경기 · 강원 지역의 전통발효 청국장으로부터 *Bacillus* 균주의 분리 동정 및 특성 분석

이남근 · 전은희 · 이효진 · 조일재 · 함영태*

중앙대학교 산업과학대학 생명공학과

Isolation, Identification, and Characterization of *Bacillus* spp. from the Traditionally Fermented *Cheonggukjangs* in the Gyeonggi and the Gangwon Provinces

Nam-Keun Lee, Eun-Hee Jeon, Hyo-Jin Lee, Il-Jae Cho, and Young-Tae Hahm*

Department of Biotechnology, Chung Ang University

Received September 14, 2006; Accepted November 13, 2006

Traditionally fermented *Cheonggukjangs* were collected from Gyeonggi and Gangwon provinces and 22 strains were isolated and identified by using 16S rDNA sequences. Most of the identified strains were *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis*, *B. subtilis* and *B. licheniformis* are dominant in the Gyeonggi area and *B. licheniformis* in the Gangwon area. In the growth pattern of the isolated strains, the duration of lag phase was generally 5 to 7 hours and stationary phase was reached after 23 to 40 hours of incubation. Total cell populations at the stationary phase were between 1×10^6 CFU/m*l* and 5×10^7 CFU/m*l*. The fermenting ability of carbohydrates of isolates showed some differences among the regions. The isolated strains from Yong-In, Gyeonggi showed higher fermenting abilities with D-xylose, xylitol, D-tagatose and Methyl-α-D-mannopyranoside. D-lactose, D-tagatose, D-xylose, Methyl-α-D-mannopyranoside, amygdalin, arbutin, esculin and 2-keto-gluconate were well fermented with the An-Seong's strains; L-rhamnose, inositol, D-mannitol, D-sorbitol, celibiose and gluconate with the Kawang-Ju's stains; and D-lactose with the Odaesan's strains.

Key words: *Cheonggukjangs*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, fermenting ability of carbohydrate

서 론

전통 대두 발효 식품 중 짧은 기간 내에 발효되는 청국장은 효과적인 콩 단백질의 섭취방법일 뿐만 아니라, 발효과정에서 생성되는 생리활성 물질들은 혈전 용해능,[1] 당뇨병,[2] 고혈압,[3] 항산화능 및 항암활성[4] 등의 효능을 가짐으로서, 기능성 식품으로 영양적, 경제적인 가치가 인정되고 있다.

일반적으로 청국장은 볏짚을 이용한 전통적 방법으로 발효시키고 있어 위생 및 품질의 균일화 문제와 더불어 불쾌취로 인한 소비의 제한 요소들을 내포하고 있다. 이에 우수 발효 균주를 선별하여 청국장의 불쾌취를 줄이며, 균일한 제품을 생산하고자하는 연구가 진행되고 있다.[5-7] 그러나 청국장은 일본 나토와는 달리 여러 미생물들이 대두 발효에 관여하고 있어 발효 환경에 따라 품질이 결정되며, 이에 따른 다양한 생리활성 물질들을 생성하게 된다. 청국장을 단일 균주로 사용하여 제조하면 생리활성물질인 isoflavone 함량이 전통적인 방법보다 상대적으로 낮게 생산되는 결과도 있다.[8] 이는 청국장이 발효 균주의 종류에 따라 각기 다른 효소활성에 의해 생리 활성물질의 차이를 보일 수 있으며, 경우에 따라 재래식으로 제조된 청국장보다 품질이 저하될 수 있음을 보여주고 있다.

따라서 국내 청국장 생산은 전통 제조 청국장으로부터 우수한 발효 균주들을 분리하여 재래식으로 제조된 청국장의 생리활성 물질들을 유지 및 보강하면서 청국장의 품질을 향상시킬 수 있는 발효 균주의 연구가 체계화되어야 할 것이다. 이에 본 연구에서는 품질을 결정하는 가장 큰 요인이라 할 수 있는 우수한 발효 균주들을 확보하기 위하여 경기 및 강원 지역에서 재래식으로 생산된 청국장을 수집하였다. 일반적으로 이들 지역의 청국장은 30°C 정도의 온돌에서 증자된 대두를 광목천으로 감싼 후 천위에 볏짚을 깔고 담요로 덮은 후 3일 동안 방치하여 제조되며, 비교적 불쾌취가 적고, 점질물이 많은 우수한 제품의 청국장들이다. 이로부터 발효 균주들을 분리 · 동정하여 그 특성을 분석하고, 균주별 당 발효능을 비교 분석하였다.

*Corresponding author
Phone: 82-31-670-3064, Fax: 82-31-675-0406
E-mail: ythahm@cau.ac.kr

재료 및 방법

발효균주 분리. 청국장은 *Bacillus* spp.에 의해서 발효되는 식품으로 이 균주들은 내생포자를 생성한다. 따라서 경기(용인, 안성, 광주) 및 강원 지역(오대산)에서 재래식으로 제조된 청국장을 수집하였다. 수집된 청국장 5 g씩 시험관에 넣고, 멸균수 10 ml를 가한 후 80°C에서 15분간 물중탕 하였다. 이 후 상등액을 LB agar 배지에 희석하여 도말하고 호기적 조건하 37°C에서 2~3일간 배양한 후 콜로니 색상과 형태 등을 기준으로 균주들을 분리하였다.

분리 균주들의 특성 분석. 분리한 균주들은 Bergey's Manual[9]에 따라 형태학적, 생리학적 특성을 분석하고자, 세포형태, 운동성, 그람 염색, 포자 염색과 catalase 활성을 분석하였다. 분리 균주들의 생장곡선 측정은 LB 액체배지 50 ml에 균(콜로니)을 접종하고 37°C에서 58시간 동안 600 nm에서 UV-VIS Spectrophotometer(Beckman Du® 650, USA)를 사용하여 흡광도를 측정하였다.

16S rDNA 염기서열 분석에 따른 분리 균주 동정. 분리된 균주들의 16S rDNA 염기서열을 결정하기 위하여 Weisburg 등[10]이 제안한 primer를 기초로 제작된 forward primer인 5'-AGAG TTTGATCMTGGCTCAG-3'와 reverse primer인 5'-GGYTACC TTGTTACGACTT-3'을 이용하여 PCR 반응(GeneAmp® PCR system 2700, Applied Biosystems)을 실시하였다. PCR 반응 조건은 97°C에서 5분 동안 변성시키고, 각 단계 94°C에서 1분, 56°C에서 1분, 72°C에서 1분 30초 동안 DNA 증폭 반응을 30회 실시하고 마지막으로 72°C에서 4분 동안 반응을 실시하였다. PCR 증폭산물 중 1.5~1.6 kb에 해당하는 DNA 밴드를 gene clean kit(AtmanBio, Korea)을 이용하여 정제한 후, 유전자 해석센터(Takara Korea, Co.)에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 염기서열 분석을 통하여 얻은 각 균주의 염기서열은 Blast Network Service를 이용하여 NCBI GeneBank database의 염기서열과 비교함으로써 계통분류학적 유연관계를 분석하였다. Chromas Lite(version 2.01)를 이용하여 분석된 염기서열을 확인하고, 유연관계가 있는 database와 비교분석 후, 비교된 서열을 Jphydit version 1.0(Phylogenetic Sequence Editor for JAVA)을 사용하여 염기서열을 재작성하고, NCBI GeneBank database를 이용하여 최종적으로 계통분류학적 유사도를 분석하였다.

분리 균주들의 당 발효능 분석. 분리 균주들 중 *Bacillus*속의 특성을 보이는 균주들을 API 50 CHB system kit(bioMereux, France)를 사용하여 당 발효능을 분석하였다. API kit을 이용한 당류의 발효능 조사는 kit manual에 따라 희석한 균을 kit의 strip에 옮기고 37°C에서 48시간 관찰 후 당 발효성에 따른 색 변화를 관찰하였다.

결과 및 고찰

청국장 발효 균주의 분리 및 특성 분석. 경기 및 강원 지역에서 재래식으로 생산된 청국장에서 22균주를 분리하였다. 경기 용인 지역에서는 8종의 균주가 분리 되었고, 그 외 지역에서는 4~5종의 균주가 분리되었다. 분리된 균주들의 형태학적, 생리학적 특성이 각 균주마다 정도의 차이는 있지만, 모양이 간균으로 운동성, 그람염색, 포자형성, catalase activity 분석 결과가 모두 양성 반응을 보임으로서, 분리된 22균주 모두 *Bacillus* 속과 같은 특성을 보였다(Table 1).

분리 균주들의 생장 패턴을 살펴보면(Fig. 1), 대부분 유도기 기간이 5~7시간 정도였으나, 용인의 YI-5와 안성의 AS-4는 7~9시간으로 나타났다. 휴지기는 40시간을 전후하여 접어들었으나, 용인 지역의 대부분 균주들은 31~40시간 사이로 다른 지

Table 1. General characteristics of the isolated strains from *Cheonggukjangs*

Location	Strain No.	Cell morphology	Motility	Gram staining	Spore formation	Catalase activity
Yong-In	YI-1	Rod	+	+	+	+
	YI-2	Rod	+	+	+	+
	YI-3	Rod	+	+	+	+
	YI-4	Rod	+	+	+	+
	YI-5	Rod	+	+	+	+
	YI-6	Rod	+	+	+	+
	YI-7	Rod	+	+	+	+
	YI-8	Rod	+	+	+	+
An-Seong	AS-1	Rod	+	+	+	+
	AS-2	Rod	+	+	+	+
	AS-3	Rod	+	+	+	+
	AS-4	Rod	+	+	+	+
	AS-5	Rod	+	+	+	+
Kawang-Ju	KJ-1	Rod	+	+	+	+
	KJ-2	Rod	+	+	+	+
	KJ-3	Rod	+	+	+	+
	KJ-4	Rod	+	+	+	+
	KJ-5	Rod	+	+	+	+
Odaesan	OD-1	Rod	+	+	+	+
	OD-2	Rod	+	+	+	+
	OD-3	Rod	+	+	+	+
	OD-4	Rod	+	+	+	+

+: positive, -: negative.

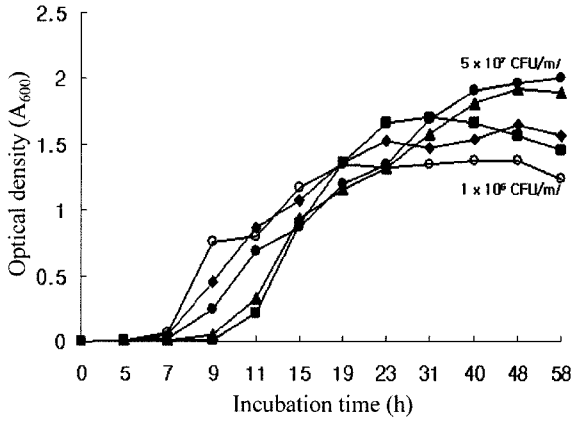

Fig. 1. Growth curves of *Bacillus* spp. isolated from *Cheonggukjang*. ◆; Yongin-4 (YI-4), ■; Yongin-5 (YI-5), ●; Anseong-3 (AS-3), ▲; Anseong-4 (AS-4), ○; Anseong-5 (AS-5), Populations of Anseong-3 and 5 were counted in the stationary phase.

Table 2. Identification of the isolated strains from *Cheonggukjangs* with 16S rDNA sequence

Location	Strain No.	Identified species	Similarity (%)
Yong-In	YI-1	*Bacilllus licheniformis*	97
	YI-2	*B. subtilis*	97
	YI-3	*B. subtilis*	97
	YI-4	*B. licheniformis*	97
	YI-5	*B. licheniformis*	99
	YI-6	*B. licheniformis*	96
	YI-7	*B. licheniformis*	100
	YI-8	*B. subtilis*	98
An-Seong	AS-1	*Bacillus subtilis*	98
	AS-2	*B. subtilis*	97
	AS-3	*B. subtilis, B. sonorensis*	99
	AS-4	*B. licheniformis*	99
	AS-5	*B. licheniformis*	98
Kawang-Ju	KJ-1	*Bacillus subtilis*	98
	KJ-2	*B. licheniformis*	99
	KJ-3	*B. licheniformis*	98
	KJ-4	*B. subtilis*	99
	KJ-5	*B. subtilis*	96
Odaesan	OD-1	*Bacillus licheniformis*	98
	OD-2	*B. licheniformis*	97
	OD-3	*B. licheniformis*	97
	OD-4	*B. subtilis, B. amyloliquefaciens*	96

역의 균주들 보다 빠른 휴지기를 보여 주었으며, 특히 용인의 YI-4 와 안성의 AS-5 균주는 휴지기가 23시간부터 접어들어 분리된 균주 중 가장 빠르게 나타났다. 또한 휴지기에 접어든 분리 균주들의 최대생장은 총 균수로 살펴보면, 1×10^6 CFU/m*l* (AS-5)과 5×10^7 CFU/m*l*(AS-3) 사이에 있었다.

16S rDNA 염기서열 분석에 의한 분리 균주들의 동정. 16S rDNA 염기서열 분석 결과(Table 2), 용인 및 안성은 *Bacillus licheniformis*(YI-4, AS-4)와 *B. subtilis*(YI-8, AS-1), 광주는 *B. subtilis*(KJ-4, -5), 오대산은 *B. licheniformis*(OD-1, -2) 등이 우점종 발효균주로 동정되었다. 각 지역별 전체 균주의 계통적 유사도는 대부분 97~99%의 비교적 높은 유사도를 보이고 있으며, 균주 분포에 있어서 용인과 강원 지역은 *B. licheniformis*가, 광주는 *B. subtilis*가 주 발효균주로 우세한 분포를 보였으며, 안성 지역은 *B. licheniformis*와 *B. subtilis*가 비슷한 분포를 보였다. 최근 전통 청국장으로부터 분리 동정된 균주에 있어서 일반적인 *Bacillus subtilis* 및 *B. licheniformis* 뿐만 아니라, Lee 등[11]에 의해 *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. stearothermophillus*, 그리고 *Brevibacillus brevis* 등이 분리 동정되었으며, 이밖에도 *B. pumilus*,[12] *B. amyloliquefaciens*,[13] *B. mesentericus*[14] 등이 분리 동정되었다. 본 연구에서는 용인 지역의 YI-6, 광주 지역의 KJ-5, 그리고 오대산 지역의 OD-4 균주들이 다른 균주들과 비교하여 계통적으로 96%의 낮은 유사도를 보임으로서 새로운 이종 균주일 가능성이 높으며, AS-3은 높은 계통적 유사도를 보이는 *B. subtilis*와 *B. sonorensis* 사이의 명확한 동정이 필요하다고 사료된다.

분리 균주들의 당 발효능 분석. 각 지역별로 분리된 균주의 당 발효능을 분석한 결과(Table 3), 대부분의 균주에서 공통적으로 L-arabinose, ribose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, D-maltose, D-saccharose, amidon, inlulin, glycogen, D-trehalose, Methyl-α-D-glucopyranoside 등에는 강한 발효능을 보였고, 상대적으로 glycerol, D-xylose, D-galactose, L-rhamnose, inositol, D-mannitol, D-sorbitol, D-lactose, D-celibiose, N-acethylglucosamine, amygdalin, arbutin, esculin, salicin, D-melibiose, D-raffinose, gentiobiose, D-turanose 등에서는 균주에 따라 차이를 보여주고 있다. 각 지역별 균주들의 발효 특성을 볼 때, 용인 지역 균주들은 D-xylose, xylitol, D-tagatose, Methyl-α-D-mannopyranoside 등에서 다른 지역 균주들보다 발효능이 강했고, 안성은 D-lactose, D-tagatose, D-xylose, Methyl-α-D-mannopyranoside, amygdalin, arbutin, esculin, 2-keto-gluconate, 광주는 L-rhamnose, inositol, D-mannitol, D-sorbitol, celibiose, gluconate, 오대산은 D-lactose에서 발효능이 좋았다. 또한 용인과 오대산 지역 균주들은 각각 L-xylose와 L-fucose, Methyl-β-D-xylopyranoside을 발효할 수 있는 균주를 포함하고 있어, 안성 및 광주 지역 균주에는 없는 당 발효능을 보였다. 인접 지역별로 용인과 광주는 서로 유사한 당 발효능을 보였으나, 안성은 오대산 지역과 같이 D-melezitose, D-lyxose, D-fucose, D-arabitol, L-arabitol, 5-keto-gluconate 등의 발효능을 포함하고 있었다.

결론적으로 본 연구에서는 유사 균종들에 의해서 청국장이 제조되나, 당 발효능 및 생장에 있어서 차이점을 보이고 있으며, 경기 용인, 안성, 광주 및 강원 오대산 지역의 주 발효 균주는 *B. subtilis*와 *B. licheniformis*로 분석되었다. 따라서 청국장은 발효 환경 즉 지역에 따라 주 발효 균주의 차이가 있으며, 또한 당 발효능에 있어 강력한 당 분해효소와 빠른 호기적 대사는 환원당의 생성 및 소비에 관여하여 관능성에 영향을 주며,[15] fructose는 청국장 점질물의 구성성분인 fructan의 생성과 관련성 있다는 연구 보고[12]에 비추어 볼 때 이는 비슷한 균주라 할지라도 당 발효능의 차이에 의해 각 지역별 고유의 청국장이 생산되며, 이에 따라 맛과 냄새, 그리고 생리활성 물질의 생성에도 차이를 보일 것이다. 우리의 전통발효 식품인 청국장의 품질경쟁력을 높이기 위해서는 우수한 발효 균주의 분리 동정과 이를 이용한 발효조건의 최적화 및 품질의 표준화 연구가 지속되어야 할 것이다.

초 록

본 연구에서는 경기(용인, 안성, 광주) 및 강원지역(오대산)에서 재래식 방법으로 제조된 청국장을 수집하여 지역별 발효 균주들의 동정과 특성분석 및 당 발효능을 조사하였다. 수집된 청국장에서 22종류의 균주를 분리하였고, 16S rDNA의 서열을 분석한 결과 이들은 대부분 *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*로 동정되었다. 경기지역의 주요 발효 균주는 *B. subtilis*와 *B. licheniformis*, 강원 지역은 *B. licheniformis*로 동정되었으며, 일반적인 생장 특성은 5~7시간의 유도기를 지나 23~40시간 이후에 휴지기로 접어들었다. 휴지기에 접어든 분리 균주들의 최대생장 총 균수는 1×10^6 CFU/m*l*과 5×10^7 CFU/m*l* 사이에 있

Table 3. Carbohydrate fermentation of the isolated strains from *Cheonggukjangs*

Carbohydrate	Strain No.																					
	YI								AS					KJ					OD			
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4
Control (Temoin)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycerol	+	++	+	+	++	+	++	+	++	+	++	+	+	+	+	++	++	+	+	+	++	++
Erythritol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Arabinose	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
D-Ribose	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
D-Xylose	++	+	++	++	++	+	++	+	++	+	++	+	++	++	-	+	++	++	+	++	++	-
L-Xylose	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl-β-D-xylopyranoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
D-Galactose	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
D-Glucose	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
D-Fructose	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
D-Mannose	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	+	-	++	++
L-Sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Rhamnose	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	+	+	+	+	++	+	++	++	-	++	++	+	+	+	++	++	++	++	+	+	+	++
D-Mannitol	+	+	+	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	-	++	++
D-Sorbitol	++	++	++	++	-	-	-	++	-	++	-	-	++	++	++	++	++	-	++	-	++	++
Methyl-α-D-mannopyranoside	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl-α-D-glucopyranoside	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	+	+	++	++
N-Acethylglucosamine	+	+	+	++	++	++	++	-	+	-	++	++	++	+	+	++	++	+	+	+	+	++
Amygdalin	-	-	-	++	++	++	++	-	-	-	++	++	++	-	-	++	++	+	-	-	++	-
Arbutin	-	-	-	++	++	++	++	-	-	-	++	++	++	-	-	++	++	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	+	++	++	++	+	+	+	++
Salicin	+	++	+	++	++	+	++	+	+	-	++	++	++	+	+	++	++	+	++	+	+	++
D-Cellobiose	+	+	+	++	++	+	++	-	-	-	++	++	++	+	++	++	++	++	+	-	+	+
D-Maltose	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
D-Lactose	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	++	-	-	-	+	+	-	+	+	+	++
D-Melibiose	++	-	++	+	+	++	+	++	++	++	+	+	+	++	+	+	+	+	-	+	+	++
D-Saccharose	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
D-Trehalose	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Inlulin	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++	+	++	-	++	++	++
D-Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
D-Raffinose	++	++	++	+	+	++	+	++	++	++	+	+	+	++	++	+	+	++	+	++	+	++
Amidon	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
Glycogen	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++
Xylitol	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Gentiobiose	+	-	+	++	++	+	++	+	+	+	++	-	+	+	-	++	++	++	+	+	++	+
D-Turanose	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+	++	+	+	+	+	+	++	-	+	+	++
D-Lyxose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
D-Tagatose	-	+	-	++	++	-	++	-	-	+	++	-	++	-	-	++	++	-	-	-	+	+
D-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
L-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Gluconate	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
2-Keto-gluconate	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5-Keto-gluconate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

++: strong positive, +: positive, -: negative.

었다. 균주들 간 당 발효능의 차이에 있어서 용인 지역은 D-xylose, xylitol, D-tagatose, Methyl-α-D-mannopyranoside가, 안성은 D-lactose, D-tagatose, D-xylose, Methyl-α-D-mannopyranoside, amygdalin, arbutin, esculin, 2-keto-gluconate가, 광주는 L-rhamnose, inositol, D-mannitol, D-sorbitol, celibiose, gluconate가, 그리고 오대산은 D-lactose에서 좋은 당 발효능을 보였다.

Key words: 청국장, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, 당 발효능

참고문헌

1. Kim, W. K., Choi, K., Kim, Y. T., Park, H. H. and Lee, S. Y. (1996) Purification and characterization of fibirinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from *Chungkook-Jang*. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 2482-2488.
2. Kang, M. J., Kim, J. I. and Kwon, T. W. (2003) Effect of *Chungkukjang* on blood glucose and lipid profile in neonatal streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Sci. Biotechnol.* **12**, 544-547.
3. Byun, M. W., Son, J. H., Yook, H. S., Jo, C. and Kim, D. H. (2002) Effect of gamma irradiation on the physiological activity of Korean soybean fermented foods, *Chungkookjang* and *Doenjang*. *Radiat. Phys. Chem.* **64**, 245-248.
4. Wei, H., Wei, L., Frenkel, F., Brown, R. and Barnes, S. (1993) Inhibition of tumor promoter-induced hydrogen peroxide formation *in vitro* and *in vivo* by genistein. *Nutr. Cancer.* **20**, 1-12.
5. Choi, U. K., Ji, W. D. and Chung, Y. G. (1998) Characteristics of *Chunggugjang* produced by *Bacillus subtilis* DC-2. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 846-851.
6. Kim, Y. S., Jung, H. J., Park, Y. S. and Yu, T. S. (2003) Characteristics of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20 *Chunggukjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**, 475-478.
7. 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.
8. Jeon, E. H. (2003) Isolation and characterization of aerobic spore-forming bacteria isolated from *Chung Guk Jang*. M.S. thesis, Chungang Univ., Korea.
9. Claus, D. and Berkeley, R. C. W. (1986) Genus *Bacillus* cohn. In *Bergey's manual of systematic bacteriology*, pp. 1105-1139, The Williams & Wilkins, Baltimore.
10. Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A. and Lane, D. J. (1991) 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* **173**, 697-703.
11. Lee, M. Y., Park, S. Y., Jung, K. O., Park, K. Y. and Kim, S. D. (2005) Quality and functional characteristics of *Chungkukjang* prepared with various *Bacillus* sp. isolated from traditional *Chungkukjang*. *J. Food Sci.* **70**, M191-M196.
12. Kwon, H. Y., Kim, Y. S., Kwon, G. S., Kwon, C. S. and Sohn, H. Y. (2004) Isolation of immuno-stmulating strain *Bacillus pumilus* JB-1 from *Chungkukjang* and fermentational characteristics of JB-1. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **32**, 291-296.
13. Zhao, X. Q., Park, K. H., Jin, Y. Y., Lee, I. H., Yang, Y. Y. and Suh, J. W. (2005) Isolation and characterization of a new γ-polyglutamic acid producer, *Bacillus mesentricus* MJM1, from Korean domestic *Chungkukjang* bean paste. *J. Microbiol. Biotechnol.* **15**, 59-65.
14. Ahn, Y. S., Kim, Y. S. and Shin, D. H. (2006) Isolation, identification, and fermentation charateristics of *Bacillus* sp. with high protease activity from traditional *Cheonggukjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 82-87.
15. Kim, D. H., Lim, D. W., Bai, S. and Chun, S. B. (1997) Fermentation characteristics of whole soybean Meju model system inoculated with 4 *Bacillus* strains. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 1006-1015.