12.해양심층수 소금을 이용한 도루묵액젓의 스타터균주 탐색

한대원*·조순영**·박주용, 이형길, 김경수 ***
*강릉원주대학교 산학협력단 **강릉원주대학교 식품가공유통학과,***오씨아드

1. 서론

현재 액젓은 염과 생선을 이용하여 숙성하여 제조하고 있으나 그 방법이 균일하지 못하여 맛과 숙성기간, 숙성균주 등이 일정하지 못하고, 비위생적으로 제조되고 있는 현실이다. 본 연구에서는 이러한 문제를 해결하고자 해양심층수소금으로 숙성한 도루묵액젓에서 생성되는 우수균주를 탐색하였으며, 식중독균에 대한 항균성, 당분해능, 균주의 안전성 등을 분석하여 최종적으로 우수균주를 분리 동정하였으며, 최종분리균주는 *Bacillus subtillis*로 동정되었다.

2.본론

균주의 분리는 직접 제조한 도루묵액젓을 숙성 중 10일차, 20일차, 30일차에 각각 35℃ 및 45℃ 숙성에서 PCA배지 및 MRS Agar에서 발생한 집락을 무작위로 채취하여 300종의 후보 Starter 균주 분리에 이용하였다. 분리주의 형태학적, 생리적 특성 중 Catalase test 및 그람염색 균종 확인 결과 Catalase test에서 분리주 300주를 24시간 액체배지에 배양 후 배양액을 취해 3% H2O2에서의 반응하여 거품 생성여부를 확인한 결과 모두 거품이 발생하지 않았으며, 음성으로 판단된다. 또한 그람염색을 실시하여 현미경으로 관찰한 결과 대부분 그람양성 쌍구균 또는 단구균으로 나타났다. 도루묵액젓 후보균주의 당 분해능 및 Gas 생성능 확인은 분리배양 시 강한 특성을 보이는 24주의 균주를 선별하여 당 분해능과 Gas 생성능을 검토하였으며, 분리주 24종 모두 Gas 생성능을 확인하였으며, 당분해능을 확인 할 수 있었다. 온도에 따른 분리균주의 생육속도 및 pH 생성능은 24종의 분리주를 액젓 숙성 조건에 맞추어 35℃와 45℃에서 생육속도 및 pH 생성능을 확인하여 보았다. 컨트롤로 배지의 O.D 값은 35℃, 45℃에서 0.3217, 0.3917정도를 나타냈으며, pH는 각각 6.14, 6.27로 비슷하였다. 35℃에서 배양한 균주는 대부분 O.D값이 증가함을 알 수 있었고, pH값도 점점 control에 비해 낮아짐을 확인 할 수 있었다. 특히 13번 균주와 24번 균주가 O.D값이 각각 1.7286, 1.3489로 가장 높은 흡광도를 보였으며 pH 또한 각각 4.32, 4.58로 낮은 값을 나타냈다. 45℃에서 배양한 균주의 경우는 반정도는 O.D값이 35℃에 비해 크게 증가하지 않았으며, 나머지 절반은 비교적 35℃와 비슷하거나 더 높은 흡광도를 나타내었다. 45℃에서 큰 O.D값을 나타낸 13, 14, 24번 균주의 경우는 고온성 균으로 예측된다. 염도에 따른 분리주의 생육속도 및 pH생성능은 35℃에서 염도10%에서 배양한 균주의 경우는 염을 넣지 않은 상기 실험에 비해 균의 생성능이 전체적으로 많이 떨어짐을 확인 할 수 있었다. 또한 염도가 20%로 상승 할 경우에는 염 10%로보다 더 급격히 균의 생성능 및 pH생성능이 떨어졌다. 또한 45℃의 고온에서 염도 10% 균주의 경고온균으로 예상되는 13, 14, 24번 등 몇몇의 균주를 제외하고 균 생성능이 급격히 떨어지는 것으로 보이며 더 악조건인 염도 20%에서는 모든 균주에서 균생성능 및 pH 생성능이 없거나 급격히 떨어짐을 확인 할 수 있었다. 도루묵액젓 분리주의 항균활성 확인 선별된 분리주 24종 병원성균주에 대한 항균활성을 paper disc법을 이용하여 확인하였다. 리스테리아모노사이토제네스와 장염비브리오에는 항균활성을 나타내는 균을 확인하지 못하였으며, 4번 균주에서 SA에 4.3 mm 정도 항균활성이 나타났다. 14번 균주에서는 EO에 4.8 mm, SS에 7.3 mm 정도의 항균성을 확인 할 수 있었으며, 17번 균주 또한 대장균에서 8.1 mm, 살모넬라에서 12.4 mm정도 항균활성이 확인되었다. 24번 균주는 대장균에서 5.7 mm, 황색포도상구균에서 8.4 mm정도 항균활성을 나타냈다. 도루묵액젓에서 분리한 starter 후보균주 4종을 16S rRNA sequence analysis를 통하여 동정하였다.

3.결론

도루묵액젓의 우수 Starter균주 탐색을 위하여 300종 이상의 균주를 무작위로 선별 후 당분해능, Gas 생성능, 온도와 염도에 따른 생육속도를 측정하여 1차적으로 최적 후보균주를 선별하였다. 그 후 선별된 후보균주를 통해 식중독균에 대한 항균성 테스트를 한 결과 항균성이 우수한 균주를 재선별하여 최종 동정한 결과는 액젓의 숙성기간 단축을 위해 고온성균으로 알려진 *Bacillus subtilis*균을 최종 후보균주를 선별하였다. 액젓 제조를 위해 사용한 해양심층수 소금은 청정성과 고미네랄 성을 가진 소금으로 청정한 먹거리 생산을 위한 좋은 원료라고 할 수 있다. 이후 starter 후보균의 생육 적합성 및 생리·화학적 특성 검토(in vitro, in situ)와 다른 식염을 사용한 연구를 진행할 계획이다.

* 본 연구는 산업통산자원부 지역주력산업육성기술개발사업의 연구지원을 통해(주) 오씨아드와 강릉원주대학교 산학협력단이 공동으로 진행한 “동해산 어류를 사용한 액젓의 제조공정 표준화를 통한 고부가가치 액젓의 개발” 연구의 결과물입니다.

참고문헌

이상수,김상무,신일식(2003) 멸치액젓으로 분리한 *Bacillus subtilis* JM-3의 생리활성에 관한 연구, 한국식품과학회지, 684-689

Ki Ho Nam, Mi Soon Jang, Hee Yeon Park and Won Ju Kwak(2015) *Thermophilic bacillus*로 제조한 속성 도루묵(*Arctoscopus japoncus*) 액젓의 이화학적 특성, 한국수산과학회지, 674-680