

저염 오징어젓갈 숙성중 젖산균의 변화

조진호 · 오세욱 · 김영명 · 정동효* · 김정임**

한국식품개발연구원, *중앙대학교 식품공학과,

**경기도보건환경연구원

Changes in Lactic Acid Bacteria of Squid with Low Salt during Fermentation

Jin-Ho Jo, Se-Wook Oh, Young-Myoung Kim, Dong-Hyo Chung* and Joung-Im Kim**

Korea Food Research Institute

*Department of Food Science and Technology, Chung Ang University

**Public Health and Environment Research Institute of Kyunggi-do

Abstract

Isolation and identification of predominant microorganisms in fermented squid with low salt were carried out during fermentation at 10°C. Dominant strains were lactic acid bacteria(80%) including *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* sp., *Pediococcus* sp. and *Streptococcus* sp. *Leuconostoc*, *Pediococcus* and *Streptococcus* were shown in the early stage of fermentation and gradually increased until optimum stage of squid fermentation, and then decreased rapidly. *Lactobacillus* grew lastingly during fermentation. Yeasts were detected in the middle stage of fermentation and shown rapid increase after the last stage of fermentation, suggesting that yeasts participate in putrefaction of fermented squid with low salt.

Key words: fermented squid with low salt, lactic acid bacteria, predominant strains

서 론

오징어젓갈은 숙성중 자가분해효소와 미생물이 생산하는 단백질분해효소의 작용에 의하여 특유의 향미 성분을 생성시킨 수산발효식품이다⁽¹⁾. 젓갈을 포함한 일반 가공식품 중에 존재하는 여러 미생물은 저장성에 관여하는 것은 물론 풍미, 색조에도 밀접한 관계를 가지는 것으로 알려져 있다⁽²⁾.

오징어젓갈의 숙성발효시에는 *Micrococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, yeast, *Pseudomonas*^(3,9) 등이 관여하는 것으로 보고되고 있으며 제조시 첨가되는 오징어간장이나 먹즙^(10,11), 또는 사용하는 염농도⁽⁶⁾와 배지종류⁽¹²⁾에 따라 균상이나 우점균이 변화하였다는 연구도 있다. 한편, 최근에는 일본의 상업적으로 유통되고 있는 저염 오징어젓갈에서는 *Lactobacillus*를 비롯한 젖산균이 우점균이라는 사실도 보고되고^(13,14) 있으나 그 제

조방식이 국내의 오징어젓갈과는 많은 차이가 있는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 수분활성을 조절한 오징어육을 이용하여 국내의 저염 오징어젓갈 제조 방식에 따라 제조하여 10°C에서 숙성하면서 우점 미생물과 숙성중의 그 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

저염 오징어젓갈의 제조

동결상태의 연안산 오징어인 피둥어꼴뚜기(Squid, *Todarodes pacificus*)를 5°C에서 자연해동하여 지느러미, 내장, 다리를 제거한 몸통육을 5×50 mm 크기로 세절하여 철망에 걸치지 않게 잘 펴서 5°C에서 냉풍 건조하면서 수분활성도를 0.90으로 조절하였다. 수분활성도는 시료를 균질화한 후 수분활성도측정기(Nonasina, Switzerland)로 25°C에서 수분분압에 의한 향량에 도달되었을 때의 상대습도값으로 측정하였다. 저염 오징어젓갈은 Table 1의 배합비율에 따라 제조하

Corresponding author: Jin-Ho Jo, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyunggi-do 463-420, Korea

Table 1. Formula used for the preparation of squid with low salt

Ingredients	Contents (%)
Squid meat ¹⁾	89.0
NaCl	5.0
Glucose	1.0
Papain	0.1
Red pepper powder	4.5
Garlic (crushed)	1.5
Ginger (crushed)	0.5

¹⁾Water activity (aw) was adjusted to 0.90.

였으며 500 g씩 유리병에 담아 밀봉한 후 10°C에서 숙성하면서 1병씩 꺼내어 분석용 시료로 사용하였다.

저염 오징어젓갈중 젖산균의 분리

저염 조미젓갈로부터 발효물 10 g을 취하여 살균증류수 90 mL를 가하여 무균적으로 마쇄한 후 10분간 항온진탕기에서 진탕하여 균질화한 다음 10진 희석하였으며 이 희석액을 한과 박⁽¹⁵⁾의 방법에 따라 식염이 3% 함유된 MRS agar (Difco)에 bromophenol blue를 0.002% 첨가한 배지에서 colony 주위에 노란색환을 형성하는 것을 분리하였다.

젖산균 및 총균수의 분리계수

시료중의 젖산균을 각 속별로 분리계수하기 위하여 宮尾 등⁽¹⁶⁾의 방법에 따라 *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* 및 yeast에 대한 각 선택배지를 사용하여 평판배양한 후 나타난 colony의 수로부터 시료 1 g 중의 각 젖산균의 균수를 산출하였다.

총균수를 계수하기 위해서는 식염이 3% 함유된 plate count agar (Difco Lab.)를 사용하여 30°C에서 72시간 배양하여 나타난 colony를 계수하였다.

젖산균주의 동정

젖산균주의 동정은 우선 acid producing strain중 H₂O₂를 기질로 하는 catalase test를 실시하여 음성인 균주를 대상으로 실시하였다. 균주동정은 API 50 CHL kit (BioMerieux, France)를 이용하여 실시하였다. 분리한 균주를 액체 순수배양하였으며 이를 각종 기질이 들어있는 amplex에서 37°C에서 48시간 배양하여 기질소비 여부와 산생성 여부를 측정하여 동정표에 의하여 동정하였다.

오징어 젓갈의 숙성지표

오징어 젓갈의 숙성 여부 판단은 Formol 적정법⁽¹⁷⁾에 의한 아미노태 질소 함량을 측정하여 판단하였으

며 관능검사를 병행하여 숙성정도를 파악하였다. 즉, 아미노태 질소 함량이 0.6~0.9% 일 때 숙성적기라 판단하였으며 그 이후를 숙성말기로 하였다. 또한 yeast 출현 및 관능적으로 부패취가 발생한 시점을 부패초기로 판단하였다.

결과 및 고찰

숙성적기 중 우점미생물의 분리 및 동정

10°C에서 6주간 숙성하여 숙성적기(아미노태 질소 함량, 0.8%)에 도달한 저염 오징어젓갈 10 g을 취하여 90 mL의 살균 증류수를 가하고 무균적으로 마쇄한 다음 이를 10진 희석하여 plate count agar에 분주하여 30°C에서 48시간 배양하였다. 생성된 colony 465 균주의 replica를 bromophenol blue가 함유된 MRS agar에 옮겨 30°C에서 48시간 배양하였을 때 421 균주가 성장하였으며 대사결과 생성된 lactate에 의해 pH가 저하되어 379 균주가 colony 주위에 노란색 환을 형성하였다(Table 2). 이는 plate count agar에서 성장한 균주 중 92%에 상당하는 균주가 MRS agar에서 성장한 균주중 89%가 acid를 생성함을 의미하며 따라서 오징어 젓갈 발효에 관여하는 우점균은 우선 acid producing strain임을 알 수 있었다.

Acid producing strain의 동정

오징어젓갈의 숙성에 관여한다고 보고된⁽⁶⁾ *Staphylococcus*는 젖산균과 마찬가지로 당을 이용하여 lactate를 생성하며 운동성이 없고 peptidoglycan 1부위와 2부위의 amino acid 조성도 같은 특성을 가지고 있다⁽¹⁸⁾. 따라서 *Staphylococcus*는 MRS agar에서 성장이 가능하며 lactate 생성에 의해 bromophenol blue의 색을 노란색으로 변화시킬 수 있다. MRS agar를 사용하여 주위에 노란색 환을 가지는 colony를 모두 젖산균으로 계수한다면 *Staphylococcus*도 젖산균으로 측정될 가능성이 있다. *Staphylococcus*와 젖산균의 생리적 특성은 매우 유사하지만 *Staphylococcus*는 catalase를 생성하는 반면 젖산균은 catalase를 생성하지 못한다는 생리적 차이가 있다. 따라서, MRS agar에서 주위에 노란색 환을 형성하는 colony 379균주를 대상으로 10% H₂O₂를 이용하

Table 2. Isolation of microbial strains in fermented squid with low salt

Plate count agar (A)	MRS agar	MRS agar (yellow)	Catalase negative (B)	B/A (%)
465	421	379	370	79.6

여 catalase test를 실시하였다. 379 colony중 370균주가 catalase를 생성하지 않았으므로 속성 적기의 주요 우점균은 젖산균임을 알 수 있었다.

젖산균주의 동정

MRS agar에서 lactate 생성에 의해 노란색 환을 가지는 균주를 순수 액체배양하였으며 이중 8균주를 젖산균 동정시험에 공시하였다. 동정은 BioMerieux사의 API 50 CHL kit를 이용하여 행하였으며 그 결과는 Table 3에 나타내었다. No. 451 균주는 ribose, galac-

Table 3. Biochemical characteristics of isolated strains from low salt-fermented squid

	No. 451	No. 186	No. 142	No. 213	No. 65	No. 293	No. 124	No. 363
Glycerol								
Erithritol								
D-Arabinose								
L-Arabinose			+			+	+	
Ribose	+	+	+					
D-Xylose								
Adonotol								
D-Methyl-D-xyloside								
Galactose	+		+	+	+	+	+	
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+		+	+	
Mannose	+	+		+		+	+	
Sorbose								
Rhamnose								
Dulcitol								
Inisitol								
Mannitol	+	+						
Sorbitol								
α-Methyl-D-mannoside								
α-Methyl-D-glucoside								
N-Acetyl-glucosamine	+	+	+	+	+	+	+	
Amygdalin	+	+		+		+	+	
Arbutin	+		+	+		+	+	
Esculin	+		+	+		+	+	
Salicin	+			+		+	+	
Cellobiose	+			+		+	+	
Maltose	+	+		+		+	+	
Lactose	+							+
Melibios	+					+		
Sucrose	+					+		+
Trehalose	+					+	+	
Inulin								
Melezitose	+							
Raffinose								
Amidon								
Glycogen								
Xylitol								
Gentiobiose	+	+				+	+	
D-Turanose								
D-Lyxose							+	
D-Tagatose								
D-Fucose								
D-Arabitol								
L-Arabitol								
Gluconate								
2-Ketogluconate								
5-Ketogluconate								

L. platarum *L. plantarum* *L. brevis* *L. brevis* *Leu. mesentroides* *Leu. sp* *P. halophilus* *Strep. sp*

tose, glucose, fructose, mannose, mannitol, *N*-acetylglucosamine, amygdalin, esculin, salicin, cellobiose, maltose, lactose, melibiose, sucrose, trehalose, melezitose, gentiobiose 등을 이용하여 산을 생성하므로 동정표에 의하여 *Lactobacillus plantarum*으로 동정되었다. 같은 방법으로 No. 186 균주도 *L. plantarum*으로 동정되었으며 No. 142 균주와 No. 213 균주는 *L. brevis*로 동정되었다. 또한, No. 65 균주와 No. 293 균주는 *Leuconostoc* sp.로 동정되었으며 No. 124 균주는 *Pediococcus* sp.로, No. 363 균주는 *Streptococcus* sp.로 동정되었다.

Tanasupawat과 Daengsubha⁽¹⁹⁾는 태국에서 생산되고 있는 어장유 및 젓갈류에서 염농도 6~8%, pH 8.2와 42°C에서 잘 생육하며 당으로부터 산을 생성하는 *P. pentosaceus*와 염농도 18%, pH 8.6~9.2에서 생육이 양호하며 당을 분해하여 산을 생성하는 호염성의 *P. halophilus*를 분리하였다고 보고하였다. Itoh 등⁽²⁰⁾은 동남아산 어장유로부터 10%의 식염농도에서 잘 생육하는 호염성 젖산균을 분리하였다고 보고하였으며, 또 Itoh 등⁽²¹⁾은 태국과 일본산 어장유에서 *P. halophilus*, *Staphylococcus saprophyticus*와 *Micrococcus varians*를 분리하였으며 이 균주들은 당을 분해하여 산을 생성하는 산생성균이라고 보고한 바 있다. 한편, Morishita 등⁽²²⁾은 시판중인 저염 오징어젓갈에서 젖산균인 *Lactobacillus*를 분리하였으며 어떤 제품에서는 이 균속이 83%를 접하는 경우도 있었다고 보고하였다. 또, Morishita 등⁽¹³⁾은 시중 오징어젓갈에서 젖산균인 *Lactobacillus farciminis*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. coryniformis*, *L. confusus*, *L. plantarum*, *Lactobacillus* sp와 기타 catalase positive strain을 분리하였다고 하여 저염 오징어젓갈중 젖산균이 우점균이라는 본 연구내용과 경향을 같이하는 것으로 사료되었다.

숙성중 젖산균의 변화

저염 조미오징어젓갈을 10°C에 숙성하면서 경시적인 젖산균의 변화를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 숙성중 균총의 변화는 초기에 *Leuconostoc*이 급격히 증가하여 숙성적기에 최대균수 10⁸/g을 나타내었고 이후 급격히 감소하는 경향을 나타내었으며 이러한 경향은 균체수에는 차이가 있었으나 *Streptococcus*와 *Pediococcus*에도 동일하게 나타났다. *Lactobacillus*는 숙성초기에는 낮았으나 숙성적기에서 급격히 증가하는 양상이었으며 총균수의 대부분을 차지하였다. 총균수는 숙성적기에 10⁹/g로 최대치를 나타내었으며 이후 균체수의 변화는 적은 경향을 나타내었다. 한편, yeast는 숙성중기 이후에 검출되어 이후 숙성말기에 급격히 증가하

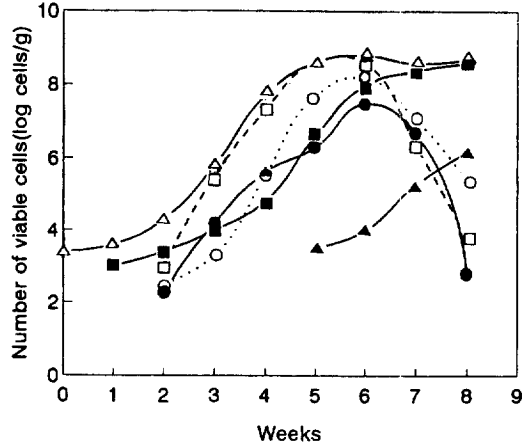


Fig. 1. Changes in lactic acid bacteria of squid with low salt during fermentation at 10°C. ■—■: *Lactobacillus*, □—□: *Leuconostoc*, ●—●: *Streptococcus*, ○—○: *Pediococcus*, ▲—▲: Yeast, △—△: Total plate counts.

였으므로 주로 부패에 관여하는 것으로 사료되었다.

요 약

수분활성을 조절한 오징어육으로 제조한 저염 오징어젓갈의 우점 미생물을 분리·동정하고 숙성중 변화를 조사하였다. 우점미생물은 젖산균으로 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* sp., *Pediococcus* sp., *Streptococcus* sp.로 동정되었으며 총균수의 80%를 차지하였다. 숙성중 *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*는 초기에 급격히 증가하였다가 숙성적기 이후에 급속히 감소하였으며 *Lactobacillus*는 숙성적기 이후에 급격히 증가하였다. 한편, yeast는 숙성중기 이후에 검출되었으며 숙성말기에 급격히 증가하여 주로 부패에 관여하는 것으로 사료되었다.

문 헌

1. 金英明, 金銅洙: 韓國의 젓갈. 創造, p.15 (1990)
2. Shinano, H., Sato, M and Akiba, M.: Studies on the microorganisms in foods. I. Distribution of yeasts in fermented and salted foods. *Rep. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 26(2), 207 (1975)
3. Zenitani, B.: Studis on fishery-fermentation products-I. On the aerobic bacteria in "Shiokara", *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 21(4), 280 (1955)
4. 李啓瑚: 젓갈等屬의 향미成分에 關한 微生物學的 및 酵素學的 研究. 農化學會誌. 11, 1 (1969)
5. Mori, K., Shinano, H. and Akiba, M.: The aerobic bacteria in the ripening process of "Ika-shiokara", *Bull. Jap.*

- Soc. Sci. Fish.* **45**(6), 771 (1979)
6. Mori, K., Shinano, H. and Akiba, M.: Studies on the microorganisms in salted and ripened squid meat product ("Ika-shiokara")-IV. Microflora of "Ika-shiokara" inoculated with several kinds of bacteria. *Rep. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **34**(4), 355 (1983)
 7. Nishimura, M. and Shinano, H.: The effect of trimethylamine oxide on microbial flora in "Ika-Shiokara". *Nippon Suisan Gakkaishi.* **57**(6), 1141 (1991)
 8. Fujii, T., Suzuki, K., Sugihara, K. and Okuzumi, M.: Changes in numbers and floral composition of foodborne and sanitary relating bacteria in squid "Shiokara" with low salt concentration. *J. Tokyo Univ. Fish.* **78**(1), 1 (1991)
 9. Hur, S. H., Lee, H. J., Kim, H. S., Choi, S. H. and Kim, Y. M.: Processing conditions of low-salt fermented squid and its flavor components. 3. Characterization of protease produced by *Pseudomonas* D2 isolated from squid Jeotkal. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 636 (1995)
 10. Yamazaki, K., Kitamura, F., Inoue, N., and Shinani, H.: Effect of squid liver on microflora of "Ika-Shiokara". *Nippon Suisan Gakkaishi.* **58**(10), 1971 (1992)
 11. Takaki, M., Yamazaki, K., Kawai, Y., Inoue, N., and Shinani, H.: Effect of squid liver, skin and ink on microbiological characteristics of "Ika-Shiokara" during ripening process. *Nippon Suisan Gakkaishi.* **59**(9), 1617 (1992)
 12. Fujii, T., Matsubara, M., Itoh, Y., and Okuzumi, M.: Microbial contributions on ripening of squid shiokara, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **60**(2) 265 (1994)
 13. Morishita, K., Otakasaka, W., Yamazaki, K., Kawai, Y. and Inoue, N.: Chemical and microbiological characteristics of commercial "Shiokara". *Rep. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **45**(3), 100 (1994)
 14. Morishita, K., Otakasaka, W., Yamazaki, K., Inoue, N. and Shinano, H.: Isolation and characteristics of lactic acid bacteria in commercial "Ika-Shiokara". *Fisheries Science*, **61**(2), 371 (1995)
 15. 한홍의, 박현근 : Bromophenol blue 배지상에서 유산균들의 분별 측정. 인하대학교 기초과학연구소 논문집, **12**, 89 (1991)
 16. 宮尾茂雄, 小川敏男 : 醱酵漬物中の各種乳酸菌の選擇計數. 日本食品工業學會誌, **35**, 610 (1988)
 17. 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩槻裕之 : 食品分析 ハンツブック, b. ホルモル 滴定法, 建緯社, 東京, p.58 (1972)
 18. Peter, A.S., Nicholas, S.M., and John, G.H.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. II. Williams & Wilkins (1986)
 19. Tanasupawat, S. and Daengsubha, W.: *Pediococcus* species and related bacteria found in fermented foods and related materials in Thailand. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **29**, 487 (1983)
 20. Itoh, H., Hadioetomo, R.R., Nkkuni, S. and Okada, N.: Studies on lactic acid bacteria in fish sauces (part 1). Chemical composition and microflora of fish sauces. *Rept. Natl. Food Res. Inst.* **47**, 23 (1985)
 21. Itoh, H., Hadioetomo, R.R., Nkkuni, S. and Okada, N.: Studies on lactic acid bacteria in fish sauces (part 2). Identification of salt-tolerance and acid-producing bacteria from fish sauces. *Rept. Natl., Food Res., Inst.*, **47**, 31 (1985)
 22. Morishita, K., Otakasaka, W., Yamazaki, K., Kawai, Y. and Inoue, N.: Chemical and microbiological characteristics of commercial "Shiokara". *Rep. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **45**(3), 100 (1994)

(1997년 9월 8일 접수)