

## 까나리 액젓 부산물의 미생물 배지화를 위한 연구

원혜진 · 함영태<sup>1</sup> · 김혜경<sup>2</sup> · 김병용\*

경희대학교 식품가공학과, <sup>1</sup>중앙대학교 생명공학과, <sup>2</sup>한서대학교 식품생물공학과

**초 록 :** 까나리 액젓 부산물의 자원화를 위한 연구의 일환으로 까나리 액젓부산물을 건조, 분쇄하여 미생물 배지로의 활용 가능성을 조사하였다. 조사 균주로는 *Escherichia coli*(Gram<sup>-</sup>), *Bacillus subtilis*(Gram<sup>+</sup>)와 발광미생물인 *Photobacterium phosphoreum*을 이용하였으며, 기준 LB 배지와 비교 분석하였다. 일반적으로 까나리 액젓부산물 배지는 *E. coli*나 *B. subtilis*와 같은 미생물에 필요한 일부 성분이 LB 배지에 비해 부족함을 보였다. 탄소원은 까나리 부산물 자체에 충분한 것으로 나타났으며, growth factor인 yeast extract 0.5%를 까나리 액젓부산물배지에 첨가하거나, 단백질원인 0.5% peptone과 0.3%의 yeast extract 혼합물을 보강한 까나리 액젓 부산물배지에서는 LB 배지와 같은 세포증식을 보였으며 각 까나리 액젓부산물배지의 제조단가는 LB 배지 조성단가의 46%, 19% 정도로 매우 저렴하였다. 또한 *P. phosphoreum*은 까나리 부산물 배지에 염과 glycerol을 첨가한 결과 생체발광을 보였다. 따라서 폐기 처분되고 있는 까나리 액젓부산물을 미생물배지로의 자원화와 환경오염문제를 해결할 수 있는 가능성을 제시하였다. (2000년 3월 21일 접수, 2000년 7월 25일 수리)

### 서 론

어패류 젓갈은 어패류에 소금을 첨가하여 저장성을 높인 염장 발효식품으로 염분에 의해 부패균의 번식이 크게 억제되고, 미생물이나 효소의 작용으로 육질을 분해시켜 독특한 풍미와 맛을 내는 우리나라 전통 발효 식품 중의 하나이다.<sup>1)</sup> 이들 제품은 숙성방법, 형태, 제법 등에 따라 식혜, 액젓, 양념 젓갈 등으로 분류되며, 이 중 액젓은 우리나라 및 동남아 지역에서 널리 사용되는 수산 발효식품으로서, 소형 어류나 새우를 원료로 여기에 25~60%의 소금을 가하여 장기간 염장 발효한 것을 여과하여 얻은 액체를 말한다.<sup>2,4)</sup> 우리나라에서는 멸치, 정어리, 새우, 까나리, 밴댕이 등 소형 어류들이 주원료로 사용되고 있으며, 이중 까나리의 경우에는 젓갈 자체로는 소비되지 않고 김치의 조미소재나 천연조미료로서의 액젓으로만 소비되고 있다.<sup>5,6)</sup> 그러나 까나리 액젓의 경우 다른 젓갈에 비해 늦게 보편화되어 그 이화학적 성분분석이 최근에 조사되고 있는 실정으로, 숙성과정 중의 이화학적 변화 등 액젓 생산 및 그 품질에 영향을 주는 연구는 전혀 되어 있지 않다. 또한, 까나리 액젓을 제조하는 과정에서 대량으로 남겨지는 부산물인 까나리 박은 발효된 물질로부터 수용성 물질이 빠져나간 상태이긴 하나 많은 무기물이나 회분 등 영양 성분이 남아 있다. 그러나 수분 함량이 많아 미생물이 쉽게 번식하고 지방의 산패가 발생하여 현재 재활용이 되고 있지 않으며, 또한 이 부산물은 높은 염도를 가지고 있기 때문에 비료나 사료로 사용되지 못하고 폐기 처분되고 있다. 충남 홍성지역에서도 1년에 5,000 트럼이상의 까나리 액젓 부산물이 폐기되어 야적되거나, 일부는 땅에 매립되어 환경오염 문제를 일으키는 등 그 처분이 젓갈 제조업체의 큰 문제 거리로 남아있다.

찾는말 : 까나리 부산물, 배지

\*연락처 : Tel : 82-31-201-2627; Fax :

E-mail : bykim@nms.kyunghee.ac.kr

따라서 본 연구에서는 식품 부산물 자원화 연구의 일환으로 까나리 액젓 부산물을 이용한 미생물 배지로의 활용가능성에 대하여 연구를 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

까나리 액젓 부산물은 충남 아산 군에 위치한 대원수산에서 수집하였다. 까나리 액젓 부산물을 건조시킨 후, 막자사발로 분쇄시켰으며 분말형태로 만든 후 4°C에 냉장 보관하며 실험에 사용하였다.

#### 미생물 및 배지

본 실험에서 사용된 미생물은 Gram negative bacteria인 *Escherichia coli*, Gram positive bacteria인 *Bacillus subtilis*와 생체발광 해양미생물 *Photobacterium phosphoreum*을 사용하였다. *E. coli*와 *B. subtilis*는 LB medium (tryptone 1%, yeast extract 0.5%, NaCl 1%)을 기본배지로 사용하여, 까나리 액젓 부산물배지(KB medium)와 비교하였다.<sup>7)</sup> 까나리 액젓 부산물 배지는 건조한 까나리 액젓 부산물 3%(w/v)을 물에 녹인 다음 15분간 100°C에서 끓인 후, 10분간 원심 분리(7,000×g)하여 상등액으로 하였다(Fig. 1). 해양미생물인 *P. phosphoreum*은 LB photo medium(LB broth 2%, glycerol 0.3%, NaCl 1%)을 기본배지로 까나리 액젓 부산물배지와 비교하였다.

#### 미생물 성장 분석

배지에 따른 미생물의 성장분석에서는 *E. coli*와 *B. subtilis*를 100 ml flask에서 24시간 배양하여 stationary phase 상태에 있는 배양액을 100 µl씩 접종한 후, 37°C의 shaking incubator (Model JS-25, Jeil Scientific Co.)에서 200 rpm으로 배양하였으며, 2시간 간격으로 600 nm에서 흡광도를 측정하여 성장률을

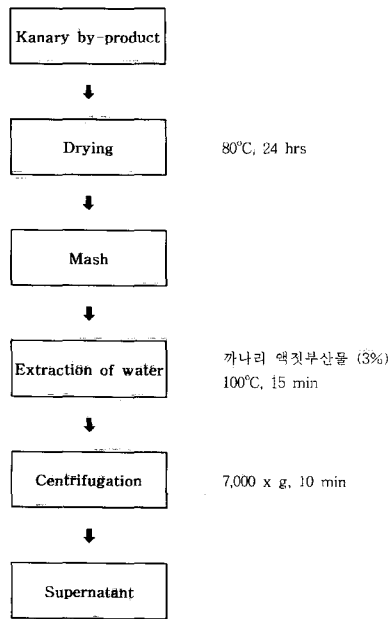


Fig. 1. Production of Canary by-product medium.

비교하였다. *P. phosphoreum*은 20°C의 shaking incubator에서 200 rpm으로 배양한 후, 생체발광효과를 비교하였다.

**까나리 액젓부산물배지의 강화**

까나리 액젓부산물배지에 탄소원으로 glucose를, 질소원으로는 peptone과 tryptone을, 질소원 및 growth factor로 yeast extract를 각각 0.5%씩 첨가하여 강화효과를 비교 분석하였다. Peptone과 yeast extract의 보강에서는 peptone 0.5%를 첨가한 배지에 yeast extract의 농도를 달리하여(0.1과 0.3%) 비교 분석하였고, 질소원과 성장요소원인 yeast extract만을 달리 첨가하여(0.1, 0.3, 0.5%), *E. coli*의 성장을 LB medium과 비교 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**까나리 액젓부산물 배지 (KB medium)의 조성**

까나리 액젓 부산물은 고형성분 때문에 액체배지로 바로 사용할 경우에는 혼탁도가 높아 균의 성장을 흡광도로 판별하기 어려웠다. 혼탁도를 OD<sub>600</sub>으로 측정된 결과, LB 배지는 0.0037, KB 배지는 0.1546으로 관찰되었다. 따라서 3% 까나리 액젓 부산물의 물 추출액 성분을 배지로 사용하였다.

*E. coli*와 *B. subtilis*를 LB 배지(medium)와 KB 배지에 접종하여 균의 성장을 시간별로 흡광도를 측정하여 조사한 결과 (Fig. 2), KB 배지에서의 세포증식수가 10시간 경과 후 1.3정도의 흡광도를 나타냈고, 같은 시간 내에 LB 배지에서는 1.75의 흡광도를 보여줌에 비하여 30% 정도 균의 생장율이 낮은 것을 알 수 있었다. 이 결과로부터 KB 배지에서는 미생물의 성장에 필요한 일부 성분이 LB 배지에 비해 부족하다는 것을 알 수 있었다. 또한, 서로 다른 *E. coli*와 *B. subtilis*의 경우 세포증식율이 배지에 상관없이 유사한 증가속도

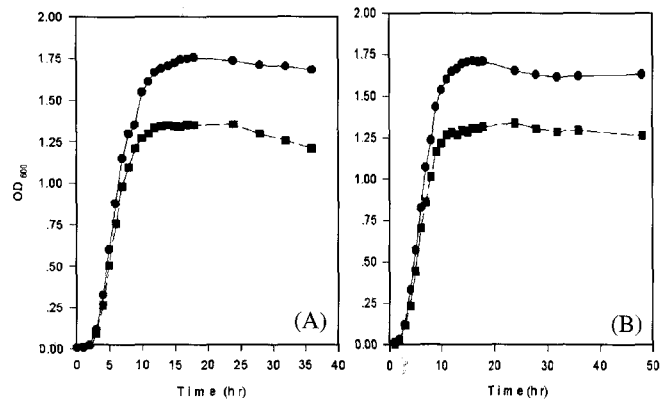


Fig. 2. The growth pattern of Gram negative *E. coli* (A) and Gram positive *B. subtilis* (B) on different media (LB and Canary by-product media (KB)). -○-: LB medium, -■-: KB medium.

Table 1. The media composition and the bioluminescent activity of *Photobacterium phosphoreum*

Media	Composition (%)	Bioluminescent Activity	
LB Photo Medium	LB broth	2.0	
	Glycerol	0.3	+++
Kanary By-product Medium	Kanary By-product	1.5	-
Kanary By-product Salt Medium	Kanary By-product	1.5	
	NaCl	2.1	+
Kanary By-product Glycerol Medium	Kanary By-product	1.5	
	Glycerol	0.3	-
Kanary By-product Salt Glycerol Medium	Kanary By-product	1.5	
	NaCl	2.1	
	Glycerol	0.3	++

를 보여줌에 균종간의 성장률 유의차를 보여주지 않았다.

생체발광해양미생물 *P. phosphoreum*을<sup>8)</sup> KB medium에 salt와 glycerol을 보강하여 20°C의 shaking incubator에서 배양하며 생체 발광 효과를 관찰한 결과(Table 1), 기본 배지인 LB photo medium에서 생체 발광 효과가 가장 컸으며, KB salt medium과 KB salt glycerol medium에서 발광 효과를 나타내었다. 그러나 KB medium 자체와 glycerol만 보강한 KB glycerol medium에서는 발광 현상을 관찰하지 못하였다. Salt는 최종 배지농도 2.5%로 까나리 액젓부산물이 함유한 25% salt를 환산하여 배지에 보정하였다. 이로써 *P. phosphoreum*의 생장은 물론 생체발광에 glycerol의 첨가 및 염도의 농도가 중요한 요인임을 추정할 수 있었다(Table 1).

**까나리 액젓 부산물 배지의 강화**

까나리 액젓 부산물 배지의 부족성분을 보강하기 위하여 탄소원으로는 glucose를,<sup>9)</sup> 질소원으로는 peptone과 tryptone을, 질소원 및 growth factor의 공급원으로는 yeast extract를 0.5%씩 KB medium에 첨가하여 *E. coli*를 접종한 후 시간별 성장률을 LB 배지와 비교 분석하였다(Figs. 3-5).<sup>10,11)</sup>

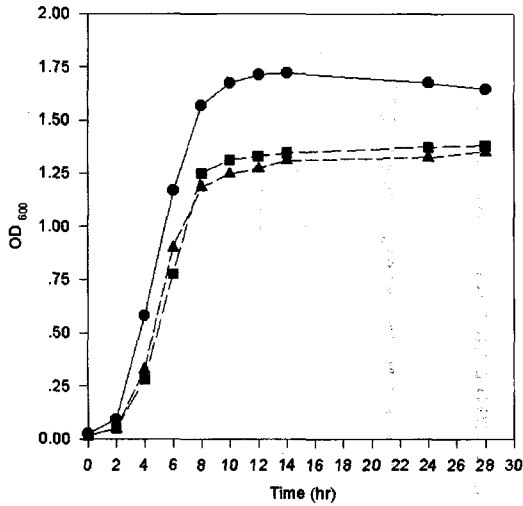


Fig. 3. The growth pattern of *E. coli* on LB, KB, and KB fortified with 0.5% glucose (KBG) media. ●-: LB medium, ■-: KB medium, ▲-: KBG medium.

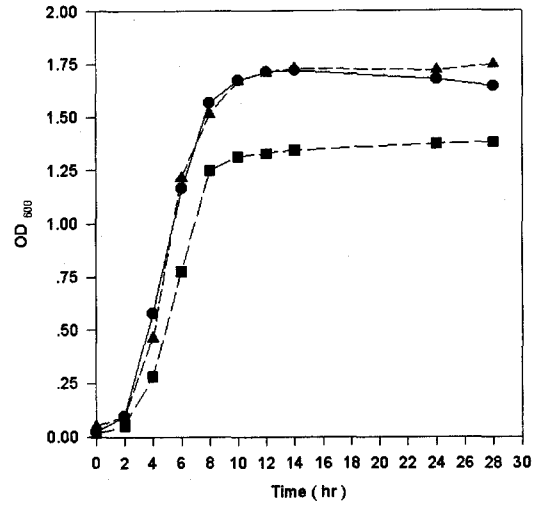


Fig. 5. The growth pattern of *E. coli* on LB, KB, and KB fortified with 0.5% yeast extract (KBY) media. ●-: LB medium, ■-: KB medium, ▲-: KBY medium.

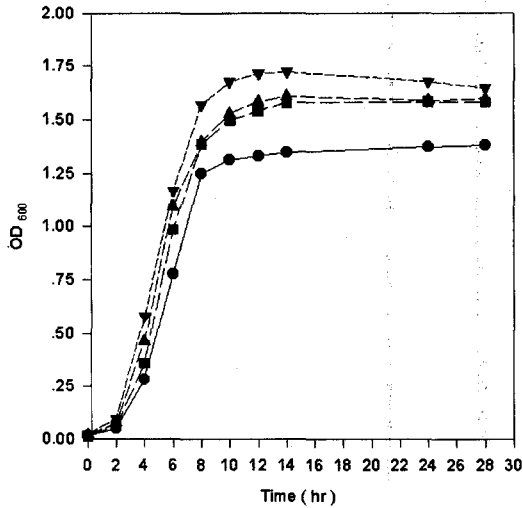


Fig. 4. The growth pattern of *E. coli* on LB, KB, and KB fortified with 0.5% peptone (KBP) and 0.5% tryptone (KBT) media. ●-: KB medium, ■-: KBP medium, ▲-: KBT medium, ▼-: LB medium.

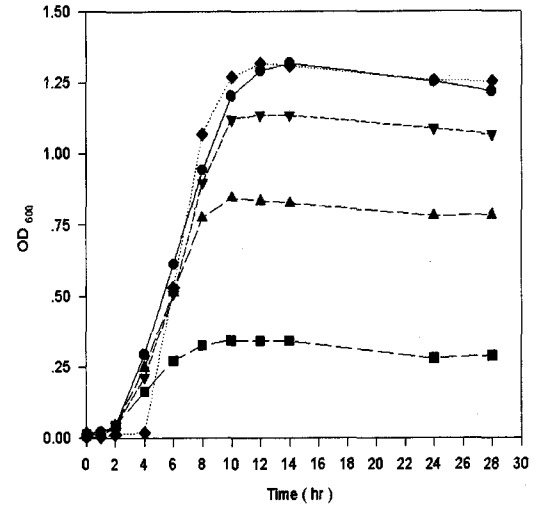


Fig. 6. Canary by-product(KB) media fortified with different concentrations of yeast extracts. Inoculum concentration was 20% of original load. ●-: LB medium, ■-: KB medium, ▲-: KB medium+0.1% yeast extract medium, ▼-: KB medium+0.3% yeast extract medium, ◆-: KB medium+0.5% yeast extract medium.

**탄소원의 보강**

KB배지와 LB배지에서 *E. coli*의 증식은 Fig. 2와 유사한 pattern을 보여주었고(Fig. 3), 탄소원의 보강으로서 KB 배지에 0.5% glucose를 첨가한 KBG 배지에서 *E. coli*의 생장률은 KB 배지만 사용한 경우와 비슷한 세포증식속(흡광도 1.3/10시간)을 보였다. 따라서 까나리 액젓 부산물 배지에 첨가한 탄소원은 LB 배지에 비하여 균의 낮은 생장률을 보임으로서, 첨가한 탄소원은 중요한 역할을 하지 않는 것으로 판명되었다.

**질소원의 보강**

까나리 액젓 부산물 배지에 0.5% peptone과 0.5% tryptone을 각각 첨가하여 *E. coli*의 세포증식을 관찰하여 본 결과(Fig. 4), 까나리 액젓 부산물 배지에 비해 균의 높은 생장을 보였으나 LB 배지보다는 10% 정도 낮은 세포증식을 보였다. 이로서

질소원의 보강이 기본 배지성분으로서 필요하며 LB배지에서의 효과와 같아지기 위해서는 질소원의 보강 외에 또 다른 영양분이 더 필요한 것으로 관찰되었다.

**Growth Factor의 보강**

Growth factor의 보강과 더불어 질소원으로도 쓰이는 yeast extract 0.5%를 까나리 액젓 부산물 배지에 첨가하였을 때, LB 배지와 같은 세포증식을 보임으로써, 까나리 액젓 부산물 배지는 일반적인 complex 배지와 비교하여 볼 때, 탄소원은 충분하나, 질소원과 growth factor가 부족한 것으로 관찰되었다(Fig. 5).

Yeast extract의 농도를 달리하여 첨가한 배지를 비교 분석한 결과(Fig. 6), 0.1%와 0.3% yeast extract를 첨가한 배지는 까나리 부산물배지에서 보다 2-3배 정도의 더 높은 세포증식을

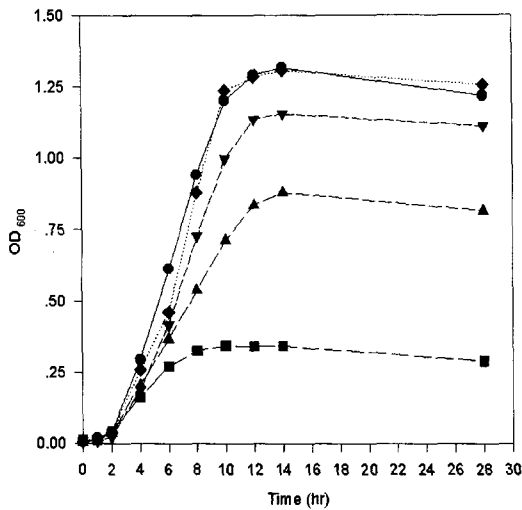


Fig. 7. Kanary by-product(KB) media fortified with peptone and yeast extract. Inoculum concentration was 20% of original load. ●: LB medium, ■: KB medium, ▲: KB medium+0.5% peptone medium, ▼: KB medium+0.5% peptone+0.1% yeast extract medium, ◆: KB medium+0.5% peptone+0.3% yeast extract medium.

보여주었으나, LB 배지에 비해서는 각각 20%, 10% 정도의 낮은 세포증식을 보여 주었다. 그러나 0.5%를 첨가한 배지는 LB 배지와 유사한 세포생장을 보여 주어 0.5% yeast extract가 적절한 첨가농도로 밝혀졌다(Fig. 6).

질소원과 growth factor의 필요량의 차이를 비교하고자, 질소원으로 0.5% peptone을 첨가한 배지에 0.1%와 0.3% yeast extract를 보강하여 비교 분석한 결과(Fig. 7), 0.5% peptone을 보강한 까나리 액젓 부산물 배지에 0.1% yeast extract를 첨가한 배지는 LB 배지와 비교하여 5% 정도의 낮은 세포증식을 보였으나, 0.3% yeast extract를 첨가한 배지에서는 LB 배지와 같은 세포증식을 보여 주었다. 위의 결과로부터 까나리 액젓 부산물 배지는 질소원과 growth factor를 보강해야 하는 것으로 분석되었다. 따라서 까나리 액젓 부산물 배지에 yeast extract를 0.5% 보강함으로써, 혹은 질소원인 peptone 0.5%와 yeast extract 0.3% 혼합물질을 보강함으로써 까나리 부산물의 배지로서의 적절한 가능성을 부여 할 수 있었다.

### 까나리 액젓 부산물 배지의 제조단가 비교분석

LB 배지와 같은 세포증식을 보이는 0.5% peptone과 0.3% yeast extract를 보강한 까나리 액젓 부산물 배지와 0.5% yeast extract만을 보강한 까나리 액젓 부산물 배지의 제조단가를 비교하여 보았을 때, 0.5% peptone과 0.3% yeast extract를 보강한 까나리 액젓 부산물 배지 및 0.5% yeast extract만을 보강한 까나리 액젓 부산물 배지의 제조단가는 LB 배지 조성단가에 비하여 각각 46, 19% 정도의 저렴한 단가를 보여 주었다(Table 2).

현 시점에서 버려지고 있는 부산물을 이용하여 자원화 하려는 연구가 많이 수행되어지고 있다.<sup>12)</sup> 식품부산물인 corn steep liquor를 ethanol 발효에 사용되거나,<sup>13)</sup> 버려지는 바나나를 사용하여 미생물을 이용한 cellulase를 생산하는 연구가 보고되어 있다.<sup>14)</sup> 또한 제분업계와 도정업계의 부산물인 밀기울과 쌀겨의 배지로서의 특성을 조사한 결과 밀기울이 α-amylase의 공업적 생산을 위한 저렴한 기질로 사용될 수 있다고 보고하였다.<sup>15)</sup> 위와같은 여러 부산물 이외에 현재 폐기 처분되고 있는 까나리 액젓 부산물을 미생물 배지로 자원화 한다면, 부가소득의 창출과 더불어 야적 및 토양매립에서 오는 환경오염문제를 해결하는 한 방법이 되리라 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 1997년 경희대학교 식량자원연구소 연구비로 수행된 연구결과로 이에 깊이 감사드립니다.

### 참고문헌

- Kim, Y. H. (1989) Growth and Ecology of Kanary (*Ammodytes personatus*), M.S. Thesis, Graduate School, Pusan Fishery University.
- Park, Y. H. and Jang, D. J. (1997) In 'Principle of Fish Processing,' pp. 379-394, Hyung Sul Pub., Seoul, Korea.
- Kim, B. M. and Lee, S. G. (1986) In 'Sea Food Processing', pp. 254-262, Jin Rho Pub., Seoul, Korea.
- You, T. J. (1993) In 'Dictionary of Food,' pp. 365-367, Su Woo Pub., Seoul, Korea.
- Seung, J. J. (1997) In 'Tastes of Korea,' pp. 109-110, Jip Moon

Table 2. Analysis of price for media preparation

	Ingredients	Quantity	Price*	The cost of medium	Ratio(%)
LB medium	LB Broth Base	20.0g/l	91,400/Kg	1,828	100
	Kanary by-product			0	
Kanary by-product + Peptone, 0.5% + Yeast extract, 0.3%	Peptone	5.0g/l	63,000/500g	630	
	Yeast Extract	3.0g/l	33,900/500g	203	
				833	46
Kanary by-product + Yeast extract, 0.5%	Kanary by-product			0	
	Yeast Extract	5.0g/l	38,240/500g	339	
				339	19

\*Refer to 1999 Sigma Price.

- Dang, Seoul, Korea.
6. Joo, Y. H. (1997) In 'Kimchi as Korean Food,' pp. 154-164, You Hyung Cultural Pub., Seoul, Korea.
  7. Atlas, R. M. (1993) In 'Handbook of Microbiological Media,' pp. 1-10, 712-722, CRC Press.
  8. Lee, H. J., Kim, H. S., Chung, K. H., Lee, E. S. and Chun, U. H. (1999) Optimization of the condition of immobilized *Photobacterium phosphoreum* with strontium alginate. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**, 136-144.
  9. Alcantara, S. and Sanchez, S. (1999) Influence of carbon and nitrogen source on *Flavobacterium* growth and zeaxanthin biosynthesis. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 679-700.
  10. Bhattacharya, S. K. and Ashok K. D. (1997) High-level expression of a heterologous gene in *E. coli* in response to carbon-nitrogen source and C/N ratio in a batch bioreactor. *Biotechnol. Prog.* **13**, 151-156.
  11. Fang, A. and Demin, A. L. (1997) Influence of aeration and carbon source on production of microcin B17 *Escherichia coli* ZK650. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **47**, 547-553.
  12. Casas, J. A., Garcia de Lara, S. and Garcia-Ochoa, F. (1997) Optimization of synthetic medium for *Candida bombicola* growth using factorial design of experiments, *Enzyme and Microbial Technol.* **21**, 221-229.
  13. Lawford, H. G. and Rousseau, J. D. (1997) Corn steep liquor as a cost-effective nutrition adjunct in high-performance *Zymomonas ethanol* fermentations. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **63**, 287-304.
  14. Krishna, C. (1999) Production of bacterial cellulases by solid state bioprocessing of banana wastes. *Bioresource Technol.* **69**, 231-239.
  15. Kim, K., Park, I. H. and Sunwoo, Y. I. (1991)  $\alpha$ -Amylase production of *Bacillus natto* IAH 1212 in the wheat bran medium. *Kor. Soc. Biotechnol. Bioengineering.* **6**, 143-146.

---

#### Studies on the Production of Microbial Culture Medium by Using By-Product of Salt-Fermented Canary

Hye-Jin Won, Young-Tae Hahm<sup>1</sup>, Hye-Kyung Kim<sup>2</sup>, Byung-Yong Kim\*(*Department of Food Sci., Kyung Hee University, Yongin, Korea;*<sup>1</sup>*Department of Biotech., Chung Ang University;*<sup>2</sup>*Department of Food Biotech., Han Seo University*)

**Abstract :** Feasibility of microbial culture media using by-product of salt fermented canary was investigated. Gram negative strain, *Escherichia coli*, and Gram positive strain, *Bacillus subtilis*, and bioluminescent *Photobacterium phosphoreum* were incubated with canary by-product media (KB media). Compared with LB media, KB media had enough carbon source, but lacked nitrogen source and growth factor. When 0.5% of peptone as a nitrogen source and 0.3% of yeast extract as nitrogen and growth factor source were fortified in KB media, the cell population rate was similar to LB media. Also, when 0.5% of yeast extract was fortified to KB media, it showed the same result as in LB media. The price of KB media with fortification of 0.5% peptone and 0.3% yeast extract, and 0.5% of yeast extract is only 46 and 19% of that of LB media, respectively. These results showed that canary by-product could be a good and cheaper bacterial culture media if small amount of nitrogen source and growth factor were added.

---

\*Corresponding author