

低鹽水産醱酵食品의 加工에 관한 研究

3. 低鹽정어리젓의 微生物相의 變化

車庸準 · 鄭秀烈 · 河在浩 · 鄭仁喆 · 李應昊

釜山水産大學 食品工學科

Studies on the Processing of Low Salt Fermented Sea Foods

3. Changes of Microflora during Fermentation of Low Salted Sardine

Yong-Jun CHA, Su-Yeol CHUNG, Jae-Ho HA, In-Cheol JEONG and Eung-Ho LEE

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan
Namgu, Pusan, 608 Korea

The changes of microflora during fermentation of low salted sardine were observed. The viable cell count in the low salt fermented sardine with 8% or 10% salt showed lower than that of control (20% salt) during the fermentation period and it was considered that the microbial growth was controlled by adding ethanol, sorbitol and lactic acid.

Among 48 strains isolated, 7 genus of bacteria and 1 genus of yeast were identified during the fermentation of sardine. The changes of microflora also occurred during fermentation depending on the salt levels in the product. *Brevibacterium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* and *Bacillus* were detected at early stage of fermentation and they disappeared after 50 days fermentation from the product with 20% salt and *Halobacterium*, *Micrococcus*, *Pediococcus* and *Torulopsis* were isolated, whereas *Brevibacterium*, *Micrococcus* and *Pediococcus* were isolated from the product with 8% or 10% salt.

緒 言

옛부터嗜好食品으로 즐겨 이용하여 오는 젓갈의 微生物에 관한 研究로는 産業의 爲로 그 生産量이 많은 새우젓, 멸치젓, 굴젓, 오징어젓 및 조개젓 등에 관하여 몇몇 報告가 있을 뿐이다.^{1),2),3)} 따라서 魚粉 등의 非食用으로 주로 소비되는 정어리를 効率的으로 이용할 목적으로 市販 젓갈제품보다 食鹽濃度가 3배나 낮은 低鹽정어리젓을 加工하여 前報^{4),5)}에서는 加工條件 및 熟成中의 風味成分을 究明하였으며, 本報에서는 低鹽정어리젓 熟成에 관여하는 微生物의 種類와 그 性狀을 究明하고 아울러 熟成期間中의 微生物相의 變化를 實驗하였다.

材料 및 方法

1. 試料調製

實驗에 사용한 정어리, *Sardinops melanosticta*, 는 머리, 꼬리 그리고 뼈를 제거한 다음 Table 1에서와 같은 配合比率로 담금하여 前報⁴⁾와 동일한 방법

Table 1. Composition of additives for the preparation of fermented sardine (g/100g)*

Sample No.	Salt	Lactic acid	Ethyl alcohol	BHA
Control	20	0	0	0.02
1	10	0.5	6	0.02
2	8	0.5	6	0.02

*Ratio to the raw sardine

으로 처리하여 實驗에 사용하였다.

2. 一般成分, 鹽度 및 pH 측정

水分은 常壓加熱乾燥法, 粗蛋白質은 Semi-micro-kjeldahl 法, 粗脂肪은 Soxhlet 法, 全糖은 Somogyi 變法, 灰分은 乾式灰化法, 鹽度는 Mohr 法 그리고 pH는 pH meter (Fisher model 630)로 측정하였다.

3. 微生物學的 實驗

정어리젓 20g을 無菌的으로 취하여 20% 食鹽濃度의 젓은 6% 食鹽水를, 10% 및 8% 食鹽濃度의 젓은 3% 食鹽水 180 ml를 가하고 2분간 균질화한 후 10進稀釋한 다음 微生物分離 및 生菌數算定試料로 하였다. 生菌數는 A·P·H·A⁶⁾의 標準寒天平板培養法에 따랐고, 微生物分離用培地는 Onishi 등⁷⁾과 Wickerham⁸⁾의 培地(Table 2, 3)를 改良하여 사용하였다. 分離培養方法은 Dussaut⁹⁾와 Flennary¹⁰⁾의 方法에 따르고, 分離細菌의 性狀은 Harrigan과 McCane¹¹⁾, Flennary¹⁰⁾의 方法에 따랐으며, 分離細菌의 同定은 Bergey's manual,^{12,13)} Scholes와 Shewan¹⁴⁾, Gibbs와 Shapton¹⁵⁾의 方法으로 하였다. 그리고 酵母菌의 檢索同定은 Lodder¹⁶⁾의 方法에 따랐다.

Table 2. Medium used for the isolation of bacteria, Gibbon's medium modification

Casamino acid	0.75 g
Yeast extract	1.0 g
Dextrose	1.0 g
Sodium citrate	0.3 g
KCl	0.2 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2.0 g
FeCl ₂	2.3 mg
Agar	1.6 g
NaCl	3.0 g
Distilled Water	100 ml
pH 7.0±0.1 Sterilize at 121°C for 15 min	

Table 3. Medium used for the isolation of yeasts, Y-M modification

Bacto pepton	1.0 g
Yeast extract	0.8 g
Malt extract	0.8 g
Dextrose	1.0 g
Agar	1.8 g
NaCl	3.0 g
Distilled Water	100 ml
pH 6.0±0.1 Sterilize at 121°C for 15 min	

結果 및 考察

1. 一般成分, 鹽度 및 pH의 變化

低鹽정어리젓 原料의 一般成分은 Table 4와 같으며, 熟成期間中의 水分, 鹽度 및 pH의 變化는 Table 5와 같다.

食鹽을 20% 첨가한 정어리젓의 경우는 水分含量이 原料肉에서 68.6% 이던 것이 熟成 20일 경에는 57.2%로서 熟成期間中 약간의 증가가 있었고 食鹽을 10% 및 8% 첨가한 정어리젓의 경우는 63% 내외로 熟成期間中 큰 變化는 없었다. 그리고 pH는

Table 4. Chemical composition of raw fish (g/100g)

	Moisture	Lipid	Protein	Total sugar	Ash
Sardine	68.6	10.2	18.4	0.2	1.6

세製品 모두 다 6.0 부근으로 熟成期間中 變化는 거의 없었으며, 鹽度는 食鹽을 20% 첨가한 정어리젓이 17% 부근이었고 食鹽을 10% 및 8% 첨가한 경우는 각각 8% 및 7% 내외였다.

2. 微生物相의 變化

정어리젓 熟成中의 食鹽濃度別 生菌數는 Fig. 1과 같다. 食鹽을 20% 첨가한 對照試料에서는 熟成초기

Table 5. Changes in moisture, salinity and pH during the fermentation of sardine

Fermentation days	20			50			80		
	20	10	8	20	10	8	20	10	8
Moisture	57.2	62.6	63.3	58.1	60.3	63.9	62.8	63.6	58.5
Salinity	17.0	8.3	7.0	17.3	8.1	7.1	16.5	8.1	6.6
pH	6.08	5.97	5.96	5.86	5.87	5.91	5.93	5.98	5.97

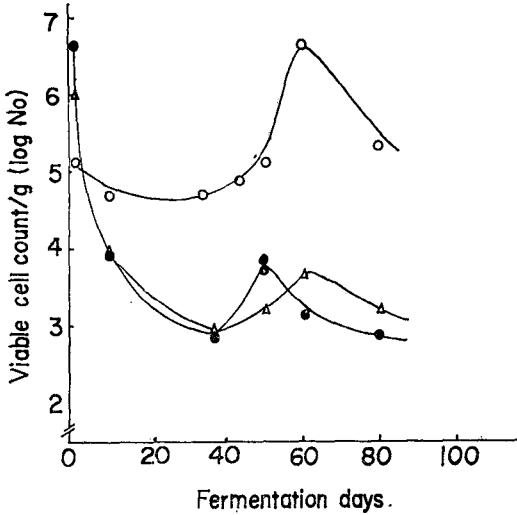


Fig. 1. Changes of viable cell counts during the fermentation of sardine prepared with additives.

- : 20% salt + 0.02% BHA
- : 10% salt + 0.02% BHA + 0.5% lactic acid + 6% sorbitol + 6% EtOH
- △-△ : 8% salt + 0.02% BHA + 0.5% lactic acid + 6% sorbitol + 6% EtOH

에 서서히 감소하다가 熟成 60일 경에는 $5.4 \times 10^6/g$ 로써 최고치를 나타내었으며, 80일 후에는 $2.0 \times 10^5/g$ 으로 감소되었고, 食鹽을 10% 첨가한 것은 熟成 38일까지 계속 감소하다가 熟成 50일 후에 $6.2 \times 10^3/g$ 에 달하였으며, 食鹽을 8% 첨가한 것도 熟成 60일 후에 $4.0 \times 10^3/g$ 의 최고치를 나타냈다가 그 후 계속 감소하였다.

食鹽을 10% 및 8% 첨가한 것의 경우, 食鹽濃度 20%인 對照試料와 比較하여 볼 때 食鹽濃度가 낮은 데도 生菌數가 적은 것은 알코올, 젖산, sorbitol 첨

가에 의한 微生物의 増殖抑制에 의한 効果라 생각된다. 17, 18, 19) 河內와 畑²⁰도 성계젖에 알코올을 14% (v/w) 첨가한 경우 熟成 59일까지 生菌數가 $8.0 \times 10^2/g$ 이었으며 특히 製品에 나쁜 영향을 미치는 酵母菌의 生育抑制에 效果가 크다고 報告하였다.

熟成期間 동안 7種 46菌株의 細菌과 1種 2菌株의 酵母를 分離同定하였으며 이들의 形態的, 生理的 및 生化學的 特性은 Table 6과 같다. Type 1은 간균, gram 양성, non spore 로 nitrate 환원력이 없고 전분 가수분해, gelatin 액화능 및 mannitol 양성인 점 등으로 보아 *Brevibacterium marinopiscosum* 유사균으로 추정되며, Type 2는 간균, gram 양성, 운동성이 있고 주편모를 가지며, catalase 양성, nitrate 환원, 전분 가수분해, gelatin 액화, mannitol, glucose 양성인 점으로 보아 *Bacillus subtilis* 유사균으로 추정된다. Type 3은 구균, gram 양성이며 catalase 양성, gelatin 액화능이 있고 nitrate 환원력이 없는 점 등으로 보아 *Micrococcus* 屬에 속하는 듯하며, Type 4는 간균, gram 음성, 운동성 ±이고 극편모를 가지며 catalase 양성이고 nitrate 환원성, indole 생성 및 전분 가수분해능이 없고 maltose 및 mannitol 음성 등으로 일치하며, 식염내성은 시료의 염도가 7% 이상인 점 등으로 보아 *Halobacterium* 屬에 속하는 것으로 추정된다. Type 5는 간균, gram 음성 및 운동성이 있고 극편모를 가지며 non spore, nitrate 환원력이 있고 glucose 양성, indole 음성 및 전분 가수분해능이 음성인 점 등으로 보아 *Pseudomonas* 屬에 속하는 것으로 추정된다. Type 6은 간균, gram 음성 및 운동성이 있고 주편모를 가지며 gelatin 액화능이 있고, 전분 가수분해, indole 생성, nitrate 환원력, maltose 및 mannitol 음성인 점 등으로 보아 *Flavobacterium marinovirusum* 유사균으로 추정된다. Type

Table 6. Morphological, physiological and biochemical characters of strains isolated from fermented sardine

Type	Shape	Gram	Motility	Flagella	Sp-ore	Cata-lase	Oxi-dase	V.P test	Nit-rate	Ind-ole	Gel-atin	Sta-rch	Gluc-ose	Mal-tose	Man-nitol
1	short rod	+	-		-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+
2	rods	+	+	peritrichous	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
3	coccus	+	-		-	+	±	-	-	-	+	-	-	-	-
4	rods	-	±	polar	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
5	rods	-	+	polar	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
6	rods	-	+	peritrichous	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
7	coccus	+	-		-	±	+	-	-	-	-	-	+	+	-
8	ovoid	+			-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+

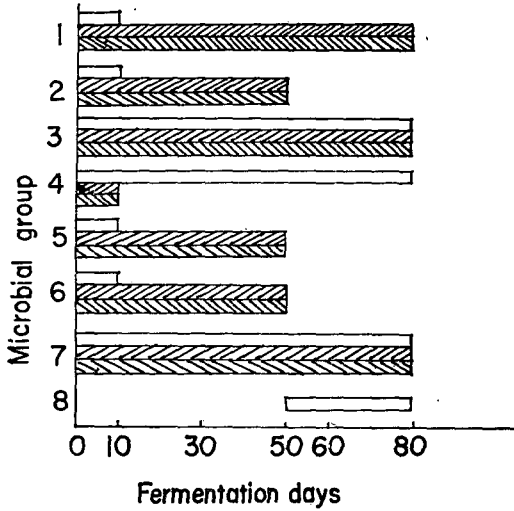


Fig. 2. Changes of microflora during the fermentation of sardine prepared with additives.

1. *Brevibacterium marinopiscosum*
2. *Bacillus subtilis*
3. *Micrococcus* sp.
4. *Halobacterium* sp.
5. *Pseudomonas* sp.
6. *Flavobacterium marinovirusum*
7. *Pediococcus cerevisiae*
8. *Torulopsis* sp.

- : 20% salt+0.02% BHA
- ▨ : 10% salt+0.02%BHA+0.5% lactic acid +6% sorbitol+6% EtOH
- ▩ : 8% salt+0.02% BHA+0.5% lactic acid +6% sorbitol+6% EtOH

7은 구균, gram 양성, non spore이며 maltose 양성 catalase ±이고, gelatin 역화능, indole 생성 및 nitrate 환원력이 없는 점으로 보아 *Pediococcus cerevisiae* 유사균으로 추정되었다. 그리고 Type 8은 형태적으로 관찰한 결과, 난형으로 가균사 및 포자를 생성치 않았으며 nitrate, glucose, maltose 및 mannitol 분해능이 있는 점으로 보아 *Torulopsis*屬에 속하는 효모로 추정되었다.

그리고 Fig. 2는 이러한 추정균들이 첫담금시에는 분리되었으나 숙성과정에서 분리되지 않은 균종과 숙성이完了될 때까지 생육하고 있는 균종을 표시하였다. 微生物相의 변화는 對照試料에서는 숙성초기에 *Brevibacterium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*屬과 같은 海水細菌과 *Bacillus*屬이 분리되었으나 숙성이 진행될수록 이들 균은 분리되지 않았고, 好鹽菌인 *Halobacterium*, *Micrococcus*屬의 균이 숙성 80일까지 분리되었으며, *Torulopsis*屬의 酵母菌이 숙성

55일 이후부터 나타났다. 食鹽을 8% 및 10% 첨가한 低鹽정어리젓의 경우는, 숙성초기에 *Bacillus*, *Halobacterium*, *Pseudomonas* 및 *Flavobacterium*屬의 균이 나타났으나 숙성완숙기인 60일 이후에는 *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Pediococcus*屬 등의 균이 檢出되었다.

李와 崔²⁾는 멸치젓중의 微生物相의 變化를 實驗하여 숙성초기에 *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Brevibacterium*, *Pediococcus*, *Sarcina* 및 *Micrococcus*屬의 細菌이 分離되었다고 하였으며, 숙성중기에는 *Saccharomyces*, *Torulopsis*屬의 균이 분리되었는데 그 중에서 *Pediococcus*와 *Saccharomyces*가 가장 우세하였다고 報告하였으며, 鄭과 李³⁾도 새우젓숙성 중에 *Pediococcus*가 우세하였다고 報告하고 있다.

要 約

食鹽 8% 및 10%에 에틸알코올 6%, sorbitol 6%, 젓산 0.5%를 첨가하여 담근 低鹽정어리젓의 숙성中の 微生物相의 變化를 實驗한 結果는 다음과 같다.

1. 숙성期間中の 水分含量은 食鹽을 20% 첨가한 對照試料의 경우, 숙성 20일 경에 57.2%에서 숙성 80일경에 62.8%로 증가하였으며, 食鹽을 8% 및 10% 첨가한 低鹽정어리젓에서는 63% 내외로 큰 變化는 없었고 pH는 全試料 모두 다 6.0 부근이었다.

2. 食鹽濃度 8% 및 10% 정어리젓의 경우, 숙성期間中 食鹽濃度 20%의 정어리젓 보다 生菌數가 적은 이유는 알코올, sorbitol, 젓산첨가에 의한 微生物生育抑制效果라 생각된다.

3. 정어리젓 숙성中에 分離同定된 균은 *Brevibacterium marinopiscosum*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus* sp., *Halobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium marinovirusum*, *Pediococcus cerevisiae*의 7種의 細菌과 1種의 酵母인 *Torulopsis* sp.으로 추정되었으며, 숙성초기에 *Brevibacterium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*屬의 균이 분리되었으나 숙성후기에는 對照試料에서는 *Halobacterium*, *Micrococcus*, *Pediococcus*屬 및 *Torulopsis*屬의 균이 분리되었고, 食鹽을 10% 및 8%를 첨가한 低鹽정어리젓에서는 *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Pediococcus*屬의 균이 분리되었다.

文 獻

- 1) 李啓湖. 1969. 젓갈等屬의 呈味成分에 關한 微生物學的 및 酵素學的 研究. 韓農化誌 11, 1—27.
- 2) 李鍾甲·崔淸卿. 1974. 멸치젓갈 熟成에 따른 微生物相의 變化에 對하여. 韓水誌 7(3), 105—114.
- 3) 鄭承鏞·李應吳. 1976. 새우젓의 呈味成分에 關한 研究. 韓水誌 9(2), 79—110.
- 4) 李應吳·車庸準·李鍾壽. 1983. 低鹽水産醱酵食品의 加工에 관한 研究. 1. 低鹽 정어리젓의 加工條件. 韓水誌 16(2), 133—139.
- 5) 車庸準·趙舜榮·吳光秀·李應吳. 1983. 低鹽水産醱酵食品의 加工에 관한 研究. 2. 低鹽 정어리젓의 呈味成分. 韓水誌 16(2), 140—146.
- 6) American Public Health Association. 1962. Recommended procedures for the bacteriological examination of sea water and shellfish. 3rd. pp.1—50, Amer. Publ. Health Assoc.
- 7) Onishi, H., M. E. McCane and N. E. Gibbons. 1965. A synthetic medium for extremely halophilic bacteria. Canad. J. Microbiol. 11, 365—373.
- 8) Wickerham, L. J. 1951. Taxonomy of yeasts. U. S. Dept. Agri. Tech. Bull. 1029.
- 9) Dussaut, H. P. 1957. The fate of red halophilic bacteria in solar salt during storage. Intern. Symposium on food microbiol. pp. 69—77.
- 10) Flennary, W. L. 1956. Current status of knowledge of halophilic bacteria. Bacteriol. Review 20, 40—66.
- 11) Harrigan, W. F. and M. E. McCane. 1976. Laboratory methods in food and dairy microbiology. pp.52—98, Academic Press.
- 12) Bergey's manual. 1957. Bergey's manual of determinative bacteriology. 7th ed. Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- 13) Bergey's manual. 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- 14) Scholes, R. B. and J. M. Shewan. 1964. The present status of some aspects of marine microbiology. Advan. Marine Biol. 2, 133—169.
- 15) Gibbs, B. M. and D. A. Shapton. 1968. Identification method for microbiologists. part B. Academic press. London and New York.
- 16) Lodder, J. 1971. The yeast. A taxonomic study. pp.1235—1306, North-Holland pub. Amsterdam.
- 17) 渡邊馬男. 1975. 糖アルコールが微生物の發育抑制に及ぼす効果. New Food Industry 17(8), 23—27.
- 18) 清水康美·古橋樹雄·西岡陽子. 1975. 保存助劑としてのエチルアルコールの利用法. New Food Industry 17(8), 8—12.
- 19) 宇野勉. 1974. 水産醱酵食品に關する試驗 (第一報). 北水試月報 31(11), 23—33.
- 20) 河内正通·畑幸彦. 1963. ウニ鹽辛に關する研究 (Ⅲ). 水大研報 13(1), 23—28.