Microbiol. Biotechnol. Lett. (2019), 47(3), 359–363
http://dx.doi.org/10.4014/mbl.1902.02007
pISSN 1598-642X eISSN 2234-7305

MBL
Microbiology and Biotechnology Letters

메주 발효 관련 *Bacillus, Enterococcus, Staphylococcus* 속 우점종 확인

장미현[1], 정도원[2], 이종훈[1]*
[1]경기대학교 식품생물공학과
[2]동덕여자대학교 식품영양학과

Received: February 8, 2019 / Revised: February 15, 2019 / Accepted: February 25, 2019

Identification of the Predominant *Bacillus*, *Enterococcus*, and *Staphylococcus* Species in Meju, a Spontaneously Fermented Soybean Product

Mihyun Jang[1], Do-Won Jeong[2], and Jong-Hoon Lee[1]*
[1]*Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 16227, Republic of Korea*
[2]*Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Republic of Korea*

Meju is a spontaneously fermented soybean product produced in Korea. We isolated the bacteria of the genera *Bacillus*, *Enterococcus*, and *Staphylococcus* from 12 meju samples collected from five regions of Korea using selective media, and we identified them based on the sequence analysis of 16S ribosomal RNA and *gmk* (guanylate kinase) genes. *Bacillus* and *Enterococcus* strains were identified from all samples and the numbers of *Bacillus* strains in the 11 samples were >15% of the total cell number. Therefore, the genus *Bacillus* was confirmed as the predominant bacterial group of meju. *Staphylococcus* strains were identified from six samples. The identified 151 *Bacillus* isolates predominated in the following order: *B. velezensis*, *B. sonorensis*, *B. subtilis*, and *B. licheniformis*. Among the 165 *Enterococcus* isolates, 163 strains were identified as *E. faecium*. Eighty-two *Staphylococcus* isolates were classified into six species of coagulase-negative *Staphylococcus* group and *S. xylosus* was the predominant species.

Keywords: **Meju, *Bacillus velezensis*, *Bacillus sonorensis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus xylosus***

다양한 대두발효식품이 동아시아 지역에서 만들어지고 있으며, 한국에서는 대두발효식품을 '장'이라 통칭하고 있다. 대표적인 '장'으로는 간장, 된장, 고추장을 들 수 있으며, 이들은 오래전부터 한국요리의 풍미와 영양을 담당해 왔다[1]. 재래식장은 삶은 대두를 성형하여 약 2달간 자연발효한 메주를 기반으로 제조하는데, 메주 제조기간 중 환경에서 유래하는 다양한 미생물이 발효에 관여하는 것으로 알려져 있다[2]. 따라서 메주는 장 제조를 위한 미생물과 효소 뿐만 아니라 대두의 영양과 발효를 통해 생성된 특유한 풍미의 공급원으로 작용하고 있다.

장의 속성발효, 품질표준화 및 품질개선에 적용하기 위하여 단백질 및 전분 분해효소 활성이 높은 미생물을 메주와 장으로부터 분리한 결과, *Aspergillus* 속(genus) 곰팡이와 *Bacillus* 속 bacteria가 다수 분리되어, 이들이 메주 및 장 발효 우점 미생물로 보고되었다[3–6].

한편, 16S ribosomal RNA (rRNA) 유전자 염기서열 기반의 계통발생학적 분류가 bacteria 동정에 적용되고, 이를 활용한 배양 비의존적 미생물상 연구가 메주 및 장을 대상으로 진행되면서 *Bacillus* 속 bacteria 외에도 *Enterococcus* 속을 중심으로 한 유산균, coagulase-negative staphylococci (CNS)를 포함한 다양한 미생물의 존재가 확인되었다[7–16]. 배양 비의존적 미생물상 분석법은 기존 배양 기반의 연구에서 보고되지 않았던 다양한 미생물의 존재를 확인하여 방법론적 우수성을 입증하였지만, 16S rRNA 유전자 염기서열의 상동성이 높은 종(species)의 구분에 어려움이 있어 우점종 도출에 한계를 가지고 있다. 또한, 메주 및 장에서 분리한 우수 기능 보유 *Bacillus* 속 균주가 메주 및 장 제조를 위한 종균(starter)으로 검토되었지만, 적용된 종균이 우점종이라는

***Corresponding author**
Tel: +82-31-249-9656, Fax: +82-31-253-1165
E-mail: jhl@kgu.ac.kr
© 2019, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

근거는 제시된 바 없다[17–22].

최근, 분자수준의 연구를 통한 bacteria 동정기술의 발달로 근연종의 구분이 용이해지고, 새로운 종의 등록이 증가했을 뿐만 아니라, 근연종 동정에 유전체분석 결과가 활용되면서 bacteria의 분류학적 위치가 지속적으로 변경되고 있다[23–25]. 따라서, 기존 메주 및 장 연구에서 분리된 bacteria의 분류학적 위치 재정립의 필요성이 대두되었다. 본 연구에서는 우리나라 5개 지역에서 수집한 12개 메주로부터 *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* 속 bacteria를 선택배지를 이용하여 분리하고, 2018년까지 확립된 bacteria 분류기준에 따라 동정하여 이들 속의 우점종을 검토하였다.

본 연구에 사용된 메주는 강원도, 경기도, 경상도, 전라도, 충청도 각 2지역에서 상업적으로 제조한 메주를 2018년 2월에 구입하였고, 동일 시기에 전통식품명인 윤왕순(전라북도, 완주)의 메주 1종과 선병국 종가(충청북도, 보은)의 메주 1종을 확보하였다. 메주는 구입 후, 4℃에 저장하였다가 사용하였다.

생균수 측정을 위한 메주 시료는 분쇄한 다음, 무게대비 4배의 멸균 생리식염수를 혼합하여 균질화 하고, 멸균한 거즈로 여과하였다. 여액은 멸균 생리식염수로 10배씩 연속희석하여 한천배지에 도말하였다. 1.5% (w/v) NaCl과 10 mg/l cycloheximide가 첨가된 Difco tryptic soy agar (BD Diagnostic Systems, Sparks, USA)에서 35℃, 24시간 배양하여 생장한 colony를 개수하여 총균수로 간주하였다. 여액을 75℃에서 10분간 열처리하여 생장세포를 살균한 다음, 총균수 개수와 동일 조건에서 배양하여 생장한 colony를 *Bacillus* 속 균주로 간주하였다. 10 mg/l cycloheximide와 0.1% (w/v) L-cysteine HCl이 첨가된 Streptococcus Faecalis agar (MB cell, Korea)에 도말하여 35℃, 72시간 배양하여 생장한 colony를 *Enterococcus* 속 균주로 간주하였다. 5% NaCl과 10 mg/l cycloheximide, 25 mg/l nalidixic acid가 첨가된 Difco mannitol salt agar (BD Diagnostic Systems)에 접종하여 35℃, 24시간 배양하여 생장한 colony를 *Staphylococcus* 속 균주로 간주하였다.

12개 메주 시료의 총균수 평균은 1.57×10^{10} CFU/g으로 나타났다(Table 1). 충청도 음성의 시료를 제외한 11개 시료에서는 5.87×10^{6} CFU/g 이상의 bacteria가 검출되어 발효를 언급할 수 있는 정도의 bacteria 존재가 확인되었다. 충청도 음성의 시료는 총균수 뿐만 아니라 *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* 속 bacteria 생균수가 1.74×10^{4} CFU/g 수준 이하로 검출되어 메주 발효가 충분히 진행되지 않은 시료를 구입한 것으로 사료된다. *Bacillus* 및 *Enterococcus* 속은 12개 시료 모두로부터 검출되어 메주 발효의 주요 bacteria로 확인되었다. 경상도 상주의 시료를 제외한 모든 시료에서 *Bacillus* 속은 총균수 대비 15% 이상 검출되어 메주 발효에서 가장 우점하는 bacteria라는 점이 확인되었다. 상주 시료에서는 *Enterococcus* 속이 51.4% 검출되어, 제조자 특유의 메주 제조법이 있는 것으로 추정된다. *Bacillus* 속과 *Enterococcus* 속의 총균수 대비 비중은 시료에 따라 크게 차이가 있어, 이들의 비중이 메주의 풍미를 결정할 수 있는 한 요인으로 작용할 가능성이 있다. *Staphylococcus* 속은 6개 시료에서만 검출되었고, 총균수 대비 *Staphylococcus* 속의 비중은 *Bacillus* 속보다 높지 않지만, 3개 시료로부터 *Enterococcus* 속보다 높게 검출되었다.

Table 1. Cell numbers in meju samples counted on each selective medium.

Geographical origin		Cell number (CFU/g)			
		Total cell	*Bacillus*	*Enterococcus*	*Staphylococcus*
Chungcheongdo	Eumseong	1.74×10^{4}	4.52×10^{3} (26.0)*	1.95×10^{3} (11.2)	5.72×10^{2} (3.3)
	Jeungpyeong	1.51×10^{9}	5.95×10^{8} (39.4)	1.40×10^{2} (0.0)	9.75×10^{5} (0.1)
	Sun	1.08×10^{8}	2.85×10^{7} (26.4)	9.62×10^{6} (8.9)	1.54×10^{7} (14.3)
Gangwondo	Hongcheon	1.98×10^{9}	5.92×10^{8} (29.9)	4.10×10^{5} (0.0)	-
	Yeongwol	8.70×10^{10}	1.34×10^{10} (15.4)	1.76×10^{8} (0.2)	5.10×10^{2} (0.0)
Gyeonggido	Namyangju	3.30×10^{9}	1.95×10^{9} (59.1)	2.16×10^{6} (0.1)	1.22×10^{8} (3.7)
	Paju	4.10×10^{9}	2.43×10^{9} (59.3)	1.06×10^{3} (0.0)	-
Gyeongsangdo	Sancheong	5.87×10^{6}	2.00×10^{6} (34.1)	8.48×10^{5} (14.4)	-
	Sangju	1.59×10^{8}	1.92×10^{6} (1.2)	8.18×10^{7} (51.4)	-
Jeollado	Goheung	9.00×10^{10}	4.52×10^{10} (50.2)	1.12×10^{8} (0.1)	-
	Sunchang	5.75×10^{8}	2.94×10^{8} (51.1)	7.45×10^{2} (0.0)	-
	Yoon	5.72×10^{7}	1.34×10^{7} (23.4)	2.90×10^{6} (5.1)	1.72×10^{6} (3.0)

Chungcheongdo, Gangwondo, Gyeonggido, Gyeongsangdo, and Jeollado, are the administrative district in Republic of Korea. The samples of Yoon and Sun were purchased from the traditional Korean food master Wangsoon Yoon and the head house of Byung-gook Sun, respectively. *The numbers in parenthesis indicate the proportion of each group against total cell numbers.

http://dx.doi.org/10.4014/mbl.1902.02007

전통식품명인 윤왕순과 선병국 종가 메주에서는 모두 *Staphylococcus* 속이 검출되어 재래식 제조법에 가까울수록 *Staphylococcus* 속이 다수 검출될 가능성이 예상되고, *Staphylococcus* 속의 존재에 따라 메주의 풍미가 달라질 수 있는 가능성이 제시되었다.

각 선택배지에서 생장한 bacteria는 계수 후, 크기, 모양, 색깔 등의 다양성을 고려하여 약 15개 colony를 동일 배지를 이용하여 순수분리하였다. 순수분리한 bacteria는 16S rRNA 유전자 및 *gmk* (guanylate kinase) 유전자 염기서열 분석을 통해 동정하였다. 분리된 bacteria의 유전자 증폭은 Genomic Plus DNA Prep Kit (Inclone, Korea)을 이용하여 추출한 DNA를 PCR 하거나 colony PCR을 이용하여 수행하였다. 16S rRNA 유전자 증폭에 사용된 primer는 eubacterial universal primer 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC A-3')와 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3')을 사용하였다[26]. *gmk* 유전자 증폭을 위한 primer는 GenBank에 등록된 *gmk* 유전자의 상동성을 고려하여 *Bacillus* 속(F: 5'-GAG GGT TAT TAA TCG TTC TCT C-3', R: 5'-CCT CCA GCA TTT TCT TAT ATC-3'), *Enterococcus* 속(F: 5'-ATG KCA GAG CGT GGA TTA-3', R: 5'-GCC ATC ATT TCG ATT TCT KC-3'), *Staphylococcus* 속(F: 5'-CCD TCT GGC GTT GGG AAA GG-3', R: 5'-GCC TCC AGT ATC ATT TTT C-3') bacteria의 종 수준 동정이 가능하도록 제작하였다. PCR 반응은 T3000 Thermocycler (Biometra, Gottingen, Germany)를 사용하였고, 50 μl PCR 반응계에는 template DNA 또는 소량의 colony, 10 mM dNTP, 1 U *Taq* polymerase (Inclone), 10 pmol의 primer를 첨가하였다. PCR 반응은 95℃에서 5분간 예비가열 후, 95℃에서 30초간 변성, 55℃에서 30초 annealing, 72℃에서 1분 중합반응의 과정을 30회 반복하였고, 마지막에 72℃에서 5분간 처리한 후 반응을 중단시켰다. 증폭된 PCR 산물은 Gel & PCR Purification Kit (Inclone)을 사용하여 정제한 후, 수탁업체(Bionics, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 National Center for Biotechnology Information database (NCBI, http://www.ncbi.nlm.nih.gov)의 BLAST program을 이용하여 GenBank에 등록된 염기서열정보를 대상으로 상동성분석을 수행하였다. 해당 염기서열과 가장 높은 상동성을 나타내는 표준균주(type strain)를 포함하는 분류학적 단위(taxonomic unit)를 해당 균주의 종으로 결정하였다.

Bacillus 속 선택배지에서 선발한 총 151개 분리주의 동정 결과, 모두 *Bacillus* 속으로 확인되었지만, *Enterococcus* 속의 경우 174개 분리주 중 165균주가 *Enterococcus* 속으로, *Staphylococcus* 속은 87개 분리주 중 82균주가 *Staphylococcus* 속으로 확인되었다(data not shown). 본 연구에서 사용한 *Bacillus* 속 개수법은 *Bacillus* 속 만을 검출하였지만, *Enterococcus* 속과 *Staphylococcus* 속 개수법은 최대 6%의 오류가 있는 것으로 확인되었다.

동정이 완료된 *Bacillus* 속 151균주에는 5개 종의 존재가 확인되었고, *B. velezensis, B. sonorensis* 순의 우점이 확인

Table 2. Numbers of species isolated from meju samples collected from several distract of Korea.

Species	Geographical origion												Total
	Chungcheongdo			Gangwondo		Gyeonggido		Gyeongsangdo		Jeollado			
	Eum-seong	Jeung-pyeong	Sun	Hong-cheon	Yeongwol	Nam-yangju	Paju	Sancheong	Sangju	Goheung	Sunchang	Yoon	
Bacillus licheniformis		2					2	1			2	2	9
Bacillus paralicheniformis											1		1
Bacillus sonorensis	1	11		2				2	6		9	7	38
Bacillus subtilis	3	1				1	2	2		4	1	2	16
Bacillus velezensis	4		12	9	14	15	10	10	4	7	2		87
Enterococcus faecium	11	15	15	13	15	15	11	13	13	13	14	15	163
Enterococcus gallinarum							2						2
Staphylococcus kloosii					12								12
Staphylococcus nepalensis			1			1							2
Staphylococcus saprophyticus	8												8
Staphylococcus sciuri		5										1	6
Staphylococcus succinus												6	6
Staphylococcus xylosus	2	10	14			14						8	48
Total	29	44	42	24	41	46	27	28	23	24	29	41	398

Chungcheongdo, Gangwondo, Gyeonggido, Gyeongsangdo, and Jeollado, are the administrative district in South Korea. The samples of Yoon and Sun were purchased from the traditional Korean food master Wangsoon Yoon and the head house of Byung-gook Sun, respectively.

되었으며, *B. subtilis*, *B. licheniformis*가 그 뒤를 이었다 (Table 2). 본 연구에서 분리된 *Bacillus* 속 대부분의 종은 기존 장 연구에서 검출되었지만, *B. velezensis*의 우점은 처음으로 제시되었다. 최근, bacteria의 동정에 유전체분석 결과가 활용되면서 *B. methylotrophicus*, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, *B. oryzicola*가 *B. velezensis*로 통합되었다[24, 25]. *B. methylotrophicus*는 2010년 신종으로 등록된 이후[27], 메주와 된장에서 검출되었다[8, 12]. 따라서, 본 연구에서 *B. velezensis*로 동정된 균주의 일부는 기존 분류기준에 따르면 *B. methylotrophicus*로 동정될 가능성이 있다. 배양 비의존적 미생물상 연구에서 우점종으로 제시된 바 있는 *B. amyloliquefaciens*는 최근 들어 메주 및 장 제조를 위한 종균으로 주목받고 있지만[12, 18, 19], 본 연구에서는 검출되지 않았다. 2018년 12월까지 NCBI database에 등록된 152균주의 *B. velezensis* 유전체 정보 중, 28균주는 과거 *B. amyloliquefaciens*로, 12균주는 *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*로, 18균주는 *B. methylotrophicus*로 11균주는 *B. subtilis*로 등록되었다는 점을 확인하였다. 따라서, 국내에서 분리되어 보존 중인 *B. amyloliquefaciens*를 포함하는 *B. subtilis* group 균주들에 대한 재동정의 필요성이 제기되었다. *B. licheniformis*의 근연종 *B. sonorensis*는 2001년 신종등록[28] 이후, 된장으로부터 검출된 바 있으며[16], 국내 각 지역에서 수집한 9개 메주 시료를 pyrosequencing한 연구에서 가장 높은 빈도로 검출되는 종으로 확인되었다[13]. 1균주가 분리된 *B. paralicheniformis*는 2015년 *B. licheniformis*로부터 독립하였고[23], *B. sonorensis*와도 높은 16S rRNA 유전자 상동성을 가지고 있다[29]. 본 연구에서 *B. licheniformis*, *B. paralicheniformis*, *B. sonorensis*로 동정된 균주들은 과거 연구에서 *B. licheniformis*로 동정되었을 가능성이 높다[3, 5, 6, 8, 16]. 따라서 최근 정리된 *Bacillus* 속의 분류기준에 근거하면 본 연구에서 우점으로 검출된 *B. velezensis*, *B. sonorensis*가 메주 발효의 우점종일 가능성은 상당히 높다.

동정이 완료된 *Enterococcus* 속 165균주 중, 163균주가 *E. faecium*으로 확인되었다. 메주 및 장을 대상으로 한 배양 비의존적 미생물상 연구에서 *E. faecium*과 함께 *E. faecalis* 및 *E. durans*의 우점이 보고되었지만[11–13, 16], 16S rRNA 유전자 염기서열 99.7% 상동성을 가지고 있는 *E. durans*와 *E. faecium*의 구분에는 오류가 발생할 가능성이 높다. 본 실험의 12개 시료 모두로부터 *Enterococcus* 균주가 분리되었고, 이들의 대부분이 *E. faecium*으로 동정되었다는 점을 고려하면 *E. faecium*이 메주 발효의 우점종일 가능성은 상당히 높다.

Staphylococcus 속 82균주에는 6개 종의 존재가 확인되었지만, 각 시료로부터 분리된 균주들의 종 다양성은 3개를 넘지 않았고, 강원도 영월의 시료에서는 *S. kloosi*만이 검출되었다. *Staphylococcus* 속의 존재를 확인한 기존 연구[8, 11, 16]에서도 본 연구에서 검출되지 않은 *S. equorum*, *S. gallinarum*, *S. lentus*, *S. vitulinus*, *S. warneri* 등의 다양한 종의 존재가 보고되었다는 점으로 보아 제조원에 따라 검출되는 *Staphylococcus* 종의 차이가 예상된다. 본 실험에서 검출된 6개 종은 위해성이 보고되지 않은 CNS로 확인되었고, *Staphylococcus* 속이 검출된 6개 시료 중 5개 시료에서 분리된 *S. xylosus*가 우점종으로 확인되었다. *S. xylosus*는 고염에서 발효되는 발효육류, 치즈 등에서 우점으로 분리되고 있으며, 유럽에서는 *S. carnosus*와 함께 육류 발효를 위한 종균으로 사용되고 있다[30]. 우리나라 식품의약품안전처(http://www.foodsafetykorea.go.kr/portal)에서도 발효육류 및 치즈 제조에 한하여 사용을 허가하고 있어, 추가적 연구를 통하여 안전성 및 기능성이 확보된다면 고품질 장 제조를 위한 종균으로 사용 가능할 것으로 예상된다.

요 약

국내 5개 지역에서 수집한 12개 메주로부터 *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* 속 bacteria를 선택배지를 이용하여 분리하고, 16S ribosomal RNA 유전자 및 *gmk* (guanylate kinase) 유전자 염기서열분석을 통해 동정하여, 이들 속의 우점종을 검토하였다. *Bacillus* 속과 *Enterococcus* 속은 모든 시료로부터 검출되었고, *Bacillus* 속은 11개 시료에서 총균수 대비 15% 이상 검출되어 메주 발효에서 가장 우점하는 bacteria로 확인되었다. *Staphylococcus* 속은 6개 시료에서만 검출되었다. *Bacillus* 속으로 동정된 151개 분리주는 *B. velezensis*, *B. sonorensis* 순으로 우점하였고, *B. subtilis*, *B. licheniformis*가 그 뒤를 이었다. *Enterococcus* 속으로 동정된 165개 분리주 중, 163균주가 *E. faecium*으로 확인되었다. *Staphylococcus* 속으로 동정된 82개 분리주에는 6종의 coagulase-negative *Staphylococcus* 존재가 확인되었고, *S. xylosus*가 우점종으로 확인되었다.

Acknowledgments

This research was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF), funded by the Ministry of Education (NRF-2016R1D1A1B01011421 and NRF-2016R1D1A1B03930239). Mihyun Jang was supported by Kyonggi University's Graduate Research Assistantship 2019.

Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

References

1. Shin D, Jeong D. 2015. Korean traditional fermented soybean products: *Jang*. *J. Ethnic Foods* **2**: 2-7.
2. Park KY, Hwang KM, Jung KO, Lee KB. 2002. Studies on the standardization of *doenjang* (Korean soybean paste). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**: 343-350.
3. Choi KK, Cui CB, Ham SS, Lee DS. 2003. Isolation, identification and growth characteristics of main strain related to meju fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**: 818-824.
4. Kang MJ, Kim SH, Joo HK, Lee GS, Yim MH. 2000. Isolation and identification of microorganisms producing the soy protein-hydrolyzing enzyme from traditional *mejus*. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **43**: 86-94.
5. Kwon OJ, Kim JK, Chung YK. 1986. The characteristics of bacteria isolated from ordinary Korean soy sauce and soybean paste. *J. Korean Agri. Chem. Soc.* **29**: 422-428.
6. Yoo SK, Cho WH, Kang SM, Lee SH. 1999. Isolation and identification of microorganisms in Korean traditional soybean paste and soybean sauce. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 113-117.
7. Cho KM, Seo WT. 2007. Bacterial diversity in Korean traditional soybean fermented foods (*doenjang* and *ganjang*) by 16S rRNA gene sequence analysis. *Food Sci. Biotechnol.* **16**: 320-324.
8. Jeong DW, Kim HR, Jung G, Han S, Kim CT, Lee JH. 2014. Bacterial community migration in the ripening of doenjang, a traditional Korean fermented soybean food. *J. Microbiol. Biotechnol.* **24**: 648-660.
9. Jung JY, Lee SH, Jeon CO. 2014. Microbial community dynamics during fermentation of doenjang-meju, traditional Korean fermented soybean. *Int. J. Food Microbiol.* **185**: 112-120.
10. Jung WY, Jung JY, Lee HJ, Jeon CO. 2016. Functional characterization of bacterial communities responsible for fermentation of *doenjang*: a traditional Korean fermented soybean paste. *Front. Microbiol.* **7**: 827.
11. Kim TW, Lee JH, Kim SE, Park MH, Chang HC, Kim HY. 2009. Analysis of microbial communities in *doenjang*, a Korean fermented soybean paste, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.* **131**: 265-271.
12. Kim YS, Jeong DY, Hwang YT, Uhm TB. 2011. Bacterial community profiling during the manufacturing process of traditional soybean paste by pyrosequencing method. *Korean J. Microbiol.* **47**: 275-280.
13. Kim YS, Kim MC, Kwon SW, Kim SJ, Park IC, Ka JO, *et al*. 2011. Analyses of bacterial communities in meju, a Korean traditional fermented soybean bricks, by cultivation-based and pyrosequencing methods. *J. Microbiol.* **49**: 340-348.
14. Lee JH, Kim TW, Lee H, Chang HC, Kim HY. 2010. Determination of microbial diversity in *meju*, fermented, cooked soya beans, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Lett. Appl. Microbiol.* **51**: 388-394.
15. Lee SY, Kim HY, Lee S, Lee JM, Muthaiya MJ, Kim BS, *et al.* 2012. Mass spectrometry-based metabolite profiling and bacterial diversity characterization of Korean traditional *meju* during fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 1523-1531.
16. Nam YD, Lee SY, Lim SI. 2012. Microbial community analysis of Korean soybean pastes by next-generation sequencing. *Int. J. Food Microbiol.* **155**: 36-42.
17. Chang M, Chang HC. 2007. Characteristics of bacterial-koji and doenjang (soybean paste) made by using *Bacillus subtilis* DJI. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 325-333.
18. Cho MJ, Shim JM, Lee JY, Lee KW, Yao Z, Liu X, *et al.* 2016. Properties of meju fermented with multiple starters. *Microbiol. Biotechnol. Lett*. **44**: 109-116.
19. Hong Y, Jung HJ, Han SK, Kim HY. 2016. Potentiality of *Bacillus amyloliquefaciens* KFCC11574P isolated from Korean traditional *doenjang* as a starter in the production of functional soya bean paste. *Int. J. Food Sci. Technol.* **51**: 105-113.
20. Ji WD, Yang SH, Choi MR, Kim JK. 1995. Volatile components of Korean soybean paste produced by *Bacillus subtilis* PM3. *J. Microbiol. Biotechnol.* **5**: 143-148.
21. Lee KH, Choi HS, Hwang KA, Song J. 2016. Quality changes in doenjang upon fermentation with two different *Bacillus subtilis* strains. *J. East Asian Soc. Diet. Life* **26**: 163-170.
22. Yoo SK, Kang SM, Noh YS. 2000. Quality properties on soy bean pastes made with microorganisms isolated from traditional soy bean paste. *Korean J. Food Sci. Technol.* **32**: 1266-1270.
23. Dunlap CA, Kwon SW, Rooney AP, Kim SJ. 2015. *Bacillus paralicheniformis* sp. nov., isolated from fermented soybean paste. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **65**: 3487-3492.
24. Dunlap CA, Kim SJ, Kwon SW, Rooney AP. 2016. *Bacillus velezensis* is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and '*Bacillus oryzicola*' are later heterotypic synonyms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **66**: 1212-1217.
25. Fan B, Blom J, Klenk HP, Borriss R. 2017. *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus siamensis* form an "Operational Group *B. amyloliquefaciens*" within the *B. subtilis* species complex. *Front. Microbiol.* **8**: 22.
26. Lane DJ. 1991. 16S-23S rRNA sequencing, pp. 115-175. *In* Stackebrandt E, Goodfellow M (eds.), *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. Wiley, New York.
27. Madhaiyan M, Poonguzhali S, Kwon SW, Sa TM. 2010. *Bacillus methylotrophicus* sp. nov., a methanol-utilizing, plant-growth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*. **60**: 2490-2495.
28. Pal misano MM, Nakamura LK, Duncan KE, Istock CA, Cohan FM. 2001. *Bacillus sonorensis* sp. nov., a close relative of *Bacillus licheniformis*, isolated from soil in the Sonoran Desert, Arizona. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*. **51**: 1671-1679.
29. Jeong DW, Lee B, Lee H, Jeong K, Jang M, Lee JH. 2018. Urease characteristics and phylogenetic status of *Bacillus paralicheniformis*. *J. Microbiol. Biotechnol*. **28**: 1992-1998.
30. Resch M, Nagel V, Hertel C. 2008. Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures. *Int. J. Food Microbiol*. **127**: 99-104.