

청국장 발효중 점질성 고분자 물질의 생성에 관한 연구

이용림 · 김성호 · 정낙현* · 임무현

대구대학교 식품공학과, *상지전문대학 식품영양과

초록 : 청국장 발효시 생산되는 점질물에 대하여 연구하기 위하여 벗짚으로부터 점질물 생성능이 우수하고 좋은 풍미의 청국장 재조균 SB-1를 분리하여 *Bacillus* sp.로 동정하였다. 이들 균주들은 42 °C에서 48시간때에 가장 많은 점질물을 생산했으며, M.S.G.의 첨가시 점질물 및 아미노태질소와 암모니아태질소의 성분에는 큰 변화가 없었으나, Sucrose 첨가시 점질물과 아미노태질소의 생산량은 증가한 반면 암모니아태질소는 오히려 감소하였다. 점질물의 분자량은 15,000~65,000 정도로 추정되었다. 점질물은 G.C.와 HPLC의 분석결과 주로 glutamate와 fructose로 구성된 것으로 나타났으며, 배지조성의 차이에 따라 다른 고분자물질이 검출되었다 (1992년 4월 6일 접수, 1992년 5월 23일 수리).

청국장은 청국장균(*Bacillus subtilis*)을 증자대두에 접종하여 발효숙성시킨 것으로 단백질의 소화와 흡수가 용이하고 특유의 점질성 조직감과 구수한 풍미를 지니고 있는 우리나라 전통 발효식품이며, 정장작용과 함께 간장을 보호해 주는 작용이 있는 것으로 알려져 있다.^{1,2)}

이와 유사한 일본의 납두(納豆)는 제품의 특성이 청국장과 약간의 차이가 있으나 제조시 *Bacillus* sp.를 사용하여 다량의 점질물을 생산한다는 점이 청국장과 매우 유사하며, 이들 납두의 점질물에 관한 몇몇의 연구들이 있다.³⁻⁶⁾

대두발효시 *Bacillus*균에 의해 생산되는 점질물은 polyglutamate와 levan form fructan이 혼합되어 있으며,⁷⁾ 이들은 제품의 품질특성에 중요한 영향을 미칠 수 있으며 탄소원 및 질소원의 종류와 함량에 따라 그 특성이 다양하게 변화될 수 있다. 또한 Mn^{++} , biotin, sucrose, glutamic acid 등의 농도에 따라서도 다양하게 변화될 수 있으며,⁸⁻¹⁰⁾ 이들 점질물은 미생물 고분자물질 (biopolymer)의 일종으로 앞으로 이용가치가 기대되는 물질이다. 근래에는 이와 같은 미생물이 생산하는 biopolymer가 식품 및 각종산업에 많이 응용되고 있으며, 그 효능과 이용분야에 대해서도 관심이 높아지고 있다.¹¹⁾ 그러나 우리나라 전통 발효식품인 동시에 biopolymer인 점질물을 함께 생산하는 청국장에 대한 연구로는 청국장 숙성과정 중 당성분의 변화와 아미노산의 변화에 관한 연구^{12,13)} 등으로 미미한 정도이며, 특히 고분자 물질인

청국장의 점질물에 관한 연구는 전무한 상태이다.

따라서 이 연구에서는 벗짚과 시판용 청국장으로부터 우량균주를 분리하고, 청국장 발효과정 중 점질물의 생성에 미치는 원료의 열처리조건, 탄소원의 종류와 농도 그리고 혼합원료 물질의 농도 등이 청국장 발효과정 중 점질물, NH_2-N , NH_3-N 의 함량의 변화 등에 미치는 영향에 대하여 조사하고 부분적으로 점질물의 구성성분을 분석하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 배지조성

원료 대두는 경북 경산군 하양읍에서 구입한 1989년산 황대를 사용하였으며, 원료 대두의 일반성분은 수분 11.36%, 조단백질 36.77%, 총당 15.3%, 조지방 16.21%, 조회분 2.21%이었다.

배지는 원료 대두를 100 °C에서 2시간 물로 추출한 다음 당도를 3%로 조정하고 한천 2% 첨가하여 분리용 배지로 사용하였으며 균주보존용 배지는 yeast extract 1%, tryptone 2%, glucose 2%, agar 1.5%, pH 7.0으로 조정하여 사용하였다.

균의 분리 및 종균제조

벗짚(경북 경산군 진량면, 1989)과 시판용 청국장(대구근교 시장, 1989) 및 납두(일본 E식품, 1989)로부터

최종 5균주를 선별하고 이들 5균주에 대하여 Bergey's manual¹⁴⁾에 따라 동정하였다. 이들 균주를 삶은 대두에 접종하여 점질물과 아미노태질소 생산량이 최대한 동시에, 암모니아태질소 생산량은 최소인 1균주를 최종 선 발하여 종균으로 사용하였다. 종균은 T.S.B.(Tryptic Soy Broth, Difco)배지에 접종하여 사용하였으며, 40℃에서 균수가 10⁷~10⁸/ml이 되도록 배양하여 접종용 종균으로 사용하였다.

대두시료로 정선된 대두를 24시간 동안 물에 침지하여 100℃ 상압에서 1시간 증자하여 45~50℃로 냉각한 후, 각 시료를 혼합하여 2%되게 종균을 접종하여 42℃에서 72시간 배양하였다.

일반성분 및 점질물의 분석

일반성분은 A.O.A.C.법¹⁵⁾에 따라 분석하였으며, 총당은 Phenol-sulfuric acid법¹⁶⁾ NH₂-N와 NH₃-N는 Weatherburn¹⁷⁾방법에 따라 측정하였다. 점질물은 Tanaka 등에 의한 방법¹⁸⁾에 따라 회수한 건물량으로 측정하였다. 점질물의 분자량 측정은 회수한 점질물을 24시간 투석·건조시켜 Sephadax G-75(column size : 1.5×70 cm)로 분획하였으며, 표준단백질로는 Blue dextran(M.W. 2,000, 000), Bovine serum albumine(M.W. 65,000) Cytochrome C(M.W. 15,000), Glycine(M.W. 75)을 사용하였다.¹⁹⁾

TLC는 N-Butanol : Acetic acid : Water = 60 : 15 : 25를 전개용매로 사용하여 분석하였으며,¹⁹⁾ Glutamate와 fructose는 G.C와 HPLC로 각각 분석하였다. Flavor는 제품의 냄새를 맡아보아 암모니아취 등 이취가 없으면 우수한 것으로 판정 하였다.

결과 및 고찰

균주의 분리

벧짚, 시판용 청국장 및 납두로부터 분리한 200여 균주

중 비교적 점질물 생성능이 우수한 균으로 벧짚(SB)에서 2종(SB-1, SB-2), 청국장(CB)에서 1종(CB-1), 납두(JN)에서 2종(JN-1, JN-2)을 각각 분리하였다. 이 균주들의 평균배양 특성을 24시간 배양하여 비교 측정된 결과, flavor 및 점도 등에서 SB-1이 비교적 우수하였다(Table 1).

각 균주별 점질물, 아미노태질소, 암모니아태질소 생성에 대한 실험결과는 Table 2와 같이 대부분의 균주들이 발효 48시간 때에 최대의 점질물 생산성을 나타내었으며, 분리균주 중 SB-1 균주가 1.4 g%로 최고의 점질물 생산량을 보였다.

아미노태질소의 생성량은 5균주 모두가 거의 비슷하였으나 72시간 때에 SB-1 균주가 800 mg%로 생산량이 가장 높았다. 암모니아태질소는 발효 48시간을 기준으로 CB-1이 56 mg%로 가장 적게 생산되었으며, 60시간 이후는 급격히 증가하였다.

5균주 중 SB-1균주가 비교적 많은 점질물을 생산하고 청국장의 맛을 좌우하는 아미노태질소의 생산량이 가장 많을 뿐만 아니라, 불쾌취 성분의 일종인 암모니아태질소의 생산량이 적은 점을 감안하여 SB-1을 실험균주로 사용하였다.

균주의 동정

분리한 SB-1균을 Bergey's manual¹⁴⁾에 따라 동정한 결과, 형태적 특성은 간균으로서 운동성이 있고 내열성의 포자를 형성하였으며, 포자는 ellipsoide의 형태로 주로 중심에 위치하는 것으로 관찰되었다. 염색상에서는 Gram양성을 나타내었고 포자염색 또한 양성을 나타내었다. 생리적 특성은 V-P test, catalase test, starch hydrolysis, casein hydrolysis 등이 양성이었고 비교적 넓은 범위의 pH와 45℃의 온도에서 생육이 활발한 점 등을 미루어 보아 Bergey's manual¹⁴⁾의 *Bacillus subtilis* 특성과 별 차이가 없어 이 균주를 *Bacillus subtilis*으로

Table 1. Cultural characteristics

Strain	Colony size(cm)	Colony shape	Colony surface	Flavor	Viscosity
SB-1	4	Filiform	Lobate	+++	+++
SB-2	4	Spreading	Smooth	+++	++
CB-1	2	Filiform	Smooth	++	++
JN-1	2	Filiform	Branching	++	+++
JN-2	2	Filiform	Branching	++	+++

+++ : Good, ++ : Fair, + : Bda

Medium : Sucrose 5%, monosodium salt of L-glutamic acid 1.5%, KH₂PO₄ 0.27%, Na₂HPO₄·12H₂O 0.42%, NaCl 0.05%, MgSO₄·7H₂O 0.05, biotin 0.1 µg/ml, agar 1.5% : pH 6.4

Table 2. Changes of *Chungkookjang* components on different strain

Components	Strain	Fermentation time (hr)						
		0	12	24	36	48	60	72
Viscous substance (g%)	SB-1	0.01	0.12	0.50	1.01	1.40	1.40	1.38
	SB-2	0.01	0.10	0.25	0.52	0.98	1.15	1.13
	CB-1	0.01	0.03	0.10	0.29	0.50	0.51	0.50
	JN-1	0.01	0.03	0.20	0.38	0.70	0.70	0.69
	JN-2	0.01	0.05	0.18	0.42	0.80	0.80	0.79
Amino type nitrogen (mg%)	SB-1	20	88	200	401	603	721	800
	SB-2	20	44	100	210	394	586	650
	CB-1	20	30	85	130	197	251	300
	JN-1	20	50	110	250	442	630	700
	JN-2	20	75	140	300	504	703	750
Ammonia type nitrogen (mg%)	SB-1	5	17	32	848	65	145	170
	SB-2	5	20	51	62	115	158	180
	CB-1	5	15	25	35	56	129	140
	JN-1	5	30	72	85	138	183	200
	JN-2	5	37	79	87	150	205	230

동정하였다(Table 3).

발효조건

최적 발효온도 조건은 Table 4와 같이 점질물 생산은 42℃에서 48시간 배양 후에 1.41 g%로 최고치를 나타내었으며, 아미노태질소와 암모니아태질소는 72시간 때가 최고를 나타내었다. 특히 암모니아태질소는 48시간 이후에 급격히 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 42℃에서 48시간 발효시키는 것이 청국장용의 풍미와 점질물 생성 측면에서 가장 적당한 것으로 나타났다.

M.S.G. 및 sucrose 첨가에 따른 영향

점질물의 생산과 아미노태질소, 암모니아태질소의 생성량과의 관계를 알아보기 위해서 MSG를 각각 1%, 2%, 3%의 농도로, sucrose를 1%, 3%, 5%의 농도로 첨가하여 본 결과, 점질물의 생성량은 M.S.G.의 농도에는 큰 변화가 없었으나 sucrose의 5% 농도에서 2.0 mg%로 증가한 반면, 아미노태질소의 함량은 오히려 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 1).

M.S.G.의 첨가시 암모니아태질소 생성량은 약간 증가하는 경향으로 나타났는데 이는 M.S.G.의 질소성분이 분해되어 생성된 것으로 생각되며, sucrose 첨가시에는 배양 72시간까지도 거의 변화가 없었다(Table 5). 따라서 sucrose 첨가시에는 이를 기질로 사용하여 *Levan form* fructan 생산대사가 촉진되는 동시에 M.S.G. 첨가시 일

Table 3. Morphological and physiological characteristics of the isolated strain, *Bacillus* sp. SB-1

Form	Rods
Size	0.7~0.8×2~2.5
Motility	Positive
Spore shape	Ellipsoidal
Spore position	Central
Gram staining	Positive
Spore staining	Positive
Nitrate reduction test	Reduction
Anaerobic production of gas from nitrate	Negative
Formation of indole	Negative
Formation of HS ₂	Negative
Voges-Proskauer test	Positive
Citrate utilization test	Positive
Urease test	Negative
Catalase test	Positive
Starch hydrolysis	Positive
Casein hydrolysis	Positive
Gelatin hydrolysis	Positive
M-R test	Negative
Utilization of sugar	Fructose(+), Glucose(+), Mannose(+), Galactose(+), Maltose(+), Sucrose(+), Lactose(-), Glycerol(+), Ribose(-)
Growth for pH	5.0~9.0
Growth for temperature	25~47℃

Table 4. Changes of *Chungkookjang* components on fermentation temperature

Components	Fermentation Temp.	Fermentation time (hr)						
		0	12	24	36	48	60	72
Viscous substance (g%)	37 °C	0.01	0.10	0.23	0.36	0.50	0.50	0.49
	42 °C	0.01	0.17	0.34	0.62	1.41	1.40	1.39
	47 °C	0.01	0.21	0.52	1.10	1.20	1.20	1.18
Amino type nitrogen (mg%)	37 °C	20	33	54	112	214	325	340
	42 °C	20	64	257	413	730	780	801
	47 °C	20	82	225	318	550	620	650
Ammonia type nitrogen (mg%)	37 °C	5	21	30	53	100	160	170
	42 °C	5	24	40	66	180	208	210
	47 °C	5	30	52	132	240	254	260

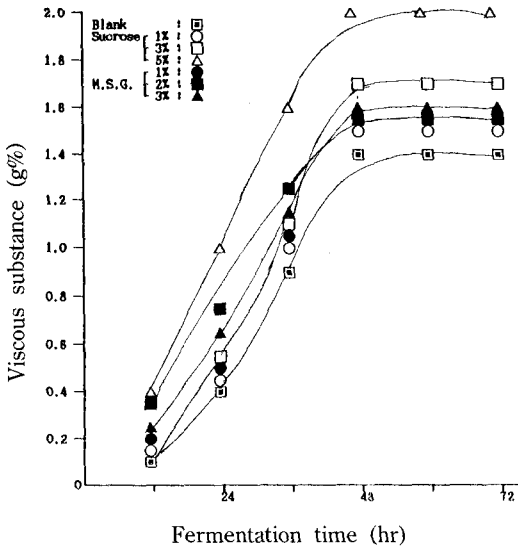


Fig. 1. Changes of viscous substance during *Chungkookjang* fermentation.

부의 질소성분은 암모니아태질소 성분으로 분해되고 일부는 polyglutamate(PGA)를 생산하는 대사에 이용되어질 것으로 추정된다. 따라서 원료배합을 조절함으로써 암모니아에 의한 이취가 적은 청국장을 제조할 수 있음은 물론, 목적에 따라 다양한 점질물 생산과 성분변화도 가능할 것으로 기대된다.

조 및 혼합 첨가물의 영향

원료를 혼합 사용한 경우에 이들 원료의 복합적 성분이 발효에 미치는 영향을 조사하고자 조, 고추가루, 마늘, 식염, M.S.G. 등을 첨가한 혼합 발효의 실험결과는 Fig. 3

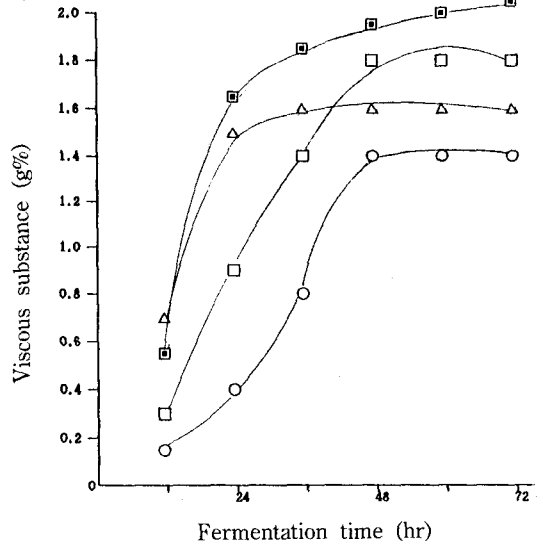


Fig. 2. Changes of viscous substance during *Chungkookjang* fermentation.

○—○ : Blank, □—□ : Soybean : Foxtail millet=90 : 10, △—△ : Soybean : Foxtail millet=80 : 20, ■—■ : Soybean : Foxtail millet : Hot pepper : Garlic : Salt : M.S.G.=82 : 10 : 1 : 1 : 3 : 3

및 Table 6과 같다.

발효 72시간때 조 10% 첨가구는 0.4 g%, 20% 첨가구는 0.2 g% 정도 생성량이 증가하였으며, 조 이외 기타 첨가물의 혼합 발효시 대조구보다 0.6 g% 더 생산되었다. 이때의 점질물 생성량은 2.0 g%로 최고치를 나타내었다 (Fig. 2).

조 단일 첨가구에서 아미노태질소량은 감소하였으나 혼합발효의 경우 880 mg%로 더 많이 생성되었다. 암모

Table 5. Changes of *Chungkookjang* components on the addition of M.S.G. and sucrose

Additive	Content		Fermentation time (hr)						
			0	12	24	36	48	60	72
M.S.G.	Blank	A	20	88	217	470	680	780	800
		B	5	23	29	46	73	125	158
	1%	A	20	100	243	330	400	580	700
		B	5	31	42	49	90	146	160
	2%	A	20	110	207	260	310	590	800
		B	5	37	49	55	100	150	170
3%	A	20	130	229	297	346	413	570	
	B	5	51	56	67	120	167	200	
Sucrose	1%	A	20	34	210	500	650	710	750
		B	5	23	29	50	70	80	80
	3%	A	20	47	160	270	510	630	680
		B	5	23	27	45	55	60	62
	5%	A	20	60	140	230	450	550	610
		B	5	20	26	38	40	38	56

A : Amino type nitrogen (mg%)
 B : Ammonia type nitrogen (mg%)

Table 6. Changes of *Chungkookjang* components on the mixing materials

Mixing materials		Fermentation Time (hr)						
		0	12	24	36	48	60	72
Blank	1	20	88	217	470	680	780	800
	2	5	35	53	81	94	125	158
A	1	20	206	230	350	430	498	504
	2	5	30	46	75	54	70	70
B	1	20	120	160	230	200	370	403
	2	5	28	39	67	40	50	50
C	1	20	340	600	745	810	860	880
	2	5	31	40	38	38	29	20

A. Soybean : Foxtail millet=90 : 10, B. Soybean : Foxtail millet=80 : 20, C. Soybean : Foxtail millet : Hot pepper : Garlic : Salt : M.S.G.=82 : 10 : 1 : 1 : 3 : 3
 1 : Amino type nitrogen(mg%), 2 : Ammonia type nitrogen(mg%)

니아태질소는 대조구에 비해 조 단일 첨가구, 혼합 첨가구 모두 적게 생산되었다. 특히 조 이외 기타 혼합물을 첨가할 경우 암모니아태질소의 생산량을 현저히 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다. 이는 sucrose 첨가시 암모니아태질소가 적게 생산되는 경향과 비슷한 결과로 이것은 원료(조) 중에 72%의 많은 당질이 함량되어 있기

때문인 것으로 생각된다(Table 6). 따라서 적절한 비율의 원료배합으로 청국장의 점질물과 암모니아태질소 등의 생성량에 많은 변화를 줄 수 있음은 물론 제품의 풍미와 품질을 다양하게 변화시킬 수 있을 것으로 기대된다.

점질물 구성성분의 분석

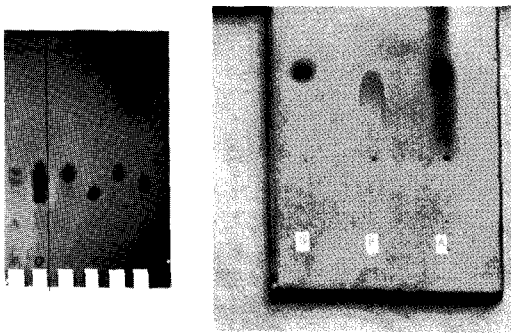


Fig. 3. Thin layer chromatography of hydrolyzed viscous substance.

A : Sugar analysis(F : Fructose, S : Sucrose, G₁ : Glucose, G₂ : Galactose, S₁ : Hydrolysis for 12 hrs, S₂ : Hydrolysis for 3 hrs)
 B : Glutamic acid(S : M.S.G., A : After hydrolysis, B : Before hydrolysis)

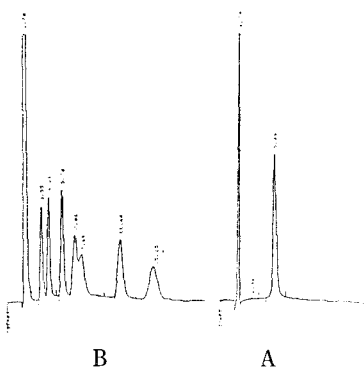


Fig. 4. HPLC chromatography for sugar analysis of viscous substance.

A : Sample, B : Standard sugar

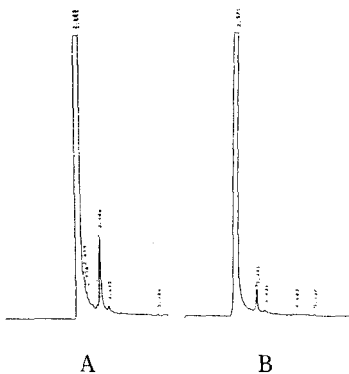


Fig. 5. Gas chromatography for amino acid of viscous substance.

A : Sample, B : Standard glutamate

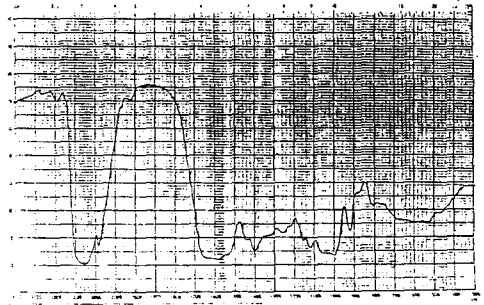


Fig. 6. Infra-red spectrum analysis of viscous substance.

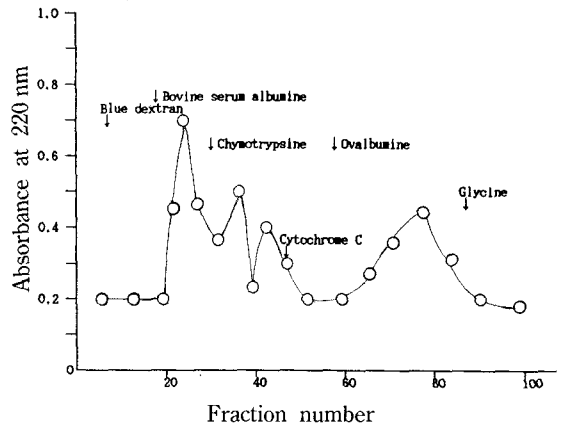


Fig. 7. Sephadex G-75 chromatography of viscous substance.

Added M.S.G. 3% and sucrose 5%.

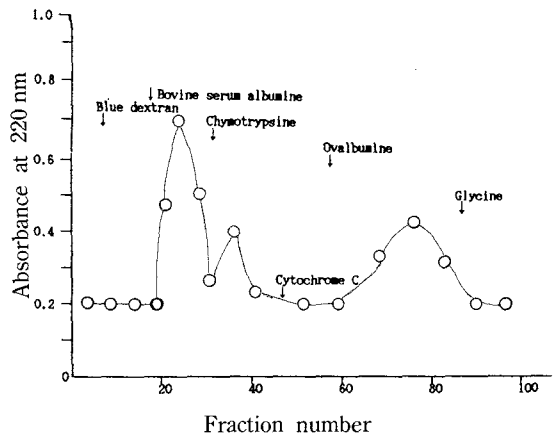


Fig. 8. Sephadex G-75 chromatography of viscous substance.

Added mixing materials : Soyben : Foxtail millet : Hot pepper : Garlic : Salt : M.S.G. = 82 : 10 : 1 : 1 : 3 : 3

점질물의 구성 성분을 분석하기 위해 TLC로 분석한 결과 Fig. 3과 같이 당류로는 주로 fructose와 galactose가 검출되었으나 HPLC 분석결과 대부분이 fructose인 것으로 밝혀졌다(Fig. 4). 이들 당류와 함께 구성된 물질로는 GC 분석결과 주로 glutamic acid가 검출되었다(Fig. 5). 일반적으로 다른 미생물이 생산하는 다당류의 경우 glucose, galactose와 glucuronic acid 등의 물질로 구성된 반면,¹⁰⁾ 적외선 spectrum 분석결과 당류 잔기 -OH기의 흡수 spectrum인 3,400 cm⁻¹과 glutamic acid의 carboxyl기 흡수대의 아미노기 잔기의 흡수대가 1,400 cm⁻¹와 2,900 cm⁻¹가 각각 관찰되므로 이들은 fructose와 glutamic acid가 중합된 levan form fructan과 polyglutamate (PGA)의 혼합 물질로 생각된다(Fig. 6).

한편 이 등²⁰⁾은 carbon산 2량체의 C=O 신축진동인 1,725 cm⁻¹ 부근에서 흡수대가 없는 점으로 미루어 uronic acid가 없는 것으로 추정하였으나, 본 실험에서는 약간의 흡수대가 나타난 점으로 보아 점질물속에 uronic acid를 약간 포함하고 있는 것으로 추정된다. 또한 800~900 cm⁻¹의 흡수대가 거의 나타나지 않으므로 인하여 유산 ester의 존재 가능성은 희박한 것으로 나타났다.

조 첨가구와 대조구의 점질물을 Sephadex G-75 column chromatography로 분석한 결과, 대조구와 sucrose 5%, M.S.G. 3% 첨가구는 bovine serum albumine이 검출되는 fraction number 20~40 사이와 cytochrome이 검출되는 70~90 사이 두 곳에서만 peak가 검출된 반면 조 첨가구에서는 40~50사이에도 peak가 나타났다(Fig. 7, 8). 따라서 점질물의 분자량은 대략 15,000~65,000인 것으로 추정되나 발효시 배양조건에 따라 다소의 차이가 있는 것으로 생각되며, 이에 따른 점질의 물성에도 큰 차이가 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

이 연구는 '90년도 한국 음식문화 연구원의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사합니다.

참 고 문 헌

1. Reddy, N. R., Salunkhe, D. K. : C. R. C. Prees, p. 5, (1986)

2. Hayashi, U., Nagao, K. and Yoshioka, Y. : Bull. Teikoko-Gaguen KOYO, 2 : 9(1976)

3. Saito, T., Iso, N., Mizuno, H., Kaneda, H., Kawamura, S., Suyama, Y. and Osawa : Agr. Biol. Chem., 38 : 1941(1974)

4. Ichishima, E., Kato, M., Wada, Y., Kakiuchiu, H., Takeuchi, M. and Takahashi : Food Chemistry, 8 : 1(1982)

5. Katagiri, M., Shimizu, S., Kaihara, H. and Katagiri, G. : Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 34 : 305 (1987)

6. Kanno, A., Takamatsu, H., Takano, N. and Akimoto, T. : Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 29 : 105 (1982)

7. Andrea, A., Toshio, H. and Seinosuke, U. : J. Gen. Appl. Microbiol., 27 : 115(1981)

8. Onishi, R., Abe, K., Honma, S. and Aida, K. : Nippon Kasei Gakkaishi, 1 : 13(1988)

9. Onishi, R., Abe, K., Honma, S. and Aida, K. : Nippon Kasei Gakkaishi, 10 : 871(1987)

10. Hara, T., Fujio, Y. and Ueda, S. : J. of Appl. Biochem., 4 : 112(1982)

11. Manssur, Y. : Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo (1987)

12. Kim, K. J., Ryu, M. K. and Kim, S. S. : Korean J. Food Sci. Technol., 14 : 301(1982)

13. Lee, H. J. and Suh, J. S. : The Korean Journal Nutrition Society, 14 : 97(1981)

14. Peter, H. A. Sneath, Nicholas, S. Mair, M. Elisabeth Sharpe, John G. Holt : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, U.S.A., 1104(1986)

15. A.O.A.C. : Official Method of Analysis, 13th ed., p. 234 (1980)

16. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, T. : Anal. Chem., 28 : 350(1956)

17. Weatherburn : Anal. Chem., 39 : 971(1967)

18. Tanaka, T., Oi, S. and Yamamoto, T. : J. Biochem., 87 : 297(1980)

19. Hara, T. and Ueda, S. : Agr. Biol. Che., 46 : 2275 (1982)

20. Lee, S. Y., Lee, B. S. and Lee, K. E. : Korean J. Food Sci. Technol., 23 : 167(1991)

A study on the production of viscous substance during the *Chungkookjang* fermentation

Yong-Lim Lee, Sung-Ho Kim, Nack-Hyun Choung* and Moo-Hyun Yim(Department of Food Technology, Taegu University, Kyungsan 713-714, Korea, *Department of Food and Nutrition, Sang-ji Junior University, Andong 760-070, Korea)

Abstract : In order to study on the viscous substance produced during Chungkookjang fermentation, one strain which produce a lot of viscous substance was isolated from the rice straw and identified as *Bacillus* sp. This strain produced the most viscous substance in 48 hours at 42 °C, in spite of little change of amino type nitrogen and ammonia type nitrogen when added M.S.G., while the yield of viscous substance and amino type nitrogen was increased but that of ammonia type nitrogen was decreased when added sucrose. Molecular weight of viscous substance estimated between 15,000 and 65,000. Viscous substance was confirmed mostly composed of glutamate and fructose by G.C. and HPLC analysis. Composition of viscous substance would be controlled according to the changes of media.