

어젠다코드	1 - 6 - 20		구 분	세부완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	H03	작목구분코드	FR-02-FR21
과제종류	기관고유		세세부사업	-	
연구과제 및 세부과제			수행기간	과제책임자 및 세부책임자	
전통 발효식품 유용 미생물자원 발굴 및 보존연구			'09~'13	농식품연구소	이재형
식품 유용 균주 은행 구축			'09~'13	농식품연구소	이재형
색인용어	발효식품, 미생물, 은행				

ABSTRACT

The representative traditional fermented foods in Korea can be divided into four group(Vegetable products, soybean products, cereal products and fishery products). It gives the salty taste to the diet and also allows us to preserve the food materials. To the present day, almost all Korean fermented foods are prepared by natural fermentation. But in some cases, starter cultures have been introduced. To have consistent and high quality of fermented foods, it is necessary to use high quality starter cultures for fermentation. For this purpose, in our project, manufactured fermented foods(fermented soybean paste, Kimchi, Jeot-gal and so on) are collected and stored. Total 209 different fermented foods were collected mainly from Gangwon-do region, also consideration of different regions and different seasons. Total 890 microorganisms were isolated from fermented foods with pure culture method. Among of them, total 630 microorganisms had the hydrolase and fibrinolytic activities.

1. 연구목표

미생물은 생명공학 연구의 유전자 조작에 사용되는 호소 대부분을 생산하고, 미생물 유전자는 식물에 삽입되어 새로운 품종도 개발되고 있다(권승직 2010). 또한 폐수처리, 퇴비 등의 재생과 바이오 에너지, 미생물을 활용 농약, 비료, 사료 첨가제 등에 이용 중이다(이효진 2010, 임구상 등 2013). 우리나라의 전통 발효 식품의 제조공정은 주원료에 부재료를 첨가, 혼합하여 원료나 공기 중에서 유입된 천연 미생물에 의한 자연발효 과정을 이용한다. 그러나 고품질 전통 발효 식품의 생산, 또는 표준화 제조공정을 위하여 종균 스타터의 이용이 필요하며 종균 확보를 위한 균주의 수집 및 유용 미생물 선별 기술의 개발은 필수적이다(차성관 2000). 따라서 발효식품용 종균 개발을 위해 다양한 발효식품을 수집하여 이를 소재로 활용할 수 있는 기반 구축이 무엇보다도 필요하다.

2. 재료 및 방법

(시험 1) 발효식품 자원 수집 및 유용 미생물 분리

(1) 발효식품 자원 수집

토착 미생물을 분리하기 위해 강원도내에서는 가공업체로 등록된 업체 위주로 된장을 비롯한 장류를 수집했고, 기타로는 청국가루, 젓갈류 등을 수집하였다. 전국을 대상으로 수집한 자원은 주로 순창장류축제 및 전주발효엑스포장 등 축제에 전시되었던 품목 위주로 수집하였다.

(2) 유용 미생물 분리 및 동정

가. 미생물 분리 및 배양

- ① 유산균 : 10진 단계 희석 샘플을 Bromophenol Blue (이하 BPB라 함)를 0.02% 함유한 MRS배지에 100 μ l 분주 후 화염 멸균한 삼각스틱을 이용해 배지에 도말한 후 2~3일 후에 암청색 집락 Colony들을 카운트 한후 모양과 색등의 외형적으로 다른 Colony를 1백금이 따서 BPB-MRS 에 다음과 같이 순수분리를 한후 저장한다
- ② 효모 : 10진 단계 희석한 샘플을 10% Tartaric acid를 이용해 PH 3.5정도로 맞춘 YMA (Yeast Mannital Agar) 에 100 100 μ l(1ml)분주후 화염 멸균한 삼각스틱을 이용해 배지에 도말한 후 30 $^{\circ}$ C에서 2~3일 배양후에 집락 Colony들을 카운트 한후 모양과 색등의 외형적으로 다른 Colony를 1백금이 따서 순수분리를 한후 저장한다.
- ③ 고초균 : 10진 단계 희석한 샘플을 염산과 수산화나트륨 용액을 이용해 PH 6.8정도로 맞춘 NBA (Nutrient Broth Agar) 에 100 100 μ l(1ml)분주후 화염 멸균한 삼각스틱을 이용해 배지에 도말한 후 30 $^{\circ}$ C에서 2~3일 배양후에 집락 Colony들을 카운트 한후 모양과 색등의 외형적으로 다른 Colony를 1백금이 따서 순수분리를 한후 저장한다
- ④ 고체배양법(solid culture method)
종균의 보존, 생태관찰 및 생리적 성질을 조사할 때 사용하며 일반적으로 면배양법을 사용하거나 염기성 세균 등은 천자배양법을 이용한다. 사면배양법은 호기성균에 가장 많이 이용되는 방법으로 백금선으로 미생물을 취하여 사면의 하부에서 상부로 가볍게 직선 또는 지그 지그재그로 그어주는 방법이다.
- ⑤ 액체배양법(liquid culture method)
미생물의 생태, 생리적 실험, 발효 생산물의 실험, 다량의 균체 생산을 요할 때 배양액 중에 공기를 주입할 필요가 있는 경우 일반적으로 액체배양법을 사용한다. 혐기성균을 배양할 때는 가급적이면 산소가 존재하지 않는 상태에서 증식이 잘 되기 때문에 이와 같은 조건을 충족하여 주기 위해서는 배지의 양을 많이 가하여 주는 것이 효과적이다. 반면, 호기성균을 배양할 때는 생육 시 다량의 산소가 필요하기 때문에 배양용기에 비하여 배지량을 적게하여 액층을 얇게 하고 산소의 공급이 잘 되도록 하여야 한다. 시험관을 사용하여 배양할 때는 공기와 접촉면을 넓히기 위해 사면배지와 같이 눕혀서 배양하는 것이 효과적이다.

나. 미생물 동정

① 세균의 동정 (유산균)

세균은 핵이 핵막을 가지지 않는 원핵생물에 속하는 단세포의 생물로서, 대부분은 세포분열(이분법)에 의해서 증식한다. 현재까지 알려져 있는 균속(genus)은 350 종 이상이며, 생물 다양도 아주 다양하기 때문에 그 분류도 아직 불완전한 점이 많다.

세균의 분류와 동정에 있어서 가장 중요한 성질은 Gram 염색성이다. 이것은 crystal violet 을 사용하는 염색의 결과에 따라 세균을 Gram 양성균과 음성균으로 나눈다. 그 밖에 분류의 지표가 되는 생리적 성질로는, 산소요구성, 영양요구성, 자화성, 대사에 의한 생성물, 효소 반응, 항생물질 저항성 등이 사용되고 있다. 최근에는 연구의 진보에 따라 DNA 염기조성, 16S RNA 구조 분석을 이용하는 분자 유전학적 방법, 세포벽 구성성분, 전자전달계의 quinone 형, 균체 지방산 조성(MIDI) 화학분류법, 그리고 면역학적 방법이 새로운 동정법으로 대두되고 있다(한효심 등 2012).

② 효모의 동정

효모는 진균류의 하나로서 단세포 상태로 생육하는 진핵세포생물을 지칭하고, 효모의 대부분을 이루는 자낭균류 및 불완전균류, 그리고 담자균류를 포함하여 3개의 아문(亞門)으로 구별된다. 또한 성장조건의 변화에 따라 위균사(pseudomycelium) 또는 진균사(true mycelium)를 형성하기도 한다. 무성생식의 경우 출아법(budding) 또는 이분법(fission)으로 증식하며, 진정효모균류는 유성생식에 의해 자낭포자 등을 형성한다.

효모의 동정에 있어서는 영양증식 형태, 세포의 형태, 그리고 위균사, 균사, 분절포자, 자낭포자 등을 검경 관찰함으로써 균속을 추정할 수 있으며, 이 외에도 대표적 배지에서의 생육상태, 생육온도 등이 필요하다. 균종(species)의 동정은 주로 당류의 발효능, 탄소화물의 동화능, 질산염의 동화능 등 생리적 특징에 의해 행해진다.

② 고초균의 동정

자연계에 널리 분포하는 비병원성(非病原性)·호기성(好氣性)·간균(桿菌)의 일종. 공기중은 물론 마른 풀·하수·토양 중에 존재한다. 편모(輔毛)가 있어 활발히 운동하며 균체의 중앙에 원형 또는 난원형(柳圓形)의 아포(芽胞)를 형성한다. 보통의 배지(培地)에서도 잘 발육하며 회백색의 큰 취락(聚落)을 형성하고 그 주위 눈 방사상을 이룬다. 아포를 갖고 있으므로 건조나 고온에 대한 저항력이 극히 강하며, 균체는 글리코젠을 함유하는 그람 양성균으로서 다수의 탄수화물을 분해하여 산을 생성한다. 30~70℃에서 가장 잘 증식하며 50~56℃의 고온에서도 잘 발육하지만 120℃ 증기 속에서 15분이면 사멸한다. 쌀밥이 부패하는 원인도 이 균에 의한 경우가 많으며, 비병원성이지만 불결물에 의해 안구(眼球)가 손상되었을 때에는 결막염·홍채염 등 만성화농증 등을 일으킬 수 있다. 아종이 많아 생화학적 동정외에 유전자 분석을 통해서 동정가능하다(송재영 등 1984).

(시험 2) 미생물 기능성 탐색 및 은행 구축

가. 기능성 탐색

① α -amylase 활성 검정 (전분 가수분해 실험 Hydrolysis of starch)

미생물이 생산하는 체외 효소를 이용하여 전분을 가수분해 할 수 있는 능력이 있는지 실험을 통해 확인하고자 한다. 전분은 포도당 분자를 glycosidic bonds 로 연결시킨 분자 중합체로 연결된다. 전분과 같이 거대한 중합체들은 세포막을 통과 할 수 없기 때문에 세포내에서 에너지로 이용할 수 없다. 따라서 amylase와 maltase 같은 세포의 효소를 분비해서 전분 기질을 작은 glucose 단위로 분해함으로써 세포내에 이용할 수 있다. 저분자로 분해된 포도당 분자들은 세포내에서 해당과정을 통해 에너지원으로 이용된다. 이러한 체외효소의 전분가수분해능을 관찰하기 위해 배지는 starch agar 가 사용된다.

전분을 가수분해 하는지 조사하기 위해 starch agar배지에 세균을 배양한 후 집락주변에 요오드액을 떨어뜨려 흑청색이 나타나는지 관찰한다. 요오드액은 전분과 결합하면 흑청색이 되고 미생물에 의해 전분이 분해 된 곳은 투명해진다.

Stock해놓은 균주를 각각의 액체배지(broth)에 약 4%정도로 접종한 후 2~3일간 30°C에서 배양을 해준다. 1%의 agar와 0.5%의 soluble starch를 증류수에 녹여 끓인 후, 121°C에서 15분간 멸균하여 약 20ml씩 petridish에 부어 준비한 plate에 broth culture한 균주를 streaking 한다. 이때 Control은 300U/ml의 α -amylase를 사용하고 30°C에서 72시간 배양한다. 배양후, I2/KI (5mM I2 in 3% KI) 2ml을 가하여 15분간 발색시키고 다음의 식으로 활성율을 계산하고, 각 시료는 3회 반복하여 평균한다.

$$\bullet \text{ 활성율 (\%)} = (\text{반응구의 직경}) / (\text{control의 직경}) \times 100$$

② Protease 활성능 실험

Stock해놓은 균주를 각각의 액체 배지(broth)에 약 4%정도로 접종한 후 2~3일간 30°C에서 배양을 한 다음 1%의 agar와 1%의 skim milk를 증류수에 녹여 끓인 후, 121°C에서 15분간 멸균하여 약 20ml씩 petridish에 부어 준비한 plate에 broth culture한 균주를 streaking 한다. 이때 Control은 300U/ml의 protease를 사용하고, 30°C에서 72시간 배양한다. 배양 후, 다음의 식으로 활성율을 계산할 계획이며, 각 시료는 3회 반복하여 평균 한다.

$$\bullet \text{ 활성율 (\%)} = (\text{반응구의 직경}) / (\text{control의 직경}) \times 100$$

③ Lipase 활성능 실험

Stock해놓은 균주를 각각의 액체배지(broth)에 약 4%정도로 접종한 후 2~3일간 30°C에서 배양을 해준다 2%의 agar와 0.25%의 tributyrin, 10mM CaCl₂, 200mM NaCl, 5% gum arabic을 증류수에 녹여 끓인 후 잘 유화시켜 25ml씩 petridish에 부어 준비한 plate에 broth culture한 균주를 streaking 한다. 이때 Control은 5mg/ml의 lipase를 사용하고, 30°C에서 72시간 배양한다. 배양 후, 다음의 식으로 활성율을 계산할 계획이며 각 시료는 3회 반복하여 평균한다.

$$\bullet \text{ 활성율 (\%)} = (\text{반응구의 직경}) / (\text{control의 직경}) \times 100$$

④ 혈전용해능 실험

1.5%의 agarose를 증류수에 끓인후 식혀, 0.3% fibrinogen, 4U/ml의 thrombin과 잘 혼합한 후 20ml씩 petridish에 부어 준비한 plate에 broth culture한 균주를 streaking 한다. 이때 Control은 10U/ml의 plaminogen를 사용할 계획이며, 30℃에서 72시간 배양한다. 배양 후, 다음의 식으로 활성율을 계산하고, 각 시료는 3회 반복하여 평균한다.

• 활성율 (%) = (반응구의 직경) / (control의 직경) × 100

⑤ 항산화 활성 검정

항산화 활성은 DPPH radical에 대한 소거활성과 SOD(superoxide dismutase) 유사활성으로 측정했으며, Biois의 방법(1958)과 Lee 등의 방법(2009)을 변형하여 측정하였다. 각 농도별로 조제한 시료 0.2 ml에 0.2 mM의 DPPH 용액 0.8 ml를 가하여 혼합한 뒤 상온에서 30분간 반응시킨 후 UV-visible spectrophotometer(DU 730, Beckman Coulter, Fullerton, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정 하였고, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다. DPPH radical 소거능은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 아래와 같이 백분율로 나타내었으며, 기존의 항산화제인 Ascorbic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 대조물질로 사용하여 비교 하였다.

DPPH radicals scavenging activity(%) = (1-시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도) × 100

SOD 유사활성은 각각의 추출물 시료 0.2 mL과 Tris-HCl(pH 8.5) 3 mL 및 7.2 mM pyrogallol(Sigma) 0.2 mL을 첨가하여 실온에서 10분 동안 반응 후 1 N HCl 1 mL을 가하여 반응을 정지시키고, UV/VIS spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정 한다. SOD 유사활성은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율로 나타내었다.

나. 은행 구축

정상기에 달한 배양 세포를 멸균된 수개의 소형 원심관에 80%(0.8ml)를 넣은 후 여기에 20% Glycerol을 가하여 잘 혼합한 후 상층을 봉합하여 -70℃로 유지되는 냉동고에 냉동 보관한다. 이후 동결시료 사용 시는 시료를 37~40℃의 온수에 넣어 급속히 해동한 후 식품 소재로 활용 한다.

3. 결과 및 고찰

(시험 1) 발효식품 자원 수집 및 유용 미생물 분리

가. 발효식품 자원 수집

표 1. Collection list fermented food resource

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
1	D31	홍천	된장	동면 노천리	누리대
2	D32	홍천	"	동면 노천리	누리대
3	D33	홍천	"	동면 노천리	누리대

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
4	D34	강릉	된장	성산면 보광리 1154-2	인삼
5	D35	강릉	"	성산면 보광리 1154-2	비타민나무
6	D36	강릉	"	성산면 보광리 1154-2	더덕
7	D37	강릉	"	성산면 보광리 1154-2	블루베리
8	D38	강릉	"	성산면 보광리 1154-2	송이
9	D39	고성	"	간성읍 해상리 924번지	다시마
10	D40	인제	"	상남면 미산1리 376-2	
11	D41	홍천	"	내면 울전리	
12	M23	고성	막장	간성읍 해상리 924번지	다시마
13	M24	홍천	"	내면 울전리	
14	M25	홍천	"	내면 울전리	
15	K27	홍천	고추장	동면 노천리	누리대
16	K28	강릉	"	성산면 보광리 1154-2	파프리카(적색)
17	K29	강릉	"	성산면 보광리 1154-2	파프리카(노랑)
18	K30	고성	"	간성읍 해상리 924번지	다시마
19	KA13	홍천	간장	동면 노천리	누리대
20	KA14	홍천	"	동면 노천리	누리대
21	KA15	고성	간장	간성읍 해상리 924번지	다시마
22	KA17	인제	"	상남면 미산1리 376-2	
23	C8	홍천	청국장가루	동면 노천리	
24	C9	인제	"	상남면 미산1리 376-2	
25	C10	정선	청국장		고추가루
26	C11	"	청국장		
27	K31	양구	고추장	양구읍 석현리 8-3	대추 첨가
28	D42	"	된장	"	표고분말
29	D43	"	된장	"	
30	KA18	"	간장	"	오갈피
31	M26	"	막장	"	
32	D44	횡성	된장	인홍면 소사리 1589번지	
33	M27	"	막장	"	
34	C12	"	청국장	"	
35	D45	"	된장	인홍면 안홍4리 202-13번	
36	KA19	"	간장	"	

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
37	C13	횡성	청국장	인홍면 안홍4리 202-13번	
38	D46	원주	된장	신림면 신림2리 57-1	
39	K32	"	고추장	"	
40	C14	"	청국장	"	
41	MS1	"	매실액	"	액젓
42	MC1	"	멸치액젓	"	"
43	MJ1	"	맛장	"	
44	FL1	정선	민들레	정선군 화암면 몰운리	발효액
45	FL2	"	갓	"	"
46	FL3	"	삼취	"	"
47	FL4	"	오가피	"	"
48	FL5	"	겨우살이	"	"
49	FL6	"	수리취	"	"
50	FL7	"	인진쑈	"	"
51	FL8	"	비수리	"	"
52	D49	횡성	된장	횡성군 우천면 오원리	종자장 미포함
53	D50	"	된장		종자장 포함
54	D51	"	된장		"
55	CGB 18	영주	청국장	경북 영주시 안정면 용산리 492	만포농산
56	CGB 19	김천	청국장	김천시 농소면 용암리 산699-1	김천정월된장
57	CCB 20	괴산	청국장	괴산군 청안면 운곡리 85-1	호산식품
58	CJN 21	담양	청국장	담양군 창평면 유천리 187-1	고려전통식품
59	CJB 22	순창	청국장	순창군 순창읍 백산리 265-53	향적원(무농약)
60	C16	홍천	청국장	-	-
61	C17	춘천	청국장	동면 감정리	-
62	C23	평창	나또	평창	-
63	액젓2	함양	액젓	함양군 죽림리 1048-4	인산가(황석어)
64	J1	홍천	장아찌	홍천군 동면 노천리 1762-8	감짬아찌
65	J2	순창	장아찌	순창군 순창읍 백산리 265-53	향적원(마늘)
66	SGB 1	영주	식초	경북 영주시 안정면 용산리 492	만포농산
67	SSGB 1	영주	쌈장	경북 영주시 안정면 용산리 493	만포농산
68	SSGN 2	함양	쌈장	함양군 죽림리 1048-4	-
69	SSJB 3	순창	쌈장	순창군 순창읍 백산리 265-53	향적원

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
70	NR1	상주	누룩	상주곡자	상주곡자
71	NR2	부산	누룩	산성누룩	산성누룩(우리밀)
72	NR3	부산	누룩	산성누룩	산성누룩(수입밀)
73	NR4	광주	누룩	광주시 광산구 삼거동 산48-4	송학곡자
74	DJB62	부안	된장	전북 부안군 변산면 지서리	삼보식품, 죽염
75	DJB63	부안	된장	전북 부안군 변산면 지서리	죽염(9회)
76	KAJB31	부안	간장	전북 부안군 변산면 지서리	죽염
77	CJB23	부안	청국장	전북 부안군 변산면 지서리	찌개용
78	CJB24	부안	청국장	전북 부안군 변산면 지서리	분말
79	DCN64	서천	된장	충남 서천군 마서면 남전리	죽염된장
80	N1	서천	된장	"	죽염
81	KACN32	서천	간장	"	-
82	CCN25	서천	청국장	"	찌개용
83	J3	서천	짬아찌	"	간마늘
84	J4	서천	짬아찌	"	통마늘
85	J5	서천	짬아찌	"	고추피클
86	DCN66	부여	된장	충남 부여군 충화면 청남리	해동백제
87	CCN26	부여	청국장	"	분말(검은콩)
88	CCN27	부여	청국장	"	분말(우리콩)
89	KACN33	부여	간장	"	3년 숙성
90	KACN34	부여	간장	"	10년 숙성
91	KCN48	부여	고추장	"	볶음고추장
92	KCN51	부여	고추장	"	고추장
93	DGG67	양평	된장	경기도 양평군 옥천면 용천리	유기농
94	SSGG4	양평	쌈장	"	유기농
95	KGG49	양평	고추장	"	유기농
96	KAGG35	양평	간장	"	유기농
97	KAGG36	양평	간장	"	퀴논이콩 이용
98	CGG28	양평	청국장	"	유기농, 분말
99	CGG29	양평	청국장	"	유기농, 찌개용
100	매실2	양평	효소액	경기도 양평군 옥천면 용천리	유기농
101	야콘1	양평	효소액	"	유기농
102	SGG2	양평	식초	"	야콘

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
103	JGW1	속초	젓갈	강원도 속초시 청호동	가자미 식해
104	JGW2	속초	"	"	명태 식해
105	JGW3	속초	"	"	도루묵 식해
106	JGW4	속초	"	"	오징어
107	JGW5	속초	"	"	명란
108	JGW6	속초	"	"	창난
109	JGW7	속초	"	"	꿀뚜기
110	JGW8	속초	"	"	낙지
111	JGW9	속초	젓갈	강원도 속초시 청호동	가리비
112	JGW10	속초	"	"	멸치
113	JGW11	속초	"	"	명태아가미
114	JGW12	속초	"	"	토굴새우
115	JGW13	속초	"	"	토굴조개
116	JGW14	속초	"	"	어리굴
117	K51	평창	고추장	평창군 미탄면 회동리 339-313.5	대추
118	D69	평창	된장	"	
119	KA38	평창	간장	"	
120	M30	평창	막장	"	
121	KA20	삼척	간장	삼척시 미로면 활기리 112	저온숙성1개월
122	KA21	삼척	간장		
123	KA22	홍천	간장	홍천군 동면 노천리 1762-8	
124	KAGB 23	경북 영주	간장	경북 영주시 안정면 용산리 492	만포농산
125	KAGB 24	"	간장	영주시 이산면 지동리 453-2	무수촌
126	KAGB 25	경북 김천	간장	김천시 농소면 용암리 산699-1	김천정월된장
127	KACB 26	충북 영동	간장	영동군 상촌면 물한리 1007	물한골식품
128	KACB 27	충북 괴산	간장	괴산군 청안면 운곡리 85-1	호산식품
129	KAJN 28	전남 보성	간장	보성군 회천면 영천리 394	성원식품
130	KAJN 29	전남 담양	간장	담양군 창평면 유천리 187-1	고려전통식품

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
131	KAJB 30	전북 순창	간장	순창군 순창읍 백산리 265-53	향적원(무농약)
132	K33	강원 삼척	고추장	삼척시 미로면 활기리 112	청국장이용
133	K34	강원 홍천	고추장	홍천군 동면 노천리 1762-8	
134	KGB 35	경북 영주	고추장	경북 영주시 안정면 용산리 492	만포농산
135	KGB 36	경북 영주	고추장	영주시 이산면 지동리 453-2	무수촌
136	KGB 37	경북 김천	고추장	김천시 농소면 용암리 산699-1	김천정월된장
137	KCB 38	충북 영동	고추장	영동군 상촌면 물한리 1007	물한골식품
138	KCB 39	충북 괴산	고추장	괴산군 청안면 운곡리 85-1	호산식품
139	KGN 40	경남 함양	고추장	함양군 죽림리 1048-4	인산가(순한맛)
140	KGN 41	경남 함양	고추장	함양군 죽림리 1048-4	인산가(매운맛)
141	DGB 51	경북 영주	된장	경북 영주시 안정면 용산리 492	만포농산
142	DGB 52	경북 영주	된장	영주시 이산면 지동리 453-2	무수촌
143	DGB 53	경북 김천	된장	김천시 농소면 용암리 산699-1	김천정월된장
144	DCB 54	충북 영동	된장	영동군 상촌면 물한리 1007	물한골식품
145	DCB 55	충북 괴산	된장	괴산군 청안면 운곡리 85-1	호산식품
146	DGN 56	경남 함양	된장	함양군 죽림리 1048-4	인산가(서목태)
147	DGN 57	경남 함양	된장	함양군 죽림리 1048-4	인산가(죽엽)
148	DJN 58	전남 보성	된장	보성군 회천면 영천리 394	성원식품
149	DJN 59	전남 담양	된장	담양군 창평면 유천리 187-1	고려전통식품
150	DJB 60	전북 순창	된장	순창군 순창읍 백산리 265-53	향적원(무농약)

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
151	DJB 61	전북 순창	된장	순창군 순창읍 백산리 265-53	향적원(상황버섯)
152	DGG68	경기 여주	된장	경기도 여주군 북내면 중암리 311번지	풀목산 농원
153	KGG50	경기 여주	고추장	경기도 여주군 북내면 중암리 311번지	풀목산 농원
154	KAGG37	경기 여주	간장	경기도 여주군 북내면 중암리 311번지	풀목산 농원
155	CGG30	경기 여주	청국장	경기도 여주군 북내면 중암리 311번지	풀목산 농원, 유기농
156	CGG31	경기 여주	청국장	경기도 여주군 북내면 중암리 311번지	풀목산 농원
157	TJN1	전남 함평	탁주	전남 함평군 신광면 삼덕리 298-1	자희자양
158	YJN1	전남 함평	약주	전남 함평군 신광면 삼덕리 298-1	자희자양
159	D65	강원 인제	막장	인제군 상남면 미산1리 339	미산청국장
160	M29	강원 평창	막장	평창군	평창오가피
161	H1	강원 평창	발효액	평창군	오가피 발효액
162	JGW15	강원 속초	가리비	속초시	-
163	JGW16	강원 속초	오징어	"	-
164	JGW17	강원 속초	황태	"	-
165	JGW18	강원 속초	낙지	"	-
166	JGW19	강원 속초	갈치속젓	"	-
167	JGW20	강원 속초	명태아가미	"	-
168	JGW21	강원 속초	어리굴젓	"	-
169	JGW22	강원 속초	풀뚜기	"	-
170	JGW23	강원 속초	멸치	"	-

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
171	JGW24	강원 속초	조개	속초시	-
172	JGW25	강원 속초	생굴	"	-
173	JGW26	강원 속초	가자미	"	-
174	JGW27	강원 속초	명란(생)	"	-
175	JGW28	강원 속초	창란	"	명태내장
176	KCGW1	강원 평창	총각김치	평창군 미탄면 회동리 339-313.5	-
177	KCGW2	강원 평창	갯김치	"	-
178	KCGW3	강원 평창	오이소박이	"	-
179	KCGW4	강원 평창	열무	"	-
180	KCGW5	강원 평창	파	"	-
181	KCGW6	강원 평창	곰취김치	"	-
182	KCGW7	강원 평창	냉이김치	"	-
183	KCGW8	강원 평창	당귀김치	"	-
184	KCGW9	강원	산더덕김치	"	-
185	KCGW10	강원 평창	두릅김치	"	-
186	KCGW11	강원 평창	민들레김치	"	-
187	KCGW12	강원 평창	산마늘김치	"	-
188	KCGW13	강원 평창	오가피김치	"	-
189	KCGW14	강원 평창	포기김치	"	-
190	J6	강원 평창	개두릅	"	-
191	J7	강원 평창	고들빼기	"	-
192	J8	강원 평창	고추장	"	-

구분	연번	시군	품목	주소	첨가물
193	J9	강원 평창	곰취장아찌	평창군 미탄면 회동리 339-313.5	-
194	J10	강원 평창	고추냉이	"	-
195	J11	강원 평창	원추리	"	-
196	J12	강원 평창	산마늘김치	"	-
197	J13	강원 평창	산초	"	-
198	J14	강원 평창	오가피	"	-
199	J15	강원 평창	오이장아찌	"	-
200	J16	강원 평창	마늘쫀	"	-
201	J17	강원 평창	뽕잎	"	-
202	J18	강원 평창	당귀김치	"	-
203	J19	강원 평창	매실	"	-
204	J20	강원 평창	무말랭이	"	-
205	김치품평회	배추 김치		139	-
206	김치품평회	배추 김치		651	-
207	김치품평회	배추 김치		265	-
208	김치품평회	배추 김치		348	-
209	김치품평회	배추 김치		804	-

발효식품 자원 총 209점을 수집하였고 세부내역별로는 장류 116점, 젓갈류 28점, 김치류 34점, 발효액 등 기타로 31점을 수집하였다. 표 1.은 강원도내에서 수집한 자원을 품목별로 나열했으며, 된장을 비롯한 장류를 수집했고, 기타로는 청국가루, 젓갈류 등을 수집하였다. 전국을 대상으로 수집한 자원은 주로 순창장류축제 및 전주발효엑스포장 등 축제에 전시되었던 품목 위주로 수집하였다.

나. 유용 미생물 분리 및 분류

표 2. Isolation of microorganism

구 분	계	젖산균	고초균	효모
계	630	214	185	231
장 류	411	106	115	190
김치류	47	47	-	-
누 룩	56	-	34	22
젓갈류	74	45	-	29
발효액	42	16	7	19

미생물 분리 및 저장내역은 총 630점을 저장하였으며 세부내역을 보면 젖산균 214점, 고초균 185점, 효모 231점을 저장하였다.

(시험 2) 미생물 기능성 탐색 및 은행 구축

가. 기능성 검정

표 3. Identification of hydrolase activity

구 분	활성 균수(점)		
	LAB	Yeast	<i>Bacillus</i> sp.
Protease	5	19	58
Lipase	82	75	96
Amylase	8	12	48
합 계	403	95	202

미생물의 기능성 검정을 위해 분리된 균주의 가수분해효소 활성 여부를 확인하였다. 고초균에서는 단백질 분해활성, 효모에서는 지방분해활성, 젖산균에서도 지방분해활성이 가장 많이 확인되었다. 가수분해 활성이 있는 균주는 총 403점으로 확인 되었다.

표 4. Identification of fibrinolytic activity

구 분	활성 균수(점)		
	LAB	Yeast	<i>Bacillus</i> sp.
Fibrinolytic activity	-	34	114
합 계	148	0	34

혈전용해활성은 주로 고초균에서 나타났고, 효모에서도 우수한 활성이 확인되었다.

나. 식품 유용 균주 은행 구축

기능성이 확인된 630점 이외에 현재 검정중인 균주 포함하여 총 890점을 초저온냉장고에 보관중이며 목록은 바코드로 DB화 하여 구축 완료하였다. 활성이 우수한 균주의 동정은 각 지원과제에서 수행하였다.

4. 적 요

- 1) 강원도 및 전국에 걸쳐 총 209점의 발효식품 자원을 수집하였음
- 2) 가능성이 검정된 균주는 630점으로 확인되었고, 그 외 활성 검정중인 균주 포함하여 총 890점의 균주를 DB화하여 균주 은행을 구축하였음

5. 인용문헌

권승직. (2010). 막걸리 발효에서 미생물 다양성 분석. (국내석사학위논문, 단국대학교).

송재영, 안철우, & 김종규. (1984). 한국 재래식 된장 발효중 관여 미생물이 생성하는 향기 성분. 한국미생물·생명공학회지, 12(2), 147-152.

식품발효의 미생물 생태학의 차세대 접근법.(2012). 생화학분자생물학회 소식, 32(3), 55-55.

이효진. (2010). 토양 미생물 유전자원 수집 및 농업미생물 소재 발굴. (국내석사학위논문, 목원대학교 대학원).

임구상, 이경수, 장혜진, 정진경, 임지영, 전태훈, et al. (2013). 우리나라 전통 발효유 타락의 미생물 균총 분석. 한국식품영양과학회지, 42(7), 1109-1114.

차성관, 한국식품개발연구원, & 한국 농림부. (2000). 전통발효식품의 미생물자원 발굴 및 보존연구. 과천: 농림부.

한효심, & 이경동. (2012). 토착미생물별 가축분 퇴비화 과정에서 생물화학적 특성 변화. 韓國土壤肥料學會誌, 45(6), 1126-1135.

6. 연구결과 활용

지역특화 및 공동연구 과제에 지원하고 결과 활용은 지원하는 과제의 결과활용에 따름

7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도				
					'09	'10	'11	'12	'13
과제책임자	농식품연구소	농업연구사	이재형	과제 수행	-	○	○	○	○
공동연구자	"	"	김시창	과제 지원	-	-	-	○	-
"	"	"	최병곤	"	-	○	○	○	○
"	"	농업연구관	허남기	"	-	○	○	○	○
"	"	농업연구사	정정수	과제 수행	○	-	-	-	-
"	"	"	이효영	과제 지원	-	-	-	○	-
"	"	"	박아름	"	-	-	-	○	-
"	"	"	조병욱	과제 수행	-	-	○	-	-