

고정화균체를 이용하여 속성 발효시킨 정어리 어간장의 젖산, 알코올 및 4-ethylguaiacol의 함량

류병호 · 김성준* · 신동분

경성대학교 식품공학과, *부산시 보건환경연구원

Lactic Acid, Ethylalcohol and 4-Ethylguaiacol Contents of Rapid Fermentation
of Sardine Soy Sauce Prepared by Using Immobilized Whole Cells

Beung-Ho Ryu, Seong-Joon Kim* and Dong-Bun Shin

Department of Food Science and Technology, Kyungsung University

*Public Health Environment Institute of Pusan

Abstract

This study was performed to rapid fermentation from sardine hydrolyzate by using column reactor. The column reactor was constructed from three glass columns ($30\text{ cm} \times 5\text{ cm}$) and each column was packed with colloidal silica and sodium alginate (1:5) on which *Pediococcus halophilus* R-22, *Saccharomyces rouxii* R-60 and *Candida etchellsii* H-50, respectively, was previously fixed. At that time, optimal conditions for rapid fermentation were found the pH of 5.2, temperature of 30°C and 10% NaCl. For rapid fermentation, immobilized whole cells of *P. halophilus* R-22, *S. rouxii* R-60 and *C. etchellsii* H-50 packed the each column reactor were produced 0.75% lactic acid, 2.5% ethylalcohol and 18 mg/l 4-ethylguaiacol under the optimal conditions.

Key words: sardine hydrolyzate, immobilized whole cells, 4-ethylguaiacol

서 론

수산식품중 어간장은 젖갈과 더불어 수산발효 식품으로 오래 전부터 알려져 왔으나 간장의 품질이 대두간장에 비하여 맛이나 향기 등이 개선되지 못하여 널리 이용되지 못하고 있는 실정이다.

어간장은 어류에 붙어있는 미생물이나 자체의 효소에 의하여 단백질을 분해하여 저분자의 펩티드와 아미노산을 생성하여 간장 특유의 맛과 풍미를 내지만 어류의 비린냄새와 독특한 쓴맛의 생성으로 인하여 간장으로서는 기호에 맞지 않아 품질개선 등을 위한 연구가 요구되고 있다.

어류를 이용하여 어간장을 제조하는 연구로는 크릴⁽¹⁾, 고등어⁽²⁾, 정어리^(3~5) 및 말취자⁽⁶⁾ 등을 재료로 하여 어간장의 속성발효와 풍미개선을 시도한 연구가 있으며 Saisithi 등⁽⁷⁾은 어간장의 미생물과 화학성분의 변화를 검토하였다.

어간장의 속성 발효에 관한 연구로는 속성온도를 높이는 방법^(8,9), koji의 첨가법⁽¹⁰⁾, 고압 산분해법⁽¹¹⁾, 어육의

마쇄법⁽¹²⁾, 해양 세균에서 분비하는 단백질 분해효소를 이용하는 방법⁽¹³⁾ 그리고 어육에 효소를 첨가하여 발효하는 방법⁽⁶⁾ 등이 제시되어 있으며 속성 발효와 동시에 첨가물에 의한 풍미를 개선하려는 연구도 시도되고 있으나 아직 미비한 실정이다.

한편, 발효기술의 발달로 균체 고정화기술이 개발되어 bioreactor를 이용한 식품관련산업인 간장^(14,15), 알코올^(16~18), 맥주⁽¹⁷⁾, 식초⁽¹⁸⁾, 아미노산⁽¹⁹⁾ 및 비타민⁽²⁰⁾ 등의 생산에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 발효기법은 고정화 균체를 장기간 사용할 수 있으며 연속 발효가 가능하여 제조공정을 단축시키고 생산성을 높일 수 있고 오염을 방지할 수 있는 특징이 있다⁽²¹⁾.

Hamada 등⁽²²⁾은 간장을 발효할 때 *Zygosaccharomyces rouxii*를 고정화시켜 연속발효를 시도하였고 Osaki 등⁽²³⁾은 *Pediococcus halophilus*, *Zygosaccharomyces rouxii*와 *Candida versatilis*를 각각 고정화하여 연속적 속성발효를 실시하여 알코올과 4-ethylguaiacol의 함량이 높은 제품을 얻었다고 하였다.

野田 등⁽¹⁴⁾은 국을 고온에서 분해하여 *Zygosaccharomyces rouxii*와 *Candida versatilis*를 각각 고정화하여 발효기간이 2주 정도 소요되는 속성간장을 연속적으로 제

Table 1. Material composition for preparation of fish sauce by sardine

| | |
|------------------------------------|--------|
| Sardine paste | 1000g |
| Koji | 300g |
| Salt | 150g |
| Water | 600 ml |
| Complex enzyme 2,000 ¹⁾ | 5g |

¹⁾Complex enzyme (CE) 2,000 (Pacific Co., Seoul, Korea)

에 단백분해효소를 첨가하여 고정화균체를 bioreactor에 충진하여 발효시켜 맛과 풍미가 우수한 속성간장을 발효하였다고 보고하였다.

이러한 일련의 연구를 종합해 볼 때 간장의 발효에 관여하는 유산균과 효모를 잘 이용하면 어간장의 속성 발효는 물론 간장의 풍미에 큰 구실을 하는 알코올 및 4-ethylguaiacol의 함량이 높은 제품이 얻어질 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는 어간장의 속성발효와 풍미를 개선할 목적으로 재래식 간장에서 미리 분리동정한 유산균인 *Pediococcus halophilus*, 그리고 효모인 *Saccharomyces rouxii*와 *Candida etchellsii*를 고정화하여 어간장의 제조 시 젖산, 알코올 및 4-ethylguaiacol의 함량이 높은 어간장의 속성발효를 시도하였다.

재료 및 방법

어장유의 제조

정어리(*Sardinops melanostica*; 체중 75~83g, 체장 16~22 cm)를 1990년 1월 5일 부산 자갈치시장에서 구입하여 사용하였다.

정어리를 chopper로 마쇄하여 Table 1과 같은 배합 비율로 하여 잘 섞은 후 50°C로 조절한 진탕 항온수조에서 48시간 동안 가수분해^(2,3)하여 여과하고 90°C에서 2시간 가열처리한 후 여과하여 발효원액으로 사용하였다.

균주

본 실험에 사용된 균주는 유산균인 *Pediococcus halophilus* R-22와 효모인 *Saccharomyces rouxii* R-60과 *Candida etchellsii* H-50을 사용하였다⁽²⁵⁾.

Pediococcus halophilus R-22는 10% 어간장, 5.0% glucose, 0.5% polypepton, 8% 식염 및 1.5% agar, pH 4.0을 물 1l에 녹여 사용하였고, *Saccharomyces rouxii* R-60과 *Candida etchellsii* H-50은 10% 어간장, 5% glucose, 0.5% yeast extract, 8% 식염 및 1.5% agar, pH 5.0을 물 1l에 녹여 사용하였다.

혼합배양에 의한 어간장의 발효

5l의 fermentor(Marubishi Co.)에 정어리 분해액을 1l 넣고 *P. halophilus* R-22, *S. rouxii* R-60 및 *C. etchellsii*

Table 2. Conditions of GLC for lactic acid

| | |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Column | : 10% polyethylene glycol 6,000, 60~80 mesh terephthalic acid 3 mm×5m glass |
| Oven temperature | : 160°C |
| Injector temperature | : 200°C |
| Carrier gas | : N ₂ (50 ml/min.) |
| Detector | : FID |

H-50을 각각 1.8×10⁶ ml 되도록 배양한 배양액을 각각 1ml씩 접종하여 30°C에서 96시간 동안 배양하였다.

균체의 고정화

단체로는 colloidal silica(Snowtex 40; particle size 9~13 nm, 40% SiO₂, Nisan Kagaku Co.)를 5 N-HCl로 pH 7~8이 되도록 조절한 후 3% 알긴산소다 용액을 가하여 colloidal silica 용액과 3% 알긴산소다를 1:5의 비율이 되도록 혼합하여 사용하였다⁽²⁶⁾.

고정화의 방법은, 유산균은 유산균 배지에서 37°C에서 3일간 배양하고 효모는 효모배지에 30°C에서 5~6일간 배양한 후 각각의 균체를 원심분리(4000 rpm)한 다음 균체를 모아 멀균증류수로 각각 2회 씻는다. 균체를 알긴산 실리카용액에 1:1의 비율로 혼합한 다음 23 gauge의 주사기에 넣어 5% 염화칼슘용액에 떨어뜨려 bead를 만든 다음 4°C에서 보관하여 두고 사용하였다.

고정화 균체를 이용한 어간장의 발효

500 ml의 column형 반응조(glass제, 30×5 cm) 3개에 각각의 고정화 균체를 충진한 후 이미 제조한 정어리 분해액을 *P. halophilus* R-22 충진 column에 peristaltic pump로 시간당 10 ml/씩 주입하고 나오는 유출액을 여과한 후, *S. rouxii* R-60 충진 column에 같은 유속으로 주입하였다. 이 유출액을 다시 *C. etchellsii* H-50의 column에 같은 유속으로 주입하여 나오는 유출액을 여과하여 어간장으로 하였다.

어간장 성분의 분석

수분은 상입가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 Semi-micro Kjeldahl법, 당은 Somogyi법, 염분은 Mohr법, 그리고 휘발성염기질소(VBN)는 미량화산법 등의 상법으로 정량하였고, 아미노태 질소는 동염법⁽²⁷⁾으로 비색 정량하였다.

유산의 정량은, 각각의 배양액을 여과(0.45 μm 여과지)하여 10배 회석하여 Gas-Chromatography로 분석하였다(Table 2).

알코올의 정량은 Gas-chromatography(GC)법에 의하여 측정하였다. 즉 각각의 배양액을 여과하여 25배 회석한 후 G.C.에 2 μl를 주입하였고 내부표준물질로는 cyclohexanol을 사용하였다.

Table 3. Conditions of GLC for 4-ethylguaiacol

| | |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Column | : Quadrex 007 BONDED fused silica capillary column (0.25 mm×25m) |
| Column packing material | : PEG 20M |
| Injector temperature | : 200°C |
| Initial temperature | : 50°C |
| Final temperature | : 200°C |
| Carrier gas | : helium |
| Detector | : FID |

4-ethylguaiacol의 분석은, 마개가 부착되어 있는 20 ml 시험관에 시료 5 ml, 식염 1g, 초산에칠 2 ml을 가하여 10분간 진탕시켜 추출한 후 5°C에서 원심분리(4,000 rpm)하여 분리된 초산에칠총만을 분취한 다음(3회 반복) 내부표준물질로 2,3,5-trimethyl-phenol을 가하여 G.C.로 분석하였다⁽²⁸⁾. (Table 3)

생균수의 측정은 Hemacytometer(Superior, Germany)로 측정하였다.

결과 및 고찰

정어리의 일반성분

어간장을 담기 위하여 구입한 정어리의 일반성분은 Table 3와 같다. 정어리 몸체를 마쇄한 육의 수분은 76.1%, 조지방은 5.8%, 그리고 당질은 0.34%이었으며, 총질소는 1,802.6 mg%, 유리아미노태 질소는 182.7 mg%이었다.

pH는 6.0, 휘발성 염기질소는 16 mg%로 원료 정어리의 선도는 양호한 것으로 판단된다.

정어리 분해액의 성분

정어리를 마쇄한 육에 complex enzyme 2,000(specific activity, 2.06×10^4 unig/ μ g)을 0.5% 첨가하고 1N 수산화나트륨과 염산으로 pH를 6.0으로 조절한 후 52°C에서 8시간 가수분해하여 여과하고 90°C에서 2시간 가열 처리한 후 어과하여 지방과 침전물을 제거한 다음 얻은 분해액의 화학성분은 Table 5와 같다.

정어리 마쇄육과 그것에 complex enzyme 2,000을 첨가하여 분해한 액의 성분을 비교해 볼 때 수분과 당질은 비슷하였으나 조지방은 정어리 마쇄육의 5.8%에 비하여 효소분해액이 0.2%로 적은 것은 효소로 분해한 후 어과하여 지방을 제거하였기 때문이다. 그리고 아미노태 질소가 효소분해액에서 1,600.7 mg%로 높은 것은 단백질 분해효소에 의하여 아미노산이 많이 유리된 것으로 판단된다. 이러한 결과는 한 등⁽²⁹⁾의 결과와 비슷한 경향이 있다.

P. halophilus R-22, *S. rouxii* R-60 및 *C. etchellsii* H-50의 혼합배양에 의한 어간장의 발효 조건

Table 4. Chemical composition, nitrogen compounds, volatile basic nitrogen (VBN) of chopped whole sardine

| | |
|------------------------|--------|
| Moisture(%) | 76.1 |
| Crude lipid(%) | 5.8 |
| Glucide(%) | 0.34 |
| Ash(%) | 3.5 |
| Total-Nitrogen(mg%) | 1802.6 |
| Free amino acid-N(mg%) | 182.7 |
| pH | 6.0 |
| VBN(mg%) | 16 |

Table 5. Chemical composition of sardine hydrolyzate prepared from chopped whole sardine

| | Raw whole sardine | Hydrolyzate by C.E. 2,000 ^{b)} |
|------------------------|-------------------|-----------------------------------------|
| Moisture(%) | 76.1 | 78.4 |
| Crude lipid(%) | 5.8 | 0.2 |
| Glucide(%) | 0.34 | 0.28 |
| Total-N(mg%) | 1802.6 | 1763.1 |
| Free amino acid-N(mg%) | 182.7 | 1600.7 |
| pH | 6.0 | 5.4 |

^{b)}Complex enzyme 2,000 (Pacific Co., Seoul, Korea)

간장 발효시에 필수적으로 생성되는 유산균과 효모를 순수분리하여 이를 군주의 혼합 배양액을 어간장의 알코올 발효에 이용하였을 때의 유산, 알코올 및 4-ethylguaiacol의 생성에 대하여 조사하였다. Fig. 1은 어간장의 발효액 중에서 분리한 *P. halophilus* R-22, *S. rouxii* R-60 및 *C. etchellsii* H-50을 혼합배양하여 가수분해한 분해액에 접종하여 유산의 생성, 알코올 및 4-ethylguaiacol의 생성에 대하여 실험한 결과이다.

어간장을 96시간 동안 발효하였을 때 유산은 0.68%, 알코올은 1.25% 그리고 4-ethylguaiacol은 혼적 정도로서 일반적으로 유산균과 효모를 각각 단독배양했을 때^(28,29)와 비교하면 유산 뿐 아니라 알코올 및 4-ethylguaiacol도 모두 생성량이 낮은 편이었다. 松本과 今井⁽³⁰⁾은 유산균과 효모의 첨가에 의한 간장발효에서 각각 단독으로 첨가하는 것이 효과적이라고 하였다.

森⁽²⁵⁾는 간장의 발효중 발효 초기에는 유산균이, 발효 초기에서 중기에는 효모균 중 *Saccharomyces rouxii*가, 발효 후기에는 *Candida etchellsii* 및 *Candida versatilis*가 많았다고 하였다. 野田 등⁽¹⁴⁾은 간장발효 중 유산균은 효모의 생육억제 물질을 분비하기 때문에 효모의 생육이 잘 이루어지지 않는다고 하였다. 본 실험결과에서도 혼합 배양하였을 때, 유산, 알코올 및 4-ethylguaiacol의 생성이 낮았으므로 본 실험에서는 이를 군주를 고정화하여 각각 발효하여 실험하였다.

담체에 고정화시킨 군체에 의한 어간장의 발효조건

어간장의 연속발효를 하기 위하여 *P. halophilus* R-22,

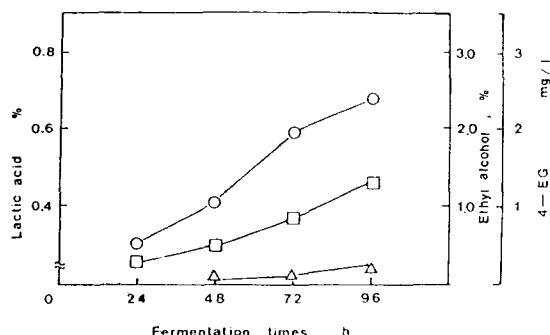


Fig. 1. Time course of lactic acid, ethylalcohol and 4-ethylguaiacol(4-EG) production by fermentation mixed with *P. halophilus* R-22, *S. rouxii* R-60 and *C. etchellsii* H-50

○—○; lactic acid, □—□; ethylalcohol, △—△; 4-EG

S. rouxii R-60 및 *C. etchellsii* H-50을 각각 고정화하여 column형 reactor(glass제, 30×5 cm)에 충진시켜 각 고정화 균체의 발효조건을 검토하였다.

발효방법이 많이 개량되면서 식품분야에서도 bioreactor를 이용한 균체의 고정화 시스템에 의한 발효법이 많이 연구되고 있다^(16~18). 균체의 고정화 담체는 균의 종류, 기질의 종류 및 농도에 따라 그 생산성이 많이 차이가 나므로 담체의 선정이 중요하다. 고정화 담체 중 일반적으로 식품에 많이 사용하고 있는 sodium alginate gel은 산성, 알카리성에서도 안정하고 고온에서 발효하여도 안정하며 일정한 압력에 견디므로 현재 많이 사용하고 있으나^(31,32) 고농도의 식염 농도에서 장시간 발효시키면 gel이 붕괴되지만, colloidal silica : sodium alginate(1:5)는 gel이 강하여 고농도 식염에서도 안정하므로 이를 어간장의 발효용 고정화 담체로 사용하였다⁽²⁵⁾.

유산균인 *Pediococcus halophilus* R-22와 효모인 *Saccharomyces rouxii* R-60 및 *Candida etchellsii* H-50을 colloidal silica와 sodium alginate의 혼합물(1:5)로서 각각 균체를 고정화하여 온도를 15, 20, 25, 30°C 및 40°C로 조정하면서 column형 reactor를 이용하여 발효할 때 lactic acid, ethylalcohol 및 4-ethylguaiacol의 생성량은 Fig. 2와 같다.

Pediococcus halophilus R-22의 고정화 균체에 의한 유산의 발효에 있어서는 발효온도가 20°C에서 35°C까지 증가하다가 40°C에서는 낮아졌으며, 생균수도 35°C에서 가장 높았다. 이 결과는 野田⁽¹⁴⁾ 등이 *Pediococcus*속의 고정화 균체를 bioreactor에 충진한 후 재래식 간장을 발효하였을 때와 비슷하였다.

Saccharomyces rouxii R-60의 고정화 균체에 의한 ethylalcohol의 생성량은 30°C에서 가장 높았으며 온도에 따른 생균수도 30°C에서 가장 많았다. 이러한 결과는 여러 편의 연구결과와 비슷하였다^(33~35). 野田⁽¹⁴⁾와

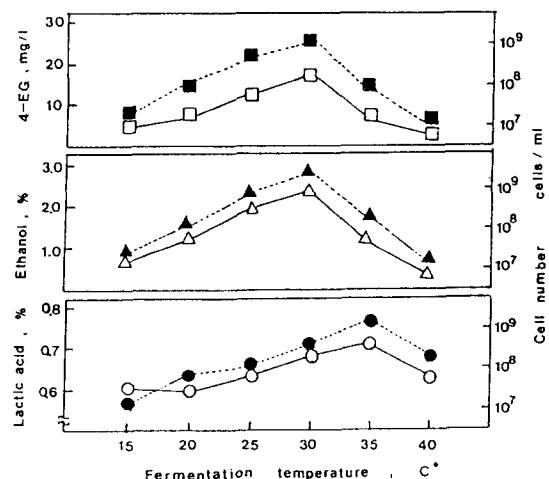


Fig. 2. Effects of temperature for fermentation of lactic acid, ethylalcohol and 4-ethylguaiacol(4-EG) during fermentation for 72 hr

○—○; *P. halophilus* R-22, lactic acid, ●—●; cell number, △—△; *S. rouxii* R-60, ethylalcohol, ▲—▲; cell number, □—□; *C. etchellsii* H-50, 4-EG, ■—■; cell number

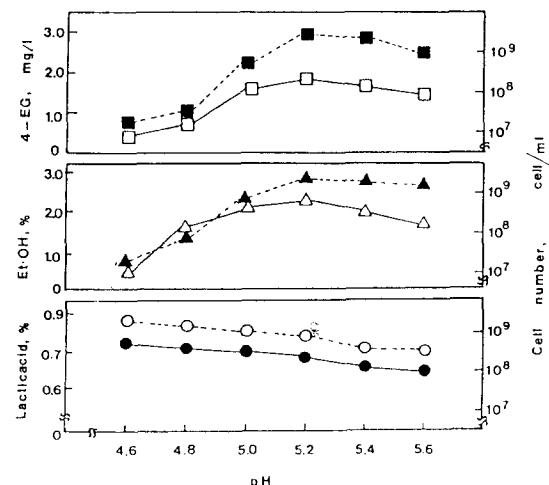


Fig. 3. Effects of pH for fermentation of lactic acid, ethylalcohol and 4-ethylguaiacol(4-EG) during fermentation for 72 hr

○—○; *P. halophilus* R-22, lactic acid, ●—●; cell number, △—△; *S. rouxii* R-60, ethylalcohol, ▲—▲; cell number, □—□; *C. etchellsii* H-50, 4-EG, ■—■; cell number

Hamada 등⁽²²⁾은 *Zygosaccharomyces rouxii*에 의한 알코올 생성은 30°C에서 가장 높았다고 하였으며 본 결과와 비슷한 경향이었다.

Hamada 등⁽²²⁾은 *Candida versatilis* 균체를 고정화하여 30°C에서 발효시킬 때 4-ethylguaiacol의 생성이 가장

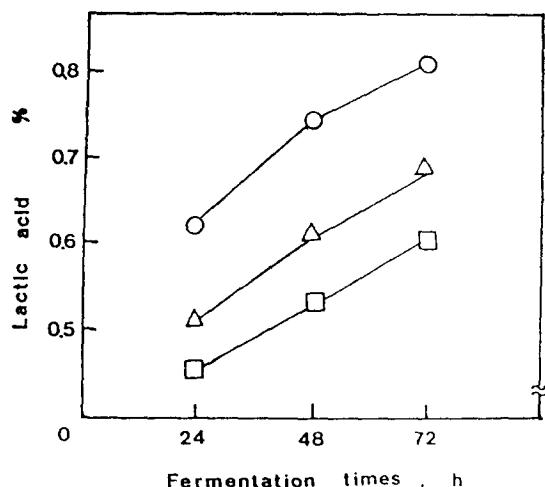


Fig. 4. Effects of NaCl concentration for lactic acid fermentation according to fermentation periods

NaCl concentration: 10%; ○—○; 13%; △—△; 16%; □—□

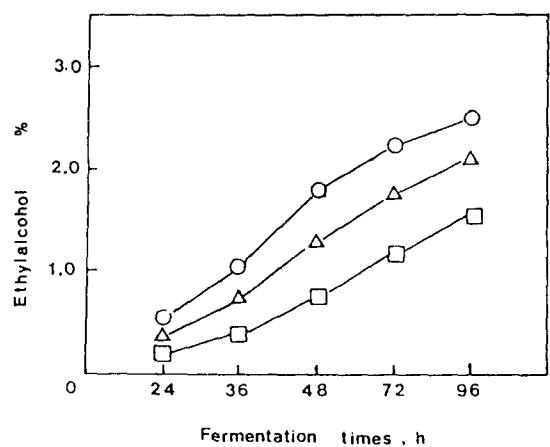


Fig. 5. Effects of NaCl concentration for ethylalcohol fermentation according to fermentation periods

NaCl concentration: 10%; ○—○; 13%; △—△; 16%; □—□

높았다고 하였고 Horitsu 등⁽¹⁵⁾과 Osaki 등⁽²³⁾은 *Candida* 속의 고정화 균체에 의한 column형 reactor의 발효 조건은 30°C가 가장 좋았다고 하였다. 본 실험에서는 *Candida etchellsii* H-50의 고정화 균체에 의한 4-ethylguaiacol의 생성과 생균수는 30°C에서 가장 높았고 15°C, 40°C에서는 매우 낮았다.

간장은 미생물에 의하여 기질이 분해되기 때문에 pH의 영향을 받게 된다. 본 실험에서는 *Pediococcus halophilus* R-22와 *Saccharomyces rouxii* R-60 및 *Candida etchellsii* H-50을 각각 고정화하여 발효시킬 때 pH가 발효에 미치는 영향을 조사하였다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 *Pediococcus halophilus* R-22는 균체가 유산을 생성하므로 pH가 낮을수록 유산의 생성은 높았으며 생균수도 pH가 낮을수록 생육도가 좋았다.

Saccharomyces rouxii R-60의 고정화 균체에 의한 발효시 pH가 낮으면 알코올의 생성량이 적고 pH 5.0~5.2 일 때 가장 높았으며 pH가 더 높아질수록 알코올의 생성량은 다소 감소하였다.

Hamada 등⁽²²⁾은 *Zygosaccharomyces rouxii*의 균체를 고정화하여 발효시 pH 4.5~5.5 부근에서 알코올의 생성량이 가장 높았다고 하였고, 野田 등⁽¹⁴⁾은 주발효 효모의 고정화 균체에서 pH 3.0에서는 알코올의 생성이 낮았으나 pH 4.8 부근에서 높았다고 하였다.

한편, 4-ethylguaiacol의 생성능은 *Candida etchellsii* H-50의 고정화 균체의 연속발효에서 pH가 5.2에서 가장 높았고, pH가 더 높으면 약간 감소하는 경향을 보여주고 있다.

野田 등⁽¹⁴⁾은 *Candida versatilis*의 고정화 균체에 의한

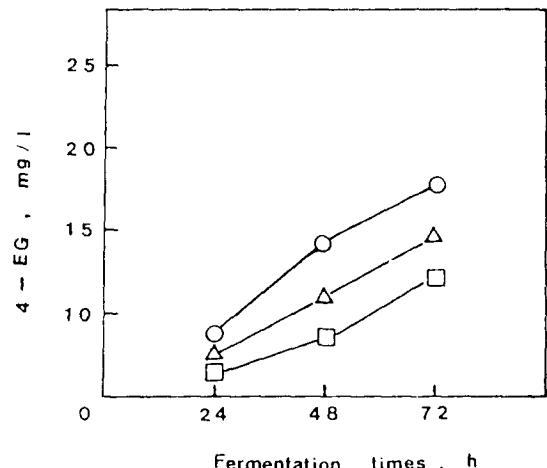


Fig. 6. Effects of NaCl concentration for 4-ethylguaiacol fermentation according to fermentation periods

NaCl concentration: 10%; ○—○; 13%; △—△; 16%; □—□

연속발효에서 발효액의 pH가 4.0~5.2일 때 4-ethylguaiacol의 생성량이 가장 높았다고 하였다. Hamada 등⁽²²⁾과 山田 등⁽²⁴⁾은 *Candida versatilis*를 고정화한 균체를 이용하여 air-lift column reactor에서 pH 5.0에서 발효하였을 때 4-ethylguaiacol의 생성량이 가장 높았다고 하였다. 본 실험에서는 pH 5.0~5.4에서 4-ethylguaiacol의 생성량이 가장 높았으며 이를 연구와 비슷한 경향을 나타내었다.

내염성 유산균 및 효모의 종식, 발효는 식염의 농도에 따라 영향을 받게된다^(32,33).

상아리 분해액의 식염농도를 10, 13% 및 16%로 각각

조정하여 30°C, pH 5.2에서 고정화 균체에 의한 발효를 실시하여 유산, 알코올 및 4-ethylguaiacol의 생성을 조사하였다.

Fig. 4는 *Pediococcus halophilus* R-22의 고정화 균체를 이용한 정어리 분해액의 발효시 식염의 농도에 따른 영향을 나타낸 것이다. 정어리 분해액에 식염을 10, 13% 및 16%로 조절한 다음 column형 reactor로 발효한 결과 식염의 농도가 10%일 때가 lactic acid의 생성량이 가장 많았고, 13% 및 16%는 다소 낮았다.

Saccharomyces rouxii R-60의 고정화 균체를 이용한 정어리 분해액의 발효시 식염의 영향에 대한 실험 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 식염의 농도가 10%일 때 가장 알코올 발효가 좋았고 그 다음이 13%이었고 16%는 알코올 발효가 매우 낮았다. Hamada 등⁽²²⁾은 *Zygosaccharomyces rouxii*의 발효시 식염의 농도가 13%와 15%일 때 보다 10%일 때가 알코올의 생성량이 높았다고 하였고 野田 등⁽¹⁴⁾은 식염을 10%와 16%로 조절하여 *Zygosaccharomyces rouxii*의 고정화 균체로 발효시 10%일 때가 알코올 생성량이 높았으며 16%일 때는 알코올 생성량이 극히 낮았다고 하였다. 이와 같은 결과는 본 실험결과와 비슷한 경향이었다.

*Candida etchellsii*의 고정화 균체를 이용한 정어리 분해액의 발효시 식염의 영향에 대한 실험 결과는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 식염농도가 10%일 때가 4-ethylguaiacol의 생성량(18 mg/l)이 가장 높았으며 그 다음이 13%, 16%의 순으로 나타났다.

横塚 등^(36,37)은 재래식 간장의 우수효모인 *Torutopsis* 속에서 간장의 독특한 향기인 4-ethylguaiacol을 검출하였고, 小瀬 등⁽³⁸⁾과 Hamada 등⁽²²⁾은 *Candida versatilis*의 고정화 균체를 이용하여 발효하였을 때 10%의 낮은 식염농도일 때 4-ethylguaiacol의 생성은 높았다고 하였다.

요 약

본 연구는 간장의 속성발효를 위한 방법의 하나로 정어리육을 효소에 의하여 분해하고, 분해액을 유산균과 효모의 균체를 고정화하여 이를 column형 reactor를 이용하여 속성발효를 시도하였다.

이때 사용된 column 반응조는 유리제(30×5 cm)의 칼럼 3개에 *Pediococcus halophilus* R-22, *Saccharomyces rouxii* R-60과 *Candida etchellsii* H-50을 colloidal silic와 sodium alginate(1:5)의 혼합액으로 고정화하여 각각의 column에 충전시켰다. 이때의 최적조건은 pH 5.2, 온도 30°C, 식염농도 10%이었다.

발효 최적조건에서 96시간 경과 시 *P. halophilus* R-22는 유산을 0.75%, *S. rouxii* R-60은 ethylalcohol을 2.5%, *C. etchellsii* H-50은 4-ethylguaiacol은 18 mg/l 생성하였다.

감사의 말

이 논문은 1991년도 미원(주) 부설 한국음식문화 연구원의 연구비 지원에 의하여 연구되었으므로 이에 감사 드립니다.

문 헌

1. 이용호, 조순영, 하재호, 박향숙, 권칠성 : 크릴간장 제조에 관한 연구. *한국식량영양학회지*, 13, 97(1984)
2. 한봉호, 배태진, 조덕현, 김종철, 김병삼, 최수일 : 효소 분해법에 의한 개량어장유의 속성제조 및 품질에 관한 연구. *한국수산학회지*, 23, 109(1990)
3. 한봉호, 배태진, 조덕현, 김종철, 김병삼, 최수일 : 효소 분해법에 의한 개량어장유의 속성 제조 및 품질에 관한 연구. *한국수산학회지*, 23, 125(1990)
4. 배태진, 한봉호, 조덕현, 김병삼, 이현숙 : 효소 분해법에 의한 개량어장유의 속성 제조 및 품질에 관한 연구. *한국수산학회지*, 23, 361(1990)
5. 배태진, 한봉호, 조덕현, 김병삼, 이현숙 : 효소 분해법에 의한 개량어장유의 속성 제조 및 품질에 관한 연구. *한국수산학회지*, 23, 373(1990)
6. 이용호, 안창범, 김진수, 임치원, 이승원, 최영애 : 말취자산사를 이용한 어간장 제조 및 제품의 정미성분, 한국 영양식당학회지, 17, 326(1988)
7. Saisithi P., B.O. Kasemsarn, J. Liston and A.M. Dollar: Microbiology and chemistry of fermented fish. *J. Food Sci.*, 31, 105(1966)
8. Parky, W.O.P. Agarwala and G.M. Piggot: Protein hydrolysate from fish waste. *J. Food Sci.*, 38, 917(1973)
9. Beddows, C.G.: Fermented fish and fish products. In "Microbiology of Fermented Foods" (ed. Wood, B.J.B.) Vol.2, Elsevier Appl. Sci. Publ. London, New York, p.1(1985)
10. Tagano, T.M., Nagamura and P.C. Sanchez: Fish sauce in S.E. Asia. 5th, *Int. Congr. Food Sci. and Technol.*, Kyoto, Japan, p.300(1978)
11. Hall, G.M., D. Keeble D.A. Ledward and R.A. Lawrie: Silage from tropical fish. I. Proteolysis. *J. Food Technol.*, 20, 561(1985)
12. Ooshiro, Z., T. Ok, H. Ume and S. Hayashi: Study on use of commercial proteolytic enzymes in production of fish sauce. *Mem. Fac. Fish.*, 62, 1(1981)
13. Embisan, E.A.: A shortcut to "patis" processing. *Small Industry Journal*, 10, 10(1977)
14. 野田義治, 大場和德, 楠田秀喜, 中野正路: バイオリアクターを利用したまきようゆの研究. 日本醸油研究, 15, 177(1989)
15. Horisu M., Maseda, Y. and Kawai, K.: A new process for soy sauce fermentation by immobilized yeasts. *Agri. Biol. Chem.*, 54, 295(1990)
16. K.D. Naun, M.H. Chio, W.S. Kim, H.S. Kim and B.H. Ryu: Simultaneous saccharification and alcohol fermentation of unheated starch by free, immobilized and coimmobilized systems of glycoamylase and *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Ferment. Technol.*, (Japan), 66, 427(1988)
17. Onaka K., Okamoto, Y., Inoue, T., Kubo, S.: Beer bire-

- wing with immobilized whole cells. *J. Food Sci.*, **50**, 1289(1985)
18. Mori, A.: Production of vinegar by immobilized cells. *Process Biochem.*, **20**, 67(1985)
 19. 류명호, 김혜성, 노명훈, 박병규, 싱종순, 배기철: 세포융합과 고정화 시스템을 이용한 L-lysine의 생산성 향상. *한국식품과학회지*, **21**, 154(1989)
 20. Yongsmit, B. and Chutima, K.: Production of Vitamin B₁₂ by living bacterial cells immobilized in calcium alginate gels. *J. Ferment. Technol.*, **64**, 593(1983)
 21. 中西一弘: 食品工業用 バイオリアクタ-の 現像と 展望. *日本醤油研究*, **16**, 72(1990)
 22. Hamada, T., Ishiyama, T. and Motai, H.: Continuous fermentation of soy sauce by immobilized cells of *Zygosaccharomyces rouxii* in an airlift reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **31**, 346(1989)
 23. Osaki, K., Okamoto, Y., Akao, T., Nagata, S. and Takamatsu, H.: fermentation of soy sauce with immobilized whole cells. *J. Food Science*, **50**, 1289(1985)
 24. 山田哲也, 水瀬古茂樹, 坪内一夫, 久松眞: 醬油製造法 バイオリアクタ-による 研究. 三重大學生物資源紀要, **2**, 17(1989)
 25. 김성준, 고정화 균체를 충진한 column형 reactor에 의한 어간장의 연속숙성 발효. 석사학위 청구논문, 경성대학교 (1991)
 26. Fukushima, Y., Okamura, K., Imai, K. and Motai, H.: A new immobilization technique of whole cells and enzyme with colloidal silica and alginate. *Biotechnology and Bioengineering*, **32**, 584(1988)
 27. Spies, T.R. and D.C. Chambers: Spectrophotometric analysis of amino acid and peptides with their copper salt. *J. Biol. Chem.*, **191**, 787(1951)
 28. 横塚保, 左左木正興, 布村伸作, 浅尾保保夫: 醬油の香, **7**(1), 日本醸造協会誌, **75**, 516(1980)
 29. 野田文雄: 醬類 諸味中に おける 乳酸菌と 酵母の拮抗現象に つて. 日本醸造協会誌, **76**, 701(1976)
 30. 松本伊左尾, 今井誠一: 乳酸菌, 酵母の 添加時期および量が 醬油諸味の 酸酵口 興える 景響. 日本醸造協会誌, **80**, 265(1985)
 31. 류명호: 효모의 고정화에 의한 주정발효. 경성대학 종합식품연구소보, **2**, 49(1988)
 32. B.H. Ryu and K.D. Nam: Continuous alcohol fermentation using immobilized growing yeast cells. *한국산업미생물학회지*, **248**(1987)
 33. 茂田孝可, 茂田井廣: 固定化 バイオリアクタ-による 醬油醸造味液の 製造. 日本醸造協会誌, **84**, 83(1989)
 34. 樋津浩章: 酸酵固定化法を 導入した 醬油製造方法. *Bio-Industry*, **4**, 198(1987)
 35. 樋津浩章, 河野克典, 間世典雄人, 河合啓一: セラミツクスリアケになる 醬油の 新し 製造法(第2報). 日本農會學會誌 昭化 第62年, 度大會講演要旨, p.139(1987)
 36. 横塚保, 逆井利夫, 浅尾保夫: 醬油香味成分に 關する 研究. 日本農藝學會誌, **41**, 442(1967)
 37. 横塚保, 逆井利夫, 浅尾保夫: 醬油香味成分に 關する 研究. 日本農藝化學會誌, **41**, 428(1967)
 38. 小瀬古茂樹, 久松眞, 山田哲也: バイオリアクタ-による 醬油製造法の 研究. 三重大學生物資源紀要, **2**, 187 (1989)

(1992년 7월 27일 접수)