

Nisin 생성 유산균을 이용한 저염 된장의 제조

이정옥 · 류충호[†]

경상대학교 응용화학식품공학부 · 농업생명과학원

Preparation of Low Salt *Doenjang* Using by Nisin-Producing Lactic Acid Bacteria

Jeong-Ok Lee and Chung-Ho Ryu[†]

Division of Applied Chemistry & Food Science and Technology, and Institute of Agriculture & Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

The growth inhibition by nisin-producing lactococci against *Bacillus subtilis* and its application to *doenjang* fermentation were investigated. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IFO 12007, *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 7962 and *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 were used as nisin-producing lactococci. All of three strain rapidly proliferated to more than 10^9 CFU/g in steamed soybeans. Only *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007 was in steamed soybeans without any pH decrease. In spite of the mild decrease in pH, the growth of *B. subtilis* was completely inhibited; no living cells were detected in a soybean sample inoculated with 10^6 CFU/g and incubated for 24 to 72 h. The *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007 was applied to *doenjang* fermentation as a starter culture. It produced high nisin activity in steamed soybean, resulting in the complete growth inhibition of *B. subtilis*, which had been inoculated at the beginning of the meju fermentation, throughout the process of *doenjang* production. Over-acidification, which is undesirable for *doenjang* quality, was successfully prevented simply by adding salt which killed the salt-intolerant *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007. Furthermore, the nisin activity in *doenjang* disappeared with aging.

Key words: low salt *doenjang*, nisin, *Bacillus subtilis*, bacteriocinogenic lactic acid, *Aspergillus oryzae*

서 론

된장은 우리나라의 대표적인 콩 발효식품으로서, 곡류단백질에서 부족되기 쉬운 필수 아미노산 및 지방산, 유기산, 미네랄, 비타민 등을 보충해 주는 영양학적 우수성을 지닌 식품이다(1). 된장은 항암(2), 혈당강하, 항산화 효과(3,4), 돌연변이 억제(5), 혈전용해능(6) 등의 다양한 기능성도 지니고 있음이 보고되고 있다. 그러나 된장에는 고농도의 식염이 함유되어 있어 중요한 콩 단백질원임에도 불구하고 섭취율이 낮은 실정이다. 현대 식생활의 흐름과 성인병 예방의 측면에서 염분함량이 낮은 저염 된장을 개발할 필요가 있다. 저염장류의 제조법으로는 효모첨가법, 수분저감법, 효소분해법, pH저하법, 반제품혼합법, 열화칼륨이용법, 고온숙성법, 알콜첨가법 등이 보고되었으나(7,8), 국내에서 저염 된장에 대한 연구는 에탄올첨가에 의한 방법만이 보고되어 있다(9).

Nisin은 몇몇 *Lactococcus lactis*의 균주에 의해 생성되며 분자량이 약 3,500 Da인 펩타이드성 항균물질(10,11)로서 peptidoglycan의 생산을 저지하여 *Bacillus*, *Clostridium*, *Cor-*

ynebacterium, *Neisseria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* 등의 Gram 양성균의 생육을 효과적으로 억제 또는 사멸(12-15)시키나 Gram 음성균에는 활성이 없다(16). Nisin은 *Bacillus coagulans*와 *B. stearothermophilus*의 내열성 포자에도 흡착되어(17) 열저항성을 감소시킴으로써 포자의 내열성을 저하시킨다는 보고도 있다(15).

Nisin의 활성은 trypsin, carboxypeptidase A, pepsin, elastase, erepsin 등에 의해서는 영향을 받지 않으나, α -chymotrypsin과 타액의 ptyalin에 의해서 불활성화된다(18,19). Nisin은 인체 내에서 단백질분해효소에 의해 분해됨으로 인체에 무해한 식품보존제로서 미국을 포함하여 50개 이상의 나라에서 치즈, 통조림, 우유, 마요네즈 등에 사용이 허가되어 있고 치즈에 첨가되는 nisin 최대사용허용치를 미국 10,000 IU/g, 이탈리아, 스웨덴, 스페인 500 IU/g로 제한하고 있으나 프랑스에서는 무제한이며, 야채통조림의 경우 이탈리아에서는 500 IU/g이며 오스트리아에서는 제한하지 않고 있다(20).

본 연구에서는 nisin을 생성하는 유산균을 개량식 된장발효에 이용함으로써 된장의 제조공정 중 이미·이취를 형성

[†]Corresponding author. E-mail: ryu@nongae.gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-751-5482. Fax: 82-55-753-4630

하는 대표적인 부패미생물인 *B. subtilis* 생육을 억제하고 저열 된장으로서의 개발 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주

박테리오신(nisin) 생산균주로는 IFO에서 분양받은 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IFO 12007(이하 12007이라 함)과 경상대학교 식품공학과에 보관중인 *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 7962(이하 7962라 함), ATCC 11454(이하 11454라 함)를 사용하였으며, 유산균의 보존 및 계대배양은 M17-G(M17에 1% glucose를 첨가: Scharlau, European Union) 배지를 사용하여 30°C에서 배양하였다. *Aspergillus oryzae*는 (주)충무발효의 황국균을 분양받아 Czapek-Dox(Difco, USA)배지에서 계대배양하면서 사용하였다. 고초균(*Bacillus subtilis*)은 오염된 된장에서 분리하였으며 계대배양 및 항균실험은 TSA(BBL, USA)배지를 사용하여 30°C에서 배양하였다.

유산균을 이용한 콩발효

콩을 수세·침지한 후 여분의 물기를 제거하고 121°C에서 30분간 증자하여 냉각한 다음 유산균을 증자콩 1 g당 10^6 CFU 접종하여 30°C에서 36시간동안 배양하면서 경시적으로 생육상태, pH 변화 등을 측정하였다. 몇몇 실험은 유산균으로 24시간동안 발효시킨 후 된장유래의 고초균을 접종하여 30°C에서 48시간동안 배양하면서 유산발효에 의한 고초균의 생육저해를 조사하였다.

pH와 생균수 측정

pH는 시료 5 g을 증류수 45 mL로 희석하여 pH meter(420A, Orion Co., USA)로 측정하였으며 생균수는 시료 1 g을 멸균 증류수로 10배씩 단계 희석한 후 유산균과 고초균의 생균수를 측정하였다. 유산균은 M17-G에 도달하여 30°C에서, 고초균은 TSA에 도달하여 37°C에서 24시간 배양하여 나타난 colony를 계수하였다. 황국균의 균수는 시료 1 g을 0.01% Tween 80용액을 이용하여 10배씩 단계 희석한 후 Czapek-Dox 평판배지에 도달하여 25°C에서 36시간 배양 후 나타난 colony수를 계수하였다.

유산발효 콩의 고초균 생육저해

피검균주로서 된장 유래의 오염균인 *B. subtilis*를 도달한 배지에 각각의 유산균으로 30°C에서 24시간동안 발효시킨 콩을 엮어 37°C에서 24시간 배양하여 생육 저해환을 측정하였다.

콩알메주제조

콩을 수돗물로 2회 세척, 20°C에서 10시간 수침하여 1시간 이상 물빼기한 후 121°C에서 30분간 증자하여 충분히 냉각한 콩에 전배양한 nisin 생산 유산균을 증자콩 1 g당 10^6 CFU 되도록 종균으로 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양하여

유산발효시켰다. 유산발효시킨 콩에 *Asp. oryzae* 포자를 α 화소백분으로 증량시켜 1 g당 10^6 CFU되도록 접종하고 30°C에서 48시간동안 2차 발효하면서 균수 및 pH 변화를 확인하였다. 경우에 따라서 유산발효 후 황국균과 함께 된장에서 분리한 *B. subtilis*를 1 g당 10^5 CFU되도록 접종하여 30°C에서 48시간동안 배양하면서 균수의 변화와 pH 변화를 확인하였다. 유산발효 후 국균발효를 거쳐 2차 발효된 콩을 그대로 65°C에서 열풍 건조하여 콩알메주형태로 보관하면서 사용하였다.

된장제조

상기방법으로 제조된 콩알메주를 개량식된장의 염분함량을 12%와 저염 된장의 적정소금함량인 8%로 구분하여 제조하였다(21). 제조된 시료는 30°C에서 30일간 발효시키면서 경시적인 균수와 pH 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

증자콩 중 유산균의 생육특성

증자콩 중 유산균의 생육곡선은 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 유산균 7962, 11454, 12007을 각각 증자콩 1 g당 10^6 CFU로 접종한 후 24시간 배양하여 유산균수를 계수한 결과 세 균주 모두 콩 중에서 양호하게 생육하여 10^9 CFU/g으로 증식함을 알 수 있었다. 이 결과 복잡한 영양요구성을 가진 유산균이 당, 비타민, 아미노산 등의 영양성분을 별도로 첨가하지 않고도 증자콩 중에서 급격히 증식함을 확인하였다. 증자콩 중 유산균의 생육에 따른 pH변화는 Fig. 2에 나타내었다. 7962, 11454 두 균주를 증자콩에 12시간 배양시 각각의 pH는 4.91, 5.14로 급격히 감소하였으나 12007은 pH 6.23로 변화가 거의 없었고 배양 24시간 후에도 pH 감소가 일어나지 않았다. 증자콩 중에 유산균이 생육함으로 인해 생산된 유산과 nisin이 잡균오염이나 오염된 균의 증식을 방지하는 이점이 있지만

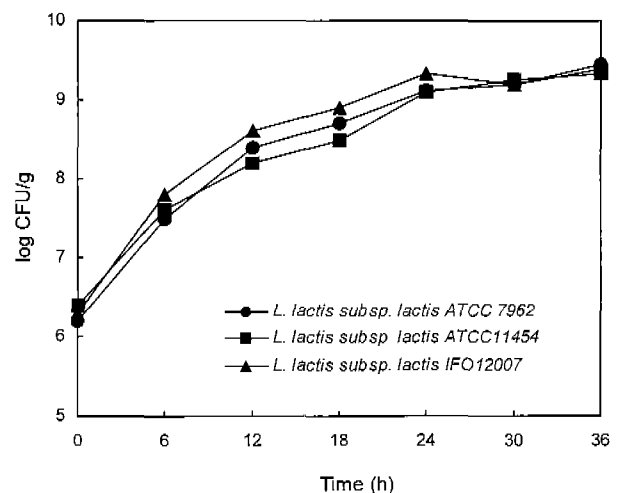


Fig. 1. Growth of nisin-producing lactococci in steamed soybeans.

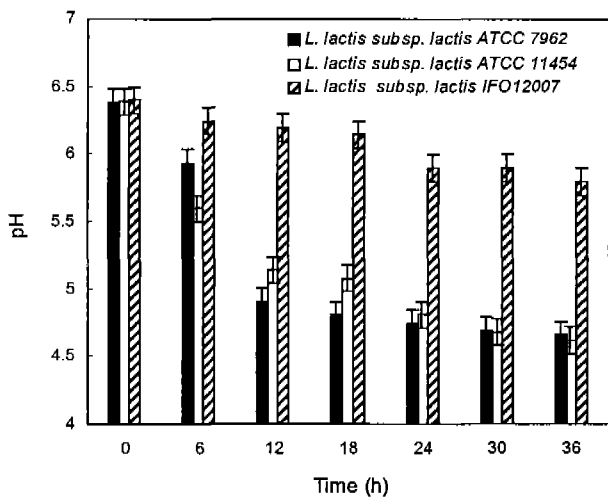


Fig. 2. Changes in pH by growth of nisin-producing lactococci in steamed soybeans.

과잉 생성된 젖산이 급격한 산도 증가를 유발하고 완숙 된장의 신맛을 강하게 하여 기호도를 하락시키므로 유산균 starter 선별시 증자콩 중에 잘 증식하며 박테리오신을 생산하나 pH 변화가 완만한 균주를 사용하는 것이 이상적이라고 생각되어 이하의 실험에 *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007 균주를 사용하였다.

유산발효된 콩에 의한 *B. subtilis*의 생육저해

Nisin 생성 유산균으로 24시간 발효시킨 콩에 *B. subtilis*를 접종하여 경시적으로 균수 및 pH변화를 측정된 결과는 Table 1, 2와 같다. 유산균수가 10^9 CFU/g 이상되도록 유산발효된 콩은 개량 메주제조 중 품질을 현격히 저하시키는 주요오염미생물인 *B. subtilis*가 10^6 CFU/g 오염되어도 유산발효시 생산된 nisin과 유산의 항균작용에 의해 변질되지 않음을 알 수 있다. *B. subtilis*의 오염에 상관없이 유산균들은 잘 생육하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 7962와 11454로 유산발효시킨 콩 1 g당 10^6 CFU의 *B. subtilis*를 접종한 직후 생균수를 계수하여도 *B. subtilis*가 검출되지 않았다. Table 2에 나타낸 바와 같이 12007로 유산발효시킨 콩 중의 *B. subtilis*의 생육은 완전히 저해되었다. 증자콩의 pH는 24시간 이후 감소하였지만 그 후 72시간까지 계속 배양하여도 pH는 거의 변하지 않았다.

유산발효된 콩 속의 유산과 초산량은 각각 약 1.0 mg/g으로 소량이었으나 강한 nisin 활성이 검출되었으며 유산발효시킨 콩을 4°C에서 약 90일간 저장 후에도 nisin의 활성은 거의 그대로 유지되었다(data는 나타내지 않음). 이는 nisin이 발효된 콩에 결합된 상태로 존재하기 때문에 중성 pH부근에서도 안정한 것으로 생각된다. 유산발효된 콩에 접종시킨 *B. subtilis*가 즉시 사멸되는 것은 nisin의 사멸작용이 접촉 후 수분만에 일어난다는 Ramseier의 보고(22)와 잘 일치하였다.

증자콩 1 g당 *B. subtilis*를 10^6 CFU되게 접종한 대조구를 24시간 배양시 증자콩 중에서 쉽게 증식하여 10^9 CFU/g이

Table 1. Inhibition of *B. subtilis* in fermented soybeans by nisin-producing lactococci

| Bacteria | Incubation time (h) | | | |
|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 0 | 12 | 24 | 36 |
| +ATCC7962 | | | | |
| <i>B. subtilis</i> | NI ¹⁾ | NI | <10 | <10 |
| LAB ²⁾ | 5.06×10^6 | 8.7×10^7 | 2.4×10^9 | 2.8×10^9 |
| pH | 6.41 | 4.91 | 4.75 | 4.66 |
| -ATCC11454 | | | | |
| <i>B. subtilis</i> | NI | NI | <10 | <10 |
| LAB ³⁾ | 4.8×10^6 | 3.2×10^7 | 1.8×10^9 | 2.2×10^9 |
| pH | 6.41 | 5.14 | 4.81 | 4.62 |

B. subtilis at the level of 10^6 CFU/g was inoculated into soybeans that had been lactic-fermented with *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 7962 or *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 for 24 h at 30°C.

¹⁾Not inoculated.

²⁾*L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 7962.

³⁾*L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454.

Table 2. Inhibition of *B. subtilis* in fermented soybeans by *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007

| Bacteria | Incubation time (h) | | | |
|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 0 | 24 | 48 | 72 |
| <i>B. subtilis</i> | NI ¹⁾ | <20 | <20 | <20 |
| LAB ²⁾ | 2.9×10^6 | 2.2×10^9 | 5.7×10^9 | 3.1×10^9 |
| pH | 6.40 | 6.12 | 6.07 | 6.02 |
| Control (no LAB) | | | | |
| <i>B. subtilis</i> | 3.4×10^6 | 5.6×10^9 | 7.4×10^9 | 6.8×10^9 |
| pH | 6.41 | 7.33 | 7.36 | 7.35 |

B. subtilis at the level of 10^6 CFU/g was inoculated into soybeans that had been lactic-fermented with *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007 for 24 h at 30°C.

¹⁾Not inoculated.

²⁾*L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007.

상으로 *B. subtilis*가 증식하여 암모니아성 불쾌취와 점질물질을 분비하였다.

유산발효된 콩에 고초균을 접종하면 고초균의 생육이 완전히 저지되는 점으로 미루어 증자한 콩에 다른 균이 오염되기 전에 먼저 유산발효를 행함으로써 메주에 불쾌취를 생성하는 부패균인 *B. subtilis*의 생육을 사전에 효과적으로 저지할 수 있었다. 유산균 7962, 11454, 12007으로 유산발효시킨 콩 중의 *B. subtilis*의 생육 저해를 Fig. 3에 나타내었다. 세 균주 모두 *B. subtilis*의 생육을 효과적으로 저해하였으나 7962와 11454는 증자콩에 증식하면서 과도한 유산을 생산하여 급격한 pH 변화가 초래되어 상품의 기호성을 낮출 우려가 있어 12007균만을 선택하여 콩의 유산발효에 사용하였다.

L. lactis subsp. *lactis* IFO 12007로 발효시킨 콩알메주로 제조한 된장 중의 *B. subtilis* 생육저해

유산발효시킨 콩에 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis*를 동시에 접종하고 즉시 TSA한천평판배지에 도말하여 배양해도 *B. subtilis*가 계측되지 않았다. 유산발효된 콩에 황국균과 고초균을 동시에 접종하여 48시간 배양하면 콩에 *Asp. oryzae*의 포자

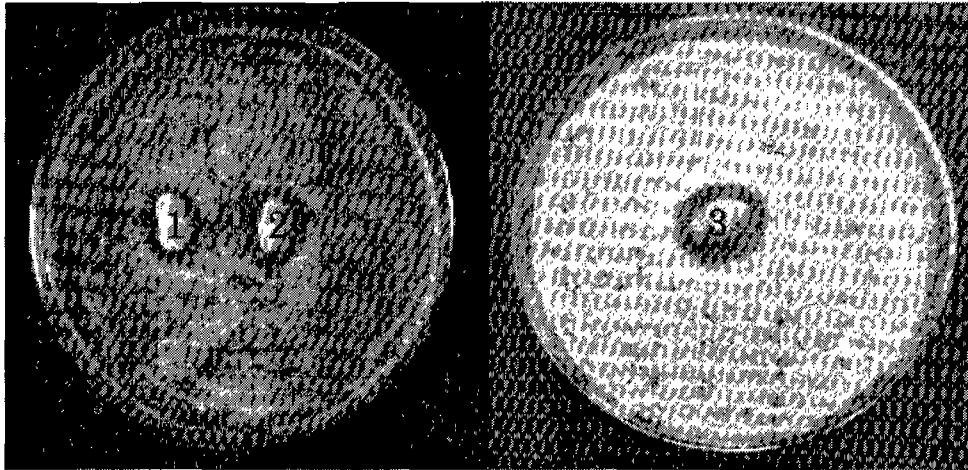


Fig. 3. Inhibition of *B. subtilis* in steamed soybeans by nisin-producing lactococci.

Nisin-producing lactococci were grown in steamed soybeans at 30°C for 24 h.

- 1: Fermented soybean by *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454.
- 2: Fermented soybean by *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 7962.
- 3: Fermented soybean by *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007.

가 정상적으로 발아 생육되어 흰 균사체가 콩주위에 형성되는 점으로 미루어 *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007이 *Asp. oryzae*의 생육을 저해하지 않음을 알 수 있었다.

12%의 식염을 함유한 된장 사입물 중의 미생물과 pH의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. *B. subtilis*는 30일의 숙성기간 동안 전혀 발견되지 않는 반면, 대량으로 존재하던 유산균은 담금 후 점차 감소하여 20일째 검출되지 않았다. 12007은 비내염성 유산균으로 고농도의 식염존재상황에서 생존이 불가능하기 때문에 사료된다. 사입시에 첨가되는 식염에 의해 유산균이 불활성화되고 결국은 사멸됨으로써 된장의 과도한

pH 저하가 저지되고 콩된장으로서 바람직한 pH 5.7이 얻어진다. 유산발효 후 콩에 축적되어 있던 nisin이 *B. subtilis*를 즉시 사멸시키고 국균에 의한 2차 발효시 생성된 protease가 nisin을 분해하므로 숙성 30일 후에는 검출되지 않는 것으로 추측된다.

Nisin 생성 *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007을 이용한 저염된장 생산

8% 식염 함유 된장 중의 미생물변화를 Fig. 5에 나타내었다. *B. subtilis*를 10⁵ CFU/g 접종하여 즉시 생균을 계수하여도 *B. subtilis*가 검출되지 않았고 유산균수와 pH는 12% 식염함유된장에서 숙성기간 중 일어나는 변화와 유사하였다. 즉, nisin생성 유산균 이용시 첨가되는 식염의 농도가 감소했음에도 불구하고 황국균의 생육을 길항적으로 억제하는 *B. subtilis*의 생육이 효과적으로 제어됨을 알 수 있었다. 이 결과 항미생물적 작용이 있는 종균을 사용하면 별다른 어려움 없이 저염 된장을 제조할 수 있다.

이상과 같이 된장제조시 nisin 생산균주를 starter로 이용함으로써 된장 중에 이미·이취를 생성하는 오염미생물인 *B. subtilis*의 생육을 효과적으로 저지할 수 있었다. 또한 유산발효시 생성된 nisin에 의해 다른 유산균들 역시 생육에 저해를 받아 심한 pH의 저하를 막음으로써 된장의 산패를 방지할 수 있다.

Ohrnishi와 Tanaka(23)의 보고에 따르면 유산균을 된장발효에 사용하면 잡균 생육 억제, 당과 아미노산에서 생성된 방향성분에 의한 된장의 풍미 향상, 짠맛의 완화, 갈변화속도 저하 등의 이점이 있다고 한다. 또한, Ito(24)의 보고에 따라 황국균의 생육을 저해하는 된장의 부패 원인균인 *B. subtilis*는 15% 식염농도에서도 생육이 가능하며 환경조건이 열악하면 아포를 생성하지만 Ueno(25)는 고압처리 후 0~3% 에

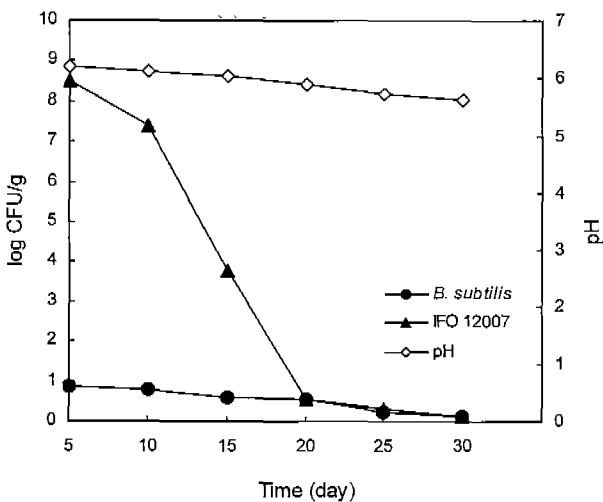


Fig. 4. Inhibition of *B. subtilis* during aging of *doenjang* containing 12% sodium chloride.

After the lactic fermentation with *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007 for 24 h, the soybeans were inoculated with *Asp. oryzae* together with 10⁵ CFU/g of *B. subtilis*, before incubating at 30°C for 48 h as the *meju* fermentation step. *Doenjang* was incubated at 30°C for 30 days for aging.

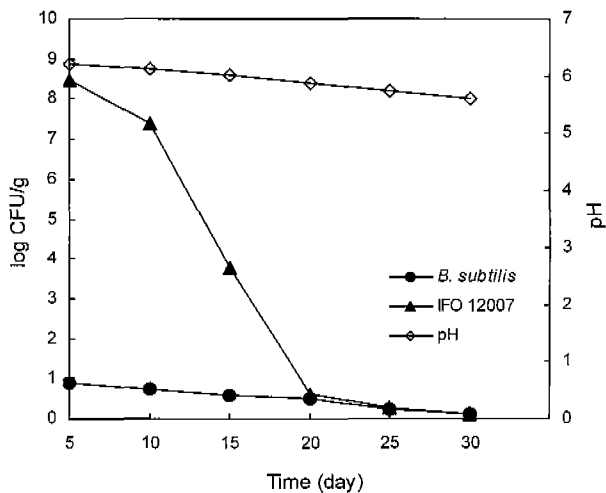


Fig. 5. Inhibition of *B. subtilis* during aging of doenjang containing 8% sodium chloride.

After the lactic fermentation with *L. lactis* subsp. *lactis* IFO 12007 for 24 h, the soybeans were inoculated with *Asp. oryzae* together with 10^5 CFU/g of *B. subtilis*, before incubating at 30°C for 48 h as the *meju* fermentation step. Doenjang was incubated at 30°C for 30 days for aging.

탄올을 첨가시 *B. subtilis*가 10^7 cells/g에서 10^3 cells/g이하로 줄어든다고 보고하였다. *B. subtilis*의 생육을 저지시키기 위해 현재 사용되고 있는 방법은 가온 살균과 고농도의 식염, 솔빈산 칼륨 및 에탄올 등을 단독 또는 병용하고 있으나 본 연구에서는 된장 제조시에 nisin 생성 유산균을 starter로서 이용하여 유산발효시킴으로써 저농도의 식염농도에서도 *B. subtilis*의 생육이 효과적으로 저해됨을 확인하였다.

여러 나라에서 식품의 보존기간을 연장시키기 위해 인공 합성, 천연 또는 생물학적 보존제를 사용하고 있는데 그 중 nisin은 아직 우리나라에서는 식품보존료로서 사용이 허가되어 있지 않지만 외국에서는 널리 사용되고 있는 대표적인 생물학적 보존제이다. 본 연구에서는 증자콩을 1차로 유산발효시킨 후 황국균으로 2차 발효를 행함으로써 이미·이취가 생성되지 않는 개량식 콩알메주 제조법을 확립하였다. 최근 신세대 소비자들은 개량식 콩알메주로 담은 된장을 선호하는 추세이나 여전히 재래식 메주된장을 선호하는 소비자층도 많으므로 유산발효와 황국균발효 후에 다른 유용한 *B. subtilis*균으로 3차 발효시켜 재래식 메주의 향미를 지닌 메주 제조방법을 개발할 필요도 있을 것으로 요망된다.

요 약

된장 제조과정 중 불쾌취와 점질물을 생성하는 부패균인 *B. subtilis*의 생육억제를 위해 nisin을 생성하는 *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC 7962, ATCC 11454, IFO 12007을 이용하여 유산발효를 수행하여 pH변화, *B. subtilis*의 생육저해도 등을 검토하였다. 증자콩에서 nisin 생성유산균들의 생육특성을 살펴본 결과, 세 가지의 균주 모두가 증자대두 1 g 당 10^6

CFU 접종하여 24시간 이내에 10^9 CFU로 급격하게 자라므로 영양요구성이 복잡한 유산균이 증자대두에서 다른 영양소의 첨가없이도 잘 생육함을 확인하였다. 증자콩에서 7962와 11454는 생육에 따라 pH가 급격히 저하되어 된장발효용 증균으로 사용할 수 없었다. 증자한 콩 중에 잘 증식하고 유산발효 후 pH 변화가 완만한 12007을 된장발효의 증균으로 전혀 문제점이 없어 사용시 부패균인 *B. subtilis*의 생육이 효과적으로 저해됨이 확인되었다. 생성된 nisin은 황국균이 생성하는 protease에 의해 분해되며 콩 속에 다량으로 존재하던 유산균은 사입시 첨가되는 식염으로 불활성화되거나 사멸하여 된장의 산패를 막아준다. 그리고 8% 식염을 첨가하여 된장 제조시, 즉 저염 된장 제조시 *B. subtilis*의 생육이 효과적으로 억제되고 다수로 존재하던 유산균은 담금 후 점차 줄어들어 시간 경과 후에는 관찰되지 않았다. 8% 함유 식염된장과 유사한 값을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 산학협력연구(2000-21100-001-1)지원으로 수행되었으며, 이에 깊은 감사를 표합니다.

문 헌

1. Yang, S.H. and Chung, Y.G. : Optimization of the taste components composition in traditional Korean soybean paste. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **21**, 449-453 (1992)
2. Lim, S.Y., Park, K.Y. and Rhee, S.H. : Anticancer effects of doenjang in *in vitro* sulforhodamine B (SRB) assay. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 240-245 (1999)
3. Kim, M.H., Im, S.S., Kim, S.H., Kim, G.E. and Lee, J.H. : Antioxidant materials in domestic *meju* and *doenjang* (II). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 251-260 (1994)
4. Lee, J.H., Kim, M.H., Im, S.S., Kim, S.H. and Kim, G.E. : Antioxidant materials in domestic *meju* and *doenjang* (III). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 604-613 (1994)
5. Park, K.Y., Moon, S.H., Cheigh, H.S. and Baik, H.S. : Antimutagenic effects of doenjang. *J. Food Sci. Nutr.*, **1**, 151-158 (1996)
6. Kim, S.H., Choi, N.S., Lee, W.Y., Lee, J.W. and Kim, D.H. : Isolation of *Bacillus* strains secreting fibrinolytic enzyme from doenjang. *Kor. J. Microbiol.*, **34**, 87-90 (1998)
7. Kanbara, H. and Yasuhira, H. : Development of low salt miso. *J. Brew. Soc. Japan*, **78**, 780-782 (1983)
8. Sreekanih, K.R., Ebine, H., Ohta, T. and Nadano, M. : Enzymic processing of vegetable protein foods. *Food Technol.*, **23**, 1055-1094 (1969)
9. Lee, S.W., Shin, S.Y. and Yu, T.J. : Effects of the ethanol contents on the preparation of low salt *doenzang*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **17**, 336-339 (1985)
10. Hurst, A. : Nisin. *Adv. Appl. Microbiol.*, **27**, 85-123 (1981)
11. Jarvis, B., Jeffcoat, J. and Cheeseman, G.C. : Molecular weight distribution of nisin. *Biochem. Biophys. Acta.*, **168**, 153-155 (1968)
12. Anderson, A.A., Michener, H.D. and Olcott, H.S. : Effect of some antibiotics on *Clostridium botulinum*. *Antibiotics Chemother.*, **3**, 521-526 (1953)
13. Hawley, H.B. : Nisin in food technology. *Food Manufacture*,

- 32, 370-376 (1957)
14. Linnet, P.E. and Strominger, J.L. : Additional antibiotic inhibitors of peptidoglycan synthesis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **4**, 231-236 (1973)
 15. O'Brien, R.T., Titus, D.S., Delvin, K.A., Stumbo, C.R. and Lewis, J.C. : Antibiotics in food preservation. II. Studies on the influence of subtilin and nisin on the thermal resistance of food spoilage bacteria. *Food Technol.*, **10**, 352-355 (1956)
 16. Mattick, A.T.R. and Hirsch, A. : Further observation an inhibitory substance (nisin) from lactic streptococci. *Lancet*, **2**, 5-7 (1947)
 17. Thorpe, R.H. : The action of nisin on spoilage bacteria. I. The effect of nisin on the heat resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores. *J. Appl. Bacteriol.*, **23**, 136-143 (1960)
 18. Cowell, N.D., Allen, A.R. and Jarvis, B. : The *in vivo* effect of nisin on the microflora of the oral cavity. *J. Appl. Bacteriol.*, **34**, 787-791 (1971)
 19. Jarvis, B. and Mahoney, R.R. : Inactivation of nisin by alpha-chymotrypsin. *J. Dairy Sci.*, **52**, 1448-1450 (1969)
 20. Jung, D.S. : A natural antimicrobial substance; Nisin. *Bioindustry News*, **6**, 24-31 (1993)
 21. Yasuhira, H. : New type miso. *J. Brew. Soc. Japan*, **83**, 448-455 (1988)
 22. Ramseier, H.R. : The action of nisin on *Clostridium butyricum*. *Arch Mikrobiol.*, **37**, 57-94 (1960)
 23. Ohnishi, K. and Tanaka, N. : Practical application of new-type halophilic lactic acid bacteria for miso manufacture. *J. Brew. Soc. Japan*, **89**, 269-275 (1994)
 24. Ito, K. : Presence and behavior of hygienic bacteria in miso. *J. Brew. Soc. Japan*, **84**, 680-686 (1989)
 25. Ueno, Y. : Preparation of salt-free miso and sterilization by high pressure treatment. *J. Brew. Soc. Japan*, **95**, 755-758 (2000)

(2001년 11월 3일 접수; 2001년 12월 6일 채택)