

Bacillus subtilis SS103으로 제조한 된장의 품질 특성 및 Angiotensin 전환효소 저해 활성

홍지수¹ · 박정룡^{1*} · 전정례¹ · 차명화² · 김진³ · 김정희⁴

¹영남대학교 생활과학부 식품영양학 전공, ²캔사스대학교 호텔경영 및 영양학과, ³세경대학 호텔외식조리과,
⁴동정보대학 식음료조리과

Quality Characteristics and Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activity of Doenjang Prepared with *Bacillus subtilis* SS103

Ji-Soo Hong¹, Jyung-Rewng Park^{1*}, Jeong-Ryae Jeon¹, Myung-Hwa Cha², Jean Kim³ and Jung-Hee Kim⁴

¹Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

²Dept. of Hotel Restaurant Management and Dietetics, Kansas State University Manhattan, KS, U.S.A.

³Dept. of Hotel Culinary Arts, Saekyung College, Yeungwol 230-809, Korea

⁴Dept. of Food and Beverage, Kyungdong College of Techno-Information, Hayang 712-902, Korea

Abstract

Three different *doenjang*(fermented soybean paste) were prepared by using *B. subtilis* SS103 with high angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory activity, *Asp. oryzae* and mixed culture of two organisms, respectively. Quality characteristics and the inhibitory activity were compared. β -Amylase activity rapidly increased during 30 days of fermentation, but lower activity was found in *doenjang* prepared with *B. subtilis*. However, α -Galactosidase activity decreased for 15 days of fermentation and little activity was observed after that fermentation period. Protease production tended to increase during the fermentation. High protease activity was found only in *doenjang* prepared with *Asp. oryzae*, but the *doenjang* prepared with *B. subtilis* SS103 showed very low activity. Total isoflavone content at 90 day fermentation was the highest in *doenjang* prepared with mixture of *Asp. oryzae* and *B. subtilis*. ACE inhibitory activity increased during the fermentation period. The highest activity was found in *doenjang* made with mixture of *Asp. oryzae* and *B. subtilis*. Sensory evaluation on *doenjang* itself and its soup indicated that *doenjang* made with mixture of *Asp. oryzae* and *B. subtilis* showed higher acceptability on taste, flavor and color than those prepared with only *Asp. oryzae* or *B. subtilis*, respectively.

Key words : *Doenjang*, ACE inhibitory, *B. subtilis*, *Asp. oryzae*, isoflavone.

서론

우리나라 고유의 발효식품인 된장은 식문화적인 측면 이외에도 영양학적으로 우수한 전통식품의 하나이다. 1960년대 이전까지만 해도 대부분의 된장은 전통방식에 의해 가정에서 직접 제조되어 이용되어 왔으나 생활환경의 변화로 인해 최근에는 산업화되어 대량 생산되고 있다. 지금까지의 장류에 관한 연구는 주로 제조공정이나 제품의 품질향상을 중심으로 이루어져 왔으며 최근에는 식품의 1차 기능인 영양기능과 2차 기능인 기호성 향상 이외에 3차 기능인 생체조절 기능에 많은 관심이 모아지고 있다.

현대 성인병의 대표적인 질환인 고혈압은 대부분이 본태

성 고혈압으로 정확한 원인이 규명되고 있지 않으나 중요한 발병기작으로 renin-angiotensin system이 혈압조절에 중요한 기능을 하는 것으로 알려져 있다(Hatzinkolaou et al 1981).

Angiotensin- I -converting enzyme(ACE)은 angiotensin I을 절단하여 강한 혈압 상승작용을 나타내는 angiotensin II로 활성화시키는 한편 혈압강하작용을 갖는 bradykinin을 분해하는 고혈압의 원인이 되는 효소인데(Anon 1996, Gringauz 1997, Manjusri & Richard 1975), 이 효소에 대한 저해물질은 혈압강하 효과를 나타내게 된다(William 1995). 현재까지 확인된 ACE 저해 peptide는 우유 casein, gelatin, 정어리, 참치, 무화과, 옥수수, 돼지의 혈액, 뱀의 독, 발효유, 된장, 간장 등에서 유래된 것들이 보고되고 있다(Ariyoshi 1993).

일찍이 일본에서는鈴木 등(鈴木健夫 등 1994)이 ACE 저해활성이 우수한 식품을 검색한 결과 된장, 간장 등의 대두발효식품에서 높은 저해활성을 확인한데 이어 岩下 등(岩下熟

* Corresponding author : Jyung-Rewng Park, E-mail: jrpark@yu.ac.kr, Tel: 82-53-810-2873, Fax: 82-53-810-4666

子 등 1994)은 쌀된장의 열수추출물이 자연발증 고혈압쥐의 혈압을 저하시킨다는 것을 확인하였다. 또한 寺中 등(寺中椽 등 1995)은 이들 숙성 된장의 열수 추출액이 미숙성 된장의 경우보다 ACE 활성 저해 효과가 높다고 발표하였다.

우리나라 전통 발효식품으로 널리 애용되어온 된장은 영양적으로 우수한 반면 고농도의 소금을 사용함으로 심장병, 고혈압 등의 만성질환을 증가시키는 원인이 되므로 혈압 저하 효과가 높은 기능성 장류식품의 개발이 요구되고 있다.

본 연구에서는 ACE 저해 활성이 우수한 균주로 동정된 재래 간장으로부터 분리한 *B. subtilis* SS103 균주를 이용하여 제조한 된장의 품질특성과 혈압저하 생리활성을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 대두와 식염(한주소금)은 시중에서 구입하였으며, 사용한 균주는 본 연구실에서 간장으로부터 분리한 ACE 활성이 높은 *Bacillus subtilis* SS103과 삼화식품에서 분양 받은 *Aspergillus oryzae*를 사용하였다. 중국은 대두 500 g를 상온의 물에 15시간 동안 침지 후 탈수하고 121°C에서 15분 동안 증자한 후 30°C로 냉각하였다. 여기에 *B. subtilis* SS103 배양액을 25 ml 접종하여 37°C에서 4일간 배양한 후 건조시켜 분말로 만들었다. Koji는 원료 대두 3 kg을 15시간 침지 후 탈수하고 121°C에서 50분간 증자하고 냉각한 다음 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis* SS103을 중량의 0.5%가 되게 혼합하여 30°C에서 24시간 배양하여 제조하였다.

2. 된장 제조

각각 제조한 koji의 배합은 Table 1과 같이 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis* 단독으로 만든 된장과 두 종류의 koji를 동량으로 혼합하여 제조한 된장을 제조하여 실험에 사용하였다.

3. 효소 활성도 측정

β -Amylase 활성은 시료 10 g에 증류수 100 mL 가한 후 실온에서 3시간 추출하고 여과한 액을 조효소액으로 하여 dini-

tro-salicylic acid reagent법 (Miller 1959)으로 측정하였으며 효소액 1 mL가 maltose 1 mg을 유리시키는 효소량을 1 unit로 하였다.

α -Galactosidase 활성은 시료 10 g에 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) 100 mL를 첨가하여 밀봉한 후 실온에서 4시간 추출하고 여과한 액을 조효소액으로 하여 박 등(Park 1992)의 방법을 변형하여 측정하였다. 효소활성 1단위는 1분 동안 1 μ mole의 *p*-nitrophenol을 유리시키는 효소의 양으로 정하였다.

Protease 활성은 β -Amylase 활성과 동일하게 조효소액을 조제한 후 Anson(Anson 1983)의 방법으로 측정하였으며 효소액 1 mL가 1분간 tyrosine 1 μ g을 유리하는 효소량을 1단위로 하였다.

4. Isoflavone 함량 분석

Isoflavone 정량은 Wang 등(Wang et al 1990)의 방법을 일부 수정하여, 시료 1 g에 1 M HCl 3 mL를 첨가하여 혼합한 후 환류냉각기를 연결하여 2시간 동안 가열하고 냉각한 다음 methanol 3 mL를 첨가하여 완전히 추출하였다. 추출액은 2시간 정지한 뒤 상층액을 취하여 HPLC(Waters Co, model 600)를 이용하여 총 isoflavone 함량을 구하였다. 유리 isoflavone 함량은 가열하지 않고 동일한 방법에 의해 측정하였다.

5. Angiotensin- I -converting enzyme 저해활성 측정

시료액은 시료 10 g에 증류수 100 mL를 가한 후 100°C에서 30분간 열처리하여 균을 사멸시키고 9,000 rpm에서 20분간 원심분리 후 여과하여 사용하였다.

기질과 ACE 조제는 Cushman과 Cheung(Cushman & Cheung 1970)의 방법에 따라 0.05 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 과 0.2 M H_3BO_3 를 4.5 : 5.5의 비율로 혼합하여 pH를 8.3으로 조정한 후 최종 농도가 0.4 M이 되도록 NaCl을 첨가하여 만든 완충용액을 이용하여 최종농도 5 mM의 Hip-His-Leu 기질용액을 조제하였다. ACE도 상기 완충액을 가하여 활성이 5 mU이 되도록 조절하였으며 최종적으로 pH 8.3을 확인한 후 냉동 보관하여 사용하였다.

ACE 저해활성 측정은 Horiuchi et al (1982)의 방법에 따라 HPLC로 분석하였으며 hippuric acid peak의 면적을 hippuric acid의 양으로 저해율을 측정하였다. 추출물 분획별 시료에 30 μ L에 기질인 0.5 mM hippuryl-histidyl-leucine 용액(sodium borate buffer에 용해) 0.1 mL를 가하고 37°C에서 5분간 예열처리 하고 100 μ L의 ACE 효소액 0.1 mL를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 0.1 mL를 가해 반응을 정지하였다. 공시험은 추출물 대신에 증류수를 30 μ L를 가하였고 대조구는 효소를 넣기 전에 먼저 1 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다.

Table 1. Formula for preparation of doenjang (g)

	A	B	C
<i>Asp. oryzae</i> koji	6030	0	3015
<i>B. subtilis</i> koji	0	6030	3015
Salt	670	670	670

A : Doenjang prepared with *Asp. oryzae*

B : Doenjang prepared with *B. subtilis*

C : Doenjang prepared with *Asp. oryzae* and *B. subtilis*

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \frac{B - S}{B - C} \times 100$$

- B : 증류수 첨가시의 hippuric acid peak area
- C : 반응 정시 후 시료 첨가시의 hippuric acid peak area
- S : 시료 첨가시의 hippuric acid peak area

6. 관능검사

90일간 숙성시킨 된장을 맛, 향, 색 및 전체적 기호도에 대하여 관능 검사를 실시하였다. 시료된장과 이들 각 시료에 물을 넣어 조제한 된장국에 대하여 12명의 관능검사요원들이 5점 평가법에 따라 평가하도록 하였으며, 된장국은 된장 10g을 물 100 mL에 용해하여 전자레인지에서 정확히 2분간 끓인 것을 검사 시료로 하였다. 각 시료간의 유의성 검정은 SPSS 통계처리에 의한 Duncan's multiple range test (ANOVA one-way)로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. pH 및 적정산도의 변화

*Asp. oryzae*와 *B. subtilis*로 제조한 된장의 pH와 적정산도의 변화는 Fig. 1에 각각 나타내었다. 숙성이 진행될수록 세 시험구 모두 pH는 감소되었고, *Asp. oryzae*로 제조한 된장의 경우 숙성 개시 30일 동안 적정산도는 급격히 증가하였으나 그 이후는 큰 변화를 나타내지 않았고, *B. subtilis* 및 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis*의 혼합물에 의해 제조된 된장의 경우는 숙성 시작 15일 동안 급격히 증가하였다, 전반적으로 적정산도는 숙성 동안 pH가 감소와 더불어 증가하는 현상을 보여 미생물에 의해 당의 발효가 진행되면서 생성된 유기산과 아미노산의 축적에 기인한다.

2. β -Amylase의 활성

전분을 분해하여 환원당을 생성시키는 당화 효소인 β -amylase의 활성을 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis* SS103 로 제조한 된장의 발효기간 동안 측정된 결과는 Fig. 2와 같다.

β -Amylase의 활성은 세 종류의 된장 모두에서 숙성 30일까지 급격히 증가하였으며 그 이후 *B. subtilis*로 제조한 된장의 경우 완만한 증가를 나타낸 데 비해 다른 두 군의 된장에서는 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 조 등(Cho et al 1981)은 메주로 만든 고추장의 β -amylase 활성은 숙성 20일까지 최대로 증가하였다가 그 이후 감소하였으며, 박과 오(Park & Oh 1995)는 재래식 고추장 메주 숙성에서 β -amylase 활성은 숙성 20일과 40일 사이에 급격히 증가하였다고 보고하였다. 또한 Oh et al(2000)도 재래식 고추장 메주의 숙성 과정에서 β -amylase 활성은 *Asp. oryzae*와 *B. licheniformis* 혼용구에서 숙성 30일까지 급격한 증가를 나타내었다고 보고하여 본 실험에서 사용한 *B. subtilis*와 *Asp. oryzae* 로 혼합하여 제조한 된장의 결과와 유사하였다. 전반적으로 *Asp. oryzae* 구

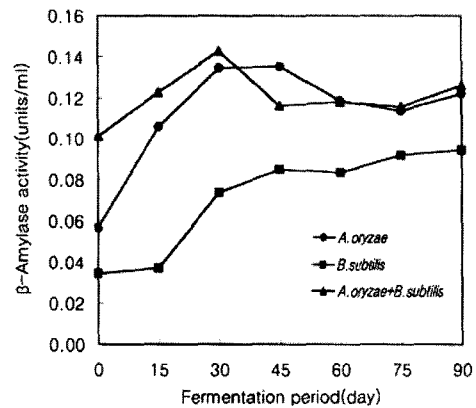
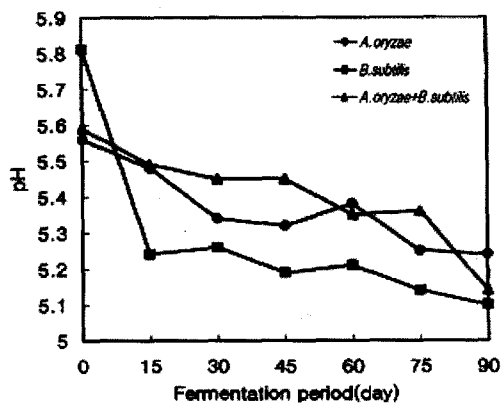


Fig. 2. Changes of β -amylase activity during fermentation of doenjang prepared with *Asp. oryzae* and *B. subtilis*.

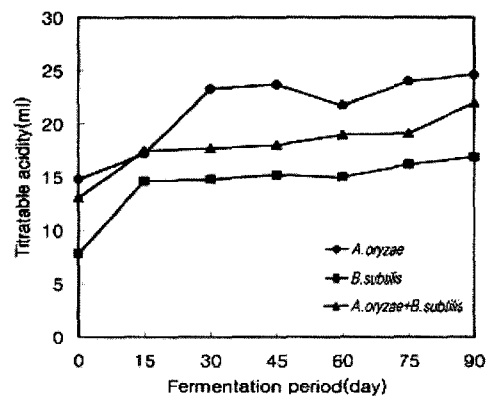


Fig. 1. Changes in pH and titratable acidity during fermentation of the doenjang prepared with *Asp. oryzae* and *B. subtilis*.

와 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis* 혼용구가 *B. subtilis* 구 보다 높은 활성을 나타내었는데, *B. subtilis*는 β -amylase 활성이 낮은 것으로 보아 전분 당화력이 약한 것으로 나타났다 (Oh et al 2000).

3. α -Galactosidase의 활성

α -galactosidase는 식물, 동물, 미생물에 널리 분포되어 있으며, 대두 속에 존재하여 장내 가스를 유발하는 raffinose (galactose- α -1,6-sucrose) 및 stachyose (galactose- α -1,6-raffinose)와 같은 소당류의 α -1,6 결합의 α -galactose 잔기를 가수분해하여 대두의 식품으로서의 가치를 향상시키는 것으로 알려져 있는데 (Kim et al 2002), Fig. 3에 나타난 α -galactosidase의 활성은 세 종류의 된장 모두에서 숙성이 진행됨에 따라 감소하였으며, 초기 15일의 발효과정 동안 급격한 감소를 나타내었다. 이는 된장의 초기 pH는 5.5~5.8 정도를 나타내어(Fig. 1) α -galactosidase의 최적 활성을 유지할 수 있게 한 반면, 숙성이 진행됨에 따라 pH가 감소하였으며, 초기 숙성과정(15일) 동안의 pH의 급격한 감소가 이 효소의 활성도 감소에 영향을 미친 것으로 생각된다. Kim JS (1998)은 메주와 개량된 장의 숙성이 진행됨에 따라 α -galactosidase의 활성은 감소하였다고 보고하였다.

4. Protease의 활성

된장 발효과정 중 protease의 활성(Fig. 4)은 3종류의 된장 모두에서 발효기간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며 발효 30일까지 그 활성이 급격히 증가하였다. 3종류의 된장 중 *Asp. oryzae*로 제조한 된장이 발효 90일까지 높게 유지되었으며 *B. subtilis* 단독으로 제조한 된장의 경우 가장 낮은 활성을 나타내었다. Hwang JH 1997)은 *B. subtilis*

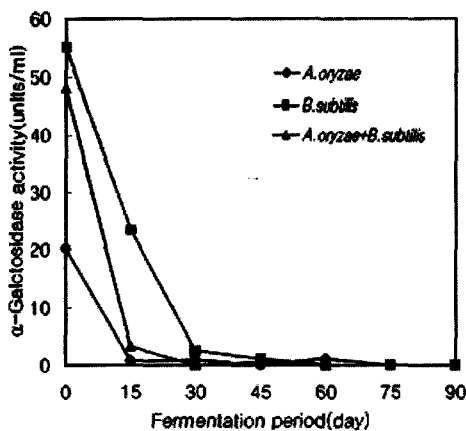


Fig. 3. Changes of α -galactosidase activity during fermentation of doenjang prepared with *Asp. oryzae* and *B. subtilis*

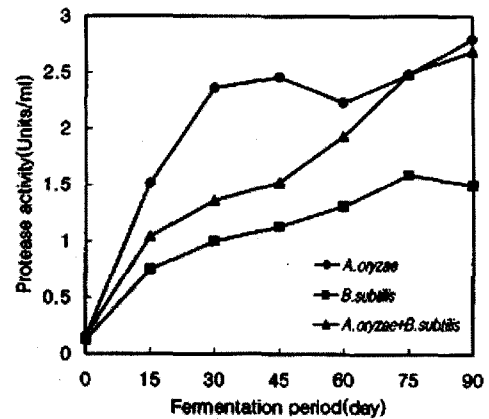


Fig. 4. Changes of protease activity during fermentation of doenjang prepared with *Asp. oryzae* and *B. subtilis*.

SCB-3으로 제조한 된장에서 protease의 활성은 숙성 75일에 가장 높게 나타났고 이러한 protease 활성의 증가는 단백질의 분해산물인 아미노산, polypeptide의 증가와 직접적인 상관이 있다고 보고하였다. Park & Oh (1995)는 재래식 메주의 숙성에서 protease의 활성은 숙성 40일째 가장 높게 나타났으며 이러한 protease 활성도의 증가는 미생물의 수와 밀접한 관계가 있는 것으로 보고하였다.

5. Isoflavone 함량의 변화

대두에 함유되어 있는 isoflavone은 genistein과 daidzein 및 배당체로 존재하고, 항산화 및 estrogen 유사 작용, 혈중 콜레스테롤 저하, 항 골다공증 등의 여러 작용을 하며(Wang & Murphy 1996), 된장과 같은 발효식품에서는 당이 분해된 genistein과 daidzein과 같은 aglycone 형태로 존재하는 것으로 보고되고 있다.

총 isoflavone 함량은 Table 2에 나타난 바와 같다. 된장의 숙성기간 별로 보면 *Asp. oryzae* 된장과 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis*로 제조한 된장은 숙성 30일에 가장 높았고, *B. subtilis* 구는 숙성 60일에 가장 높았으며, 숙성 90일에 세 종류 된장 모두 다 감소하는 경향을 나타내었는데 Hwang (1997)에 의하면 발효 중에 미생물에 의해 isoflavone이 분해되어 손실된 것으로 보고하고 있다. 전체적으로 보아 daidzein의 함량이 genistein보다 높게 나타났는데, 이는 genistein이 daidzein 보다 미생물 및 화학적으로 더 쉽게 분해되는 구조를 가지고 있기 때문이다 (Wang et al 1990).

6. ACE 저해활성의 변화

ACE는 angiotensin I을 절단하여 강한 혈압 상승작용을 나타내는 angiotensin II로 활성화 시키는 한편 혈압 강하 작용을 갖는 bradykinin을 분해하는 고혈압의 원인이 되는 효소로

Table 2. Changes in isoflavone contents during the fermentation of doenjang prepared with *Asp. oryzae* and *B. subtilis* (mg/kg)

Doenjang	Isoflavones	Fermentation period (days)			
		0	30	60	90
A	Daidzein	217.03±0.80	267.00±2.08	284.83±2.67	277.67±2.35
	Genistein	111.46±2.11	189.55±3.60	28.98±0.55	14.61±0.28
	Total	328.49	456.55	313.81	292.28
B	Daidzein	274.47±2.21	212.29±1.45	293.80±3.07	245.10±0.91
	Genistein	43.34±0.82	65.60±1.24	132.02±2.50	68.63±1.30
	Total	317.81	277.89	425.82	313.73
C	Daidzein	259.54±2.32	335.53±5.93	290.62±3.80	284.50±3.51
	Genistein	42.65±0.81	196.45±3.73	71.07±1.35	84.57±1.61
	Total	302.19	531.98	361.69	369.07

A : *Asp. oryzae*, B : *B. subtilis*, C : *Asp. oryzae* + *B. subtilis*

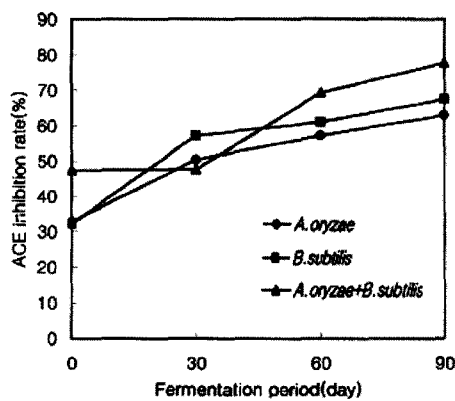


Fig. 5. Changes of ACE inhibition rate during fermentation of doenjang prepared with *Asp. oryzae* and *B. subtilis*.

서 이 효소에 대한 저해물질은 혈압강하 효과를 나타낸다 (Lee 1998). 된장 숙성 기간 동안의 ACE 저해활성의 변화는 Fig. 5에 나타난 바와 같이 세 종류의 된장 모두 숙성이 진행될수록 증가하는 경향이었고, 전체적으로 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis*를 혼합하여 사용한 된장이 가장 높은 저해활성을 보였다.

*Asp. oryzae*와 *B. subtilis*를 혼합하여 제조한 된장의 경우 발효 60일 이후 가장 높은 ACE 저해 활성을 나타내었으며, *Asp. oryzae*로 제조한 경우가 가장 낮았다. 발효 시작 30일 간의 변화를 살펴보면 *Asp. oryzae* 및 *B. subtilis* 단독으로 제조한 된장은 급격한 증가를 나타낸 후 그 후로는 완만하게 증가하는 경향을 나타내었으나 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis*의 혼합구로 제조한 된장은 발효 30일부터 60일까지 급격하게 증가하였다.

Hwang JH (1997)은 *B. subtilis*로 제조한 된장의 ACE 저해 활성의 변화는 숙성 60일 이후에 높게 나타났으며, Lee

(1998)는 *Rhizopus tamaris*와 *Asp. oryzae*를 이용한 된장의 ACE 저해활성은 숙성이 진행될수록 증가한다고 하여 본 연구와 일치하였다.

이러한 ACE 활성에 저해 작용을 나타내는 peptide의 C 말단에는 tryptophan, phenylalanine, tyrosine, proline 등이, N 말단에는 histidine을 비롯한 염기성 아미노산과 방향족 아미노산이 있는 것으로 알려져 있으며 이들 peptide들은 angiotensin-I과 경쟁적으로 결합하여 ACE의 활성을 감소시키는 것으로 추정되고 있다.

7. 관능 평가

숙성 90일된 된장의 맛, 향, 색, 전체적인 기호도에 대해 관능검사를 실시한 결과는 Table 3에 나타내었다.

된장과 된장국 모두에서 맛, 향, 색, 전체적인 기호도에 대한 평가에서 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis* 된장이 유의적으로 가장 높게 나타나, 90일 숙성된 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis* 로 제조한

Table 3. Sensory evaluation of doenjangs and doenjang soups prepared with *Asp. oryzae* and *B. subtilis*

Doenjang	Taste		Flavor		Color		Overall acceptability	
	D	DS	D	DS	D	DS	D	DS
A	3.08 ^{ab}	3.42 ^b	2.69 ^a	2.83 ^b	3.08 ^a	3.42 ^b	3.23 ^b	3.17 ^b
B	2.46 ^a	2.25 ^a	2.46 ^a	2.08 ^a	2.69 ^a	2.08 ^a	2.23 ^a	2.17 ^a
C	3.54 ^b	4.00 ^b	3.62 ^b	3.58 ^c	4.23 ^b	4.17 ^c	4.08 ^c	3.75 ^b

D : raw doenjang, DS : doenjang soup

A : *Asp. oryzae*, B : *B. subtilis*, C : *Asp. oryzae* + *B. subtilis*.

Means followed by the same letter are ont significantly different at the 0.05 level.

된장에서 감미를 더해 주어 맛의 조화를 이루어주는 β -amylase 활성이 가장 높았고, 그 결과로 환원당 함량 또한 가장 많았으며 protease 활성도 좋았기 때문에 사료된다. 한편 *B. subtilis* 된장이 다른 된장에 비해 가장 낮게 평가되었는데, 이는 *B. subtilis* 균은 주로 청국장 제조에 이용되는 균주이기 때문에 된장의 국균인 *Asp. oryzae* 균주에 비해 낮은 평가가 주어진 것으로 사료된다. 이상의 관능적인 평가를 종합해 보면 세 종류의 된장 중 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis* 로 제조한 된장이 다른 된장들보다 좋은 결과를 나타내었다.

요약 및 결론

기능성 된장을 제조할 목적으로 간장에서 분리한 ACE 저해 활성이 우수한 균주로 확인된 *B. subtilis* SS103 균주와 전통적으로 사용되고 있는 *Asp. oryzae*를 사용하여 만든 된장의 품질 특성과 ACE 저해 활성을 비교해 보았다. β -amylase의 활성은 발효 30일까지 급격히 증가하였으나 *B. subtilis*로 제조한 된장의 경우 가장 낮았다. α -galactosidase는 모두에게 발효 15일까지 급격히 감소하였고 30일 이후부터는 활성이 거의 나타나지 않았다. Protease의 경우 발효가 진행됨에 따라 증가하는 경향이 있고, 활성은 *Asp. oryzae* 단독으로 만든 된장에서 가장 높은 반면 *B. subtilis* 단독으로 제조한 경우 가장 낮게 나타났다.

Isoflavone 함량은 *Asp. oryzae* 된장과 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis*를 혼합하여 제조한 된장의 경우 발효 30일째 가장 높게 나타났으며 그 후 감소한 결과를 나타내었으며 총 isoflavone 함량은 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis*를 혼합하여 제조한 된장에서 가장 높았다. ACE 저해 활성은 3종류의 된장 모두에서 발효기간이 경과함에 따라 완만한 증가를 나타내었으며 발효 90일째 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis*를 혼합하여 제조한 된장에서 가장 높게 나타났다. 관능 검사의 결과 맛, 풍미, 색깔, 전반적인 만족도에서 *Asp. oryzae*와 *B. subtilis* 단독으로 사용하여 만든 된장보다 혼합하여 만든 된장이 가장 높은 기호도를 나타내었다.

문헌

- 鈴木健夫, 石川宣子, 目黒熙 (1994) 食品中のアソブテンシ I. 變轉換酵素阻害能 57: 1143.
- 岩下執子, 高橋裕司, 河村幸雄 (1994) 味噌の生理機能 89 : 869.
- 寺中椽, 江澤眞, 松山淳 米味噌 (1995) 變味噌および豆味噌抽出のアソブテンシ ン變酵素抑制效果. 日本農藝化學會誌. 13: 35.
- Anderson JJ, Ambrose WW, Garner SC (1995) Orally dosed genistein from soy and prevention of cancellous bone loss in two ovary resected rat models. *J Nutr* 125: 799S-805S.
- Anon (1996) Hypertension control. WHO Technical Report, p 1-27.
- Anson ML (1983) Estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J Gen Physiol* 22: 79-86.
- Ariyoshi Y (1993) Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food protein. *Trends Food Sci Tech* 4: 139-144.
- Cho HO, Park SA, Kim JG (1981) Effect of traditional improved kochujang koji on the quality improvement of traditional kochujang. *K J Food Sci Technol* 13: 317-326.
- Cushman DW, Cheung HS (1970) Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
- Gringauz A (1997) Drugs and the cardiovascular disease. In "Introduction to Medical Chemistry", Wiley-VCH, p417-500.
- Hatzinkolaou PH, Brunner HR, Gavras I (1981) Role of vasopressin, catecholamine, and plasma volume in hypertonic saline-induced hypertension. *Am J Physiol* 240: 827-831.
- Horiuchi M, Fujimura K, Terashima LT, Iso T (1982) Method for determination of angiotensin-converting enzyme activity in blood and tissue by high-performance liquid chromatography. *J Chromatography* 233: 123-130.
- Hwang JH (1997) Angiotensin I Converting Enzyme inhibitory effect of doenjang fermented by *B. subtilis* SCB-3 isolated from meju, Korean traditional food. *Korean J Food Sci Nutr* 26: 775-783.
- Kim JS (1998) Stachyose, raffinose and isoflavone contents and α -galactosidase and β -glucosidase activities of soybean, meju and doenjang. *MS Thesis*, Yonsei University.
- Kim SY, Park DJ, Kim CJ, Yoon KH, Cho KH (2002) Characterization of extracellular α -galactosidase produced by *Streptomyces* sp. YB-4. *Kor J Microbiol Biotechnol* 30(4): 332-338.
- Lee SD (1998) A study on the changes of chemical composition and functionality during soybean paste fermentation by *Rhizopus tamari* and *Aspergillus oryzae*. *Ph. D. Thesis*, Chungman National University.
- Manjusri D, Richard LS (1975) Pulmonary Angiotensin-converting Enzyme. *J Biol Chem* 250: 6762-6768.
- Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for deter-

- mination of reducing sugar. *Anal Chem* 31: 426.
- Oh HI, Shon SH, Kim JM (2000) Changes in microflora and enzyme activities of kochujang prepared with *Asp. oryzae*, *B. licheniformis* and *Saccharomyces rouxii* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 32: 410-416.
- Park HK, Kang DH, Yoon SH, Lee KH, Jee GE (1992) The enzymatic pattern of *Bifidobacterium* sp. Int 57 isolated Korean feces. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 20: 647-654.
- Park JM, Oh HI (1995) Changes in microflora and enzyme activities of traditional *kochujang meju* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 27: 56-62.
- Wang G, Kuan SS, Francis OJ, Ware GM, Carman AS (1990) A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. *J Agric Food Chem* 38: 185-190.
- Wang H, Murphy PA (1996) Mass balanced study of isoflavones during soybean processing. *J Agri Food Chem* 44: 2377-2383.
- William, OA, Thomas LL, David AW (1995) Rennon- angiotensin inhibitors. In "Principle of Medical Chemistry". 4th ed. William & Wilkins, Baltimore. p. 724.
- (2004년 5월 28일 접수, 2004년 8월 2일 채택)