HS, Joo SJ, Yoon HS, Kim KS, Song IG, Min KB (2007) Quality characteristics of hwangki (*Astragalus membranaceus*) cheonggukjang during fermentation. *Korean J Food Preserv*, 14, 356-363
18. Kim HJ, Lee JJ, Cheigh MJ, Choi SY (1998) Amylase, protease, peroxidase and ascorbic acid oxidase activity of Kimchi ingredients. *Korean J Food Sci Technol*, 30, 1333-1338
19. Lee SY, Park NY, Kim JY, Choi HS (2012) Quality characteristics of rice-*doenjang* during fermentation by differently shaped meju and adding starter. *Korean J Food Nutr*, 25, 505-512
20. Dubois M, Gillers KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956) Colormetric method for determination of sugar and related substance. *Anal Chem*, 28, 350-352
21. Choi HS, Lee SY, Baek SY, Koo BS, Yoon HS, Park HY, Yeo SH (2011) Quality characteristics of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) *Soksungjang*. *Korean J Food Sci Technol*, 43, 77-82
22. Jung SW, Kim YS, Chung KS (1995) Effects of preparation methods and aging temperatures on the properties of rice-*doenjang*. *Agric Chem Biotechnol*, 38, 83-89
23. Hong JS, Park JR, Jeon JR, Cha MH, KJ, Kim JH (2004) Quality characteristics and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of Doenjang prepared with *Bacillus subtilis* SS103. *J East Asian Soc Dietary Life*, 14, 363-369
24. Jeong YK, Seo JH, Cho HS (2007) Quality characteristics of Kochujang prepared with commercial protease. *Korean J Food Nutr*, 4, 378-383
25. Rhee CH, Lee JB, Jang SM (2000) Change of microorganisms, enzyme activity and physiological functionality in the traditional doenjang with various concentrations of *Lentinus edodes* during fermentation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*, 43, 277-284
26. Mok CK, Song KT, Lee JY, Park YS, Lim SB (2005) Changes in microorganisms and enzyme activity of low salt soybean paste (doenjang) during fermentation. *Food Eng Prog*, 9, 112-117
27. Kim JY, Lee SY, Park NY, Choi HS (2011) Quality characteristics of black soybean paste (Daemaekjang) prepared with *Bacillus subtilis* HJ18-4. *Korean J Food Sci Technol*, 44, 743-749
28. Kwon GH, Lee HA, Kim JH (2010) A bacteriocin of 5-kDa in size *Bacillus subtilis* 168. *Korean J Microbiol Biotechnol*, 38, 163-167
29. Nakamura K, Arakawa K, Kawai Y, Yasuta N, Chujo T, Watanabe M, Iioka H, Tanioka M, Nishimura J, Kitazawa H, Tsurumi K, Saito T (2013) Food preservative potential of gassericin A-containing concentrate prepared from cheese whey culture supernatant of *Lactobacillus gasserii* LA39. *J Anim Sci*, 84, 144-149
30. Kim DH, Song HP, Sohn JS, Cha BS, Shin MG, Byun MY (2002) Effects of fermentation to improve hygienic quality of powdered raw grains and vegetables raw grains and vegetables using *Lactobacillus* sp. isolated from Kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 31, 765-769
31. Rukure GT (1999) Survival and growth of *Bacillus cereus* during Gouda cheese manufacturing. Ph D thesis, Pretoria University, South Africa, 43-45

(접수 2013년 6월 14일 수정 2013년 10월 28일 채택 2013년 11월 4일)