간장배지내의 Bacillus subtilis var. globigii(G8)의 내열성과 재래간장 살균과정 중 성분 및 미생물 균수 변화

최광수·최 청·정현채·최종동·권광일·이은정·임무혁* 영남대학교 식품가공학과, *경인지방식품의약품안전청

Heat resistance of *Bacillus subtilis* var. *globigii* (G8) in the *Kanjang* Medium and Changes in the Compositions and Viable Cell Counts of Microorganisms during Sterilization of *Kanjang*

Kwang-Soo Choi, Cheong Choi, Hyun-Chae Chung, Jong-Dong Choi, Kwang-Il Kwon, Eun-Jung Lee and Moo-Hyeog Im*

Department of Food Science & Technology, Yeungnam University
*Kyungin Regional Food & Drug Administration

Abstract

This work was carried out to investigate the heat resistance of Bacillus subtilis var. globigii (G8), the dominant proteolytic microorganism found in meju and kanjang, Korean traditional soy sauce by testing the D value, Z value, Q_{10} value and other values of the organism in kanjang medium and, to determine the appropriate thermal process time and sterilization method of kanjang by detecting the changes in the chemical compositions and viable cell counts of kanjang during heat sterilization of kanjang. Lactic acid bacteria and yeast cells present in kanjang were observed to be completely destroyed before reaching to the respective sterilization temperature of 80°C and 90°C during sterilization; however, 5.1×10⁵ CFU/ mL and 1.3×103 CFU/mL of aerobic bacterial cells were found to be survived even after sterilization for five hours at 80°C and three hours at 90°C respectively. Increases in the intensity of pigment and lactic acid content and slight decrease in total nitrogen content in kanjang during sterilization were oserved. The D value (decimal reduction time) of the bacteria at 100°C, 95°C and 90°C was 10.5, 20.6 and 128.2 minutes respectively. The Z and Q₁₀ value was 9.2°C and 12.2 respectively. F value at 100°C, 95°C and 90°C was 10.5, 20.6 and 128.2 minutes respectively. The calculated thermal death time of the bacteria at 120°C and 130°C was 0.7 minutes and 3.6 seconds respectively. Due to the high heat resistance of B. subtilis var. globigii (G8), it seemed to be desirable to sterilize kanjang by HTST (high temperature short time) sterilization at 120°C for 0.7 minutes or UHT (ultra high temperature) sterilization at 130°C for 3.6 seconds.

Key words: D value, F value, Z value, sterilization, kanjang

서 론

일본식 간장은 황국균이라는 곰팡이를 이용하여 만들고 있으나, 재래식 간장은 자연에 존재하고 있는 여러 가지 혼합 미생물들이 자연 접종되어 복합적으로

발효에 관여하여 제조되고 있다. 많은 연구자에 의하여 간장에 관여하는 주 발효 미생물이 연구 보고되었는데, 정윤수(1963)는 재래식 간장에서 처음으로 6종의 세균을 분리 동정하고 발효에 관여하는 주 미생물로서 Bacillus pumilus, Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis 등 세균이라고 보고하였으며 재래식 간장에 주로 관여하는 미생물이 주로 세균이고 곰팡이를 이용하는 일본간장과 발효양상이 상이함을 밝힌 연구로써 그 의의가 크다고 할 수 있다. 조덕현과 이우진

Corresponding author: Kwang-Soo Choi, Department of Food Science & Technology, College of Natural Resources, Yeungnam University, 214-1 Dae-dong, Kyongsan-si, Kyungsanbuk-do 712-749, Korea

(1970)은 전국 5개도에서 수집한 메주의 표면과 내부 에서 세균, 곰팡이 및 효모를 각각 분리 동정하고 곰 팡이는 메주 표면에서만, 세균은 메주 전체에서 골고 루 분포되었으며 B. subtilis와 B. pumilus가 재래 메주 의 거의 전 세균군을 이루며 재래 메주의 발효는 세 균군의 발효에 의한 것이 특색인 것 같다고 추정하였 다. 이우진과 조덕현(1971)은 재래식 메주의 내부부 분과 표면부분 및 개량식 메주로 만든 간장의 주된 세 균을 조사한 결과 B. subtilis와 B. pumilus였다고 보고 하였고, 내염성 젖산균으로는 Pediococcus halophilus, Leuconostoc mesenteroides 및 Lactobacillus plantarum. 이었으며, 내염성 효모로는 Rhodotorula flava와 Torulopsis dattila가 동정되었다고 보고하였다. 박계인 과 김기주(1970)는 전국에서 채집한 메주의 미생물 분 포 상황을 조사한 결과 99% 이상이 세균이라고 보고 하였는데, 이 중 단백질 분해력이 가장 강한 B. subtilis 균을 분리하여 접종한 메주로 간장을 숙성시킨 결과 한국 재래식 간장의 맛과 향을 낸다고 보고하였다.

이와 같이 재래식 간장를 제조하는데 있어서 B. subtilis가 주 발효미생물로 간주하여 장류 제조에 이용 하였다. 그러나, 재래식 간장을 산업화하는데 있어서 마지막 공정은 여과와 살균공정인데, 간장의 숙성이 끝 난 후 더 이상 발효가 진행되지 않으며 유통과 저장 중 안전성을 부여하기 위하여 살균공정이 필수 불가 결하나 이에 관한 연구가 미흡한 실정이다. 일본식간 장에서는 황국균을 이용하여 제조하였기에 낮은 온도 에서도 완전 살균이 가능하나, 아포를 형성하는 Bacillus 속이 주 발효 미생물인 재래식 간장은 살균 후에도 이 균이 살아남아서 품질을 변질시킬 수 있다. 일본간장 을 이용한 간장의 살균은 Bacillus속에 관한 자료는 없 으며 Sugimori와 Jose(1970)가 내염성 젖산균의 사멸온 도를 조사 보고하였으며, Takakusa et al.(1975)이 Saccharomyces rouxii와 Torulopsis 속의 사멸온도를 연 구 보고하였다. 우리 나라는 한용석 등(1961)에 의하 여 재래 곡자 중에 많이 번식하는 곰팡이류의 특성을 조사하면서 Mucor 속과 Rhizopus 속의 살균 온도를 구 명하게 되었으며, 이택수와 이석건(1970)은 일본식 간 장발효에 관여하는 효모류의 특성을 조사하면서 효모 류의 사멸온도를 제시하였다. 이우진과 조덕현(1971)은 간장을 달인 후 나타나는 발효 미생물군을 처음으로 세균과 효모류 및 젖산균으로 분류하여 조사 보고하 였으나 명확히 구명하지는 못하였다. 그래서, 우리 전 통 간장의 합리적인 생산과 저장성 향상을 위하여 간 장 미생물의 내열성 및 살균에 대한 과학적 기초 연 구가 필요할 것으로 판단되었다. 따라서, 본 연구에서 는 재래간장의 주된 소화 미생물인 *B. subtilis* var. globigii(G8) 균의 내열성과 재래간장 살균시 미생물 및 성분의 변화를 조사하고 간장의 적정살균 방법을 구명하도록 하였다.

재료 및 방법

살균용 간장 제조 및 내열성 검사

본 실험에 사용한 간장은 재래식방법으로 4개월 숙성시켜 제조한 간장과 Bacillus subtilis var. globigii (G8)을 접종하여 만든 알알이형 메주에 대하여 1:4의 비율로 20% 소금물을 넣어 담금한 간장덧을 8개월간 발효 숙성시킨 다음 면여과 및 filter press 여과한 생간장을 살균시험용 공시간장으로 하였다. 내열성시험용 간장의 초기 균수는 2.8×10⁷ CFU/mL 이었으며, 내열성 검사는 合棄修— et al.(1976)과 Cheftel과 Thomas(1963)의 방법으로 시행하여 가열치사곡선 및 가열치사시간을 계산하였다.

D-값 및 k- 값(사멸속도정수)

멸균면전 시험관에 25 mL 씩의 공시 생간장을 넣은 후 품온이 살균온도가 되게 조절된 oil bath 및 수 욕조로부터 공시시험관을 경시적으로 꺼내어 생균수를 측정하였고, 이것으로부터 각 온도에 있어서 생존곡선 (survive curve)을 작도하였다. 각 살균온도에서 작도한 생존곡선에서 미생물을 90% 사멸시키는데 요하는 시간인 D(min) 값을 구한 후 아래의 식으로부터 사멸속도정수 k(1/min) 값을 구하였다.

$$D = 2.303/k \tag{1}$$

Z-값

공시균에 대한 각 온도에서 얻은 D값을 가지고 phantom thermal death time curve를 작도하고 D값이 1 대수주기 변하는 살균 온도차 즉, 공시균의 살균시간을 1/10로 줄이는데 요하는 온도차인 Z 값을 구하였다.

\mathbf{Q}_{1}

어떤 특정 온도와 그 보다 10° C 낮은 온도에서의 반응속도인데 여기서는 공시균의 사멸속도의 비이며, 화학반응에서의 Q_{10} 값은 약 2이다. Z값으로부터 (2)식을 이용하여 Q_{10} 값을 구하였다.

$$Z = 10/\log Q_{10} \tag{2}$$

빈도정수 (frequency factor, or arrhenius factor A) 및 활성에너지(activation energy, Ea) 값 사멸반응 속도정수 k의 온도 T(°K)에 대한 의존성은 Arrhenius 식(3)으로 나타낼 수 있고 (3)식의 양축을 대수로 취하면 (4)식으로 바꾸어 쓸 수 있다. 활성에너지 Ea는 (4)식으로부터 Arrhenius plot으로 알려진 log k에 대한 1/T(°K)을 작도하여 그래프의 기울기인 (5)식으로부터 Ea를 구한다. 따라서, (6)식을 이용하여 A값도 구할수 있다(생물공학 실험서, 1972; Whitaker, 1972).

$$k=A \cdot \exp(-Ea/RT)$$
 (3)

$$logk=logA-Ea/2.3$$
 RT (4)

Slope=-Ea/2.3 R
$$(5)$$

$$R=8.314(J/mol \cdot K)$$
, 1 cal=4.186 (joules) (6)

미생물 측정 및 성분검사

호기성 세균은 petri film(3M, USA)을 이용하여 30°C에서 48시간 배양하여 나온 붉게 변한 집락을 계수하였으며(하상도, 1996), 젖산균은 이우현과 조덕현 (1971)의 젖산균 분리용 배지와 조성이 유사한 Lactobacilli MRS agar(Difco, USA) 배지에 지시약인 bromocresol green 0.01% 첨가하여 조제한 후 10단계 희석된 시료를 정량적으로 혼합 분주하여 30°C에서 48시간 배양하여 집락 주위에 노란환이 생긴 것을 젖산균으로 하여 계수하였다. 효모류는 조덕현과 이우진 (1970)의 진균 분리용 배지와 유사하게 조성된 합성배지인 YM agar(Difco, USA)에 sodium propionate 대신에 NaCl을 10% 첨가하여 만든 평판 배지에 도말하

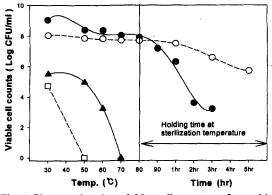


Fig. 1. Changes in the viable cell counts of aerobic bacteria during sterilization of kanjang. ●- ●: aerobic bacteria at sterilization temperature of 90°C, ○-○: aerobic bacteria at sterilization temperature of 80°C, ▲-▲: lactic acid bacteria at sterilization temperature of 90°C, □-□: yeasts at sterilization temperature of 80°C.

여 28°C, 4일간 배양하여 나온 집락을 현미경 관찰 후 효모류로 계수하였다.

총질소의 함량은 AOAC(1995)법에 준하여 측정하였는데, 시료를 분해장치(Digestion system 1007 digester, USA)로 분해시키고 켈텍장치(Kjeltec system 2200 distiling unit, USA)를 이용하여 증류되어 나온 NH₃를 5% boric acid가 든 수기에 받아 생성된 NH₄H₂BO₃를 0.1 N HCI로 적정하여 소비된 mL수를 총질소로 환산하여 양을 구하였다.

간장의 색도는 시료를 7,200 g에서 30분간 원심 분리한 후 상징액을 5 mL 취하여 분광광도계(Spectrophotometer, Shimadzu, Japan)를 이용하여 500 nm에서 측정된 값으로 하였다(연세대학교 식품공학과, 1975).

결과 및 고찰

재래식 간장의 살균과정 중 미생물 변화

재래식 간장을 30°C(실온)에서부터 80°C와 90°C까지 온도를 상승시키고, 이후 해당 살균 온도에서 일정한 시간까지 유지시키며 각 온도 및 시간별로 호기성 세 균, 젖산균 및 효모수를 계수한 결과는 Fig. 1과 같았 다. 90°C까지 온도를 상승시키고 3시간 유지시키며 살 균한 간장의 경우, 1.1×10° CFU/mL 정도였던 호기성 세균은 90°C까지 상승시키는데 소요된 30분 동안 1.1 ×10⁷ CFU/mL 정도로 감소되었으며 이후 90℃를 유 지하며 2시간 살균하는 동안에는 호기성 세균이 현저 히 감소하여 1.3×10³ CFU/mL 까지 되었으나, 3.3× 10⁵ CFU/mL의 젖산균은 60°C까지는 생존하였으나 70°C까지 숭온시켰을 때는 모두 사멸하였다. 이는 온 도를 상숭시키는 동안에 열에 약한 영양형의 호기성 세균들과 아포형성능이 없는 젖산균은 사멸함을 알 수 있었으며, 살균된 간장에서는 젖산균이 나타나지 않았 다는 이우진과 조덕현(1971)의 연구 결과와 같은 경향 이었다. 80°C까지 온도를 상승시키고 5시간 동안 유지 시키며 살균한 간장의 경우, 5.4×10⁴ CFU/mL의 효모 는 50°C에서 나타나지 않았으며, 1.1×10° CFU/mL 정 도를 유지하던 호기성 세균은 80°C에 도달하는 25분 동안 4.8×10⁷ CFU/mL 정도로 감소되었으며 이 후 80°C를 유지하며 5시간동안에 약간 감소되어 최종적으 로 5.1×10⁵ CFU/mL로 나타났다. 이는 90°C에서 3시 간 살균한 것과 비교하였을 때 아주 높은 생존율을 보 였다. 가스 생성 효모를 70°C에서 10분간 가열시 사멸 한다고 보고한 이종수 등(1996)과 간장에 관여하는 효 모를 60°C에서 10분간 가열처리에 의하여 사멸되었다 는 이택수와 이석건(1970)의 보고와 같은 경향이었다. 花岡幕夫(1976)는 염농도별로 만든 간장안에 존재하는 L. plantarium의 내열성을 조사한 결과, 15%의 염농도 간장에서 55℃에서 10분, 60℃에서 3분 가열시 사멸하며, 장류중에 분포하는 효모는 45℃에서 3시간, 48℃에서 8분 정도, 55℃에서 20초내에 사멸한다고 보고하였는데, 본 연구 결과와 같은 경향이었다. 이상의 결과로 고찰해 볼 때 재래적인 방법으로 간장을 달였을 때 젖산균이나 효모류는 쉽게 사멸하나 호기성 세균은 여전히 남아 생존하는 것으로 생각된다.

간장 살균시 성분의 변화

간장을 살균하는 과정 중 색도 및 총질소의 함량 변화를 조사한 결과는 Fig. 2와 같았다. 간장의 색도는 온도를 상승시키는 동안에 점차적으로 증가하다가 온도를 유지시키며 장시간 살균하는 동안에는 급격히 상승한 것을 볼 수 있었다. 이것은 살균 중 간장성분간의 Maillard반응이나 caramel화에 의한 갈색화 반응으

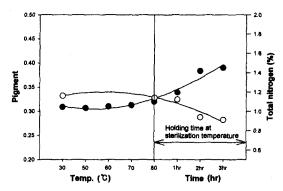


Fig. 2. Changes in pigment and total nitrogen content during sterilization at 80°C. ●-●: pigment, ○ - ○: total nitrogen

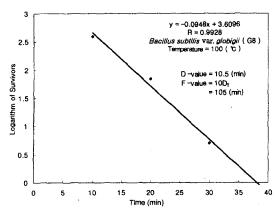


Fig. 3. Survivor curve for a temperature of 100°C.

로 생각되었다(이승철 등, 1997). 간장의 숙성시 품질에 영향을 미치는 총질소는 살균중 조금 감소하였는데, 이것은 열에 약한 단백질 등의 응고 및 NH,대 질소의 휘발 등에 의해 손실되는 것으로 생각되었다(Stanbury et al., 1994). 간장을 달일시 쿰쿰한 냄새 등의 풍미를 나쁘게 하는 요소를 제거한다는 의미에서 바람직한 면도 없지 않으나, 재래식 살균법은 간장의색을 너무 짙게하고 향기성분을 손실시키는 단점이 있으므로 간장의 살균은 UHT 살균이나 온도 상승이 없는 막여과법에 의한 제균법을 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.

간장 내에서 B. subtilis var. globigii(G8)의 내열성

재래식 살균법으로 간장을 90°C에서 3시간 살균시 호기성 세균은 여전히 잔존하였기에 재래 간장에 많 이 분포하고 있는 Bacillus sp.의 내열성을 조사하고자 하였다. 본 연구실에서 분리한 간장색소 생성능과 단 백질 분해능이 우수한 분리균 B. subtilis var. globigii (G8)을 이용하여 제조한 간장을 사용하여 이 미생물의 D값을 조사하였다. 생 간장을 100°C, 95°C 및 90°C의 온도에서 가열하여 D값, k(사멸속도정수)값, F값, Q,, 및 Z값을 조사한 결과는 Fig. 3~Fig. 7과 같았다. 시 험균을 간장 내에서 가열 처리하였을 때 $D_{100\%}$ 값은 10.5분, F_{100℃} 값은 10×Dt로 하여 10.5분으로 나타났 으며, D_{95°C} 값이 20.6분, F_{95°C} 값은 206분이었으며, D₉₀℃ 값은 128.2분, F₉₀℃ 값은 1,282분으로 나타났 다. 각 온도에서 얻은 D값을 이용하여 시험균의 phantom thermal death time curve를 작도하여 얻은 그 래프가 1 대수 주기를 지날때의 온도차인 Z값은 9.2℃ 로 나타났다. 즉, B. subtilis var. globigii(G8)의 살균시 간을 10분의 1로 줄이는데 소요되는 온도차는 9.2°C로

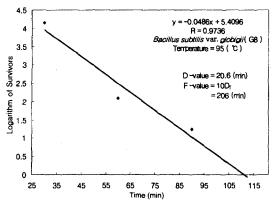


Fig. 4. Survivor curve for a temperature of 95°C.

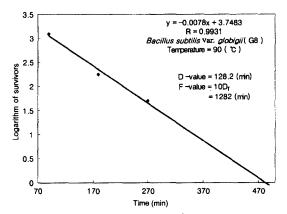


Fig. 5. Survivor curve for a temperature of 90°C.

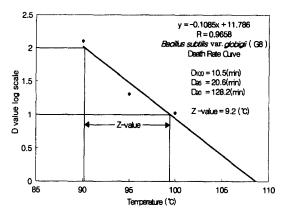


Fig. 6. Phantom thermal death time curve.

서 기존에 보고된 내열성 미생물인 B. sterarother-mophilus, B. cereus, C. botulinum 및 C. perfingens의 Z값이 각각 7~13, 9.7, 8~12 및 10℃ 정도인 것

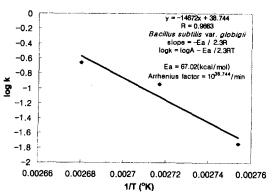


Fig. 7. Arrhenius plot for the determination of activation energy.

(Hallstrom et al., 1988)을 감안하면 간장내에서 B. subtilis var. globigii(G8) 역시 상당한 내열성을 지닌 균 주임을 알 수 있었다. 활성화 에너지(Ea)를 구하기 위 하여 살균빈도정수(Arrhenius factor, A)를 산출한 결과 1분 당 1038.744로 나타났으며, 이것을 이용하여 Ea를 산출한 결과 67.02 kcal/mol의 energy가 소요됨을 알 수 있었다. 내열성이 강한 B. stearothermophilus의 Ea값이 67.7 kcal/mol 정도인 연구 결과(合葉修一 et al., 1976) 와 비교해 보았을 때, 공시균 B. subtilis var. globigii(G8)의 간장내에서의 내열성도 그와 비슷한 내 열성을 가졌음을 알 수 있었다. 이상의 결과를 정리하 면 Table 1 및 Table 2와 같았다. 재래식 간장에서 주 된 내열성균인 이 균의 100°C에서의 TDT (Thermal Depth Time)는 105분인데 반해서 125°C와 130°C에서의 TDT는 각각 0.2분(12초) 및 0.06분(3.6초)으로 산출되었 고, Q.,이 12.2인 것으로 볼 때 가열살균법으로 재래식 간장을 살균하기 위해서는 120°C에서 0.7분이나 125°C

Table 1. Heat resistance data of Bacillus subtilis var. globigii in Korean kanjang

	D (min)	k (1/min)	F=10Dt (min)	Z (°C)	Q ₁₀	A (1/min)	Ea (kcal/mol)
100°C	10.5	0.2193	105			······	
95°C	20.6	0.1118	206	9.2	12.2	$1 \times 10^{38.744}$	67.02
90°C	128.2	0.0180	1,282				

D-value: the death rate of an organism at a given temperature (also termed the "death rate constant" or "decimal reduction time"). It is the time in minutes at a constant temperature necessary to destroy 90% of organisms present. k-value: death rate constant (D=2.303/k).

F-value: the number of minutes required to destroy a given number of organisms at a given temperature.

Z-value: the number of °C required for the TDT or phantom TDT curve to traverse one log cycle (It may be expressed as the number of °C required to bring about tenfold change in TDT or D value).

 Q_{10} : the ratio of the velocity of a reaction at a particular temperature to the velocity at a temperature that is lower by 10°C (Z(°C)=10/log Q_{10}).

A: arrhenius factor or Frequency factor.

Ea: activation energy.

Table 2. Calculated thermal death time of *Bacillus subtilis* var. *globigii* in Korean *kanjang*

	Temperature	$\tau = F \times 10^{-(t-100)/Z^*}$	Z
	(°C)	(min)	(°C)_
Ī	130	0.06	
	125	0.20	
	120	0.70	
	115	2.46	9.2
	110	8.59	
	105	30.04	
	100	105.00	

^{*}t: thermal death time at temperature t(°C) of the target organisms with definite F- and Z-value. F_{100°C}=105 minutes.

에서 12초의 HTST살균이나 130°C에서 3.6초의 UHT살 균이 적당할 것으로 판단되었다.

요 약

재래간장과 메주에서 발견되는 주된 단백질 분해 미생물인 B. subtilis var. globigii(G8)의 간장 배지 내에서의 D값, Z값, Q_{10} 값 등을 측정하여 이 미생물의 내열성을 조사하고 여러 가지 살균온도에서 살균하는 동안 간장의 성분 및 미생물 균수 변화를 측정하여 간장의 적정 가열살균 시간과 방법을 밝히려고 본 연구를 수해하였다.

재래간장 내에 존재하던 젖산균과 효모 세포는 간장 살균시 각각 80° C와 90° C의 살균온도에 도달하기이전에 모두 사멸함을 관찰하였고 호기성 세균은 80° C에서 5시간, 90° C에서 3시간 동안 살균한 후에도 각각 5.1×10^{5} CFU/mL와 1.3×10^{3} CFU/mL가 생존함을 알 수 있었다.

간장 살균 중 간장의 색도와 젖산 함량은 증가하고 총질소 함량은 약간 감소하였다. 공시 세균의 100°C, 95°C 및 90°C에서의 D값은 각각 10.5분, 20.6분 및 128.2분이었다. 이 세균의 Z값과 Q₁₀값은 각각 9.2°C와 12.2 이었다. 또 이 균의 100°C, 95°C 및 90°C에서의 F값은 각각 105분, 206분 및 1282분이었다. 이 세균의 계산된 가열치사시간은 120°C에서 0.7분, 130°C에서 3.6초이었다. B. subtilis var. globigii(G8)은 내열성이 아주 높기 때문에 재래간장살균은 120°C에서 0.7분간 고온단시간살균하거나 130°C에서 3.6초간 초고온살균하는 것이 바람직할 것으로 보였다.

감사의 글

연구는 1998년도 과학기술처 선도기술개발사업의 연구비에 의하여 수행된 연구결과의 일부로서 이에 깊이 감사 드립니다.

문 헌

- A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis (16th). Association of official analytical chemists. Washington, D.C.
- Cho, D.H. and W.J. Lee. 1970. Microbiological studies of Korean native soy sauce fermentation. J. Korean Agric. Chem. Soc. 13(1): 35-42
- Cheftel, H. and G. Thomas. 1963. Principles and Methods for Establishing Thermal Processes for Canned Foods. Israel Program for Scientific Translations. pp2-34
- Ha, S.D. 1996. Evaluation of dryfilm method for isolation of microorganism from foods. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 24: 174-184
- Hallstrom, B., C. Skjolot, C. Ebrand and C. Tragardh. 1988. Heat Transfer & Food Products. Elsevier applied Science. p26
- Han, Y.S., B.D. Park and K.S. Kim. 1961. Studies on the manufacturing of soy sauce(4) -On Genus *Rhizopus* and Genus *Mucor* in Korean wine kokja. *Report of* NIRI 11(2): 52-65
- Jung, Y.S. 1963. Microbiology studies on soy sauce -Isolation and Identification of bacteria from soy sauce to brew by conventional process. Kor. J. Microbiol. 1: 30-37
- Lee, J.S., Y.J. Choi, S.J. Kwon, J.Y. Yoo and D.H. Chung. 1996. Screening and characterization of osmotolerant and gas-producing yeasts from traditional Doenjang and Kochujang. *Foods and Biotechnology* **5**(1): 54-58
- Lee, S.C., S.K. Kim, S.G. Lee and Y.I. Hwang. 1997.
 Production of soy sauce with Monascus sp. Agricultural
 Chemistry and Biotechnology 40(4): 361-363
- Lee, T.S. and S.K. Lee. 1970. Studies on the yeasts for the brewing of soy sauce(4)-Cultural conditions of the osmophilic yeasts for higher concentration of NaCl. Agric. Biol. Chem. 13(3): 193-195
- Lee, W.J. and D.H. Cho. 1971. Microbiological studies of Korean native soy sauce fermentation -A study on the microflora changes during Korean native soy-sauce fermentation. J. Korean Agric. Chem. Soc. 14(2): 137-148
- Park, K.I. and K.J. Kim. 1970. Studies on manufacturing of the Korean soy sauce(1). Report of NIRI 20: 89-98
- Stanbury, P.F., A. Whitaker and S.J. Hall. 1994. Principles of Fermentation Technology. Butterworth Heinemann, England
- Sugimori, T. and H. Jose. 1970. Studies on halotolerant

lactic acid bacteria relating to soy sauce brewing. J. ferment. Technol. 48(4): 218-227

Takakusa, H., H. Shikata, K. Omori, T. Nishiyama and S. Moriguchi. 1975. Studies on behavior of each soy sauce yeasts and antiseptic effect of soy sauce. 醬研 1(4): 190-194

Whitaker, J.R. 1972. Quatitation of effect of temperature on rates of reactions. In: *Principles of Enzymology for the Food Sciences*. Marcel Dekker, Inc., NewYork.

pp331-333

Yeonsei University. 1975. Methods in Laboratory Experiments of foods. Tamgudang Publishing Co., Seoul.

花岡幕夫. 1976. 微生物による醬油の變質と其の對策について. 醬研 **2**(5): 221-226

日本生物 工學會編. 1972. 生物工學 實驗書 5章(2). 日本. pp248-256

合葉修一, ハンフリ, ミルス. 1976. 生物化學工學. 東京大學 出版會, 日本. p249