

## 미생물을 이용한 창란젓갈의 숙성기간 단축

윤지혜 · 강지희<sup>1</sup> · 박미주<sup>1</sup> · 김영주<sup>1</sup> · 이명숙<sup>1\*</sup>  
 부산대학교 치의학과 구강생화학교실, <sup>1</sup>부경대학교 미생물학과

### Shortening of Fermentation Period of *Changran-Jeotgal* Using Microorganism

Ji-Hye YOON, Ji-Hee KANG<sup>1</sup>, Mi-Ju PARK<sup>1</sup>, Young-Ju KIM<sup>1</sup> and Myung-Suk LEE<sup>1\*</sup>  
 Department of Oral-Biochemistry and Molecular Biology, Pusan National University, Busan 602-739, Korea  
<sup>1</sup>Department of Microbiology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

We isolated strains of *Micrococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Leuconostoc* sp. which have protease activity in the *Changran-Jeotgal*. These microbes were added in the *Changran-Jeotgal* for the starters during fermentation to short fermentation period to check pH, VBN, NH<sub>2</sub>-N, free amino acids, and sensory evaluation. Microbiological changes were also examined for microorganism-added *Changran-Jeotgal* and the control. Viable cell counts in the microorganism-added *Changran-Jeotgal* increased from 7.1×10<sup>7</sup> CFU/g to 7.5×10<sup>8</sup> CFU/g on 15th day. The cell counts in the control increased from 4.1×10<sup>5</sup> CFU/g to 8.1×10<sup>8</sup> CFU/g on 30th day. VBN also increased in both. Increasing rates of NH<sub>2</sub>-N and free amino acids in the microorganism-added *Changran-Jeotgal* were faster than those in the control. Sensory evaluation showed that the microorganism-added *Changran-Jeotgal* was most favorable on 20th day. These results showed that fermentation period was shortened about 10 days in comparison with the control.

Key words: *Changran-jeotgal*, *Micrococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Leuconostoc* sp., Fermentation

#### 서론

젓갈의 제조 공정 중 미생물은 주로 숙성과정과 완제품의 보관과정에 작용하는 것으로 알려져 있는데, 원료에 부착된 미생물이 일차적으로 식염농도에 따른 선택을 받아 적응해 가면서 이차대사산물 생성 및 적자 생존에 의하여 우점종을 형성하여 발효에 관여하게 되며 (Shin et al., 1999), 젓갈은 그 특성상 살균과정을 거칠 수 없어 숙성에 관여했던 미생물들과 자가소화효소가 완제품의 보관 중에도 계속 남아있게 되므로 저장성에 있어 문제가 되고 있다. 이러한 점을 감안하여 적자 등 (Lee et al., 2001a,b,c)은 저염양념젓갈의 안정적인 품질유지와 유통기간 연장을 위한 방안으로 염지유출수를 제거하고 조미과정에서 물엿을 부재료와 독립적으로 첨가하여 수분활성도를 낮추는 한편 염지, 숙성 및 당장과정에 교반을 도입하여 젓갈의 제조에 소요되는 기간을 단축시킨 제조기법을 고안하였다. 이 방법은 인공합성 보존료의 사용 대신 염지유출수를 제거하고 물엿을 사용한 교반당장을 실시하여 수분활성도를 조절한 방법으로써, 제품의 균일화 및 유통기간의 연장 과 교반숙성을 통한 제조공정 단축이라는 효과가 있어 소비자들의 기호 및 전통식품의 정통성 보존에 부합되는 방법이라 사료된다.

이 연구는 젓갈 제조에 사용되는 원료 성분은 계절적인 차이가 큰 관계로 균일한 제품의 제조가 어려워 이를 해결하기 위해 숙성에 관여하는 우점종 미생물을 분리하고 분리 우점 균주인 *Micrococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Leuconostoc* sp.를

숙성 starter로 사용함으로써, 숙성기간 단축과 숙성 starter로서의 이용가능성을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 실험재료

저염 창란젓갈의 원료는 경북 구룡포 소재 한성수산식품(주)에서 가공한 폴란드산 명태 (*Theragra chakogramma*)의 내장을 실험에 사용하였다. 내장을 정선, 세절한 후 대조구의 경우에는 가염농도 12%, 20℃, 10 rpm으로 2시간 연속 교반염장한 후 생성된 유출수를 제거하였다. 여기에 창란의 풍미 향상을 위해 D-sorbitol 2.5%와 MSG 0.5%를 첨가하여 1차 조미하고 염도를 10.5%로 조정하였다. 이를 회전식 교반장치의 7L유리병에 5 kg을 담은 후 0±2℃에서 4시간마다 10분간 10 rpm으로 교반숙성 (Lee et al., 2001a)한 것을 대조구로 하였고, 시험구는 protease 생성능이 있는 균주를 분리하여 숙성 starter로 첨가하였다.

##### 실험방법

Protease를 생산하는 미생물의 분리 및 동정  
 숙성창란 시료를 15 g씩 취하여 멸균 생리식염수 135 mL와 혼합하여 260 rpm으로 60초 동안 stomacher (Lab Blender Stomacher 400, Seaward Co.)로 균질화하였다. 이를 10진 희석하여 spread plate method로 5.5% NaCl을 첨가한 BHI agar에 도말한 후 25℃에서 3일간 배양하여 균주를 분리하였다. 분리된 균주를 1% NaCl과 1% casein을 첨가한 Nutrient agar plate에 접종시켜 25℃에서 3일 배양 후 HC ratio (투명환의 크기/

\*Corresponding author: leems@mail.pknu.ac.kr

colony의 크기)을 측정하여 protease 생성균주를 선별하였다. 분리균주의 동정을 위한 형태 및 생화학적 실험은 Harrigan and McCance (1976)과 MacFaddin (2000)에 따랐으며, 동정은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984)와 API kit를 이용하였다.

#### 생균수 측정

시료 15 g을 멸균 생리식염수 (0.85%) 135 mL와 혼합하여 260 rpm으로 60초 동안 stomacher (Lab blender stomacher 400, Seward Co.)로 균질화한 후 pour plate method에 의하여 생균수를 측정하였다. 이때 배지는 5.5% NaCl을 첨가한 Brain Heart Infusion agar (Difco, USA)를 사용하였으며, 25 °C에서 3일간 배양 후 APHA (1962) 방법에 준하여 colony를 계측하였다.

#### pH 및 수분활성도 (Water activity, Aw)

pH는 시료 10 g을 90 g의 증류수와 혼합하여 균질화 (분쇄기)한 다음 pH meter (Orion, model 320, USA)로 측정하였으며, 수분활성도는 균질화한 시료 2 g을 취하여 수분활성도 측정기 (Novasina Thermoconstanter, Swiss)로 측정하였다.

#### 휘발성 염기질소 (VBN) 및 아미노질소

Conway unit를 이용하는 microdiffusion method (KFDA, 1999)로 휘발성 염기질소를 측정하였다. 아미노질소는 Spies and Chamber (1951)의 동염법으로 측정하였으며, 검량곡선은 L-alanine 표준용액을 사용하여 작성하였다.

#### 유리아미노산의 정량

균질화된 시료 5 g을 전처리하여 Sykam Amino acid analyzer S433을 이용한 Ninhydrin법으로 분석하였으며 분석조건은 다음과 같다.

분석조건: Column size, 4 mm × 150 mm; Absorbance, 570 nm and 440 nm; Reagent flow rate, 0.25 mL/min; Buffer flow rate, 0.45 mL/min; Reactor temperature, 120 °C; Reactor Size, 15 m.

#### 관능평가

숙성된 창란젓갈의 관능검사는 10명의 panel member를 설정한 후 조직감, 냄새, 맛, 종합적 수용도의 4개 항목에 대하여 10점 평점법으로 성적을 평가하였다.

평가된 성적의 검정은 SAS (statistical analysis system) 프로

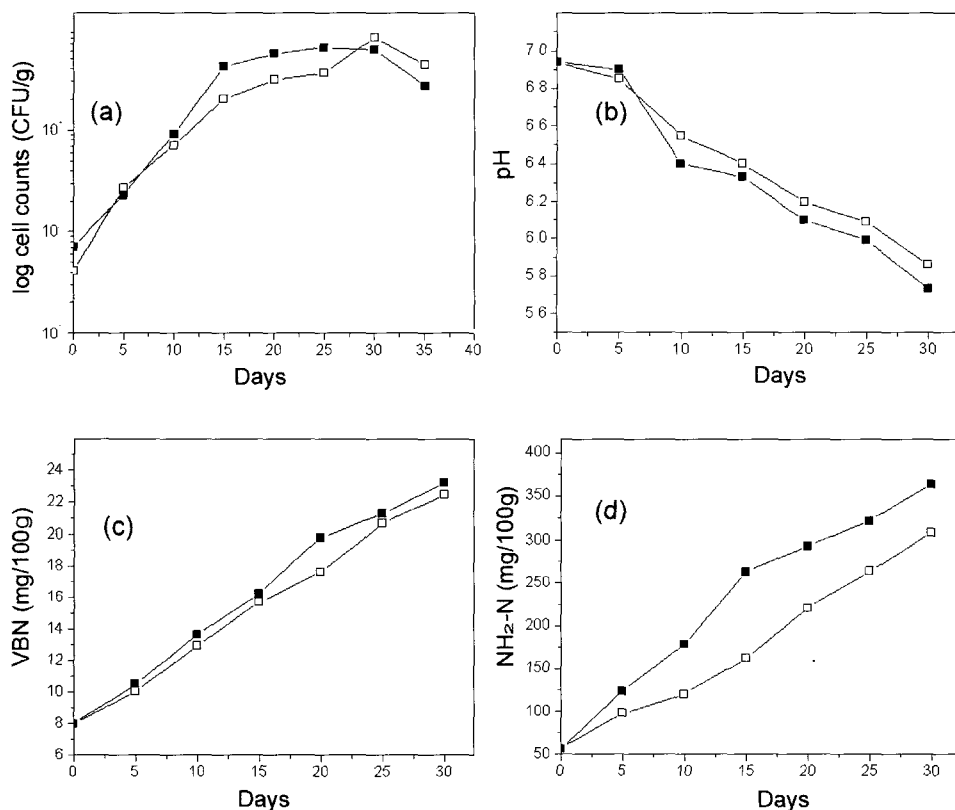


Fig. 1. Change of viable cell counts(a), pH(b), VBN(c) and NH<sub>2</sub>-N(d) during the fermentation period of *Changran-Jeotgal* at 0±2°C.

□ The control: *Changran-Jeotgal* fermented without addition of the microbial starters.

■ The subject: *Changran-Jeotgal* fermented with addition of the microbial starters: *Micrococcus* sp., *Leuconostoc* sp. and *Pseudomonas* sp.

Table 1. Physiological and biochemical characteristics of strains having the protease activity

Test items	Strain		
	<i>Micrococcus</i> sp.	<i>Leuconostoc</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.
Gram	+	+	-
shape	coccus	coccus	rod
motility	+	+	+
oxidase	-	-	+
catalase	+	-	+
H <sub>2</sub> S	-	-	-
Indol	-	-	-
MR	-	+	-
VP	-	-	-
citrate	+	-	-
nitrate reduction	-	-	+
casein (HC)	1.4	4.2	2.7
starch	-	-	+
glucose	+	+	+
maltose	-	+	+
mannitol	+	+	+
rhamnose	-	-	-
xylose	+	-	-
lactose	-	+	-
sucrose	-	-	+
salicin	-	+	+
sorbitol	-	+	-
arabinose	+	-	+
raffinose	-	-	-
cellulobiose	-	+	+
lysine decarboxylase	-	-	-
ornithine decarboxylase	+	-	-
arginine decarboxylase	+	-	-
ONPG	-	-	-
AHD	+	+	-
LDC	-	-	-
ODC	+	-	-
CIT	+	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-
URE	-	-	-
TDA	-	-	-
IND	-	-	-
VP	-	-	-
GEL	+	+	+
GLU	+	+	+
MAN	+	+	+
INO	-	-	-
SOR	-	+	-
RHA	-	-	-
SAC	-	-	+
MEL	-	-	-
AMY	-	+	-
ARA	+	-	+
OX	-	-	-
NO <sub>3</sub> -NO <sub>2</sub>	-	-	+
MOB	+	-	+

그램을 이용하여 T-test와 ANOVA test법으로 유의성의 유무를 판단한 후 Duncan's multiple range tset법으로 신뢰계수 0.05의 범위 내에서 통계적으로 분석하였다 (Kim and Lee, 1996).

### 결과 및 고찰

#### 숙성에 관여하는 미생물의 분리 및 동정

제조 기법을 달리하여 만들어진 창란젓갈을 숙성시키면서 20여종의 우점종 colony를 분리하였으며, 이 중 protease 활성이 강한 3균주를 분리하였고 (결과 미제시) 이들을 동정한 결과, *Micrococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Pseudomonas* sp.로 확인되었다 (Table 1). 이후 이 세 균주를 창란젓갈의 숙성을 위한 starter로 첨가한 시험구와 첨가하지 않은 대조구로하여 숙성중 균수 및 이화학적 성분의 변화를 각각 조사하였다.

#### 숙성 중 창란젓갈의 균수 변화

시험구의 경우 창란젓갈의 숙성 중 분리된 *Micrococcus* sp., *Leuconostoc* sp. 그리고 *Pseudomonas* sp.를  $10^5$  CFU/g 정도로 집중하여  $0 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 숙성시키면서 생균수 및 첨가된 균주들의 균수 변화를 5일 간격으로 측정하였다.

대조구의 경우 초기 균수  $4.1 \times 10^5$  CFU/g에서 숙성 30일째에  $8.1 \times 10^8$  CFU/g로 최대 균수를 나타내었다 (Fig. 1(a)). 그러나 시험구의 경우에는 초기 균수  $7.1 \times 10^5$  CFU/g에서 숙성 15일째

$7.5 \times 10^8$  CFU/g으로 증가한 후 25일째까지 거의 일정한 균수를 나타내었다.

젓갈의 종류와 제법에 따라 차이가 있지만 일반적으로 젓갈류 제품에서 발견되는 주요 미생물들은 *Micrococcus* sp., *Brevibacterium* sp., *Sarcina* sp., *Leuconostoc* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp. 등이 알려져 있다. 젓갈의 숙성 발효에 관여하는 미생물 중 이상발효 및 부패에 관여하는 미생물은 *Vibrio* spp., *Achromobacter* spp., *Bacteroides* spp.와 같은 Gram 음성간균이며, 숙성 초기에는 대부분 간균이 검출되지만 구균 역시 젓갈의 숙성에 기여한다는 Kim (1999)의 보고를 참조해 볼 때, 미생물상의 변화와 젓갈의 숙성 및 변패 사이에는 어느 정도 상관관계가 있는 것으로 추정되고 있다. 본 연구에서도 protease 생성능이 우수한 *Micrococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Pseudomonas* sp.의 세 균주를 첨가한 창란젓갈은 첨가하지 않은 대조구에 비하여 숙성기간을 10일 정도 단축할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 미생물의 첨가에 따른 창란젓갈의 숙성중 이화학적 성분의 변화

##### pH

숙성기간동안의 pH 변화를 Fig. 1(b)에 나타내었다. 대조구와 시험구 모두 숙성기간동안 초기 6.9에서 pH 값이 낮아지는

Table 2. Comparison of the value (ppm) of free amino acids during fermentation between *Changran-Jeotgal* with the addition of starters and *Changran-Jeotgal* without the addition of starters. C, the control; S, the subject. The control and the subject are same as in Fig. 1.

Free amino acid	Fermentation period													
	0 days		5 days		10 days		15 days		20 days		25 days		30 days	
	C and S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	
Phospho-serine	17.0	27.5	30.0	32.5	36.5	34.0	54.5	30.5	61.5	33.5	64.5	37.0	66.0	
Taurine	38.0	55.5	58.5	54.0	68.5	53.5	102.0	52.5	128.0	48.5	112.0	57.5	118.5	
Asp	114.5	185.5	201.5	224.5	286.0	239.5	354.5	322.0	406.0	337.0	404.0	358.5	474.0	
Thr	102.5	192.0	220.5	308.0	350.0	287.0	441.0	416.0	484.0	426.0	511.0	462.0	577.0	
Ser	127.0	216.5	243.0	268.5	336.0	279.5	406.0	374.5	470.5	404.5	497.5	427.5	570.0	
Glu	2253.5	2187.5	2525.5	2160.0	2265.5	2251.0	2837.0	2432.5	2616.0	2371.5	2308.0	2500.5	2669.0	
Pro	195.0	202.0	203.5	245.5	308.5	281.0	378.5	328.5	335.5	347.5	360.5	392.5	323.5	
Gly	149.5	178.0	210.5	218.0	270.5	232.5	321.5	287.5	329.0	304.5	332.0	329.5	376.0	
Ala	70.0	104.0	122.0	133.5	183.5	142.0	233.0	198.0	265.5	219.0	283.5	225.0	332.0	
Val	128.5	194.5	215.5	240.5	329.0	255.0	411.5	352.0	454.0	382.0	476.0	393.5	549.5	
Met	95.5	109.5	121.5	93.5	115.5	109.0	148.0	157.0	181.5	166.0	220.0	178.5	266.0	
Ile	108.0	174.5	194.5	220.0	308.0	240.0	390.5	337.0	423.5	360.0	464.0	386.5	549.5	
Leu	223.5	299.0	339.5	345.0	444.0	385.5	571.0	571.5	667.0	606.0	767.5	653.0	913.5	
Tyr	120.0	169.5	200.0	229.0	264.0	250.0	357.5	342.5	400.0	368.0	459.5	391.0	544.0	
Phe	135.5	191.0	227.5	226.5	336.5	252.5	413.5	382.5	477.0	412.0	506.5	424.0	592.0	
NH <sub>3</sub>	10.0	26.0	22.5	21.5	35.5	35.0	66.0	40.5	75.0	43.5	77.5	41.0	82.0	
Lys	158.0	192.5	218.5	222.5	267.5	242.0	357.0	318.5	386.0	348.0	405.0	345.5	471.5	
His	53.5	63.0	79.0	88.0	95.0	91.5	130.5	124.5	133.5	123.5	139.0	152.0	157.5	
Arg	298.0	311.0	334.0	395.0	487.5	412.5	577.5	556.0	621.0	605.5	614.5	618.5	703.0	
Total	4,367.5	4,768.0	5,767.5	5,331.0	6,787.5	5,660.5	8,551.0	7,068.0	8,917.5	7,301.0	8,388.0	7,755.0	10,335.0	

Table 3. Sensory evaluation results of salt fermented *Changran-Jeotgal*

Time (day)	Texture		Flavor		Taste		Overall acceptance	
	C <sup>1</sup>	S <sup>2</sup>	C	S	C	S	C	S
5	4.2±0.82	4.7±0.48	3.7±1.06	4.6±0.70	2.6±0.70	3.5±0.71	3.5±0.53	4.4±0.52
10	4.8±0.79	6.0±0.67	4.6±0.84	5.5±0.71	3.1±0.74	5.6±0.52	4.2±0.63	5.8±0.42
15	5.6±1.17	8.1±0.57	6.0±1.41	7.8±0.63	4.6±0.97	7.4±0.52	5.4±0.70	7.6±0.52
20	6.8±1.03	9.8±0.42	7.1±0.88	9.7±0.48	7.0±0.94	9.8±0.42	6.8±0.63	9.8±0.42
25	7.7±0.67	7.6±0.84	8.3±0.67	8.9±0.88	7.3±0.95	9.1±0.57	7.8±0.63	8.4±0.52
30	9.8±0.42	5.2±0.63	9.9±0.32	8.8±1.03	9.1±0.74	8.8±0.92	9.6±0.52	7.7±0.48
F value	19.94	20.94	22.68	22.72	28.90	32.38	27.48	23.31
P value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

<sup>1,2</sup> Same as in Table 2.

경향을 보여, 숙성 30일 경에는 대조구의 경우 5.9, 시험구의 경우 5.7로 나타났다.

휘발성 염기질소 (VBN)

분리된 균주를 투입한 창란젓갈의 숙성 중 VBN 변화를 측정하여 그 결과를 Fig. 1(c)에 나타내었다. 초기 VBN은 8.0 mg/100 g였으며 대조구의 경우는 30일째 22.8 mg/100 g를, 시험구의 경우는 23.2 mg/100 g로 나타나 모두 숙성기간동안 증가하는 경향을 보였으며, 증가 형태도 유사한 경향을 나타내었다.

아미노질소

아미노질소의 경우 (Fig. 1(d))는 초기 56.3 mg/100 g에서 대조구는 30일째 308.6 mg/100 g, 시험구는 30일째 363.8 mg/100 g를 나타내어 대조구와 시험구 모두 증가하는 경향을 보였으나, 시험구가 같은 기간동안 증가폭이 컸으며, 특히 숙성 10-15일 사이에 약 100 mg/100 g가 증가하였다. 신제조기법의 숙성 적정기일로 판단된 30일을 기준으로 보았을 때 대조구의 30일째 해당 수치가 시험구의 20일과 유사하였다.

유리아미노산

대조구와 시험구를 30일간 숙성시키면서 5일 간격으로 시료를 채취하여 유리아미노산을 분석한 결과를 Table 2, 3에 나타내었다. 초기의 총유리아미노산 값은 4,397.5 ppm이었으나 숙성 30일째는 대조구의 경우 8,373.5 ppm을, 시험구의 경우는 10,335.0 ppm을 나타내어 분리된 균주를 첨가하였을 때 유리아미노산의 생산이 더 많음을 알 수 있었다. 특히 시험구에 있어서 phosphoserine, taurine, leucine, NH<sub>3</sub>의 양이 대조구에 비해 월등히 많았다. 그러나 glutamic acid, proline, glycine, histidine의 양은 30일째를 비교하여 보면 대조구와 시험구가 유사하였고 나머지 15종의 유리아미노산의 함량은 시험구가 월등히 높아 첨가한 균들이 유리아미노산 생산에 많이 관여한다는 것을 알 수 있었다. 그리고 시험구에서 valine과 arginine이 초기 함량에 비해 각각 4배와 2배 정도 증가하였는데 이 두 아미노산

은 쓴맛을 가지고 있으나 적당량이 함유되면 맛을 깊게 하여 뒷맛을 강하게 해주는 효과가 있는 것으로 보고된 바 있기 때문에 (Park et al., 1998) 이들이 창란젓갈의 독특한 맛에 기여하는 것으로 사료된다.

관능평가

염도 10.5%의 대조구와 시험구를 0±2℃에서 숙성시키면서 관능적 품질을 10점법으로 평가한 결과는 Table 3과 같다. 조직감은 대조구의 경우 30일째, 시험구는 20일째 최고값을 나타내었고, 향미와 맛도 같은 경향을 보였다.

이상에서 살펴보았듯이, 시험구의 아미노질소와 유리아미노산의 증가가 컸던 10-15일의 시기가 첨가균들의 균수증가 시기와 비교적 일치하고 관능 평가 역시 대조구에 비하여 10일 정도 빠른 시일에 최고값을 나타내었으므로 protease 생성균주를 첨가한 시험구의 경우 숙성기간을 10일 이상 단축시킬 수 있을 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

APHA. 1962. Recommended Procedures for the Bacteriological Examination of Sea Water and Shellfish. 3rd ed. Ame. Pub. Health Assoc. Inc. USA, 1-51.  
 Bergey, D.H. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore/London, 2648 pp.  
 Harrigan, W.F. and M.E. McCance. 1976. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press. London/New York, 452 pp.  
 Kim, K.O. and Y.C. Lee. 1996. Sensory Evaluation of Food, Test of Consumer's Taste, Statistics Analysis and Experimental Plan. Hak Youn Sha. Seoul, pp. 238-250, 262-282. (in Korean)  
 Kim, Y.M. 1999. Prospects and countermeasures for the industry of marine products in 21 century, Traditional

- fermented marine products. Fall scientific meeting and general assembly in 1999, Kor. Fish. Soc. (in Korean)
- KFDA (Korea Food & Drug Administration). 1999. Volatile Basic Nitrogen. Moon Young Sha. Seoul, pp. 202-203. (in Korean)
- Lee, W.D., D.S. Chang, S.M. Kang, J.H. Yoon and M.S. Lee. 2001a. Development of manufacturing process for *Changran-Jeotgal*. 1. Optimization of salting process. J. Kor. Fish. Soc., 34, 109-113. (in Korean)
- Lee, W.D., D.S. Chang, J.J. Lee, J.H. Yoon and M.S. Lee. 2001b. Development of manufacturing process for *Changran -Jeotgal*. 2. Optimization of fermentation process. J. Kor. Fish. Soc., 34, 114-118. (in Korean)
- Lee, W.D., D.S. Chang, J.J. Lee, J.H. Yoon and M.S. Lee. 2001c. Development of manufacturing process for *Changran-Jeotgal*. 3. Improvement of seasoning process and quality estimation. J. Kor. Fish. Soc., 34, 119-124. (in Korean)
- MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 912 pp.
- Park, S.M., C.K. Park, K.T. Lee and S.M. Kim. 1998. Changes in taste compound of low salt fermented pollack tripe during controlled freezing point aging. Kor. J. Food Sci. Technol., 30, 49-53. (in Korean)
- Shin, S.U., M.S. Chang, B.H. Koh. 1999. Studies on shelf-life extension of *Squid-jetkal* using corn syrup, 2. Change of the bacterial flora by the addition of corn syrup of low salted *Squid-jeotkal*. Bull. Fish Sci. Inst., Yosu Nat'l. Univ., vol. 8, 54-58. (in Korean)
- Spices, T.R. and D.C. Chamber. 1951. Spectrophotometric analysis of amino acids and peptides with their copper salt. J. Biol. Chem., 191, 789.

---

2003년 6월 10일 접수

2003년 8월 23일 수리