

청국장 균주의 선발과 발효 특성

우승미 · 권중호¹ · 정용진[†]

계명대학교 식품가공학과 · (주)계명푸드스, ¹경북대학교 식품공학과

Selection and Fermentation Characteristics of *Cheongbukjang* Strains

Seung-Mi Woo, Joong-Ho Kwon¹ and Yong-Jin Jeong

Department of Food Science and Technology, Keimyung University and Keimyung Foodex Co., Daegu 704-701, Korea

¹Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the *Cheongbukjang* fermentation characteristics and to select the strain showing a fibrinolytic activity. Fibrinolytic activity of 5 strains isolated from the commercial *Chungkukjang* was tested. N2 strain showed the highest activity (41.7%) while N3 and N5 had similar activity (27.8%) compared to plasmin 1 unit/mL. The selected N2 strain was determined as *B. subtilis* with 90.1% homology by API kit analysis. Quality characteristics of *Cheongbukjang* fermented by 6 kinds of strains were tested. Among 3 strains cultured, *B. subtilis* (KCTC 3014) showed the highest viscous substance, fibrinolytic activity and amino type nitrogen content. After isolated, *B. subtilis* N2 showed the highest viscous substance, fibrinolytic activity and amino type nitrogen content. Optimum steam-time for *Cheongbukjang* fermented by *B. subtilis* (KCTC 3014) and *B. subtilis* N2 was 45 min while optimum fermentation-time was 20 hr.

Key words : *Cheongbukjang*, fermentation, fibrinolytic activity.

서론

청국장은 특유의 점질성 조직감을 지니는 우리나라 전통 콩발효식품으로써 단기간에 제조 가능하며 영양적, 경제적으로 가장 효과적인 콩의 섭취방법으로 인정되고 있다(1, 2). 우리나라의 청국장, 된장, 간장과 일본의 미소, 낫또, 인도네시아의 템페 등은 대표적인 콩발효식품으로 콩을 발효시키는 제조과정 중 콩 속에 함유되어 있는 이소플라본 및 유용성분의 배당체가 당이 떨어지는 아글리콘 형태로 변화하여 콩 자체보다 높은 생리활성을 나타내는 것으로 밝혀지고 있으며(3), 필수아미노산, 비타민 B₁, B₂, 나이아신, 판토텐산 등을 더 많이 가지고 있고 각종 효소가 풍부하게 들어있다(4). 이러한 청국장은 청국장균의 정장효과, 섬유질의 변비에방효과, 발암물질과 콜레스테롤의 체외 배출 효과, 점질물(mucin)의 알콜 흡수에 의한 해장효과, 사포닌

의 혈관강화, 혈액순환 촉진 및 젖산분해효과, 레시틴의 뇌 노화, 치매, 고혈압 및 동맥경화 예방 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있으며(5), 혈전용해(6, 7), 골다공증 예방(8)에 있어서도 우수한 것으로 알려져 있다. 이처럼 우수한 식품학적 특성을 갖는 청국장에 관한 연구로는 전통 청국장의 이화학적 특성(9), 청국장의 생리활성(10), 숙성 중 향기 성분 변화(11), 점질물의 생성 및 이화학적 특성(12, 13), 청국장으로부터 혈전용해균주의 분리 및 동정(14), 청국장 발효과정 중 각종 성분변화(5), 균주를 달리한 청국장의 제조에 관한 연구(15-17) 등이 활발히 보고되고 있다. 그러나 청국장 발효 과정에서 발생하는 심한 암모니아 취로 인해 젊은 세대의 기호에 맞지 않아 점점 외면 받고있어 시장성 확보가 어려운 실정이다. 그러므로 각종 첨가물, 발효균주의 선발 등 다각적인 방법으로 냄새를 줄이고자 많은 노력을 기울이고 있다(4, 18, 19). 청국장 제조는 일반적으로 증자콩에 *Bacillus subtilis* 또는 *Bacillus natto* 등을 접종하여 40-50℃의 온도와 85-90%의 습도에서 2-3일 정도 발효시키는 원리로 제조되고 있으며, 원료의 종류, 증자시

[†]Corresponding author. E-mail : yjjeong@kmu.ac.kr,
Phone : 82-53-580-5557, Fax : 82-53-580-6477

간, 사용균주, 발효온도 및 시간 등의 발효조건 차이에 따른 특유의 풍미는 청국장 품질을 결정하는 가장 큰 요인이 되고 있다(20, 21).

따라서 본 연구에서는 혈전용해능이 우수한 청국장 균주를 선별하고, 이를 활용하여 우수한 혈전용해능과 불쾌취가 감소된 발효조건을 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 연구에 사용된 균 분리용 청국장은 대구시 농협에서 시판되고 있는 청국장 제품을 구입하여 사용하였고, 콩은 2005년도 경북 상주지방에서 재배한 것을 구입하여 사용하였다.

사용균주 및 배지

혈전용해능이 우수한 균을 분리하기 위하여 청국장 1 g을 생리식염수 9 mL에 첨가하여 현탁시킨 다음 그 상층액을 10배 희석법으로 희석한 후 nutrient agar plate에 도말하고 37°C에서 24시간동안 배양하여 집질물 생성능이 우수한 colony를 순수 분리하였다(22). 각각의 분리 균주는 N1-N5로 명명하여, nutrient broth에 접종 후 배양한 다음 원심분리시켜 그 상등액의 혈전용해능을 fibrin plate method(6)로 측정하여 가장 우수한 균주를 최종 선별하였다. 대조균으로는 *Bacillus subtilis*(KCTC 3014), *Bacillus subtilis*(KCCM 11314) 및 *Bacillus subtilis*(KCCM 11315)을 사용하였다.

균주의 동정

최종 선별된 N2 균주는 nutrient agar plate에 37°C, 24시간 동안 배양하여 Analytical Profile Index (API) CHB kit (bioMerieux Co, France)를 이용하여 49개의 탄소원에 대한 이용성을 조사하여 간이 동정하였다(23).

Starter 배양액 제조

5% skim milk를 함유하는 20% soybean solution 10 mL에 nutrient broth에서 배양된 각각의 균주를 10%(v/v) 접종하여 항온 배양기 (HB-102L, Korea)에서 37°C, 24시간 배양한 후 starter로 사용하였다.

선발된 균주를 이용한 청국장 제조

콩을 수세하여 4°C의 물에 24시간동안 침지 시킨 후 약 30분간 물빼기를 하고 100 g씩 담아 autoclave로 121°C, 40분간 증자하였다. 이것을 50°C까지 냉각한 후 각각의 균주 배양액을 3%(v/w)로 균일하게 접종하여 40°C, 20시간동안 발효시켰다. 제조된 청국장에 동량의 증류수를 첨가하여 30분간 진탕한 후 여과 및 원심분리(2,000 rpm, 10 min)하여 얻은 상등액을 분석시료로 사용하였다.

증자시간의 영향

콩을 수세하여 4°C의 물에 24시간동안 침지 시킨 후 약 30분간 물빼기를 하고 100 g씩 담아 autoclave로 121°C에서 15, 30, 45, 60분으로 각각 조정하여 증자하였다. 이것을 50°C까지 냉각한 후 *B. subtilis*(KCTC 3014)와 *B. subtilis* N2 배양액을 각각 3%(v/w)로 균일하게 접종하여 40°C, 20시간동안 발효시켰다. 제조된 청국장에 동량의 증류수를 첨가하여 30분간 진탕한 후 여과 및 원심분리(2,000 rpm, 10 min)하여 얻은 상등액을 분석시료로 사용하였다.

발효시간의 영향

콩을 수세하여 4°C의 물에 24시간동안 침지 시킨 후 약 30분간 물빼기를 하고 100 g씩 담아 autoclave로 121°C, 45분간 증자하였다. 이것을 50°C까지 냉각한 후 *B. subtilis* (KCTC 3014)와 *B. subtilis* N2 배양액을 각각 3%(v/w)로 균일하게 접종하여 40°C에서 40시간동안 발효시키면서 10시간 간격으로 성분변화를 조사하였다. 제조된 청국장에 동량의 증류수를 첨가하여 30분간 진탕한 후 여과 및 원심분리(2,000 rpm, 10 min)하여 얻은 상등액을 분석시료로 사용하였다.

성분분석

집질물

집질물은 Tanaka 등에 의한 방법(12)에 따라 시료 5 mL를 항량을 구한 수기에 취하여 105°C에서 증발 건조시켜 그 무게를 측정하였으며, 시료에 대한 건물량(%)으로 나타내었다.

Fibrin plate를 이용한 균주의 혈전용해효소 활성 측정

균주의 혈전용해효소 활성은 fibrin plate method의 일종인 Astrup and Müllertz method(6)을 사용하여 측정하였다. 대조균으로는 정제된 혈전용해제인 plasmin (1 unit/mL)을 사용하였으며, 균주 배양액의 혈전용해 효소 활성은 아래와 같은 방법으로 구하였다.

$$\text{혈전용해효소 활성(\%)} = \frac{\text{시료의 용해영역}}{\text{plasmin의 용해영역}} \times 100$$

혈전용해효소 활성 측정

혈전용해효소의 활성은 Anson(24)의 방법을 변형하여 UV-visible spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu, Japan)로 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분해물의 tyrosine 양은 tyrosine을 표준물질로 사용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하였다. 효소활성은 조효소액 1 mL가 1분 동안 tyrosine 1 µg을 생성하는 능력을 1 unit로 하였다.

환원당 함량

환원당은 Dinitrosalicylic acid (DNS)법(25)으로 UV-visible spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 546 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 당 정량은 glucose를 표준물질로 사용하여 상기의 방법으로 작성한 표준곡선으로부터 환산하였다.

아미노태질소 및 암모니아태질소 함량

아미노태질소 함량은 Formol 적정법(26), 암모니아태질소 함량은 Forlin법(26)으로 측정하였다

결과 및 고찰

혈전용해효소 생산균주의 분리 및 동정

시판되고 있는 청국장을 nutrient agar plate상에서 균들을 배양한 후 colony의 형태, 크기 및 점질물 생성 정도에 따라 5개의 균주를 분리하여 이들의 혈전용해효소 활성을 정제 혈전용해제인 plasmin과 비교하였다(Table 1 및 Fig. 1). 청국장에서 분리된 5개의 균주는 모두 혈전용해효소 활성을 보였으나 N2가 41.7%로 가장 높게 나타났고 N3과 N5가 각각 27.8%를 나타내었다. 이 중에서 가장 높은 활성을 보인 N2 균주를 최종 선발하여 API 50CHB kit를 이용하여 49개의 탄소원에 대한 이용성을 조사한 결과 N2균주는 90.1%의 유사율로 *B. subtilis*로 간이 동정되었으며, 본 균주를 *B. subtilis* N2로 명명하였다(Table 2). 그러나 확실한 동정을 위해서는 16S rDNA분석 등 부가적인 실험이 더 요구된다.

Table 1. Fibrinolytic activity of the strains isolated from Cheongbukjang

Strains	Fibrinolytic activity (%)
Plasmin (1unit/mL)	100
N1	22.2
N2	41.7
N3	27.8
N4	2.8
N5	27.8

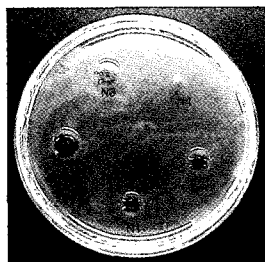


Fig. 1. Fibrinolytic activity of the strains isolated from Cheongbukjang.

Table 2. Identification of N2 strains by API 50CHB kit (*B. subtilis* 90.1%)

No.	Characteristics	Results ¹⁾	No.	Characteristics	Results
0	Control	-	25	Esculine	+
1	Glycerol	+	26	Salicine	-
2	Erythritol	-	27	Cellobiose	-
3	D-Arabinose	-	28	Maltose	+
4	L-Arabinose	+	29	Lactose	-
5	Ribose	+	30	Melibiose	-
6	D-Xylose	-	31	Saccharose	+
7	L-Xylose	-	32	Trehalose	+
8	Adonitol	-	33	Inuline	+
9	β Methyl-xyloside	-	34	Melezitose	-
10	Galactose	-	35	D-Raffinose	-
11	D-Glucose	+	36	Amidon	+
12	D-Fructose	+	37	Glycogene	-
13	D-Mannose	+	38	Xylitol	-
14	L-Sorbose	-	39	β Gentiobiose	-
15	Rhamnose	-	40	D-Turanose	+
16	Dulcitol	-	41	D-Lyxose	-
17	Inositol	+	42	D-Tagatose	-
18	Mannitol	+	43	D-Fucose	-
19	Sorbitol	+	44	L-Fucose	-
20	α Methyl-D-mannoside	-	45	D-Arabitol	-
21	α Methyl-D-glucoside	+	46	L-Arabitol	-
22	N Acetyl glucosamine	+	47	Gluconate	-
23	Amygdaline	-	48	2 ceto-gluconate	-
24	Arbutine	-	49	5 ceto-gluconate	-

¹⁾+, positive, -, negative.

선발된 균주를 이용한 청국장 제조

분양균주 3종과 분리균주 3종을 접종하여 각각 청국장을 제조한 결과는 Table 3과 같다. 분양균주 중에서는 *B. subtilis* (KCTC 3014)를 접종하였을 때 가장 많은 점질물을 생성하였고 혈전용해효소활성과 아미노태질소 함량도 가장 높은 것으로 나타났으며, 분리균주 중에서는 *B. subtilis*

Table 3. Comparison of viscous substance, fibrinolytic activity, reducing sugar, amino type nitrogen and ammonia type nitrogen in Cheongbukjang fermentation with different strains

Strains ¹⁾	Viscous substance (%)	Fibrinolytic activity (unit)	Reducing sugar (mg%)	Amino type nitrogen (mg%)	Ammonia type nitrogen (mg%)
A	3.40±0.01	122.42±1.53	727.6±3.2	127.96±0.74	94.46±0.20
B	2.84±0.04	36.30 ±0.84	257.4±2.0	100.05±0.57	165.96±0.16
C	3.23±0.05	75.29±0.69	776.9±3.3	122.49±0.54	71.23±0.34
D	5.66±0.05	212.78±1.73	1165.7±3.6	215.18±0.28	101.27±0.47
E	5.14±0.01	163.40±0.86	1000.6±0.6	212.28±0.40	95.92±0.12
F	5.53±0.01	121.08±0.74	1054.1±4.6	206.48±0.69	100.68±0.31

¹⁾A; *B. subtilis* (KCTC 3014), B; *B. subtilis* (KCCM 11314), C; *B. subtilis* (KCCM 11315), D; *B. subtilis* N2, E; *B. subtilis* N3, F; *B. subtilis* N5.

N2를 접종하였을 때 점질물 함량, 혈전용해효소활성, 환원당 및 아미노태질소 함량이 가장 높은 것으로 나타났다.

따라서 본 연구에서는 *B. subtilis*(KCTC 3014)와 *B. subtilis* N2를 공시균주로 사용하였다.

증자시간의 영향

공 증자시간을 15, 30, 45, 60분으로 각각 조정하여 증자한 후 선발된 공시균주인 *B. subtilis*(KCTC 3014)와 *B. subtilis* N2를 접종하여 청국장을 제조한 결과는 Table 4와 같다. *B. subtilis*(KCTC 3014)를 접종한 청국장은 증자시간이 증가할수록 더 많은 점질물을 생성하였고 혈전용해효소활성은 30분간 증자하였을 때 165.00 unit로 가장 높게 나타났으며, 아미노태질소 함량은 30, 45분간 증자하였을 때 각각 202.44, 201.70 mg%로 높게 나타났다. *B. subtilis* N2를 접종한 청국장은 증자시간이 증가할수록 점질물, 혈전용해효소활성, 환원당 함량이 높은 것으로 나타났고 아미노태질소 함량은 30, 45분간 증자하였을 때 각각 204.73, 203.96 mg%로 높게 나타났으며, 두 균주 모두 45분간 증자하였을 때 암모니아태질소 함량이 가장 낮은 것으로 나타났다. 암모니아태 질소는 단백질 분해 과정에서 탈아민에 의하여 생성되며 암모니아태 질소가 식품 내에 과량으로 축적되면 부패취로 작용하므로 일반적으로 장류 제품의 변패 또는 이상발효의 지표로 사용된다(27). 따라서 증자시간을 45분으로 설정하는 것이 적당한 것으로 나타났다. 이는 *B. subtilis* DC-2를 이용한 청국장 발효과정 중의 품질변화를 조사한 최 등(15)과 작두콩을 첨가한 청국장 개발을 조사한 김 등(28)과 *Bacillus* sp. CS-17을 이용하여 청국장 발효기간별 품질변화를 조사한 손 등(20)의 증자시간을 40-50분으로 설정한 결과와 비슷한 경향이였다.

Table 4. Comparison of viscous substance, fibrinolytic activity, reducing sugar, amino type nitrogen and ammonia type nitrogen in Cheongbukjang fermentation with different steam time

Strains ¹⁾	Steam time (min)	Viscous substance (%)	Fibrinolytic activity (unit)	Reducing sugar (mg%)	Amino type nitrogen (mg%)	Ammonia type nitrogen (mg%)
A	15	2.82±0.01	154.45±1.34	451.7±4.4	116.67±0.49	104.43±0.62
	30	3.29±0.01	165.00±1.41	450.2±0.8	202.44±0.80	105.28±0.40
	45	3.60±0.01	132.65±1.77	639.9±5.0	201.70±0.45	103.92±0.66
	60	3.74±0.01	39.60±1.41	479.1±1.5	174.97±0.30	137.06±1.04
D	15	5.01±0.01	136.40±1.70	1105.1±6.5	152.90±0.21	109.35±0.58
	30	5.17±0.01	138.85±0.07	1177.8±0.3	204.73±0.45	108.21±0.22
	45	5.43±0.01	180.35±0.35	1182.2±5.9	203.96±0.23	105.61±0.07
	60	5.65±0.01	181.50±1.13	1189.6±2.8	197.80±0.28	142.33±0.52

¹⁾A; *B. subtilis* (KCTC 3014), D; *B. subtilis* N2.

발효시간의 영향

상기의 조건으로 발효시킨 청국장을 10시간 간격으로 품질특성을 조사한 결과는 Fig. 2-6과 같다. 발효 전반에 걸쳐 두 균주 모두 비슷한 경향으로 발효되었으며, *B. subtilis* N2를 접종한 청국장이 *B. subtilis* (KCTC 3014)를 접종한 청국장에 비해 우수한 품질특성을 나타내었다. 발효과정 중 점질물 함량과 혈전용해효소의 활성은 발효 20시간째까지 급격히 증가하다가 이후에는 비슷한 함량을 나타내었다. 환원당 함량은 발효 10시간째까지 급격히 증가하여 최대 함량에 도달하였고 이후에는 비슷한 함량을 나타내었다. 아미노태질소와 암모니아태 질소함량은 발효가 진행됨에 따라 꾸준히 증가하는 것으로 나타났으며 특히, 암모니아태 질소함량 발효 20시간째 이후에 급격한 증가를 보였다. 이는 *B. licheniformis* CN-115균주를 이용하여 청국장을 제조한 석 등(16)의 보고에서 암모니아태 질소가 발효 초기에는 42-70 mg%의 함량을 유지하다가 24시간 이후에 증가하였다는 보고와 유사한 것으로 나타났으며, *Bacillus* sp. CS-17을 이용하여 24, 48, 72, 96시간 발효시켜 제조한 청국장의 경우 냄새에 있어서 발효 24시간의 시료가 가장 높은 기호도를 가지는 것으로 나타난 손 등(20)의 결과와 비교해볼 때 발효 20시간째에서 낮은 암모니아태질소 함량을 보인 본 실험의 결과와 유사한 것으로 생각

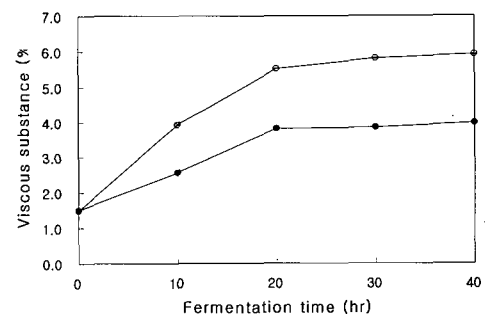


Fig. 2. Changes of viscous substance during Cheongbukjang fermentation by *B. subtilis* (KCTC 3014) and *B. subtilis* N2.

●—●; *B. subtilis* (KCTC 3014), ○—○; *B. subtilis* N2.

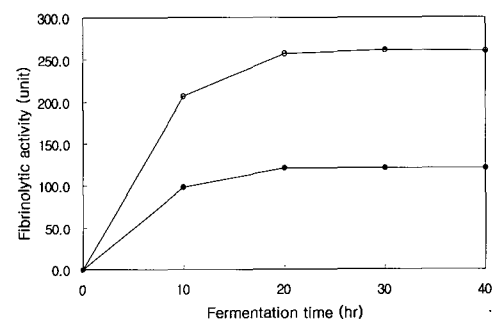


Fig. 3. Changes of fibrinolytic activity during Cheongbukjang fermentation by *B. subtilis* (KCTC 3014) and *B. subtilis* N2.

●—●; *B. subtilis* (KCTC 3014), ○—○; *B. subtilis* N2.

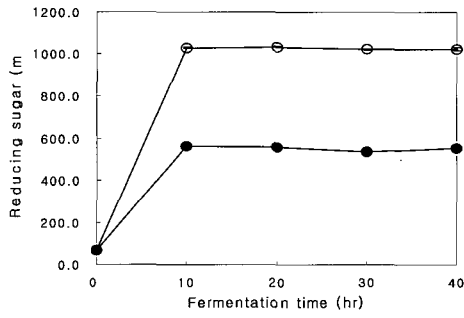


Fig. 4. Changes of reducing sugar during *Cheongbukjang* fermentation by *B. subtilis* (KCTC 3014) and *B. subtilis* N2.

●—●; *B. subtilis* (KCTC 3014), ○—○; *B. subtilis* N2.

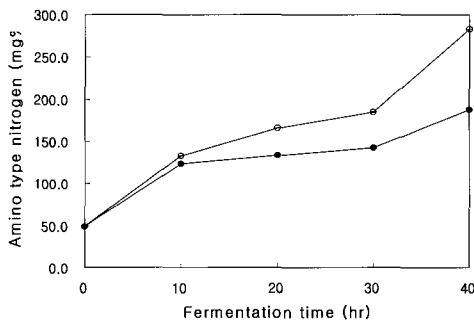


Fig. 5. Changes of amino type nitrogen during *Cheongbukjang* fermentation by *B. subtilis* (KCTC 3014) and *B. subtilis* N2.

●—●; *B. subtilis* (KCTC 3014), ○—○; *B. subtilis* N2.

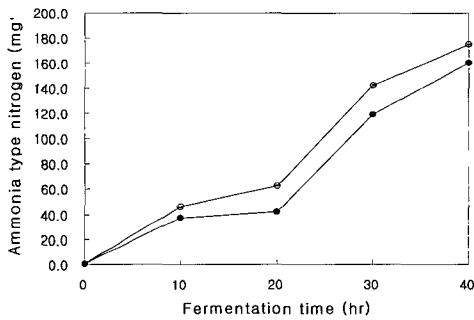


Fig. 6. Changes of ammonia type nitrogen during *Chungkugjang* fermentation by *B. subtilis* (KCTC 3014) and *B. subtilis* N2.

●—●; *B. subtilis* (KCTC 3014), ○—○; *B. subtilis* N2.

된다. 따라서 *B. subtilis*(KCTC 3014)와 *B. subtilis* N2 균주를 이용하여 청국장을 제조 할 때는 20시간정도가 적절한 발효시간으로 나타났다.

요 약

본 연구에서는 혈전용해능이 우수한 균주를 선별하여

청국장의 발효 특성을 비교 조사하였다. 시판청국장에서 분리된 5종 균주의 혈전용해능을 비교한 결과, N2가 41.7%(Plasmin 1unit/mL과 비교)로 가장 높게 나타났고 N3, N5가 각각 27.8%를 나타내었다. N2 균주의 kit동정 결과, *B. subtilis*와 90.1% 유사한 균주로 나타났다. 이를 활용하여 청국장을 제조한 결과, 분양균주에서는 *B. subtilis* (KCTC 3014)가 가장 많은 점질물을 생성하였고, 혈전용해능과 아미노태질소 함량도 가장 높은 것으로 나타났다. 그리고 분리균주에서는 *B. subtilis* N2가 점질물 함량, 혈전용해능, 아미노태질소 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. 증자시간에 따른 영향을 조사한 결과 *B. subtilis* (KCTC 3014)와 *B. subtilis* N2를 접종한 청국장은 증자시간을 45분이 적합한 것으로 나타났으며, 발효시간은 20시간정도가 적합한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2005년 농림부과제(105002-03-01-WT011) 지원으로 수행된 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lee, B.Y., Kim, D.M. and Kim, K.H. (1991) Studies on the change in rheological properties of *Chungkook-jang*. Korean J. Food Sci. Technol., 23, 478-484
2. Yoo, J.Y. (1997) Present status of industries and research activities of Korean fermented soybean products. The Microorganism and Industry, 23, 13-30
3. Ryu, S.H. (2002) Studies on antioxidative effects and antioxidative components of soybean and *chungkugjang*. Doctoral thesis. Inje University of Korea, 23-122
4. In, J.P. and Lee, S.K. (2004) Effect of yucca(*Yucca shidigera*) extract on quality characteristics of *Chungkookjang* using *Bacillus subtilis* p01. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 47, 176-181
5. Shon, M.Y., Kwon, S.H., Park, S.K., Park, J.R. and Choi, J.S. (2001) Changes in chemical components of black bean *Chungkugjang* added with kiwi and radish during fermentation. Korean J. Postharvest Sci. Technol., 8, 449-455
6. Yoo, C.K., Seo, W.S., Lee, C.S. and Kang, S.M. (1998) Purification and characterization of fibrinolytic enzyme excreted by *Bacillus subtilis* K-54 isolated from *Chungkugjang*. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 26,

- 507-514
7. Lee, S.K., Heo, S., Bae, D.H. and Choi, K.H. (1998) Medium optimization for fibrinolytic enzyme production by *Bacillus subtilis* KCK-7 isolated from Korean traditional *Chungkookjang*. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 26, 226-231
 8. Hosoi, T. (1996) Recent progress in treatment of osteoporosis. Nippon Ronen Igakkai Zasshi, 33, 240-244
 9. Kim, J.S., Yoo, S.M., Choe, J.S., Park, H.J., Hong, S.P and Chang, C.M. (1998) Physicochemical properties of traditional *Chonggugjang* produced in different regions. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 41, 377-383
 10. Kim, S.H., Yang, J.L. and Song, Y.S. (1999) Physiological functions of *Chongkukjang*. Food Industry and Nutrition, 4, 40-46
 11. Joo, H.K. (1996) Studies on chemical composition of commercial *Chung-kuk-jang* and flavor compounds of *Chung-kuk-jang* by mugwort (*Artemisia asiatica*) or red pepper seed oil. Korea Soybean Digest, 13, p.44-56
 12. Lee, Y.L., Kim, S.H., Choung, N.H and Yim, M.H. (1992) A study on the production of viscous substance during the *Chungkookjang* fermentation. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 35, 202-209
 13. Lee, B.Y., Kim, D.M. and Kim, K.H. (1991) Physicochemical properties of viscous substance extracted from Chungkook-jang. Korean J. Food Sci. Technol., 23, 599-604
 14. Kim, Y.T., Kim, W.K. and Oh, H.I. (1995) Screening and identification of the fibrinolytic bacterial strain from *Chungkookjang*. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 23, 1-5
 15. Choi, U.K., Son, D.H., Ji, W.D., Im, M.H., Choi, J.D. and Chung, Y.G. (1998) Changes of taste components and palatability during *Chunggugjang* fermentation by *Bacillus subtilis* DC-2. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 840-845
 16. Seok, Y.R., Kim, Y.H., Kim, S., Woo, H.S., Kim, T.W., Lee, S.H. and Choi, C. (1994) Change of protein and amino acid composition during *Chungkook-Jang* fermentation using *Bacillus licheniformis* CN-115. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 37, 65-71
 17. Kwon, H.Y., Kim, Y.S., Kwon, G.S., Kwon, C.S. and Sohn, H.Y. (2004) Isolation of immuno-stimulation strain *Bacillus pumilus* JB-1 from *Chungkook-jang* and fermentational characteristics of JB-1. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 32, 291-296
 18. Ko, H.S., Cho, D.H., Hwang, S.Y. and Kim, Y.M. (1999) The effect of quality improvement by *Chungkukjang's* processing methods. Korean J. Food & Nutr., 12, 1-6
 19. Kim, Y.S., Jung, H.J., Park, Y.S. and YU, T.S. (2003) *Characteristics* of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20 *Chungkukjang*. Korean J. Food Sci. Technol., 35, 475-478
 20. Son, D.H., Kwon, O.J., Ji, W.D., Choi, U.K., Kwon, O.J., Lee, E.J., Cho, Y.J., Cha, W.S. and Chung, Y.G. (2000) The quality changes of *Chungugjang* prepared by *Bacillus* sp. CS-17 during fermentation time. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 43, 1-6
 21. 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
 22. Lee, E.S. and Seo, B.I. (2003) The property of *Bacillus* sp. B-222 isolated from Massa Medicata Fermentata. The Journal of Applied Oriental Medicine., 3, 43-47
 23. Park, C.S., Min, D.K., Ahn, Y.S., Lee, J.H., Hong, S.K., Kim, J.H. and Kang, D.K. (2002) Isolation and characteristics of soy protein-degrading strain, *Bacillus subtilis* EB464. Kor. J. Microbiol. Biotechnol., 30, 210-215
 24. Kim, H.K., Kim, G.T., Kim, D.K., Choi, W.A., Park, S.H. and Jeong, Y.K. (1997) Purification and characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus* sp. KA38 originated from fermented fish. J. Fermentation and Bioengineering, 84, 307-312
 25. Luchsinger, W.W. (1962) Cornesky RA. Reducing power by the dinitrosalicylic acid method, Anal. Biochem., 4, 346-347
 26. AOAC. (1990) Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of official analytical chemists. Washington, DC., p.335
 27. Allagheny, N., Obanu, Z.A., Campbell-Platt, G. and Owens, J.D. (1996) Control of ammonia formation during *Bacillus subtilis* fermentation of legumes. Int. J. Food Microbiol., 29, 321-333
 28. Kim, S.S., Kim, K.T. and Hong, H.D. (2001) Development of *Chunggukjang* adding the sword beans. Korea Soybean Digest, 18, 33-50

(접수 2005년 11월 3일, 채택 2006년 1월 27일)