

酵素分解法에 의한 改良魚醬油의 速成製造 및 品質에 관한 研究

2. 정어리 廢棄物을 이용한 魚醬油의 速成製造 및 品質

裴泰進* · 韓鳳浩 · 趙顯德 · 金鍾鐵 · 金炳三** · 崔秀逸***

釜山水產大學校 工科大學 食品工學科, *麗水水產大學 食品工學科

韓國食品開發研究院, *東明專門大學 食品加工科

Conditions for Rapid Processing of Modified Fish Sauce using Enzymatic Hydrolysis and Improvement of Product Quality

2. Fish Sauce from Sardine Waste and Its Quality

Tae-Jan BAE*, Bong-Ho HAN, Hyun-Duk CHO, Jong-Chul KIM,
Byeong-Sam KIM** and Soo-II CHOI***

*Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan
Pusan 608-737, Korea*

**Department of Food Science and Technology, Yosu National Fisheries College,
Yosu 195, Korea*

***Korea Food Research Institute, Kyunggi-Do 445-820, Korea*

****Department of Food Technology, Dong Myung Junior College,
Pusan 608-080, Korea*

To develop a rapid processing method for fish sauce, processing conditions of fish sauce from sardine waste was investigated. The chopped waste was homogenized and hydrolyzed by commercial proteolytic enzymes such as Complex enzyme-2000 ($2.18 \cdot 10^4$ U/g solid) and Alcalase ($1.94 \cdot 10^4$ U/g solid) in a cylindrical vessel with 4 baffles and 6-bladed turbine impeller.

Optimal temperature for the case of hydrolysis with Complex enzyme-2000 was 50°C and that with Alcalase was 55°C . In both cases, the reasonable pH, amount of water for homogenization, enzyme concentration and hydrolyzing time were 8.0, 40% (W/W), 3% and 100 min, respectively.

Heating of the filtrated hydrolysate for 2 hours at 90°C with 6% of invert sugar was suitable for pasteurization of the hydrolysate and inactivation of enzymes. Flavor, taste and color of the hydrolysate was improved during the thermal treatment in which the browning reaction products might participate and result in antioxidative and bactericidal effects. Combined use of 0.005% of *Caryophylli flos* with invert sugar was also effective for the improvement of taste.

Yield of the fish sauce based on the total nitrogen in the raw sardine waste was 91.2~92.3% and 87.2~87.8% of the total nitrogen in the fish sauce was in the form of amino

nitrogen.

The pH, salinity and histamine content of the fish sauce prepared with 15% of table salt were 6.1~6.2, 14.2~14.4% and less than 10 mg%, respectively. The fish sauce was stable during the storage of 60 days at 26±3°C on bacterial growth and its quality was also maintained.

緒 論

魚類의 이용도를 높이기 위한 연구의 일환으로서 第1報(韓 등, 1990)에서는 고등어 가공 廢棄物을 속성으로 魚醬油化하는 방법과 魚醬油의 品質에 관하여 보고하였으며, 그 결과를 이용하여 본 연구에서는 一時多獲性多脂魚인 정어리 가공 廢棄物의 酵素分解法에 의한 速成魚醬油化와 品質改善을 꾀하고자 하였다.

材料 및 方法

I. 試料廢棄物

정어리, *Sardinops melanosticta*,를 1987년 4월 25일 釜山共同魚市場에서 선도가 양호한 것으로 구입, 폴리에틸렌 필름으로 이중 포장하여 -30°C의 동결고에 저장하여 두고 실험에 사용하였으며, 머리, 내장, 지느러미 및 꼬리를 취하여 廢棄物試料로 하였다.

II. 實驗方法

1. 魚醬油의 製造

(1) 加水分解

第1報(韓 등, 1990)에서와 같은 방법으로 마쇄한 정어리 廢棄物에 일정 비율의 물과 蛋白分解酵素를 첨가, 균질화시키고 온도 조절이 가능한 진탕 항은 수조(90 stroke/min, 15 cm stroke length)에서 加水分解시켰다. 添加酵素로는 Complex enzyme-2000(2.18 · 10⁴ U/g solid, Pacific Chem. Co.)과 Alcalase(1.94 · 10⁴ U/g solid, Novo)를, pH 조절에는 구연산과 수산화칼륨을 사용하였다. 試料廢棄物의 대량 처리를 감안하여서는 前報(韓 등, 1990)에서와 같이 4매의 減勢板과 6매의 날개깃이 부착된 2l의 원통형 加水分解裝置를 이용하였으며, 물과 효소를 혼합한 廢棄物의 양이 1,700 g이 되도록 하고 항은 수조에서 open bladed disk 형의 임펠러로 교반하면서 加水分解시켰다. 교반 속도 즉, 임펠러의 회전 속도는 回轉速度計(Teclock, Ser. No. 11907, Japan)로 조절, vortex 현상이 일어나지 않는 200 rpm으로 하였다.

(2) 風味의 改善

風味의 개선을 위하여서는 第1報(韓 등, 1990)의 결과에 따라 加水分解物의 여액에 invert sugar 또는 glucose를 6% 첨가하고 이를 90°C에서 열처리 하였다.

(3) 魚醬油製品

風味改善을 위한 열처리 후의 加水分解物 여액을 원심분리(1,600 g, 30 min)하여 침전물을 분리하고 상층의 지방층을 여과(Toyo No. 5A), 제거한 다음 15%의 식염을 첨가하여 魚醬油製品으로 하였다.

2. 一般成分, 아미노窒素 및 揮發性鹽基窒素의 定量

수분은 常壓加熱乾燥法, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 회분은 乾式灰化法, 당은 Somogyi법(日本食品工業學會, 1982), 염도는 Mohr법(日本食品工業學會, 1982), pH는 pH meter(Fisher model 630)로 측정하였다. 그리고 순단백질은 Barnstein법(小原 등, 1975), 아미노窒素는 Spies and Chamber(1951)의 銅鹽法으로 比色정량하였고 揮發性鹽基窒素(volatile basic nitrogen, VBN)는 微量擴散法(日本 厚生省, 1973)으로 측정하였다.

3. 히스타민 및 核酸關聯物質의 定量

前報(韓 등, 1990)에서와 같이 히스타민은 Hardy and Smith(1976)의 방법에 따라서, 그리고 核酸關聯物質은 李 등(1984)과 Ryder(1985)의 방법에 따라서 定量하였다.

4. 褐變度, 色調, 生菌數의 測定 및 品質의 官能 檢査

第1報(韓 등, 1990)에서와 같이 褐變度 및 色調는 파장 400~700 nm 범위에서 흡광도의 변화와 직시색차계(日本電色, model ND-1001 DP)로 측정 한 色調의 색차(ΔE-value) 변화로, 生菌數는 표준한천 평판 배지의 식염 농도를 달리하여 측정하였으며, 品質의 官能檢査는 비린내 개선 정도를 중심으로 10인의 panel member가 맛, 냄새, 색깔 및 종합소견(overall acceptance)의 성적을 7단계 평점법

으로 평가한 후 분산분석법으로 검정하였다.

結果 및 考察

1. 정어리 廢棄物의 一般成分

정어리 廢棄物의 一般成分은 Table 1에 나타나 있으며, VBN 값으로 보아 原料 정어리의 鮮度는 양호한 편이었다.

Table 1. Chemical composition, pH, volatile basic nitrogen(VBN) and amino nitrogen(NH₂-N) of sardine waste

Moisture	73.9%	Amino nitrogen	124mg%
Crude lipid	8.4%	Crude protein	13.8%
Ash	3.1%	Carbohydrate	0.4%
pH	6.6	VBN	17mg%

2. 加水分解條件

加水分解率을 높이기 위하여 最適條件에서 加水分解시키되(Sen *et al.*, 1962; Hale, 1969), 自家消化酵素 이외에 公認적 蛋白分解酵素를 첨가하여 加水分解速度를 빠르게 하고자 하였을 때의 最適加水分解條件은 다음과 같았다.

(1) 添加酵素의 適正濃度

정어리 廢棄物에 서로 다른 농도의 Complex enzyme-2000 또는 Alcalase를 첨가하고 試料廢棄物과 添加水量의 비가 60 : 40이 되게한 후, 52℃에서 1시간 加水分解시켰을 때의 添加酵素의 농도에 따른 加水分解率을 Fig. 1에 나타내었으며, 이때 加水分解率은 식(1)과 같이 계산하였다.

$$H. R. = \frac{N_{At=t} - N_{At=0}}{N_{PP,t=0}} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

여기서

- H. R. : Hydrolysis ratio, %
- N_{At=0} : Amino-nitrogen in chopped mackerel waste, mg%
- N_{At=t} : Amino-nitrogen in hydrolysate, mg%
- N_{PP,t=0} : Pure protein-nitrogen in chopped mackerel waste, mg%.

加水分解率은 添加酵素의 농도가 높아짐에 따라 증가하였으나 정어리 廢棄物 자체의 체내 효소만에 의한 自家消化의 경우 加水分解率이 53% 정도였으며, 이는 Complex enzyme-2000 또는 Alcalase를 첨가하였을 때의 최대 加水分解率 90~92%의 58% 정도에 해당하였다. 따라서 第1報(韓 등,

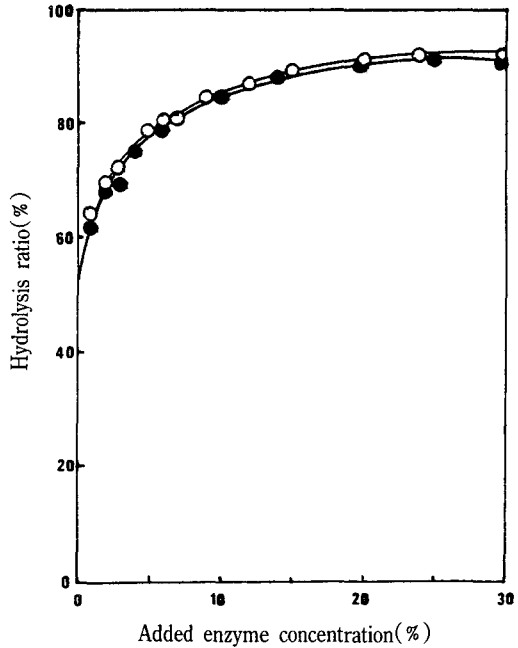


Fig. 1. Influence of commercial enzyme concentration on the hydrolysis ratio.

●: Complex enzyme-2000
○: Alcalase

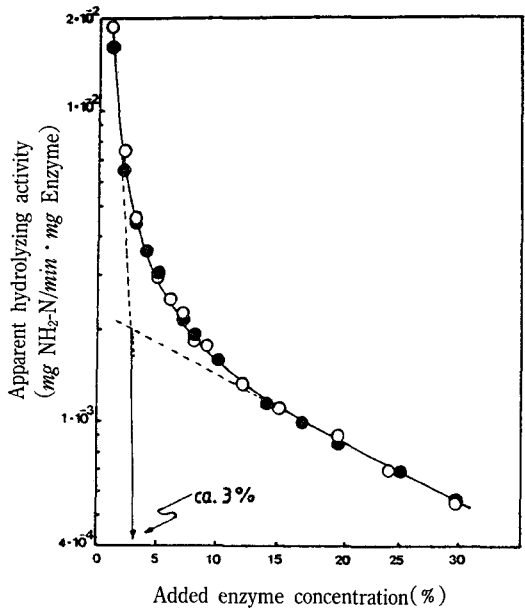


Fig. 2. Influence of commercial enzyme concentration on the apparent hydrolyzing activity.

●: Complex enzyme-2000
○: Alcalase

1990)의 결과와 같이, 정어리 廢棄物의 加水分解도 주로 內腸係의 自家消化酵素(Oorejano and Liston, 1980)에 의하여 이루어졌으며 添加酵素는 加水分解에 보조적 역할을 담당함을 알 수 있었다.

添加酵素의 적정 농도를 결정하기 위하여 添加酵素濃度の 증가에 대한 加水分解速度的 변화를 구하여 Fig. 2에 나타내었으며, 이때 加水分解效果는 加水分解活性的 개념으로 식(2)와 같이 계산하였다.

$$H. A._{app} = \frac{N_{At=t} - N_{At=0}}{t \cdot c} \dots\dots\dots (2)$$

여기서

H. A. _{app} : Apparent hydrolyzing activity, mg amino-nitrogen/(min · mg enzyme)

t : Hydrolyzing time, min

c : Enzyme, mg

Complex enzyme-2000과 Alcalase 모두 첨가 농도가 낮은 구간에서 높은 활성을 보였으며 농도의 증가에 따라 가수분해 활성은 급격하게 감소하였고, 첨가 농도가 높은 구간에서는 활성이 완만하게 감소하였다. 이들 두 구간은 기울기가 서로 다른 두개의 직선구간으로 구분되었다. 기울기가 큰 구간 즉, 添加酵素의 농도가 낮은 구간에서는 기질의 상대적 농도가 높으므로 기질에 의한 飽和度가 높아서 효소의 이용 효율이 큰 것으로 생각되었으며, 기울기가 작은 구간은 효소의 飽和度가 낮은 것으로 생각되었다. 따라서 두 구간의 직선이 교차하는 점의 농도를 添加酵素의 適正濃度로 하였으며, Complex enzyme-2000과 Alcalase 모두 그 濃度가 3%였다.

(2) 加水分解溫度

시료 廢棄物에 효소를 각각 3%씩 첨가하고 시료 廢棄物과 添加水量的 비를 60 : 40으로 하여 온도를 달리하면서 1시간 동안 加水分解시켰을 때의 加水分解效果를 Fig. 3에 나타내었다.

自家消化의 경우 最適加水分解溫度가 50℃였으며, Complex enzyme-2000을 3% 첨가한 것은 添加酵素 자체의 最大活性溫度가 52℃임에도 50℃ 부근에서, 그리고 Alcalase를 3% 첨가한 경우에도 酵素 자체의 最大活性溫度는 60℃이지만 55℃ 부근에서 최대 활성을 보였다. 이는 自家消化酵素가 전체적으로 加水分解를 주도하기 때문에 添加酵素의 最大活性溫度도 最適自家消化溫度에 접근한 것으로 생각되었다.

(3) 適正添加水量

魚類蛋白質의 加水分解率은 마쇄 정도뿐만 아니라(Embisan, 1977; Ooshiro *et al.*, 1981) 加水分解

時的 添加水量에 따라서도 좌우된다고 한다 (Owens and Mendoza, 1985). 본 연구에서도 마쇄한 정어리 廢棄物에 대하여 Complex enzyme-2000 또는 Alcalase를 3%씩 첨가하고 添加水量을 달리하여 50℃와 55℃에서 1시간 加水分解시켰으며, 그 효과를 加水分解活性을 기준으로 Fig. 4에 나타내었다.

첨가하는 물의 양이 많아질수록 添加酵素의 加水分解活性은 점차 커지다가 거의 일정한 값을 유지하였다. 따라서 添加水量的 增加分에 대한 加水分解活性의 增加率을 기울기로 하여 전체 구간을 두개의 직선 구간으로 구분하고 두 직선이 교차하는 점에서의 添加水量 즉, 40% (W/W)를 適正添加水量으로 하였다.

(4) 適正 pH

Complex enzyme-2000 또는 Alcalase를 3%씩 첨가하고 試料廢棄物과 添加水量的 비가 60 : 40이 되게한 후 구연산과 수산화칼륨으로 pH를 달리하여 Complex enzyme-2000을 첨가한 것은 50℃, Alcalase를 첨가한 것은 55℃에서 1시간 加水分解시켰을 때의 加水分解率을 Fig. 5에 나타내었다.

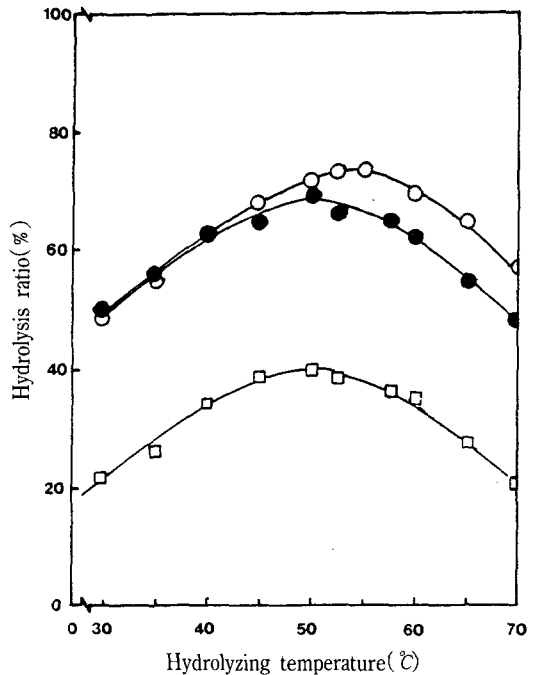


Fig. 3. Influence of temperature on the hydrolysis ratio.
 —●—: 3% Complex enzyme-2000
 —○—: 3% Alcalase
 —□—: Autolytic enzyme

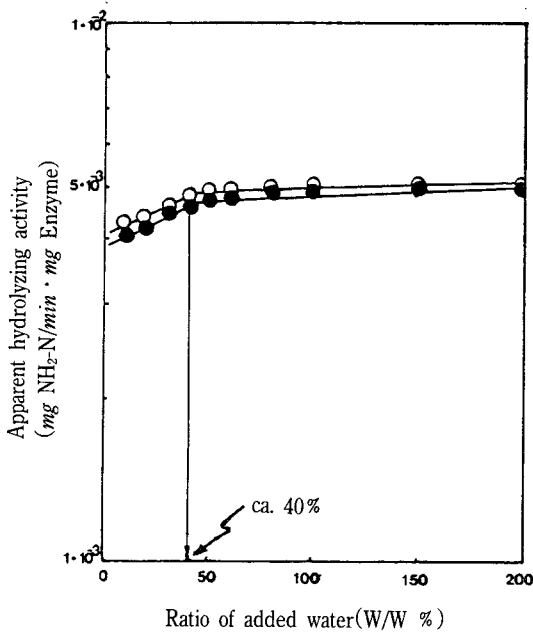


Fig. 4. Influence of dilution of the waste on the apparent hydrolyzing activity.

—●—: 3% Complex enzyme-2000
—○—: 3% Alcalase

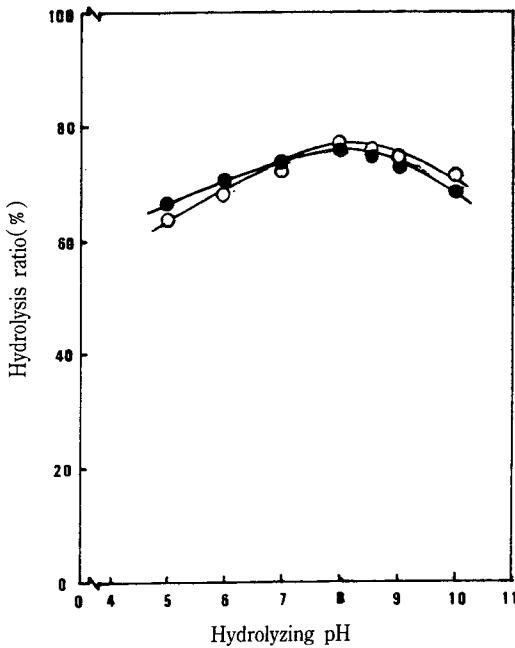


Fig. 5. Influence of pH on the hydrolysis ratio.

—●—: 3% Complex enzyme-2000
—○—: 3% Alcalase

前報(韓 등, 1990)의 고등어 廢棄物魚醬油의 경우와는 달리 Complex enzyme-2000을 첨가하였을 때와 Alcalase를 첨가하였을 때 모두 pH 8.0 부근에서 최대加水分解率을 나타내었다. Complex enzyme-2000과 Alcalase 자체의 최적 pH는 7.0 및 8.0이지만, 실제, 加水分解時에 이와 같이 最大加水分解率의 pH가 8.0으로 나타난 것은 정어리 廢棄物이 內腸 및 소량의 肉蛋白質을 함유하고 있기 때문으로 생각되었다. 즉, 廢棄物中の 효소는 魚類筋肉組織中の cathepsin계 효소(Makinodan and Ikeda, 1969), 알칼리성 蛋白分解酵素(Iwata *et al.*, 1974) 등이며 이들 효소가 산성, 알칼리성 및 약알칼리성의 서로 다른 pH 영역에서 최대 활성을 나타내는데(大西와 村山, 1969; 大西 등, 1973; Murakami and Noda, 1981; 牧之段 등, 1983), 본 연구에서는 廢棄物中の 最大活性 pH 領域이 서로 다른 효소들과 添加酵素가 동시에 복합적으로 작용하여서 Fig. 5와 같은 결과가 나타난 것으로 생각되었다.

(5) 加水分解時間

정어리 廢棄物에 3%의 Complex enzyme-2000 또는 Alcalase와 40% (W/W)의 물을 첨가하고 pH를 8.0으로 조절하여 Complex enzyme-2000을 첨가한 것은 50℃에서, Alcalase를 첨가한 것은 55℃에서 加水分解시키되 시간을 달리하였을 때의 결과를 Fig. 6에 나타내었다.

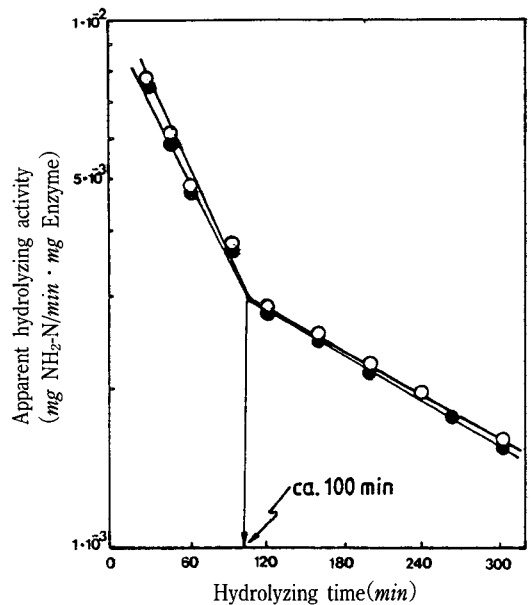


Fig. 6. Influence of hydrolyzing time on the apparent hydrolyzing activity.

—●—: 3% Complex enzyme-2000
—○—: 3% Alcalase

加水分解時間에 따른加水分解速度的減少率을 기준으로한適正加水分解時間은添加酵素의 종류에 관계없이 100분 정도였으며, 고등어廢棄物의適正加水分解時間 100분(韓 등, 1990)과 잘 일치하였다. 그러나金 등(1986)은 정어리魚醬油의速成製造에서適正時間을 4시간 정도라고 보고한 바 있다. 이와 같이加水分解時間이 차이를 보이는 것은金 등(1986)이 정어리를 통째로 처리하였던 것과는 달리 본 연구에서는試料가 정어리廢棄物이어서試料 자체의蛋白質含量은 낮은 반면에 내장 등에서 유래하는自家消化酵素의 농도는 상대적으로 높았기 때문으로 생각되었다.

3. 히스타민의 생성

마쇄한 정어리廢棄物을 최적 조건에서加水分解시킬 때의加水分解時間에 따른 히스타민 생성량은 Fig. 7에 나타내었다.

自家消化시킨 것, 3%의 Complex enzyme-2000 또는 Alcalase를 첨가하여加水分解시킨 것, 그리고

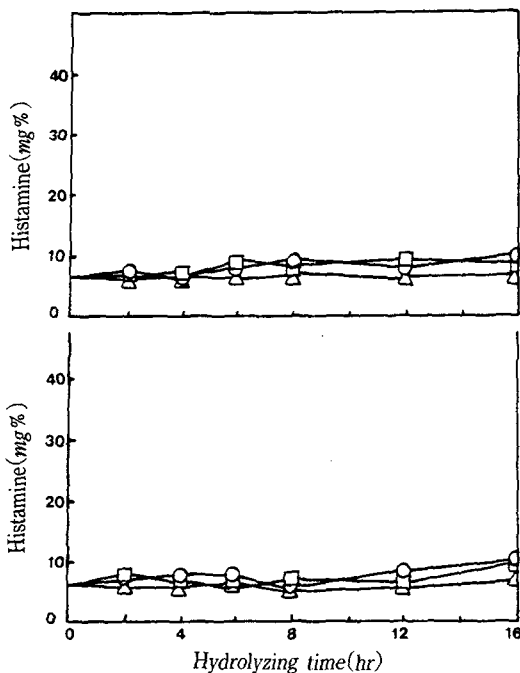


Fig. 7. Changes in histamine content during hydrolysis.

- : 3% Complex enzyme-2000.
- : 3% Alcalase
- △: 3% Complex enzyme-2000; after boiling at 100°C 20 min
- ▲: 3% Alcalase; after boiling at 100°C for 20 min
- : Autolysis

미리 100°C에서 20분간 열처리한 후 효소를 첨가하여加水分解시킨 것 모두가 16시간 동안加水分解시켜도 히스타민 생성에는 차이가 없었으며 최대생성량은 10 mg% 미만이었다. Lerke et al.(1983)은 히스타민 생성균인 *P. morganii*의 최적 생육온도는 37°C이고 7.6~8.7의 pH 범위에서는 활성이 약 10% 정도로 감소하며, 이 균이 생성하는 histidine decarboxylase의 활성은 25°C에서 최대라고 하였다. 또한 奧積 등(1984)도 저온 호염성의 히스타민 생성 세균의 히스타민 생성 최적 온도는 35~40°C, pH는 5.4라고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서의加水分解溫度 50°C 및 55°C와 pH 8.0에서는 히스타민 생성균이 거의 사멸되었고,加水分解時間에 관계없이 유지되는 10 mg% 정도의 히스타민은試料인 정어리廢棄物 자체의 히스타민 함량인 것으로 생각되었다.

4.加水分解物의風味

小幡彌 등(1949)에 따르면魚醬油의惡臭成分은 methyl mercaptan과 TMA가 주체이며, methyl mercaptan이 aldehyde류와 반응하면醬油臭가 발생하고 TMA는油脂와 결합하거나油脂에 용해되어殘留性惡臭의 원인이 된다고 한다. 또한 TMA의 농도에 따라 냄새의 질이 달라지기는 하지만 TMA가魚臭를 느끼게 하는 가장 중요한 성분이라고 한다(三輪 등, 1976). 그리고蛋白質分解酵素나 酸을 이용하여速成으로 제조한魚醬油에서는芳香成分이 거의 존재하지 않는다고도 보고되어 있다(Tarky et al., 1973; Ooshiro et al., 1981). 그런데風味改善面에서東秀 등(1951)에 의하면, 오징어 내장에 당류를 첨가하면揮發性酸의 생성이 감소되어 오징어惡臭의發生이 억제된다고 한다. 그리고 glucose를 가열시키면 수많은揮發性化合物이 생성되며(Walter and Fagerson, 1968), 특히褐變反應은 식품의 가공 및 조리 중 flavor 생성에 중요한 역할을 한다고 한다(Arroyo and Lillard, 1970).

본 연구에서도最終魚醬油의 비린내를 없애기 위하여前報(韓 등, 1990)의 결과에 따라 정어리廢棄物의加水分解後의 여액에 invert sugar와 glucose를 6%씩 첨가하여褐變反應을 일으킴으로써魚醬油에 특유의 향기를 부여할 수 있었다. 그러나 invert sugar를 첨가한 것이 glucose를 첨가한 것보다 상쾌한 냄새가 강하였고 glucose를 첨가한 것은 열처리 후에 다소 끈적끈적한 감을 주었다.

魚肉加水分解物은 대개 monosodium glutamate와 유사한 맛을 갖는데(Noguchi et al., 1975), 종종 바람직하지 못한 쓴맛을 수반하기도 한다(Umetsu

and Ichishima, 1985; Heiva and Olcott, 1977). 이 쓴맛은 加水分解物의 分子量과 아미노산 조성에 기인하며, 쓴맛의 정도도 加水分解酵素의 종류에 따라서 달라진다(Hevia *et al.*, 1976). 이러한 쓴맛의 제거를 위하여 Van Veen(1965)은 budu 제조시에 tamarind와 palm sugar를 첨가하였으며, Owens and Mendoza(1985)도 魚類에는 遊離糖의 함량이 매우 낮기 때문에 발효 중에 糖의 첨가가 필요하다고 하였다. 小幡彌 등(1949)은 알칼리 분해한 魚肉의 쓴맛을 glucose의 첨가로 상당히 감소시킬 수 있다고 하였으며, 金과 成(1985)도 식품에 糖을 첨가하면 맛의 부여 뿐만 아니라, 맛의 상승 또는 억제 효과를 나타내어 쓴맛을 감소시킬 수 있다고 하였다.

본 연구에서는 加水分解物의 맛과 냄새를 더욱 개선하기 위하여 加水分解物의 여액에 6%의 invert sugar를 첨가하여 Maillard 반응을 유도하되, 第1報(韓 등, 1990)에서와 같이 香辛料로서 0.03%의 木香, *Costi Radix*,와 0.005%의 丁香, *Caryophylli flos*,를 함께 넣고 가열하였으며, 그 효과를 官能的으로 평가하여 Table 2에 나타내었다.

이 때 식염 농도는 9%로 하여 간장과 같이 쓴맛이 나도록 하였는데, 전반적으로 加水分解物의 여액에 6%의 invert sugar와 0.005%의 丁香을 함께 첨가하는 것이 官能的 特性의 개선과 嗜好性的 증진에 유리함을 알 수 있었다.

Eagerman *et al.*(1973)은 醬油의 색이 熟成中에 40~50%, 달이는 열처리 중에 40~60% 정도 형성되며, 대부분이 加熱褐變에 의한다고 하였다. 또한

大赤과 澤勤(1967)은 魚醬油의 褐變이 주로 amino carbonyl 반응에 의한다고 하였다.

본 연구에서 加水分解物에 6%의 invert sugar를 첨가하고 90℃에서 시간에 따라 환류 가열시켰을 때의 褐變도를 400~700 nm에서의 흡광도로 측정하여서 Fig. 8 및 Fig. 9에 나타내었다. 전체적으로 可視光線의 단파장 영역에서 높은 흡광도를 나타내었으며 가열시간이 길어질수록 흡광도가 커져서 魚醬油의 색깔이 대부분 가열에 의하여 형성됨을 알 수 있었다.

5. 魚醬油의 品質

(1) 製品의 成分組成

마쇄한 정어리 廢棄物을 最適條件에서 加水分解시켜 여과하고 6%의 invert sugar를 첨가하여 90℃에서 2시간 열처리한 후 遠心分離하여 脂肪層을 제거하고 최종적으로 15%의 식염을 첨가한 魚醬油의 一般成分 組成 및 鹽度, pH, 히스타민 함량, 440 nm에서의 흡광도 등을 Table 3에 나타내었다.

정어리 廢棄物에서 함량이 극히 적었던 탄수화물이 魚醬油에서 4% 정도되는 것은 加熱處理時에 invert sugar를 첨가하였기 때문이며, 灰分含量이 14% 정도로 많아진 것은 원료가 廢棄物이었기 때문으로 생각되었다. 脂肪含量은 0.2% 정도여서 품질에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 생각되었다. 魚醬油의 총질소량은 試料廢棄物中の 총질소 함량 1,780 mg%의 91.3~92.3%였으며 이 중 87.2~87.8%가 아미노 질소였다. 魚醬油의 히스타민 함량도 試料廢棄物에서와 같이 10 mg% 이하여서 中毒限

Table 2. Sensory evaluation scores of taste, odor, color and overall acceptance of sardine waste sauce treated by reflux heating at 90℃ for 2 hours

Sauce prepared with	Taste	Odor	Color	Ov. Ac.
Complex enzyme & 9% NaCl				
Control	2.8	3.2	4.3	3.1
6% I. S.	5.9	6.2	6.3	6.1
6% I. S.+0.03% C. R.	5.7	6.3	6.1	6.0
6% I. S.+0.005% C. F.	6.2	6.6	6.3	6.5
6% I. S.+0.03% C. R.+0.005% C. F.	6.0	6.1	6.2	6.1
Alcalase & 9% NaCl				
Control	2.1	3.3	4.1	3.0
6% I. S.	5.8	6.1	6.2	6.0
6% I. S.+0.03% C. R.	5.8	6.1	6.2	6.0
6% I. S.+0.005% C. F.	6.3	6.5	6.3	6.4
6% I. S.+0.03% C. R.+0.005% C. F.	6.1	6.0	6.2	6.1

Score: 7, very good; 6, good; 5, slightly good; 4, fair; 3, slightly poor; 2, poor; 1, very poor
I. S.: inver sugar, C. R.: *Costi Radix*, C. F.: *Caryophylli Flos*, Ov. Ac.: overall acceptance

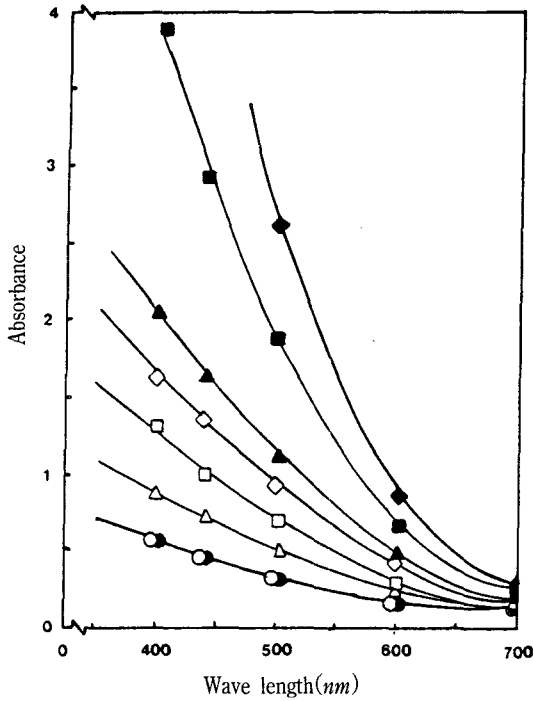


Fig. 8. Changes in absorbance of browning substances in the hydrolysate produced by the addition of complex enzyme-2000 during heating at 90 °C.

White mark: control, Black mark: with 6% of invert sugar

- ◇-, -◆-: 180 min
- , -■-: 120 min
- △-, -▲-: 60 min
- , -●-: 30 min

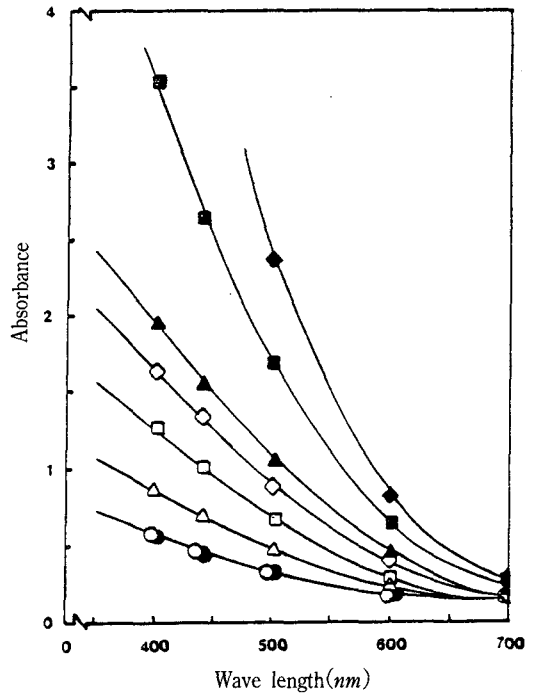


Fig. 9. Changes in absorbance of browning substance in the hydrolysate produced by addition of Alcalase during heating at 90 °C.

White mark: control, Black mark: with 6% of invert sugar

- ◇-, -◆-: 180 min
- , -■-: 120 min
- △-, -▲-: 60 min
- , -●-: 30 min

Table 3. Chemical composition and some characteristics of fish sauce prepared from sardine waste

	Raw sardine waste	Hydrolyzing enzyme	
		Complex enzyme-2000	Alcalase
Moisture, %	73.9	70.36	71.12
Carbohydrate, %	0.4	4.23	4.16
Crude ash, %	3.1	13.82	14.27
Crude lipid, %	8.4	0.16	0.18
Total nitrogen, mg%	1,780	1,625	1,642
Amino nitrogen, mg%	324	1,417	1,442
Salinity, %	0.8	13.9	14.3
pH	6.6	6.3	6.4
Histamine, mg%	6.2	7.0	7.6
Optical density	-	2.931	2.843
ΔE-value	-	79.1	78.3

界值인 100 mg%에 훨씬 미달하였다.

Table 4에는 魚醬油中の 核酸關聯物質의 含量을 나타내었다. 전반적으로 Hypoxanthine이 13.58~13.94 $\mu\text{mole/g}$ 으로 가장 많았으며 이는 試料가 廢棄物이어서 試料中の 核酸關聯物質이 이미 거의 Hypoxanthine으로 분해되었기 때문에 생각되었다.

(2) 貯藏中の 魚醬油의 品質

Table 5와 6에는 食염 농도를 달리한 魚醬油의 저장 중의 품질 변화를 나타내었다.

魚醬油에 첨가된 食염의 농도에 따라서 수분, 탄수화물, 지방 및 회분의 농도에 다소 차이가 있었으나, 60일까지의 저장 중에 이들 성분의 농도 변화는 거의 없었다. 총질소 및 아미노 질소의 양도 거의 변화가 없었고 總窒素量에 대한 아미노 질소량은 86.5~88.4%였으며, pH도 저장 중 6.13~6.39

의 범위에서 거의 변화없이 弱酸性을 유지하였다. 脂肪含量은 0.13~0.32%로서 극히 낮았으며, 총질소중 86.5~88.4%가 유리 아미노산의 형태이고 제조 과정에서 6% invert sugar가 첨가되어 加熱處理되어 maillard 반응이 일어난다는 점을 감안한다면 지방에 의한 魚醬油의 品質變化는 문제가 되지 않으리라 생각되었다.

이와 같은 invert sugar 첨가의 저장 중의 효과를 Table 7에 나타내었다.

히스타민 含量은 invert sugar의 첨가 여부와 관계없이 10 mg% 미만으로서 일정하였다. 魚醬油의 褐變도와 ΔE -value 역시 거의 변화가 없어서, 6%의 invert sugar를 첨가한 魚醬油의 褐變은 저장 중보다는 대부분 加熱處理中에 일어난 것으로 생각되었다.

생균수에 대한 invert sugar의 添加效果를 보면 invert sugar를 첨가한 것이 미생물의 증식 억제에 효과적이었으며, 이는 褐變反應生成物의 抗菌效果로 믿어졌다. 또한 invert sugar를 첨가한 魚醬油에서도 食염 농도가 높은 것이 효과적이어서, 15%의 食염을 첨가한 것은 저장 60일에도 미생물의 증식이 억제되었다. 食염 농도 12%의 魚醬油는 60일만에, 그리고 9%의 것은 40일 후에 미생물이 검출되었다. 魚醬油에서 검출되는 주된 미생물의 耐熱性 및 耐鹽性이 강한 *Bacillus*屬이라는 Saisithi *et al.* (1966), Crisan and Sands(1975), 藤井과 酒井 (1985) 등의 보고와 본 연구의 결과로 미루어 보아 魚醬油의 貯藏性을 높이기 위한 熱處理는 食염 농도에 따라 고온에서 適正時間 行하여져야할 것으로 생각되었다.

Table 4. Nucleotides and their related compounds in fish sauce prepared from sardine waste ($\mu\text{mole/g}$)

	Raw sardine waste	Hydrolyzing enzyme	
		Complex enzyme-2000	Alcalase
ATP	0.71	0.48	0.36
ADP	1.15	1.37	1.29
AMP	0.98	0.73	0.62
IMP	0.66	0.85	0.93
Inosine	0.81	1.29	1.41
Hypoxanthine	13.71	13.94	13.58

Table 5. Changes in chemical composition, pH, nitrogen contents and salinity of sauce prepared with Alcalase and stored at $26 \pm 3^\circ\text{C}$.

Storage time (day)	0			20			40			60		
	9%	12%	15%	9%	12%	15%	9%	12%	15%	9%	12%	15%
Added content of NaCl, %												
Moisture, %	77.1	74.3	73.2	76.8	74.2	73.1	77.2	73.9	72.9	76.9	74.0	73.1
Carbohydrate, %	4.21	4.30	4.23	4.17	4.29	4.21	4.20	4.26	4.19	4.23	4.26	4.20
Crude lipid, %	0.32	0.17	0.21	0.21	0.19	0.26	0.24	0.23	0.16	0.26	0.16	0.19
Crude ash, %	9.42	12.6	15.0	9.03	12.5	14.8	9.27	12.5	14.9	9.03	12.4	14.8
Total nitrogen, mg%	1,643	1,628	1,651	1,651	1,639	1,648	1,646	1,632	1,643	1,648	1,630	1,653
Amino nitrogen, mg%	1,447	1,421	1,429	1,453	1,416	1,426	1,443	1,427	1,431	1,452	1,423	1,430
pH	6.30	6.28	6.24	6.24	6.39	6.23	6.13	6.26	6.29	6.37	6.28	6.31
Salinity, %	7.8	11.2	14.3	7.7	11.2	14.2	7.8	11.3	14.4	7.8	11.0	14.4

Table 6. Changes in chemical composition, pH, nitrogen contents and salinity of sauce prepared with Complex enzyme-2000 and stored at $26 \pm 3^\circ\text{C}$.

Storage time (day)	0			20			40			60		
	9%	12%	15%	9%	12%	15%	9%	12%	15%	9%	12%	15%
Added content of NaCl, %												
Moisture, %	75.4	72.1	70.4	75.4	71.8	70.3	75.6	72.1	70.1	75.2	71.6	69.8
Carbohydrate, %	4.46	4.45	4.23	4.27	4.51	4.36	4.39	4.38	4.27	4.11	4.24	4.08
Crude lipid, %	0.14	0.10	0.16	0.21	0.13	0.13	0.20	0.16	0.15	0.18	0.13	0.14
Crude ash, %	9.03	11.7	13.8	8.86	11.8	14.0	8.94	11.9	13.9	8.73	12.0	14.1
Total nitrogen, mg%	1,623	1,631	1,625	1,634	1,613	1,621	1,642	1,626	1,618	1,629	1,631	1,619
Amino nitrogen, mg%	1,423	1,416	1,417	1,431	1,426	1,419	1,420	1,431	1,425	1,434	1,419	1,422
pH	6.28	6.24	6.27	6.21	6.30	6.22	6.24	6.17	6.26	6.19	6.28	6.21
Salinity, %	7.5	11.1	14.2	7.6	11.3	14.3	7.4	11.2	14.2	7.5	11.4	14.4

Table 7. Influence of invert sugar on the changes in histamine, viable cell counts, optical density and ΔE -value of sauce prepared with Complex enzyme-2000 and stored at $26 \pm 3^\circ\text{C}$.

Storage time (day)	0			20			40			60		
	9%	12%	15%	9%	12%	15%	9%	12%	15%	9%	12%	15%
Added content of NaCl(%)												
0% I.S.												
Histamine, mg%	7.4	7.3	7.0	7.8	8.1	8.4	8.9	9.1	7.8	10.1	7.9	8.4
Viable cell counts/ml	NV	NV	NV	NV	NV	NV	3.6×10^3	2.7×10^2	NV	4.2×10^4	1.8×10^3	4.6×10^1
Optical density (440 nm)	1.01	1.03	1.03	1.02	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	1.02	1.03	1.03
ΔE -value	79.4	78.8	79.1	79.9	78.3	79.7	79.1	79.8	80.4	79.8	80.4	80.7
6% I.S.												
Histamine, mg%	7.0	7.2	7.3	8.6	8.0	8.6	8.8	7.8	7.8	9.4	7.9	8.9
Viable cell counts/ml	NV	NV	NV	NV	NV	NV	6.9×10^2	NV	NV	2.3×10^3	5.2×10^1	NV
Optical density (440 nm)	2.95	2.89	2.86	3.01	2.98	2.94	3.11	3.01	2.93	3.21	3.02	3.01
ΔE -value	83.3	82.6	83.1	84.1	83.0	83.2	83.7	82.9	83.1	84.5	83.2	83.6

NV: Not detected or less than 30 colonies in a plate

I.S.: Invert sugar

結論 및 요약

一時多獲性魚種인 정어리의 이용도를 높이기 위하여 加工廢棄物을 魚醬油化하고 이의 風味를 改善하고자 하였다. 머리, 꼬리, 지느러미, 내장 등의 廢棄物을 마쇄하고 적당량의 물로 均질화한 후

Complex enzyme-2000($2.18 \cdot 10^4$ U/g solid) 또는 Alcalase($1.94 \cdot 10^4$ U/g solid)로 加水分解시켜 여과하였다. 여액에 첨가물을 넣어 가열하고 원심분리한 후 最終加水分解物에 식염을 첨가하여 魚醬油 製品으로 하였으며 그 결과는 다음과 같이 요약할 수 있었다.

1. 最適加水分解條件은 添加酵素의 種類에 관계 없이 酵素濃度 3%, 添加水量 40% (W/W), pH 8.0, 加水分解時間 100분이었으나 加水分解溫度는 Complex enzyme-2000를 첨가한 경우 50℃, Alcalase를 첨가한 경우에는 55℃였다.

2. 加水分解物의 여액에 6%의 invert sugar와 0.005%의 丁香을 첨가, 90℃에서 2시간 熱處理함으로서 殘存酵素의 不活性化, 맛의 개선, 비린내의 제거 및 魚醬油 고유의 色發現을 기할 수 있었으며, 熱處理程度는 魚醬油의 식염 농도에 따라 결정되어야 하였다.

3. 90℃에서 2시간의 熱處理後에 遠心分離하고 15%의 食염을 첨가한 魚醬油의 總窒素含量은 원료 廢棄物의 1,780 mg%의 91.3~92.3%인 1,625~1,643 mg%였으며, 이 중 87.2~87.8%가 아미노 질소였다. 脂肪含量은 0.13~0.32%로 극히 적었고 히스타민 함량도 10 mg% 미만이었다.

4. 食鹽濃度가 15%인 魚醬油는 저장 실험 기간인 60일까지 脂肪含量, 히스타민의 양 및 變色 등의 品質變化가 전혀 없었으며 미생물의 증식도 억제되었다.

謝 辭

본 연구는 大型旋網組合의 研究費 支援에 의하여 수행되었음을 밝혀두며, 李金雨 組合長님께 깊이 感謝 드립니다.

參 考 文 獻

- Arroyo, P. T. and D. A. Lillard. 1970. Identification of carbonyl and sulfur compounds from nonenzymatic browning reaction of glucose and sulfur-containing amino acids. *J. Food Sci.*, 35, 769~770.
- Crisan, E. V. and A. Sands. 1975. The microbiology of four fermented fish sauces. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 887~894.
- Eagerman, B. A., F. M. Clydesdale and F. J. Francis. 1973. Comparison of color scales for dark colored beverages. *J. Food Sci.*, 38, 1051.
- Embisan, E. A. 1977. A shortcut to "patis" processing. *Small Industry Journal*, 10, 10~11.
- Hale, M. B. 1969. Relative activities of commercially available enzymes in the hydrolysis of fish protein. *Food Technol.*, 23, 107~110.
- Hardy, R. and J. C. M. Smith. 1976. The storage mackerel development of histamine and rancidity. *J. Sci. Food Agric.*, 27, 595~599.
- Hsavia, P., J. R. Whitaker and H. S. Olcott. 1976. Solubilization of a fish protein concentrate with proteolytic enzyme. *J. Agric. Chem.*, 24, 383~385.
- Hevia, P. and H. S. Olcott. 1977. Flavor of enzyme solubilized fish protein concentrate fraction. *J. Agric. Food Chem.*, 25, 772~773.
- Iwata, K., K. Kobashi and J. Hase. 1974. Studies on muscle alkaline protease. II. Some enzymatic properties of carp muscular alkaline protease. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 40, 189~200.
- Lerke, P. A., M. N. Porcuna and H. B. Chin. 1983. Screening test for histamine in fish. *J. Food Sci.*, 48, 155~157.
- Makinodan, Y. and S. Ikeda. 1969. Purification and properties of proteinase active in acid pH range. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 35, 758~766.
- Murakami, K. and M. Noda. 1981. Studies on proteinases from the digestive organs of sardine. 1. Purification and characterization of three alkaline proteinases from the pyloric caeca. *Biochem. Biophys. Acta.*, 658, 17~26.
- Noguchi, M., S. Arai, M. Yamashita, H. Kato and M. Fujimaki. 1975. Isolation and identification of acidic oligopeptides occurring in a flavor potentiating fraction from a fish protein hydrolysate. *J. Agric. Food Chem.*, 23, 49~53.
- Ooshiro, Z., T. Ok, H. Une and S. Hayashi. 1981. Study on use of commercial proteolytic enzymes in production of fish sauce. *Mem. Fac. Fish.*, 62, 1~10.
- Oorejano, F. M. and J. Liston. 1980. Agents of proteolysis and its inhibition in patis (fish sauce) fermentation. *J. Food Sci.*, 47, 198~203.
- Owens, J. D. and L. S. Mendoza. 1985. Enzymatically hydrolysed and bacterially fermented fishery products. *J. Food Technol.*, 20, 273~293.
- Ryder, J. M. 1985. Determination of ATP and its breakdown products in fish muscle by HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, 33, 678~680.
- Saisithi, P., B. O. Kasemsarn, J. Liston and A. M. Dollar. 1966. Microbiology and chemistry of fe-

- mented fish. *J. Food Sci.*, 31, 105~110.
- Sen, D. C., N. V. Sripathy, N. L. Lahiry, A. Sreenivasin and V. Subramanyan. 1962. Fish hydrolysates. 1. Rates of hydrolysis of fish flesh with papain. 2. Standardization of digestion conditions. *Food Technol.*, 16, 138~142.
- Spies, T. R. and D. C. Chambers. 1951. Spectrophotometric analysis of amino acid and peptides with their copper salt. *J. Biol. Chem.*, 191, 787~789.
- Tarky, W., O. P. Agarwala and G. M. Piggot. 1973. Protein hydrolysate from fish waste. *J. Food Sci.*, 38, 917.
- Umetsu, H. and E. Ichishima. 1985. Mechanism of digestion of bitter peptide from a fish protein concentrate by wheat carboxypeptidase. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 32, 281~287.
- Van Ven, A. G. 1965. Fermented and dried seafood products in South-East Asia. In "Fish as Food" (ed. Borgstrom G.), Vol. 3, Academic Press, New York, pp. 227~250.
- Walter, R. H. and I. S. Fargerson. 1968. Volatile compounds from heated glucose. *J. Food Sci.*, 33, 294~297.
- 大赤正次郎・澤 勤. 1967. 醬油製造中の酸化還元電位の變化と色調變化の關係. *日食工誌*, 14, 25~27.
- 奥積昌世・栗野正石・大木田美. 1984. N 菌群細菌(低溫-好鹽性ヒスタミン生成菌)のヒスタミン生成に及ぼす溫度, pHおよび NaCl 濃度の影響. *日水誌*, 50, 1757~1762.
- 大西登史良・村山繁雄. 1969. 養殖マス類における酵素的 研究. 1. Protease, amylase, arginase, GTPおよび活性の魚種別 比較. *東海區水研報*, 59, 111~119.
- 大西登史良・村山繁雄・竹内昌昭. 1973. コイ消化酵素活性の攝餌後の經時變化. 1. 消化管内容物および肝臓の amylase, protease について. *東海區水研報*, 75, 23~31.
- 小原哲二郎・鈴木隆雄・岩尾裕之. 1975. 食品分析ハンドブック, 建綿社, 日本, p. 800.
- 小幡彌太郎・座間宏一・白鳥 刀・内海修藏. 1949. 水産蛋白質の利用試験. *日水誌*, 14, 292~298.
- 日本食品工業學會. 1982. 食品分析法. pp. 168~170, 372~373.
- 日本厚生省. 1973. 食品衛生検査指針(Ⅰ). 揮發性鹽基窒素. pp. 30~32.
- 東秀 雄・岡田 稔・山田充阿彌. 1951. 魚肉腐敗の化學的研究. 2. 腐敗生産物に對する外圍條件の影響. *日水誌*, 16, 377~387.
- 藤井建夫・酒井久夫. 1984. しよつつの化學成分と微生物相. *日水誌*, 50, 1061~1066.
- 牧之段保夫・豊原治彦・池田靜德. 1983. 魚類の筋肉における酸性, 中性, アルカリ性プロテアーゼ存在について. *日水誌*, 49, 109~112.
- 三輪勝利・徳永俊夫・飯田 遙. 1976. 水産加工場の惡臭防除に關する研究. 2. 魚の煮熟および乾燥臭氣. *東海區水研報*, 86, 7~26.
- 金炳三・朴相珉・崔秀逸・金章亮・韓鳳浩. 1986. 魚醬油의 速成醱酵와 動力學的 考察, *韓水誌*, 19, 10~19.
- 金友政・成綯淳. 1985. 온도 및 당의 첨가가 인삼차의 향미에 미치는 영향. *韓食科誌*, 17, 304~310.
- 李應昊・具在根・安昌範・車庸準・吳光秀. 1984. HPLC에 의한 시판 수산 건제품의 ATP 분해 생성물의 신속 정량법. *韓水誌*, 17, 368~372.
- 韓鳳浩・裴泰進・趙顯德・金鍾鐵・吳光秀. 1990. 酵素分法에 의한 改良魚醬油의 速成製造 및 品質에 관한 연구. 1. 고등어 廢棄物을 이용한 魚醬油의 速成製造 및 品質, *韓水誌*, 23, 109~124.

1990년 4월 16일 접수

1990년 6월 4일 수리