

## Bacillus licheniformis CN-115 균주를 이용한 청국장 제조 과정에 있어서 단백질 및 아미노산의 변화

석영란 · 김영활<sup>1</sup> · 김 성 · 우희섭 · 김태완 · 이선호 · 최 청\*

영남대학교 식품가공학과, <sup>1</sup>대구 보건전문대학 임상병리과

**초록 :** *Bacillus licheniformis* CN-115 균주를 이용하여 청국장 제조 중 발효시간에 따른 성분의 변화를 조사 하였다. 일반성분은 발효진행 동안 다소 불규칙한 증감현상을 보였으나 수분만이 증자 직후 52.43%에서 발효진행 동안 약간 감소하는 경향이였다. 아미노태질소의 함량은 발효 36시간 이후 급격히 증가하였으며 발효 60시간에는 18.072 mg/g으로 최고치가 되었고, 암모니아태 질소는 발효 초기에는 거의 일정하다가 발효 24시간에 약간 증가하기 시작하여 60시간에 역시 최고치가 되었다. 청국장의 발효가 진행됨에 따라 pH는 상승하여 60시간에는 8.39가 되었고, protease활성은 발효경과에 따라 상승하여 산성과 중성 protease는 48시간에 활성이 가장 높았다가 그 이후에는 약간 감소하였다. 청국장 발효과정 중에서 용출한 protease의 최적 pH는 6.5였으며, 온도는 35°C 였다. 청국장 발효시간의 경과에 따라 수용성 단백질과 염용해성 단백질의 함량은 계속 증가 하였고, 발효 48시간째의 수용성 단백질의 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis를 실시하여 주단백질 분자량을 측정한 결과 19,000정도 이었다. 증자 직후 수용성 단백질의 아미노산 조성은 총 16종이었고, 이중 proline이 가장 많았으며, 그 다음이 glutamic acid, serine순이었다. 염용성 단백질의 아미노산 조성은 증자 직후 총 16종이었고, phenylalanine, glutamic acid, aspartic acid순으로 그 함량이 많았다(1994년 1월 18일 접수, 1994년 3월 9일 수리).

대두의 발효 식품은 옛날부터 주로 식물성 식품을 섭취하는 우리나라를 비롯하여 동양의 여러 나라에서 중요한 단백질 급원식품으로 이용되어 왔다. 대두는 조직이 지나치게 치밀할 뿐만 아니라 단백질의 소화흡수를 저해하는 trypsin inhibitor와 적혈구 응집소인 hemagglutinin 등이 함유되어 있어서 가열처리, 기타 여러 가지 가공 방법을 통하여 이들을 용이하게 파괴시켜 각 민족의 기호에 맞는 독특한 대두 가공 식품들이 제조되어 식품화 되고 있다. 청국장은 우리나라의 주요한 조미료이며 부식이기도 하며 이런 대두 가공식품들은 각종 필수 아미노산이 고루 함유되어 있어 그 영양학적 가치와 식품학적 견지에서 볼 때 불가결한 존재임은 이미 밝혀진 사실이다.

박 등<sup>1)</sup>과 김 등<sup>2)</sup>은 청국장 발효 중 유효세균을 분리 동정하였으며, 많은 연구자들에 의하여 청국장 제조 방법을 위한 최적조건이 검토되었다.<sup>3-8)</sup> 청국장 매주 제조 과정에 있어서 생성된 아미노산 및 펩티드,<sup>9)</sup> 질소화합

물의 소장,<sup>10-12)</sup> 휘발성 향기 성분,<sup>13-15)</sup> 당류<sup>16-18)</sup> 및 유 지성분의 변화<sup>19)</sup>에 관한 연구가 보고된 바 있다. 정 등<sup>20)</sup>은 청국장 제조에서 phytase활성을 갖는 균주의 역할을 규명하였고, 이 등<sup>21)</sup>은 *B. natto*를 이용하여 청국장을 제조하여 제품의 조직 및 화학적 특성을 조사하였다.

이 등<sup>22,23)</sup>은 청국장을 소재로 한 spread 형태의 가공 식품을 제조하기 위해 *B. natto*와 *B. subtilis*의 두 균주로 청국장을 제조하여 점도, 색도 및 퍼짐성 등을 검토하였고, 청국장 발효과정 중 생성되는 점질물의 성분과 생리활성기의 이화학적 특성을 조사하였다. 김 등<sup>18)</sup>은 *B. subtilis* 균주를 이용하여 Natto 제조 중 발효시간에 따른 아미노태 질소와 수용성질소, protease역가, 유리당 및 유리아미노산 함량 등의 변화를 조사하여 최적 발효조건을 설정하였다. Julisty 등<sup>8)</sup>의 Natto starter 생산에 관한 연구, Sumi 등<sup>24)</sup>은 Natto의 발효 과정 중에서 생성되는 단백질 분해효소 중 혈전증을 예방 및 치료할 수 있는 nattokinase에 관하여 보고하였다. 이상과 같이

Key words : *Bacillus licheniformis* CN-115, Chungkook-Jang, Proteinase

\*Corresponding author : C.-Choi

대부분의 청국장 제조에 있어서 *B. natto*와 *B. subtilis* 두 균주를 이용하여서는 많이 연구 보고된 바 있으나, *B. licheniformis* 균주를 이용한 청국장 제조에 관하여서는 단편적으로 장 등<sup>25)</sup>의 *B. licheniformis* SSAS이 생성하는 proteinase의 정제 및 그 특성에 관한 보고가 있을 뿐이다.

우리의 식생활이 점차 서구화 됨에 따라 동물성 식품의 섭취량이 증가하여 동물성 지방의 과다 섭취로 인하여 열량이 많아지고, 체액의 산성화 위험이 따를 뿐만 아니라 성인병 유발이 날로 증가하고 있다. 이것의 치료와 예방의 한 방법으로 체내 cholesterol 저하 대책의 기초 자료를 얻고자 본 연구에서는 *Bacillus licheniformis* CN-115 균주를 이용하여 청국장 제조 중 발효 시간의 경과에 따른 아미노산, 단백질 및 효소력 변화 등을 검토하였기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 대두는 1992년 8월 시중에서 구입한 한국산 중립의 태백종 대두유를 시료로 사용하였으며, 그 일반성분은 조 단백질 35.65%, 조지방 19.10%, 조회분 5.35%, 수분 8.99% 이었다.

### 사용균주

영남대학교 식품공학부 생화학 연구실에서 보관중인 *Bacillus licheniformis* CN-115(이하 BL) 균주를 공시균주로 사용하였다.

### 청국장의 제조

청국장은 김 등<sup>26)</sup>의 방법에 따라 제조하였다. 선별한 대두 3 kg을 20°C의 물에 15시간 침지한 후 1시간 동안 물빼기를 하여 300 ml 삼각 flask에 약 200 g씩 평량하여 솜마개한 후 autoclave에서 10 lbs의 압력으로 1시간 증자하였다. 이것을 50°C로 냉각하여 무균적인 조건하에서 상법으로 균주를 접종하고 37°C 정온기에서 48시간 정지배양시켜 청국장 메주를 제조하였다.

분석용 시료는 1회 실험에 삼각 flask 내의 청국장 메주 전부를 막자 사발에서 마쇄혼합하여 두께 0.03 mm의 폴리에틸렌 접주머니에 넣어 동결저장하여 두고 일정량을 채취하여 실험에 사용하였다.

### 일반성분

시료의 수분, 조단백, 조지방, 조섬유, pH, 적정산도,

회분 함량은 A.O.A.C.법<sup>26)</sup>에 의하여 측정하였으며, 아미노산 질소는 formol 적정법, 암모니아태 질소는 folin법으로 측정하였다.<sup>27)</sup>

### Protease의 최적 pH 및 온도

공시균 접종 후 일정시간 배양시킨 청국장 메주 10 g 정도를 삼각 flask에 취하여 25 mM citrate buffer(pH 3.0), 25 mM acetate buffer(pH 4.0, 5.0), 25 mM phosphate buffer(pH 6.0~8.0), 25 mM boric acid-borax buffer(pH 9.0), 25 mM borax-NaOH buffer(pH 10.0)를 100 ml씩 가하여 실온에서 24시간 진탕 추출한 후 그 액을 여과하여 그 여액의 protease활성을 측정하여 단백질 분해 용출을 위한 최적 pH를 실험하였다.

청국장 제조시 균주 접종 후 20°C, 30°C, 35°C, 40°C, 50°C, 60°C의 각각 다른 온도의 정온기에서 일정 시간 배양 후 위에서 정해진 최적 pH의 buffer를 가해 진탕 추출하여 그 액을 여과한 다음 그 여액의 protease활성을 측정하여 단백질 분해 용출을 위한 최적 온도를 실험하였다.

### 단백질 분리 및 정량

청국장 메주를 Wang 분류법<sup>28)</sup>에 따라 수용성 단백질과 염용해성 단백질을 분리한 후, 단백질의 정량은 Lowry 등<sup>29)</sup>의 방법에 의하여 측정하였다.

### Protease활성측정

시료 10 g을 취하고 증류수를 가하여 100 ml로 한 후 실온에서 1시간 진탕 추출하고 여과한 액을 조효소액으로 하여 Anson,<sup>30)</sup> 菽源법<sup>31,32)</sup>으로 protease 활성을 측정하였다.

효소활성은 조효소액 1 ml가 1분간에 1 µg의 tyrosine을 생성하는 효소양을 1 unit로 하였다.

### 주단백질의 분자량 측정

주단백질의 분자량 측정은 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel 전기영동으로 Weber와 Osborn의 방법<sup>33)</sup>에 따라 실시하여 전개한 후  $R_m$ 치에 따라 표준곡선을 이용하여 분자량을 측정하였다. 이때 표준품으로 bovine serum albumin(M.W.66000), egg albumin(M.W.66000), (M.W.45000), pepsin(M.W.34700), trypsinogen(M.W.24000),  $\beta$ -lactoglobulin(M.W.18400), lysozyme(M.W.14300)을 사용하였다.

### 아미노산 분석

Table 1. Change of chemical components and nitrogen compounds during *Chungkook-Jang* fermentation

Chemical component	Fermentation time (hours)						
	0	6	12	24	36	48	60
Moisture (%)	52.43	52.30	49.49	49.53	48.98	46.94	46.07
Crude ash (%)	2.23	2.09	2.24	2.25	2.32	2.31	2.10
Crude lipid (%)	7.83	7.38	8.21	8.56	8.08	7.92	7.80
Crude protein (%)	17.74	17.51	17.40	18.85	17.72	17.44	17.26
Crude fiber (%)	4.68	6.59	5.39	5.81	5.85	4.72	4.81
NFE* (%)	15.09	14.13	17.27	15.00	17.05	20.67	21.96
Amino nitrogen (mg/g)	0.250	0.250	0.250	0.375	0.589	14.598	18.072
Ammonia nitrogen (%)	0.42	0.70	0.70	0.70	0.92	0.98	1.27

\*NFE: nitrogen free extract

수용성 및 염용해성 단백질의 아미노산 분석은 5 ml 크기의 유리관에 20 mg의 각각의 단백질을 넣은 후 6 M HCl로 24시간 동안 가수분해 하였다. 가수분해한 분해액을 여과하여 40°C 이하에서 rotary evaporator를 사용하여 염산을 완전히 증발시킨 다음 10 ml sodium citrate buffer(pH 7.0)에 용해시킨 것을 아미노산 자동분석기로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반 성분의 변화

청국장 발효 과정 중의 수분, 조단백질, 조지방, 조섬유, 조회분, 아미노태 질소, 암모니아태 질소 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 수분 함량은 증자 직후 52.43%에서 발효 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타냈지만, 큰 차이는 보이지 않았다. 이러한 결과는 김 등<sup>3)</sup>의 청국장 발효에 있어서 각 시험구의 수분함량에 큰 변화를 보이지 않은 것과 같은 경향을 보였다. 그러나 성 등<sup>12)</sup>의 수분 함량이 증자 직후 64.4%에서 발효 시간이 경과함에 따라 조금씩 증가하는 경향이었던 것과는 대조적인 결과였다.

조단백질, 조지방의 함량은 발효가 진행됨에 따라 다소간 불규칙한 증감현상을 나타내었으며, 원료 대두에 비하여 조단백질, 조지방 등의 함량은 거의 변화가 없었다. 아미노태 질소는 청국장의 구수한 맛 성분의 중요한 인자로 발효 초기부터 12시간까지는 변화가 없다가 그후 급격히 증가하여 발효 48시간에는 14.6 mg/g이나 되었고, 최종 발효 시간인 60시간에는 18.1 mg/g으로 최고치가 되었다. 이는 발효 초기에서 20시간까지는 초기의 11배 이상 증가하다가 그 이후에는 약간 감소한다는 김 등<sup>18)</sup>의 보고와는 다른 결과를 나타내었다.

Table 2. Changes of pH and total acidity during *Chungkook-Jang* fermentation

	Fermentation time (hours)						
	0	12	12	24	36	48	60
pH	6.23	6.29	6.51	6.83	7.51	8.05	8.39
Total acidity (0.1N NaOH/ml)	0.45	0.50	0.40	0.65	0.50	0.30	0.26

암모니아태 질소는 발효 초기에는 거의 일정하다가 발효 24시간 이후 약간 증가하여 역시 최종 발효시간인 60시간에 최고치가 되었는데, 이는 김 등<sup>18)</sup>의 증자 직후 0.12에서 발효시간이 경과함에 따라 증가하여 발효 20시간에는 0.98%로 최고치가 되었으나 그 후 감소하는 경향이었던 보고와는 차이가 있었다.

### pH 및 적정 산도의 변화

청국장 발효 과정 중의 pH와 적정 산도의 경시적 변화는 Table 2와 같다. 증자 직후 pH는 6.23이었고 발효가 진행됨에 따라 pH가 상승하여 60시간에는 8.39로 청국장 제조시 pH 상승경향은 김 등<sup>3)</sup>과 박<sup>10)</sup>이 보고한 결과와 비슷하였다. 적정 산도도 발효 시간이 경과함에 따라 불규칙적이다가 24시간에는 0.65까지 증가하였고 그 이후에는 점차 감소하였다. 그러나 청국장에서 발효 시간이 경과함에 따라 적정산도가 감소했다는 보고<sup>3,5)</sup>와는 상이한 결과였다.

### Protease 활성의 변화

청국장 발효 과정 중의 단백질 분해 효소의 역가는 Fig. 1과 같다. 즉, 중성 protease는 발효 초기부터 활성이 증가하여 48시간에 최대 활성을 보이다가 그 이후에는

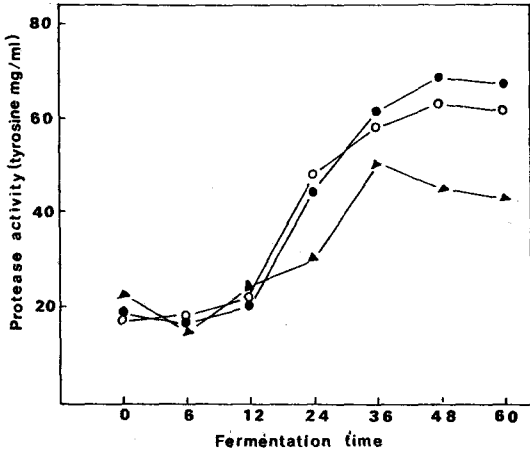


Fig. 1. Changes of protease activity during Chungkook-Jang fermentation.  
 ●—●: Acid protease activity (pH 3), ○—○: Neutral protease activity (pH 7), ▲—▲: Alkaline protease activity (pH 9).

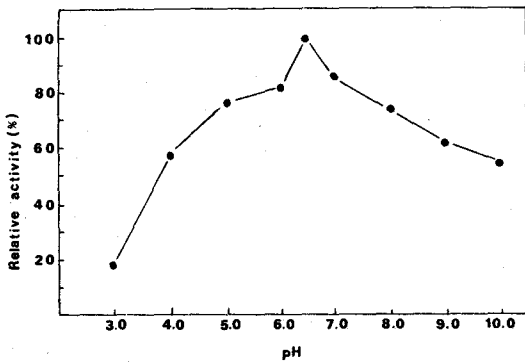


Fig. 2. Optimum pH of the protease from Chungkook-Jang fermented for 48 hrs.

활성이 떨어졌다. 산성 protease는 발효 초기에 증가 직후보다 활성이 약간 떨어지다가 그 후 활성이 증가하여 48시간에서 역시 최대 활성을 보였으나 그 이후 활성이 약간 감소하였다. 알칼리성 protease도 산성 protease와 같이 발효 초기에 활성이 떨어졌다가 그 후 증가하여 36시간에 최대 활성을 나타내다가 그 이후 감소하였는데, 대체로 산성, 중성 protease보다 활성이 감소하였다.

김 등<sup>31)</sup>은 Natto 발효과정 중의 단백질 분해효소의 활성 중 산성 protease의 활성은 발효 초기에 다소 감소하다가 16시간에는 최대활성을 나타내었다. 중성 및 알칼리성 protease의 활성은 발효 초기부터 서서히 증가하여 20시간에서 최대 활성을 나타낸다고 보고하여

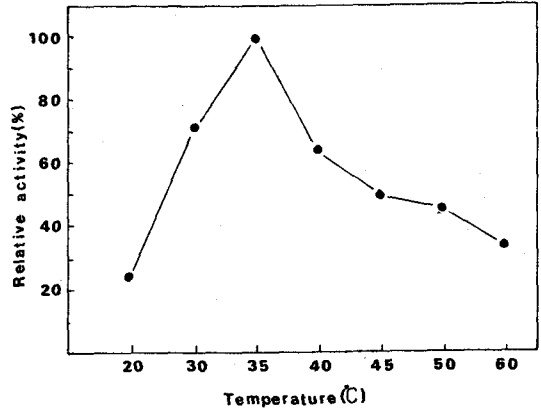


Fig. 3. Optimum temperature of the protease from Chungkook-Jang fermented for 48 hrs.

본 실험과는 약간의 차이가 있었다. 이 등<sup>22)</sup>은 *B. subtilis*와 *B. natto*를 접종한 것 중 *B. natto*를 접종한 것이 훨씬 큰 protease활성을 나타내었지만, 두 균주의 효소 모두 발효 48시간까지는 활성이 계속 증가하였으나 그 이후는 크게 증가하지 않았다고 보고하였다.

**Protease의 최적 pH 및 온도**

청국장 발효 과정 중 단백질의 분해 용출정도에 영향을 미치는 요인중 pH에 따른 효소의 상대적인 활성을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. BL이 생성하는 효소를 이용한 청국장 발효 과정 중 protease의 최적 pH는 6.5에서 최고의 분해율을 나타내었다. 청국장 발효 과정 중 protease의 최적 온도를 얻기 위하여 온도를 변화시키면서 반응시켰을 경우 효소의 상대적인 활성을 측정 한 결과는 Fig. 3과 같다. 온도가 높아짐에 따라 점차 증가하여 35 °C에서 최고의 용출율을 보였으나 그이상 온도가 상승함에 따라 활성은 감소하였다. 이 등<sup>34)</sup>은 선발된 우수 균주가 생성한 protease의 최적 작용 조건을 검토한 결과 최적 pH는 7.5이고, 최적온도는 40°C 라고 보고하여 본 실험의 결과와는 약간의 차이가 있었다.

**단백질의 변화**

수용성 단백질과 염용해성 단백질의 함량 변화는 Table 3과 같이 발효 시간의 경과에 따라 수용성 단백질과 염용해성 단백질의 함량은 계속 증가하는 경향을 보였다. 이는 김 등,<sup>3) 박,<sup>10) 이 등<sup>22)</sup>의 보고와 유사하였다.</sup></sup>

**주단백질의 분자량 측정**

청국장 발효 시간 경과 중 주단백질의 분자량을 측정 한

Table 3. Changes of water soluble protein and salt soluble protein during Chungkook-Jang fermentation

	Fermentation time (hours)						
	0	6	12	24	36	48	60
Water soluble protein (mg/g)	6.48	7.52	8.16	8.88	9.92	10.80	11.96
Salt soluble protein (mg/g)	5.20	6.48	7.20	8.08	9.36	10.96	11.21

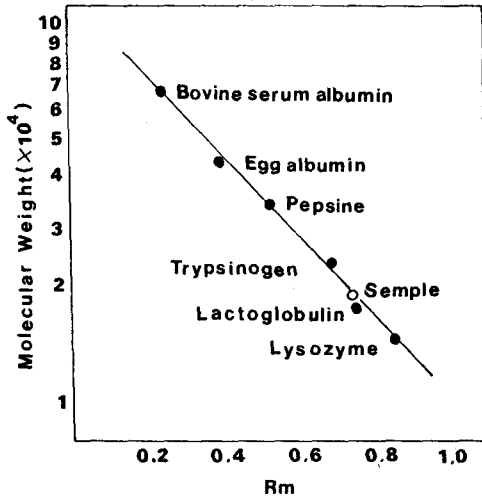


Fig. 4. Molecular weight determination of water soluble protein of Chungkook-Jang fermented for 48 hrs.

결과 발효 48시간째의 수용성 단백질의 분자량은 19,000 정도로 추정되었다(Fig. 4).

안 등<sup>35)</sup>은 수용성 단백질의 주된 subunit 분자량은 삶은 콩에서 66,000이었고 6주 동안 발효과정중의 주된 subunit 분자량은 12,000이었다고 보고하여 본 실험의 결과와는 상이하였다.

아미노산 조성의 변화

BL이 생성하는 효소를 이용한 청국장 발효과정에 있어서 시간별 수용성 단백질의 아미노산 조성의 변화는 Table 4와 같다. 증자 직후 수용성 단백질의 아미노산은 총 16종이었으며 이중에서 proline이 가장 많았고, 그 다음이 glutamic acid, serine 순이었다.

발효 24시간에는 serine, proline, histidine이 감소 하였으며, 최종 발효시간인 60시간에는 glutamic acid, aspartic acid, phenylalanine 순으로 그 함량이 많았다.

Table 4. Amino acid composition of water soluble protein during Chungkook-Jang fermentation(mg/g)

Amino acid	Fermentation time (hours)			
	0	24	48	60
Aspartic acid	7.53	11.80	9.28	12.78
Threonine	2.62	4.47	4.77	4.80
Serine	8.41	4.57	4.89	4.60
Glutamic acid	12.61	18.21	13.14	13.18
Proline	21.41	10.03	4.61	3.25
Glycine	3.21	4.71	5.35	6.26
Alanine	2.95	4.17	6.29	5.72
Cystine	trace	trace	trace	trace
Valine	2.49	5.12	5.21	4.97
Methionine	0.63	0.80	1.27	1.54
Isoleucine	2.66	4.83	4.57	3.81
Leucine	3.82	6.10	7.81	4.18
Tyrosine	1.41	3.48	5.14	9.24
Phenylalanine	2.56	5.86	8.43	9.03
Histidine	5.24	5.00	6.01	8.29
Lysine	5.12	5.94	6.30	7.01
Argine	5.19	7.13	5.15	5.13

Table 5. Amino acid composition of salt soluble protein during Chungkook-Jang fermentation (mg/g)

Amino acid	Fermentation time (hours)			
	0	24	48	60
Aspartic acid	11.42	4.71	5.63	5.21
Threonine	6.30	2.33	3.44	4.03
Aerine	5.90	3.89	3.89	3.72
Glutamic acid	24.12	8.56	8.70	8.85
Proline	7.94	3.14	2.97	2.35
Glycine	6.28	2.58	3.49	4.26
Alanine	5.62	2.22	3.05	3.07
Cystine	trace	trace	trace	trace
Valine	3.88	2.18	2.60	2.54
Methionine	0.16	1.18	0.98	0.83
Isoleucine	3.41	2.24	2.38	2.16
Leucine	5.93	3.31	3.44	3.37
Tyrosine	3.37	2.14	1.84	2.62
Phenylalanine	4.24	2.87	4.03	4.71
Histidine	5.82	5.45	4.97	4.38
Lysine	9.21	3.88	3.92	3.16
Argine	8.63	2.50	3.65	3.28

총아미노산 함량은 발효 24시간에 102.22 mg/g으로 최대치에 도달하였고, 발효 전과정 중 총아미노산함량의 변화에는 큰 차이가 없었다. 김 등<sup>31)</sup>은 총아미노산 함량이

발효 20시간에 최대치에 도달했고, 이는 16시간 발효시 보다는 약 1.5배, 24시간 발효보다는 약 2배가 되었다고 보고했는데 본 실험과는 차이가 있었다.

청국장 발효과정 중 염용성 단백질의 아미노산 조성의 변화는 Table 5와 같다. 염용성 단백질의 아미노산은 총 16종이 동정 되었으며, phenylalanine 함량이 가장 많았고, 그 다음이 glutamic acid, aspartic acid 순이었다. 수용성 단백질의 아미노산 조성과 같이 발효 전과정에서 cystine은 검출되지 않았으며, methionine도 발효 초기에는 극소량이 함유되어 있었는데 이는 산분해에 의해 파괴된 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

1. 박계인, 성순호: 한국 미생물학회지, 9: 74(1971)
2. 김정자, 유명기, 김상순: 한국식품과학회지, 14: 301 (1982)
3. 주현규: 한국식품과학회지, 3: 64(1971)
4. 서정숙, 이현자: 한국영양학회지, 14: 97(1981)
5. 서정숙, 이상건, 유명기: 한국식품과학회지, 14: 309 (1982)
6. 서정숙, 유명기, 허윤행: 한국식품과학회지, 15: 385 (1983)
7. Julistyo, J., Taya, N., Funane, K. and Kiuchi, K.: Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 35: 278 (1988)
8. 김수영, 김재욱: 농화학회지, 8: 11(1967)
9. 박계인: 한국농화학회지, 15: 93(1972)
10. 박계인: 한국농화학회지, 15: 111(1972)
11. 성낙주, 지영애, 정승용: 식량영양학회지, 13: 275 (1984)
12. 서정숙, 이상건, 유명기: 한국식품과학회지, 14: 309 (1982)
13. Kanno, A. and Takamatsu, H.: Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 34: 330(1987)
14. Suguwara, E., Ito, T., Odagiri, S., Kubotu, K. and Kobayashi, A.: Agric. Biol. Chem., 49: 311(1985)
15. Kanno, A., Takamatsu, H., Takano, N. and Akimoto, T.: Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 29: 105 (1982)
16. Taguchi, K., Kawabata, M., Ohtsuki, K. and Tanaka, Y.: 日本營養 食糧學會誌, 39: 203(1983)
17. 김복란, 한용봉, 박창희: 한국농화학회지, 30: 192 (1987)
18. 이숙희, 김선구, 최홍식: 한국식품과학회지, 15: 399 (1983)
19. 정치훈, 강성국, 김용순, 정희중: 산업미생물학회지, 18: 423(1990)
20. 이상건, 윤정희, 이수한: 서울보건전문대학 논문집, 11: 13(1991)
21. 이부용, 김동만, 김길환: 한국식품과학회지, 23: 599 (1991)
22. 이부용, 김동만, 김길환: 한국식품과학회지, 23: 478 (1991)
23. Sumi, H., Hamada, H., Tsushima, H., Mihara, H. and Muraki, H.: Experientia, 43: 1110(1987)
24. 장영채, 이경형, 김성영, 조윤래, 김종규: 한국산업미생물학회지, 30: 329(1992)
25. William, H.: A.O.A.C., Geory Banta Co. Inc., Menasha, Wisconsin(1980)
26. 유주현, 양한철, 정동효, 양육: 식품공학실험, p. 660, 탐구당(1988)
27. Wang, H. L., Swain, E. W., Hesseltine, C. W. and Gumbmann, M. R.: J. Agric. Food Chem., 26: 309 (1987)
28. Lowry, C. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: J. Biol. Chem., 193: 265(1951)
29. Anson, M. L.: J. Gen. Physiol., 22: 79(1938)
30. 萩源文二: 赤堀編, 酵素研究法, 第二卷, p. 240, 朝食書店, 日本(1956)
31. 萩源文二: 江上編, 標準生化學實驗書, p. 207, 文光堂, 日本(1953)
32. Webber, K. and Osborn, M.: J. Biol. Chem., 244: 4406(1969)
33. 이계호, 이효지, 정문교: 한국농화학회지, 14: 191 (1971)
34. 안봉전, 손규목, 최 청: 한국영양식량학회지, 15: 152(1986)

### **Change of Protein and Amino Acid Composition During *Chungkook-Jang* Fermentation Using *Bacillus Licheniformis* CN-115**

Yeong-Ran Seok, Yung-Hawl Kim<sup>1</sup>, Sung Kim, Hi-Seob Woo, Tae-Wan Kim, Son-Ho Lee and Cheong Choi\* (<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Gyeongsan, 712-74, Korea. Department of Clinical pathology, Taegu Health Junior College, Taegu, 702-260, Korea)

**Abstract :** *Chungkook-Jang* was produced by fermenting *Bacillus licheniformis* CN-115. The changes of chemical composition, enzyme activity, and amino acids during the fermentation were investigated. The proximate composition was shown irregular fluctuation phenomenon during the fermentation, but only the moisture tended some reducing during the fermentation just after steaming. The content of amino nitrogen was increased radically after the 36 hours of fermentation and became the highest level at 18.072 mg/g at the 60 hours of it. In accordance with the fermentation of *Chungkook-Jang*, pH got to the 8.39 at 60 hours with increasing, protease activity was increased according to the fermentation and acid and neutral protease activity was reduced after being reached at the highest activity at 48 hours.

The most suitable pH was 6.5 and temperature was 35°C for dissolution-activated of protein in the process of fermentation of *Chungkook-Jang*. The content of water soluble protein and the content of salt soluble protein were increased at continuously according to the fermentation time of *Chungkook-Jang* the largest quantity. The molecular weight of water soluble protein of *Chungkook-Jang* fermented for 48 hours was about 19,000.

The amino acids of water soluble protein just after steaming were totally 16 kinds and proline was amino acid and them was in series by glutamic acid and serine in that order. The amino acids salt soluble protein, just after steaming were totally 16 kinds and was the largest quantity phenylalanine, glutamic acid and aspartic acid and aspartic acid in that order.