

Bacillus megatherium Group에 의한 醱酵食品研究**第1報 Bacillus megatherium을 接種한 醱酵콩의 榮養效果**

桂聖烈 · 鄭允秀 · 李啓湖

(陸軍技術研究所)

Studies on Fermented Food Products by Bacillus megatherium Group.**Part I. Nutritional Evaluation of Fermented Soybean by Bacillus megatherium**

Ke, Seong Yeol, Chung, Yun Su and Lee, Ke Ho.

(Army Research and Testing Laboratory)

(1963. 1. 10 受理)

ABSTRACT

1. Cooked soybean was fermented for about a week by *Bacillus megatherium* 88-3, D-28 and D-28a; and compared with the cooked soybean which was not fermented, this fermented soybean showed much increase in vitamin B₁₂ and B₂, while vitamin B₁ decreased.
2. In the process of fermenting the cooked soybean, *Bacillus megatherium*, 88-3 is the bacteria which produces brown pigment; and *Bacillus megatherium* D-28 and D-28a is the bacteria which produces yellow pigment.
3. In weight, fermented soybean-fed rat showed more increase than the unfermented soybean-fed rat. But the growth of the rat fed with *Bacillus megatherium* 88-3 fermented soybean was not good. Probably, this phenomenon came from the trouble in rat's metabolism by brown pigment.
4. In food efficiency, *Bacillus megatherium* D-28a is 4.3% lower than *Bacillus megatherium* B-938, but it is 17.1% higher than the unfermented cooked soybean. *Bacillus megatherium* 88-3, which is 47.1% lower in food efficiency than the unfermented cooked soybean, has been found "not good" in the growth of rat.

海苔에서 分離된 strain 88-3은 vitamin B₁₂ 生産性이 강한 菌임이 太 1) 등에 의하여 報告되었고, strain D-28 및 D-28a는 黃 2) 등이 김치에서 分離하고 金 3) 등이 이들을 *Bacillus megatherium* 88-3, D-28 및 D-28a 등으로 각각 同定報告되고 있다. 同時에 strain D-28 및 D-28a도 vitamin B₁₂ 生産성이 若干 있음이 太 1) 등에 의하여 알려졌다.

著者 등은 *Bacillus megatherium* group의 利用性을 알고자 콩에 接種하여 醱酵시킨 結果 vitamin B₁₂ 및 B₂를 生成하는 同時에 黃色 및 褐色 色素를 生成하였으므로 그 vitamin의 利用성과 有色物質의 有害性을 究明하고자 rat의 生育試驗을 하였다.

끝으로 本研究에 있어서 激勵하여 주신 서울農大學長 金浩鶴教授님과 所長 張建型博士님께 深甚한 感謝의 뜻을 表하는 바이다.

實 驗**使用菌株**

1. *Bacillus megatherium* D-28 (以下 B. M. D-28)

2. *Bacillus megatherium* D-28a (以下 B. M. D-28a)
3. *Bacillus megatherium* 88-3 (以下 B. M. 88-3)
4. *Bacillus megatherium* NRRL-B-938 (以下 B. M. B-938)

B. M. D-28 및 B. M. D-28a의 菌株는 김치에서 分離한 菌株이고, B. M. 88-3의 菌株는 海苔에서 分離한 菌株이다. B. M. B-938는 美國 農林省 農產物利用研究所(Peoria Illinois)에서 分讓받은 vitamin B₁₂ 生産성이 강한 菌株이다.

試料製造

品種未詳의 韓國產콩을 選粒한 後 室溫에서 10時間 水浸한 것을 건져서 500ml Erlenmeyer flask에 適當量씩 넣고 15 lb/in²에서 30分間 autoclaving한 것을 冷却시켜 上記 4個 菌株를 각각(無鹽條件) 接種한 후 30°C 恒溫室에서 1週間 醱酵시켰다. 醱酵가 끝난 다음 熱風乾燥機(70~80°C)에서 約 5時間 乾燥하고 40 mesh의 크기로 粉碎하여 試料로 삼았다.

試驗資料

試驗動物은 成長途中에 있는 rat(50~55g)을 使用하였다. 基本飼料 4)의 配合率은 Corn-starch 48%, Salad oil 14%, Agar 5%, Salt mixture 4%, Cod

liver oil 1%로 3-日 使用하였으며 窒素源으로는 大豆粉을 接種하여 醱酵시킨 大豆粉 및 삶은콩을 乾燥粉碎한 大豆粉을 使用하였다. 基本飼料 및 試驗飼料의 配合率은 Table I과 같다.

Table I. Composition of experimental diet

	diet 1	diet 2	diet 3	diet 4	control	N-free
Corn starch	48	48	48	48	48	48
Agar	5	5	5	5	5	5
Salad oil	14	14	14	14	14	14
B. M. D-28 fermented soybean	28	—	—	—	—	—
B. M. D-28a fermented soybean	—	28	—	—	—	—
B. M. 88-3 fermented soybean	—	—	28	—	—	—
B. M. B-938 fermented soybean	—	—	—	23	—	—
Cooked soybean	—	—	—	4	28	—
Salt mixture *	4	4	4	4	4	4
Cod liver oil	1	1	1	1	1	1
Total	100	100	100	100	100	72

* Jones-Foster salt mixture 5)

NaCl 139.3, KH₂PO₄ 389.0, MgSO₄ 57.3, CaCO₃ 381.4, FeSO₄ · 6H₂O 27.0, MnSO₄ · 2H₂O 4.45, KI 0.79, ZnCl₂ 0.25, CuSO₄ · 5H₂O 0.477, CoCl₂ · 6H₂O 0.023. Total 1009.0

實驗方法

試料의 成分 중 一般成分의 分析은 普通의 定量法에 의하였다. vitamin B₁의 定量은 Permutit를 利用한 Thiochrome 螢光比色法 6), vitamin B₂는 Lumiflavin 螢光法 7), niacin은 Snell 8)의 方法을 modify한 A. O. A. C. 法 9)의 Microbiological assay法, vitamin B₁₂는 *Lactobacillus Leichmannii* ATCC 7830을 實驗菌으로 하는 U. S. P 法 10)에 의하였다.

有色物質의 有害性과 各菌株로 接種醱酵한 大豆의

food efficiency는 growth method 11)에 의하여 試驗하였다. 飼育管理는 metabolism cage에 單飼하였으며 試料는 每日 攝取量을 調査하고 體重調査는 1週 日마다 行하였다.

結果 및 考察

B. M. D-28, B. M. D-28a, B. M. 88-3 및 B. M. B-938의 菌株에 依하여 醱酵시킨 콩의 成分變化와 基本飼料의 成分을 分析한 結果 Table II와 같다.

Table II. Composition of each diets

nutrient sample	moisture	crude protein	crude fat	carbo-hydrate	amino-N	ash	vitamins			
							B ₁	B ₂	niacin	B ₁₂
	%	%	%	%	mg%	%	γ/g	γ/g	mg%	mγ/g
B. M. D-28 fermented soybean	7.08	42.69	20.23	29.30	263	0.57	1.78	2.22	2.45	1.0
B. M. D-28a fermented soybean	6.98	40.03	22.67	29.82	252	0.50	1.68	2.70	2.13	1.0
B. M. 88-3 fermented soybean	6.48	40.79	22.77	28.43	1,568	0.53	1.91	2.80	1.97	16.0
B. M. B-938 fermented soybean	6.29	36.67	23.07	33.46	188	0.51	2.53	2.85	1.46	20.0
Cooked soy bean	5.45	45.57	29.98	18.55	145	0.47	4.16	1.70	1.63	0.001
N-free basal ration	8.67	0.09	22.25	68.49	—	0.50	0.44	0.04	—	—

Vitamin의 増減: 大體의으로 vitamin B₁을 除外한 다른 vitamin group는 相當量의 増加를 보았다. 그 중 vitamin B₂에 있어서는 B.M. D-28에 依하여 增加된 量은 淸은콩 1.707/g 보다 30.6%가 높았으며 B.M. D-23a는 53.8%, B.M. 88-3은 64.7%, B.M. B-938은 67.6%씩 각각 增加量을 보았다. 反面의 vitamin B₁에 있어서 淸은 콩에 比하여 量이 減少되었다. 그 原因은 微生物의 初期 發育時에 그 菌株에 따라 消耗 12)된 것이 아닌가 推測하나 異常하게 減少된 原因은 알오르 究明하여야 될 것이다. niacin은 B.M. B-938이 약간 低下하였을 뿐 모두 增加되었다 vitamin B₁₂ 生産性이 강한 B.M. B-938(比較菌株)은 20.8mg/g가 生産되었고 海苔에서 分離한 菌인 B.M. 88-3은 16.0mg/g가 生産되었다. 그러나 B.M. D-

28 및 B.M. D-28 a는 淸은콩 0.001mg/g에 比하여서는 淸은 量인 1.0mg/g가 生産되었다.

Amino-N의 變化: amino 態 窒素는 淸은콩에 比해서 全般的으로 그 含量이 높았지만 특히 B.M. 88-3은 無窒條件에서 10餘倍의 増加를 보였다.

色素의 生産: 試料의 發酵途中에 있어서 각 色素生成을 보면 B.M. D-28 및 B.M. D-28a는 3일부터 黃色 色素를 生成하기 始作하였으며 B.M. 88-3은 5일부터 褐色 色素를 生成하기 始作하였다.

Rat의 成長率: 無窒素飼料로 配合된 基本飼料(vitamin free) 72%에다 窒素源으로서 醱酵大豆粉과 淸은콩 28%를 각각 混合하여 growth method로 rat의 成長試驗을 한 結果는 Table III 및 Fig. 1과 같다.

Table III. Growth rate of rat fed experimental diets

	average gain in body weight				
	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Diet 1	16.2	38.5	54.3	60.9	70.1
Diet 2	20.7	43.6	57.8	77.0	94.1
Diet 3	4.4	10.3	15.0	19.2	24.1
Diet 4	22.8	44.0	64.2	77.8	97.6
Control	17.7	32.2	49.1	57.2	69.4
N-free basal ration	-11.9	-16.6	-20.7	-24.9	-28.8

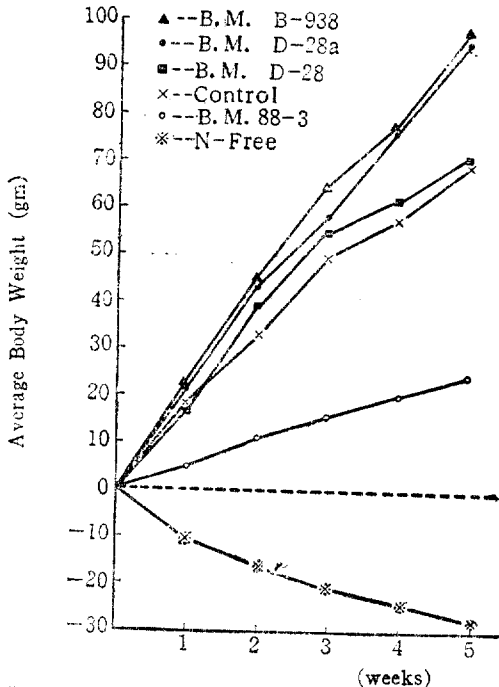


Fig. 1. Growth rate of rat fed experimental diets.

B.M. D-28을 添加한 區는 3週까지의 體重은 平凡하게 増加를 보였으나 4週부터는 B.M. D-28a 및 B.M. B-938區에 比하여서는 低下되었으며 淸은 콩보다도 약간 높았다. B.M. D-28a를 添加한 區는 vitamin B₁₂ 生産性이 높은 B.M. B-938을 添加하여 飼育한 rat의 體重과 同等하게 增加하였으며 이것은 鄭 13) 14) 등이 notto 14% 및 pollack 14%를 添加하여 飼育한 것보다도 良好하였다.

B.M. 88-3을 添加한 區는 他區에 比하여 vitamin 含量 및 amino 態 窒素가 10餘倍나 높은 首位를 차지하였으나 rat의 體重增加를 보면 B.M. B-938 및 B.M. D-28a의 成長의 約 25% 밖에 안된다. 또 對照區에 比하여도 34.7%가 된다. B.M. 88-3의 成長率이 低下된 原因은 이 菌株에 의하여 生産된 褐色 色素나 또는 어느 未知物質로 因해서 rat의 成長이 抑制되는 것이 아닌가 推測되며 알오르 더욱 檢討하였다.

醱酵大豆의 Food efficiency: rat의 飼育試驗에 의한 醱酵大豆의 food efficiency를 淸은콩에 比較하여 計算하여 본 結果는 Table IV와 같다.

Table IV. Food and protein efficiencies of fermented soybean

group	av. food intake for 35 days			av. daily food intake		gain body weight	food efficiency	mean gain per protein	nitrogen efficiency	
	total diet	total protein	N	protein	N					
Basal ration	72%	g	g	g	mg	g				
B.M. D-28	38%	361.9	43.266	6.922	1.236	198	70.1	19.36	1.62	10.2
Basal ration	72%									
B.M. D-28a	28%	355.2	39.819	6.315	1.173	180	94.1	26.48	2.36	14.4
Basal ration	72%									
B.M. 88-3	28%	201.4	23.910	3.681	0.657	150	24.1	11.96	1.04	4.5
Basal ration	72%									
B.M. B-938	28%	342.4	32.303	5.168	0.923	147	97.6	27.69	3.03	18.9
Basal ration	72%									
Cooked soybean	28%	306.9	39.159	5.616	1.118	150	69.4	22.61	1.77	12.3
Nitrogen free										
Basal ration	72%	114.0	0.103	0.016	0.003	—	—28.8	—	—	—

1. Grams gained per 100gm of food consumed.
2. Expressed as grams gain per gram of protein consumed.
3. Mean grams gain per day per gram of nitrogen consumed.

飼養試驗에서 體重 이 가장 높은 B.M. D-28a의 food efficiency는 對照區인 B.M. B-938의 27.69 보다 4.3%가 낮으나 같은 종의 food efficiency 22.61 보다는 17.1%가 높았으며 protein 및 nitrogen efficiency도 良好하였다. 反面에 B.M. 88-3은 같은

종의 food efficiency보다 47.1%가 낮은 결과를 보았다. 이것은 亦是 成長 試驗의 結果와 같이 이 菌株에서 生産된 褐色 色素나 다른 未知物質로 因해서 動物 成長에 影響을 주는 것으로 推測한다.

總 括

1. *Bacillus megatherium* 88-3, D-28, D-28a 및 B-938 등에 의하여 1週日間 醱酵된 콩의 vitamin B₁₂ 및 B₂의 含量變化는 같은 콩에 比하여 많은 量이 增加되었다. 그러나 vitamin B₁ 만은 오히려 같은 콩보다 減少率을 나타냈다.
2. 醱酵過程中 *Bacillus megatherium* 88-3은 褐色 色素를 生産하고 *Bacillus megatherium* D-28 및 D-28a는 黃色 色素를 生産하는 性質의 菌이다.
3. 醱酵한 콩으로 飼育한 rat의 體重 增加는 같은 콩으로서 飼育한 體重增加보다 優秀하다. 그러나 vitamin 含量이 많으며 褐色 色素를 生産하는 *Bacillus megatherium* 88-3 만은 이상하게도 나타났다. 혹시 이것은 褐色 色素에 의한 代謝作用의 障害에 起因된 것이 아닌가 推測된다.
4. *Bacillus megatherium* D-28a의 food efficiency는 *Bacillus megatherium* B-938 보다 4.3%가 낮으나 같은 콩에 比하여서는 17.1%가 높았다. 같은 콩보다 47.1%가 낮은 *Bacillus megatherium* 88-3은 rat의 生育試驗의 結果와 같은 關聯性이 나타났다.

文 獻

1. 大斗浩, 李啓湖: 1960. 科연회보, 5, 1, 61
2. 黃圭贊, 鄭允秀, 金浩植: 1960. 科연회보, 5, 1, 51
3. 金浩植, 鄭允秀: 1962. 韓國農藝化學會誌, 3, 19
4. Osborne, Mendel, : 1912. J. Biol. Chem., 12, 81
5. Jones, T. H., Foster, C., : 1942. J. Nutrition, 24, 245
6. Hennessy, D. J., Cereced, L. R., : 1939. J. Am. Chem. Soc., 61, 179
7. Yagi, K., : 1953 I. Vitaminology (Japan), 6, 528
8. Snell, E. E., Right, L. D., : 1941. J. Biol. Chem. 139, 675
9. Method of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, 8th ed., 1955. 826
10. U.S.P. XV 1955. 885
11. Osborne, Mendel, : 1919. J. Biol. Chem., 37, 223
12. 李泰寧, 金浩植, 鄭東孝, 金浩植: 1960. 科연회보, 5, 1, 43
13. 鄭泰錫, 桂聖烈, 尹斗石: 1959. 科연회보, 4, 1, 43
14. Tae-Seok Cheong, Seong-Yeol Ke, Du Seok Yoon: 1960. Chemical Abstracts 54, 11, 11180(d).