

청국장 중 biogenic amine의 함량 및 생성원인

한규홍* · 조태용 · 유명상 · 김천수 · 김정민 · 김현아 · 김미옥
김성철 · 이선애 · 고용석 · 김소희 · 김대병

부산지방식품의약품안전청 시험분석센터

Biogenic Amines Formation and Content in Fermented Soybean Paste (*Cheonggukjang*)

Gyu-Hong Han*, Tae-Yong Cho, Myung-Sang Yoo, Chun-Soo Kim, Jung-Min Kim, Hyun-Ah Kim, Mi-Ok Kim, Seong-Cheol-Kim, Sun-Ae Lee, Yong-Suk Ko, So-Hee Kim, and Dae-Byoung Kim

Test and Analysis Center, Busan Regional KFDA

Abstract The potential to produce biogenic amines was investigated in microbial strains isolated from fermented soybean paste, *cheonggukjang*. The typical levels of 11 biogenic amines, including putrescine, histamine, and tryptamine, were analyzed in commercial *cheonggukjang*. The tyramine and histamine levels in the samples ranged from 4.2 to 483.1 mg kg⁻¹ and 0.2 to 70.3 mg kg⁻¹, respectively. A total of 4 microbial strains of *Bacillus* sp. were isolated from *cheonggukjang*. The *Bacillus* sp. were identified as *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, and *B. licheniformis* based on phenotypic characteristics, which included using the VITEK system. The screening plate method for detecting amino acid decarboxylase positive microorganisms was performed. The results for amine decarboxylation were positive, and biogenic amine formation was evaluated by the confirmation of amine-forming capacity.

Key words: biogenic amine, *cheonggukjang*, decarboxylation

서 론

Biogenic amine(BA)류는 지방족(putrescine, cadaverine, spermine, spermidine), 방향족(tyramine, phenylethylamine), 헤테로고리 구조(histamine, tryptamine)를 가진 형태로 되어 있고(1), 동물, 식물에서 아미노산의 효소적 탈탄산 반응에 의해 생성된다(2). 이에 따라 식품에서 BA의 생성은 아미노산 및 탈탄산효소활성을 가지는 미생물의 유무에 따라 결정되며, 미생물의 최적 발육조건 및 높은 탈탄산효소활성은 식품 중 BA의 생성을 증가시킨다(3). 특히 세균에 의한 아미노산 탈탄산반응은 영양학적으로 부족한 환경에서도 일어날 수 있는데, 이는 세균의 탈탄산반응 시스템 자체가 막전위에 영향을 주어 탈탄산에 필요한 전하를 위치이동시킬 수 있기 때문이다(4). 이는 식품의 부패에 작용하는 세균이 탈탄산효소 작용을 통하여 BA을 생성할 수 있다는 것을 의미하며, 실제 식품의 부패와 BA의 상관관계에 대한 연구보고가 발표되었다(5).

청국장은 콩을 삶은 뒤 볏짚 위에 놓고 40-42°C에서 2-3일간 발효시킨 우리나라 전통 발효식품으로써 *Bacillus* sp. 미생물의 작용으로 제조된다. 청국장 발효에 관여하는 미생물로는 *B. subtilis*(6), *B. licheniformis*(7), *B. pumilus*(8), *B. amyloliquefaciens*(9) 등이

현재까지 분리되었으며, 분리균 모두 protease 효소활성이 우수하였다고 보고되어, 유리아미노산이 원인이 되는 BA의 생성에도 관여하게 된다. 즉, Cho 등(10)의 연구 보고에서는 7개의 청국장 중 histamine 함량이 1.3-54.3 mg/kg, tyramine 함량이 0.7-483.1 mg/kg으로 검출된 바 있으며, 발효식품인 나토(*natto*) 39개를 측정한 결과에서는 histamine 함량이 51-457 mg/kg로 나타났다(11). 이러한 histamine과 tyramine 등의 BA을 섭취한 경우 정상적인 인체에서는 소장내 존재하는 mono-diamine oxidase가 무독화시키지만, 우울증 치료제인 monoamine oxidase inhibitors(MAOIs)를 복용하는 환자나 소장에 질환이 있는 경우에는 효소의 작용이 이루어지지 않아 소량의 BA을 섭취하여도 인체에 유해한 증상이 나타날 수 있다고 한다(12-13). 이와 관련하여 국내외 연구들에서는 BA의 생성을 저감화 시키고자 감마선 조사(14), pH, 온도 및 NaCl 농도에 따른 영향(15) 및 스타터를 통한 저감화 연구(16) 등이 발표되었으며, 이들 모두 BA을 생성하는 미생물을 규명하고, 미생물의 성장을 제어함으로써 BA을 저감화시킬 수 있는 방법을 연구한 것이다.

따라서 본 연구에서는 국내 시판 청국장에서 BA의 함량을 조사하고, BA을 생성하는 미생물의 스크리닝을 통하여 생성원인을 규명하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 재료

청국장은 전라남도 목포, 순창, 광주, 충청북도 상춘, 경기도 양평, 경상남도 함양 및 시판 청국장 10종을 수집하였다. Biogenic amine의 표준품으로 putrescine(PUT) dihydrochloride, cadaverine

*Corresponding author: Gyu-Hong Han, Test and Analysis Center, Busan Regional Korea Food and Drug Administration, 123-7 Yongdang-dong, Nam-gu, Busan 608-829, Korea
Tel: 82-51-610-6261
Fax: 82-51-610-6199
E-mail: guy772@kfda.go.kr
Received August 2, 2007; accepted September 14, 2007

(CAD), spermidine (SPD), spermine (SPM), tryptamine (TRY), histamine (HIS) dihydrochloride, tyramine (TYR) hydrochloride, β -phenylethylamine (PHE) hydrochloride, serotonin (SER) hydrochloride, noradrenaline (NOR) hydrochloride, dopamine (DOP) hydrochloride 와 내부표준물질로서 사용되는 1,7-diaminoheptane (I.S.) 및 유도체 시약 dansyl chloride는 Sigma Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA) 에서 구입하여 사용하였고, HPLC 등급의 acetonitrile은 Baker (Fairlawn, NJ, USA)에서 구입하였다.

시료추출 및 유도체화

BA의 분석은 일본위생시험법(17)의 불휘발성부패아민 분석법을 변형하여 사용하였다. 시료 약 2-5 g을 취하여 산성용액(0.1 N 염산 또는 0.4 M 인산 또는 5% 삼염화초산) 20 mL를 가한 후 균 질화하고, 8,832×g, 4°C에서 원심분리(Hanil, Incheon, Korea)를 이용하여 20분간 처리하여 상층액을 취하고 잔사에 다시 산성용액 20 mL를 가하여 위의 조작을 반복하여 얻은 상층액을 합쳐 산성용액 50 mL로 한 것을 추출용액으로 하였다.

Dansyl chloride를 이용한 유도체화는 혼합 표준용액 및 추출용액 각각 1 mL을 마개 달린 시험관에 취한 다음 내부표준용액(I.S.) (100 mg/L) 100 μ L를 가한 후 포화 탄산나트륨 용액 0.5 mL와 1% dansyl chloride 아세톤용액 1 mL를 가하여 혼합한 후 마개를 하여 45°C에서 1시간 유도체화하였다. 유도체화 후 10% proline 용액 0.5 mL를 가하여 과잉의 dansyl chloride를 제거하였다. 시험관에 에테르 5 mL를 가하여 3분간 진탕하고 상층액을 취하여 질소 농축한 뒤 아세토니트릴 1 mL를 가하여 0.45 μ m로 여과한 것을 시험용액으로 하였다.

시판 청국장에서 균주의 분리

청국장 10중에 있는 균을 분리하기 위하여 시료 1 g을 멸균수 10 mL에 현탁하여 37°C에서 1시간동안 반응시키고, 이 반응액 100 μ L를 nutrient agar medium (NA)에 도말하여 30°C에서 24시간 배양하였다. 균주를 동정하기 위하여 NA 배지에 생성된 colony 각각을 LB 배지 및 MRS 배지에 도말한 후 배양기(HB-102LP, Hanbaek, Bucheon, Korea)에서 30°C, 24시간 배양하여 콜로니 색상과 형태 등을 기준으로 균주들을 분리하였다.

분리 균주의 동정

각 배지에서 분리된 균주는 1차적으로 Bergey's manual of systematic bacteriology 방법(18)에 의하여 그람염색, 세포 형태, 운동성, catalase 및 oxidase 등의 형태학적 및 생화학적 특성을 조사하였다. 분리된 균주의 특성 중 그람염색, 양성, 효모 및 *Bacillus* sp.의 colony에 따라 증류수에 표준탁도를 0.6 McF, 2 McF로 현탁하였다. 동정 분석에는 VITEK 2 COMPACT (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France)를 이용하여 분석하였다. 시험결과는 96-99%의 유사율(excellent), 93-95%의 유사율(very good), 89-92%의 유사율(good), 85-88%의 유사율(acceptable)으로 정확히 동정된 균주, low discrimination, unidentified로 추가 감별시험이 필요한 균주로 검토하였다.

탈탄산 효소 활성 스크리닝

동정된 균주의 탈탄산 효소 활성 스크리닝은 Bover-Cid and Holzapfel(19)의 방법에 의하여 측정하였다. 동정된 균주를 아미노산이 첨가되지 않은 배지(대조구)와 아미노산이 첨가된 배지(시험구)에 도말하고 배양기(Hanbaek)에서 30°C, 4일간 배양한 뒤 탈탄산 효소 활성을 확인하였다. 배지의 조성은 Table 1과 같으며,

Table 1. Composition of decarboxylase media according to the literatures¹⁾ (unit: %)

Component	Media A	Media B
Tryptone	0.5	0.5
Yeast extract	0.4	0.5
Meat extract	0.8	0.5
Sodium chloride	-	0.25
Glucose	-	0.05
Tween 80	0.05	0.1
MgSO ₄	0.02	0.02
MnSO ₄	0.005	0.005
FeSO ₄	0.004	0.004
Ammonium citrate	-	0.2
Thiamine	-	0.001
K ₂ PO ₄	-	0.2
CaCO ₃	0.01	0.01
Pyridoxal-5-phosphate	-	0.005
Amino acid	2.0	1.0
Bromocresol purple	0.006	0.006
Cresol red	-	-
Agar	2	2
pH	5.3	5.3
Application	LAB from meat products	LAB and enterobacteria

¹⁾Bover-Cid and Holzapfel (19).

탈탄산 효소 활성 유무에 따라 배지에서 colony가 형성되고, 주위에 색이 대조되는 환이 생긴다.

동정된 균주의 biogenic amine 생성 확인

동정된 균주의 amine 생성은 아미노산이 들어있는 배지에 균을 접종한 뒤 TYR, HIS, PUT, CAD의 정성 및 정량 분석을 통하여 확인하였다. MRS 및 NA broth에 agar를 넣지 않고, 0.005% pyridoxal-5-phosphate, 0.5% tyrosine, 0.25% histidine, 0.25% ornithine과 0.25% lysine을 첨가하고, 30°C에서 4일간 배양하였다. BA의 측정에는 배양된 broth 2 mL을 원심분리기(Union 55R, Hanil)를 이용하여 12,696 × g에서 5분간 원심분리하여 상등액을 사용하였다.

결과 및 고찰

청국장에서 biogenic amine 함량

청국장은 콩을 삶은 뒤 볏짚에 깔아 볏짚에 붙어 있는 *Bacillus* 속 미생물에 의해 발효시켜 제조한다. 최근 청국장은 isoflavone, phytic acid, saponin, trypsin inhibitor, tocopherol, 불포화지방산, 식이섬유, 올리고당 등의 각종 생리활성물질과 항산화물질 및 혈전용해 효소를 다량 함유하고 있기 때문에 기능성 식품으로서 그 중요성이 재조명되고 있다(20). 하지만 청국장은 발효 동안 BA으로 변환될 가능성이 있는 serine, proline, histidine, glutamic acid, aspartic acid, phenylalanine 등의 유리아미노산을 생성한다는 연구결과가 보고되어 있어(21) 시판 청국장에 대한 BA의 함량을 조사하였다(Table 2). 측정 결과 청국장에서는 PUT, HIS, TYR 등을 포함하여 11종의 BA이 검출되었으며, 이 중 TYR이 4.2±0.9-483.1±28.4 mg/kg의 범위를 보여줌에 다른 amine에 비하여 높게 나타났다. TYR의 경우 심혈관계에 작용하여 혈관수축과 심박활

Table 2. The levels of biogenic amines in tested fermented soy paste (cheonggukjang)

Samples	No.	Biogenic amines (mg/kg)										
		PUT ^a	CAD	SPD	SPM	TRY	HIS	TYR	PHE	SER	NOR	DOP
Commercial cheonggukjang	1	8.3±1.2 ^b	4.7±0.3	54.3±5.7	9.4±1.4	76.9±15.2	3.6±0.9	483.1±28.4	32.6±5.4	8.7±2.7	N.D. ^c	1.5±0.2
	2	121.3±8.4	14.6±2.9	44.5±8.9	13.5±5.2	19.2±1.9	54.3±2.7	164.9±23.4	12.2±3.3	5.2±0.9	1.4±0.2	2.5±0.6
	3	8.0±1.2	9.3±4.8	67.7±9.2	22.8±4.4	31.1±6.3	0.4±0.1	92.7±18.5	17.1±1.9	8.9±1.0	N.D.	1.5±0.2
	4	4.8±0.9	4.6±0.5	65.9±11.7	23.1±5.4	22.4±3.8	0.2±0.1	5.9±1.5	8.4±1.1	9.8±2.8	2.2±0.4	16.5±3.4
	5	4.7±1.1	5.3±1.9	57.5±3.7	12.5±2.4	18.0±5.1	1.3±0.1	4.2±0.9	6.4±0.1	5.7±1.9	N.D.	6.2±1.3
	6	112.4±9.2	9.6±2.2	60.7±3.6	22.4±5.6	6.7±0.9	1.6±0.2	354.2±18.9	0.3±0.1	10.1±2.7	1.9±0.5	0.8±0.2
	7	21.9±4.2	13.3±0.9	39.6±7.6	8.4±0.7	30.8±7.4	5.7±0.5	22.7±6.4	26.3±4.4	7.4±2.2	1.2±0.1	2.0±0.1
	8	78.8±6.9	7.0±0.4	40.4±7.5	14.2±1.5	17.6±4.9	38.2±8.7	153.1±16.4	N.D.	3.2±0.6	0.4±0.1	1.2±0.4
	9	148.5±0.7	70.6±4.4	33.4±0.8	15.7±6.8	66.3±9.7	70.3±12.6	457.4±15.2	23.8±9.2	11.3±0.6	N.D.	11.3±1.3
	10	5.4±1.2	8.9±1.8	57.4±4.9	7.2±1.9	16.8±0.5	1.0±0.1	10.5±3.4	9.0±0.2	2.7±0.5	0.4±0.1	N.D.

^aPUT (putrescine), CAD (cadaverine), SPD (spermidine), SPM (spermine), TRY (tryptamine), HIS (histamine), TYR (tyramine), PHE (2-phenylethylamine), SER (serotonin), NOR (noradrenaline), and DOP (dopamine).

^bEach value represents mean ± SD of triplicate.

^cNot detected.

동을 증가시킴으로써 혈압상승을 유발할 수 있기 때문에(22), monoamine oxidase inhibitors(MAOIs) 의약품을 복용하는 환자에게는 TYR이 많이 함유된 청국장의 섭취가 고혈압위기를 야기시킬 수 있을 것으로 생각된다.

TYR 독성 외에 중독 증상을 가질 수 있는 HIS의 경우 0.2±0.1-70.3±12.6 mg/kg의 함량을 보여주었다(Table 2). Tsai 등(11)은 청국장과 유사하게 발효·제조되는 *natto*에서 HIS를 유발하는 세균으로 *B. subtilis* 2종과 *S. pasteurii* 2종을 분리한 다음 이들 균이 HIS를 생성한다고 하였는데, 청국장에서의 주요 균으로 *B. subtilis*가 발견됨으로써 청국장내 HIS의 생성원인을 밝혀낼 수 있었다. 그러나 청국장 발효에 관여하는 *B. subtilis*외에 최근 *B. licheniformis*(7), *B. pumilus*(8), *B. amyloliquefaciens*(9) 등이 청국장에서 분리된 바 있고, 이러한 *Bacillus* sp.은 활성이 다른 탈탄산 효소를 지닐 수 있을 수 있기 때문에 시판 청국장내의 미생물의 분리·동정 및 탈탄산 효소 활성을 스크리닝을 하였다.

균주의 분리 및 동정

Nutrient agar plate상에서 청국장내의 균들을 배양한 다음 colony의 형태, 크기 및 점질물 생성 정도 등에 따라 LB 배지, MRS 배지에 재배양시켜 균주를 분리하였다. 분리된 균주는 1차적으로 Bergey's manual of systematic bacteriology 방법(18)에 의하여 그람염색, 세포 형태, 운동성, catalase, oxidase 등 형태학적 및 생화학적 특성을 조사한 뒤, 그람음성, 호모 및 *Bacillus* sp.의 종류로 나누고, 각각 증류수에 현탁한 뒤 VITEK 2 COMPACT으로 분리한 균을 동정하였다.

청국장에서 분리한 균은 그람 양성균의 간균으로, 호기성이며 spore를 형성하고, catalase test에서 양성으로 나타났다. 64개의 생화학적 반응 결과를 살펴본 결과 *B. amyloliquefaciens*는 92%의 유사율, *B. subtilis*는 93%의 유사율, *B. licheniformis*는 95%의 유사율로 동정되었다. 청국장에 있는 균주로 *B. subtilis*(23), *B. pumilus*(24), *B. amyloliquefaciens*(25) 등이 보고되었으며, Lee 등(26)은 청국장에서 *B. circulans*, *Brevibacillus brevis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *B. stearothermophilus* 등 6 균주를 분리 동정하여 본 연구결과와 유사하였다.

분리 균주의 탈탄산 효소 활성 스크리닝

일반적으로 BA는 유리 아미노산에서 미생물의 탈탄산 효소작

용으로 인하여 생성되므로, 분리된 균주의 탈탄산 효소 활성을 통하여 BA의 생성원인을 살펴보았다. 이러한 탈탄산 효소작용은 bromocresol purple과 같은 pH 지표물질을 함유하고 있는 배지에 분리 균주를 배양하여 변화되는 양상에 따라 확인할 수 있는데 (19,27), 양성(+) 반응은 배지에서 colony가 형성되고, 주위에 색이 대조되는 환이 생긴 경우이다. 본 연구에서 분리한 균주의 탈탄산 효소 활성을 확인한 결과 모두 양성(+) 반응을 보여줌으로써 탈탄산 효소 활성을 확인할 수 있었다. Bover-Cid와 Holzapfel(19)는 56개의 미생물 종들에 대하여 각각의 strain별 탈탄산 효소 활성을 측정하였는데, 개선된 배지를 사용하였을 경우 보다 정확하게 탈탄산 효소 활성을 측정할 수 있다고 하였고, 이러한 탈탄산 효소 활성이 biogenic amine을 생성할 수 있다고 보고하였다. 또한 Rice 등(28)의 경우 *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Photobacterium*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* 등이 한 개 혹은 여러 아미노산으로부터 탈탄산 효소 활성을 가진다고 하여 추후 식품 중 이들 미생물에 대한 존재 여부를 확인하고, amine 함량에 대한 조사가 필요할 것으로 사료된다.

분리 균주의 biogenic amine 생성 확인

Table 3와 4은 분리된 균주를 histidine, tyrosine, ornithine 및 lysine이 포함된 broth에 첨가하고, 해당 아미노산에 대한 탈탄산 활성능과 균주가 생성한 HIS, TYR, PUT 및 CAD의 함량을 측정하여 나타낸 결과이다. 10개의 broth에 균주를 첨가하여 100% positive한 활성을 보인 것은 +, 70% 이상의 활성을 보인 것은 +/-, 70% 이하의 활성을 보인 것은 -로 표시하였을 때, 전체적으로 모든 아미노산에 있어 탈탄산 활성을 보여주었다. 각 균주에

Table 3. Amino acid decarboxylase capability of microorganisms isolated in fermented soy paste(cheonggukjang)

Species	Amino acids			
	Histidine	Tyrosine	Ornithine	Lysine
<i>B. subtilis</i>	+	+/-	+/-	+/-
<i>B. amyloliquefaciens</i>	+	+	+	+
<i>B. licheniformis</i>	-	+	-	+

Data are the average of 10 assays; N.D., not determined; +, 100% positive; +/-, 70% positive; -, less than 70% positive.

Table 4. Quantified biogenic amine production by isolated bacteria strains: determination was made after cultivation at 30 for 4 days in decarboxylation broth^a

Species	Biogenic amine (mg/L broth)			
	Histamine	Tyramine	Putrescine	Cadaverine
<i>B. subtilis</i>	204.7-2326.4	151.6-1927.7	122.9-1831.3	111.0-1838.4
<i>B. amyloliquefaciens</i>	227.7-2305.5	229.4-2122.1	98.5-1908.7	285.9-1927.0
<i>B. licheniformis</i>	22.4-1308.7	335.4-2524.5	27.5-1218.8	186.7-2242.3

^aDecarboxylation broth contained 0.5% tyrosine, 0.25% of histidine, ornithine and lysine, respectively (19).

대한 활성과 amine 생성량을 살펴보면, *B. subtilis*의 경우 모든 아미노산에 70%의 활성을 보여주었고, histidine에 대한 활성이 높게 나타났다. 이 때문에 broth의 amine을 측정하였을 때 HIS가 204.7-2326.4 mg/L로 가장 높게 나타났다(Table 4). *B. amyloliquefaciens*의 경우 모든 아미노산에서 100%의 탈탄산 활성을 가졌는데, 이를 통하여 살펴볼 때, 청국장에서 *B. amyloliquefaciens*의 생육을 억제하는 것이 amine의 함량을 줄일 것으로 생각된다. *B. licheniformis*의 경우 tyrosine과 lysine에 활성을 보여 TRY이 335.4-2524.5 mg/L, CAD이 186.7-2242.3 mg/L로 검출되었다.

요 약

본 연구에서는 청국장에서 biogenic amine의 함량을 조사하고, 이를 생성하는 미생물의 스크리닝 및 biogenic amine 형성 등을 통하여 생성원인을 규명하고자 하였다. 그 결과 국내 시판 청국장에는 putrescine, histamine, tryptamine 등 11종의 biogenic amine이 검출되었으며, 이 중 tyramine이 4.2 ± 0.9 - 483.1 ± 28.4 mg/kg의 범위를 보여주어 다른 amine에 비하여 높게 나타났다. 청국장내 균주는 *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* 등이 분리·동정되었고, 이들 균주에 대한 탈탄산 효소 활성 스크리닝을 살펴본 결과 모두 양성(+) 반응을 보여주었다. 최종적으로 균주에 대한 biogenic amine 생성을 확인하였을 때, 청국장내 존재하는 균주가 탈탄산 효소 활성을 통하여 biogenic amine 생성하는 것을 확인할 수 있었다.

문 헌

- Silla Santos MH. Biogenic amines: Their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 29: 213-231 (1996)
- Suzzi G, Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages: A review. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 41-54 (2003)
- Ten Brink B, Damink C, Joosten HM, Huis in't Veld JH. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 11: 73-84 (1990)
- Konings WN, Lolkema JS, Bolhuis H, Van Veen HW, Poolman B, Driessen AJM. The role of transport processes in survival of lactic acid bacteria. *Anton. Van. Leeuw.* 71: 117-128 (1997)
- Paleologos EK, Savvaidis IN, Konotominas MG. Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted, and filleted Mediterranean sea bream (*Dicentrarchus labrax*). *Food Microbiol.* 21: 549-557 (2004)
- Kim YS, Jung HJ, Park YS, Yu TS. Characteristics of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20 *cheonggukjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 475-478 (2003)
- Lee MY, Park SY, Jung KO, Park KY, Kim SD. Quality and functional characteristics of *cheonggukjang* prepared with various *Bacillus* sp. isolated from traditional *cheonggukjang*. *J. Food Sci.* 70: M191-M196 (2005)
- Kwon HY, Kim YS, Kwon GS, Kwon CS, Sohn HY. Isolation of immuno-stimulating strain *Bacillus pumilus* JB-1 from *cheonggukjang* and fermentational characteristics of JB-1. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 32: 291-296 (2004)
- Kim SS, Lee JH, Ahn YS, Kim JH, Kang DK. A fibrinolytic enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* D4-7 isolated from *cheonggukjang*: Its characterization and influence of additive on thermostability. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 31: 271-276 (2003)
- Cho TY, Han GH, Bahn KN, Son YW, Jang MR, Lee CH, Kim SH, Kim DB, Kim SB. Evaluation of biogenic amines in Korean commercial fermented foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 730-737 (2006)
- Tsai YH, Chang SC, Kung HF. Histamine contents and histamine-forming bacteria in *natto* products in Taiwan. *Food Control.* 18: 1026-1030 (2007)
- Chu CH, Bjeldanes LF. Effects of diamines polyamines and tuna fish extracts on the binding of histamine to mucin *in vitro*. *J. Food Sci.* 47: 7980-7988 (1981)
- Bjeldanes LF, Schutz DE, Morris MM. On the aetiology of scombroid poisoning: Cadaverine potentiation histamine toxicity in guinea pig. *Food Cosmet. Toxicol.* 16: 157-159 (1978)
- Kim JH, Ahn HY, Jo C, Park HJ, Chung YJ, Byun MW. Radiolysis of biogenic amines in model system by gamma irradiation. *Food Control* 15: 405-408 (2004)
- Gardini F, Martuscelli M, Caruso MC, Galgano F, Crudele MA, Favati F, Guerzoni ME, Suzzi G. Effect of pH, temperature, and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity, and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *Int. J. Food Microbiol.* 64: 105-117 (2001)
- Enes Dapkevicius MLN, Robert Nout MJ, Rombouts FM, Houben JH, Wymenga W. Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 57: 107-114 (2000)
- The Pharmaceutical Society of Japan. *Methods of Analysis in Health Science.* Kanehara & Co. Ltd., Tokyo, Japan. pp. 180-182 (2005)
- Sneath PHA, Mair NS, Elisabeth Sharpe M, Holt JG. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, VA, USA (1994)
- Bover-Cid S, Holzapfel WH. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 53: 33-41 (1999)
- Kim WK, Choi KH, Kim YT, Park HH, Choi JY, Lee YS, Oh HI, Kwon IB, Lee SY. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from *cheonggukjang*. *Appl. Environ. Microb.* 62: 2482-2488 (1996)
- Seok YR, Kim YH, Kim S, Woo HS, Kim TW, Lee SH, Choi C. Change of protein and amino acid composition during *cheonggukjang* fermentation using *Bacillus licheniformis* CN-115. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 37: 65-71 (1994)
- Joosten HMLG. The biogenic amine contents of Dutch cheese and their toxicological significance. *Neth. Milk Dairy J.* 42: 25-42 (1988)
- Kim YS, Jung HJ, Park YS, Yu TS. Characteristics of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20 *cheonggukjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 475-478 (2003)
- Kwon HY, Kim YS, Kwon GS, Kwon CS, Sohn HY. Isolation of immuno-stimulating strain *Bacillus pumilus* JB-1 from *cheonggukjang* and fermentational characteristics of JB-1. *Korean J. Microbiol.*

- Biotechnol. 32: 291-296 (2004)
25. Kim SS, Lee JH, Ahn YS, Kim JH, Kang DK. A fibrinolytic enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* D4-7 isolated from *cheonggukjang*: Its characterization and influence of additive on thermostability. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 31: 271-276 (2003)
 26. Lee MY, Park SY, Jung KO, Park KY, Kim SD. Quality and functional characteristics of *cheonggukjang* prepared with various *Bacillus sp.* isolated from traditional *cheonggukjang*. J. Food Sci. 70: M191-M196 (2005)
 27. Niven CF, Jeffrey MR, Corlett DA. Differential plating medium for quantitative detection of histamine producing bacteria. Appl. Environ. Microb. 41: 321-322 (1981)
 28. Rice SL, Eitenmiller RR, Koehler PE. Biologically active amines in food: A review. J. Milk Food Technol. 39: 353-358 (1976)