

저식염 속성 정어리 발효 액화물 가공에 관한 연구(I)

-효소의 최적활성조건 및 마쇄육 예열처리중의 품질변화-

박 춘 규

여수대학교 식품공학과
(1999년 9월 7일 접수)

Studies on the Processing of Rapid- and Low Salt-Fermented Liquefaction of Sardine (*Sardinops melanosicta*) (I)

- Changes in Quility during Preheating of Chopped Whole Sardine and Optimum
Conditions of Crude Enzyme Activity in Viscera-

Choon-Kyu Park

Dept. of Food Science and Technology, Yosu National University

(Received September 7, 1999)

Abstract

In order to establish the processing condition of salt-fermented liquefaction of sardine (*Sardinops melanosicta*), effect of temperature, pH value, and concentration of salinity on crude enzyme activity of sardine viscera were investigated. The optimum temperature range of crude enzyme activity in sardine viscera was 45~50°C and the optimum pH value of it was 9.8. According to the concentration of salinity increased the crude enzyme activity in sardine viscera decreased. The relationship between concentration of salinity (X) and the crude enzyme activity (Y) in sardine viscera is shown as follows; $Y = -0.01363X + 0.7676$ ($r = -0.88$). For the purpose of processing conditions of rapid- and low salt-fermented liquefaction of sardine, changes of viable cell count, histamine content, and volatile basic nitrogen (VBN) in the chopped whole sardine with 8% NaCl during preheating process at 40°, 45° and 50°C for 48 hrs were analyzed. During preheating, initial viable cell counts of chopped whole sardine were $10^{4.7}/g$, but they decreased $10^{1.5}/g$ after 48 hrs. Histamine contents during preheating process at 40° and 45°C were gradually increased, whereas at 50°C were almost the same level after 48 hrs. VBN contents were continuously increased during preheating, but preheating at 50°C samples were lower level than that of 40° and 45°C ones. For the purpose to accelerate the fermentation and liquefaction of chopped whole sardine, preheating at optimum temperature of crude enzyme activity for 48 hrs was useful processing method and the contents of viable cell count, histamine, and VBN were safety level for food sanitation.

Key words; sardine, *Sardinops melanosicta*, rapid fermentation, low salt-fermented liquefaction.

I. 서론

정어리(*Sardinops melanosicta*)는 대표적인 다핵성, 다지방(多脂肪) 어종으로서 쉽게 선도가 저하되기 때

문에 가공식품 원료로서의 이용도가 낮은 편이다. 우리나라에서 지난 1988~1997년의 10년간 정어리의 어획량은 9,014~182,540 M/T 범위(연 평균 66,151 M/T)였으며,^{1,2)} 정어리의 가공품으로서는 통조림이나 원형

동결 상태의 냉동품 등이 있으나 그 나머지는 대부분 어분, 양어사료, 어업용 미끼 등 비 식용으로 소비되고 있어 고도 이용을 위한 새로운 가공방법의 개발이 필요하다.

그런데 새로운 가공방법으로서는 정어리가 대량 어획되었을 때 많은 량을 비교적 신속하게 처리하기 위한 가공수단이 요청된다. 그 중 한가지 예로서 젓갈류를 들 수 있다. 그러나 정어리는 자원량이 풍부하고 값이 싸면서도 젓갈로서는 많이 이용되고 있지 않는 실정이다. 그 원인으로서는 재래식 방법에 의한 정어리 젓갈에서 품질상의 결함은 쓴맛과 함께 젓국의 색깔이 밝지 못하며, histamine 함량이 높기 때문으로 알려져 있다.³⁾

정어리의 젓갈에 관한 연구로서는 항산화제 처리 효과,⁴⁾ 저염 정어리젓 가공 조건,⁵⁾ 그리고 정미성분과 미생물상^{6,7)}에 관한 보고가 있으나, 일시대량 어획되었을 때 많은 량을 신속하게 처리하기 위한 연구는 별로 없다. 그러므로 본 연구에서는 다확성 정어리에 대한 가공품 개발의 한 방안으로서 일시 대량을 신속처리할 수 있는 기업적인 발효제품 생산에 목표를 두고 속성 발효 액화물의 가공을 위한 일련의 연구를 계획하였다. 본 연구는 먼저 정어리 발효 액화물의 가공 조건을 설정하기 위하여 정어리 내장 효소의 활성에 미치는 온도, pH 및 염농도의 영향에 대하여 검토하였다. 그리고 정어리는 비교적 개체가 커서 통째로 젓갈을 담그면 식염침투속도가 늦어 숙성기간이 오래 소요되는 문제가 있으므로 속성 발효를 목적으로 정어리를 통째로 마쇄하고, 예비시험 결과에 따라 비교적 저염인 8%식염을 가하여, 정어리 내장효소의 최적활성온도에 대한 실험결과를 중심으로 40°, 45° 및 50°C의 조건에서 48 시간 동안 예열처리 하면서 발효액화물의 품질을 평가하기 위하여 경과 시간별로 생균수, histamine 및 휘발성염기질소(volatile basic nitrogen, VBN) 함량 변화를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 원료 정어리

정어리(*S. melanosticta*)는 선망으로 어획한 것을 부산 공동 어시장에서 구입하여 사용하였으며, 시료의 조성은 체장 15.5~19.1cm, 체중 50~100g 범위였다.

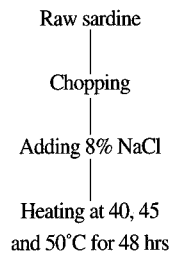
2. 내장효소의 활성측정

정어리의 각 부위별 효소의 활성을 측정한 결과 내

장에서 효소활성이 가장 강하게 나타났으므로 내장효소에 대한 활성 최적조건을 검토하였다. 조효소액의 조제는 정어리 내장 30g에 5배의 완충용액(citric acid monohydrate-Na₂HPO₄ · 12H₂O)을 가하여 균질기(Nissei bio-mixer, Model BM-2, Japan)로 마쇄한 다음 16,000 rpm에서 30분간 원심 분리한 상정액을 조효소액으로 하여 0°C에 보존하면서 실험하였다. 효소활성의 측정방법은 Rinerknecht⁸⁾가 개발하고, 그 뒤 Little 등⁹⁾과 Canhos¹⁰⁾가 수정한 불용성의 hide powder azure (HPA, Calbiochem, U.S.A.)를 이용하는 dye release 방법에 의하였다. 즉 정어리의 내장 조효소액 1ml에 0.05M Tris-HCl 완충용액(pH 7.5, 25°C) 9ml를 가하고 반응 온도인 35°C에서 30분간 미리 가온한 다음 기질인 HPA 20mg을 첨가하여 각각의 소정온도(20~60°C)에서 100 rpm으로 조정된 진탕 배양기에 60분간 진탕 반응시킨 다음 동양여지 No. 5로 잔여 기질을 여과 제거하여 효소반응을 정지시킨 후 595nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 시료의 전처리

원료정어리를 chopper에서 통째로 마쇄한 다음 식염 8%를 가하고 40°, 45° 및 50°C에서 48시간동안 예열처리 하면서 경과시간별로 생균수, histamine 및 VBN 함량을 측정하였다(Fig. 1).



<Fig. 1> Scheme for evaluation of preheating effect on processing of fermented liquefaction of sardine.

4. 생균수 측정

표준 한천 배지를 사용하여 10진 희석법으로 희석하고 35°C에서 48시간 배양하여 집락수를 계측하였다.¹¹⁾

5. Histamine 정량 및 휘발성염기질소(VBN) 측정

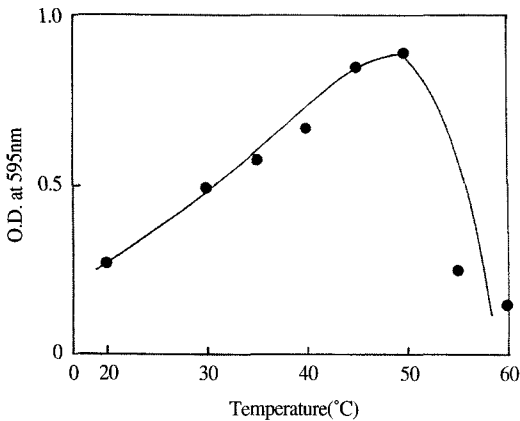
Histamine 정량은 Amberlite CG-50을 사용하는 ion exchange chromatography법¹²⁾으로, 그리고 VBN 측정

은 Conway의 미량 확산법¹³⁾에 따라 정량하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 효소의 활성에 미치는 온도의 영향

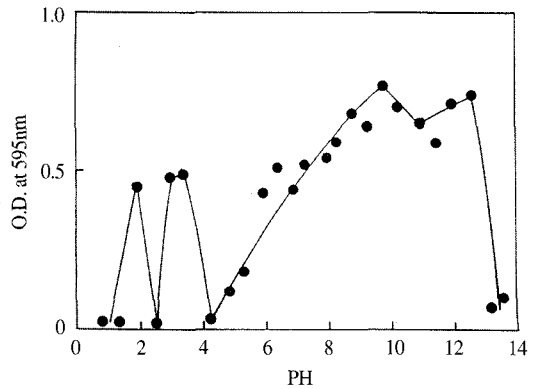
정어리 발효 액화물의 가공조건을 설정하기 위하여 정어리 내장 효소의 활성과 온도와의 관계를 검토한 결과는 <Fig. 2>와 같다. 반응 온도 20°C이었을 때 595nm에서의 흡광도는 0.27이었고, 30°C에서는 0.53으로 증가하였다. 그리고 35°C에서는 0.58이었고, 40°C에서는 0.67이었으며 45°C 일때는 0.85였다. 그리고 50°C에서는 0.89로서 가장 높은 활성을 나타내었으나, 그 후 55°C와 60°C에서는 각각 0.25와 0.15로 급격히 떨어졌다. 따라서 정어리 내장효소 활성의 최적 온도는 45~50°C 범위였다.



<Fig. 2> Effect of temperature on crude enzyme activity of sardine viscera.

2. 효소의 활성에 미치는 pH의 영향

정어리 발효액화물의 가공조건을 설정하기 위하여 정어리 내장효소의 활성과 pH와의 관계를 검토한 결과는 <Fig. 3>과 같다. pH 1.0에서의 흡광도는 0에 가까웠으나 pH 2.0에서는 0.45로 급격히 증가하였으며, pH 2.5에서는 다시 0에 가까워졌다. 그리고 pH 3.0~3.5에서는 0.48~0.49였다. 그러나 pH 4.0부근에서는 또다시 0에 가까웠다. 그 이후 pH가 높아질수록 활성이 점점 증가하여 pH 9.8에서는 0.77로서 가장 높

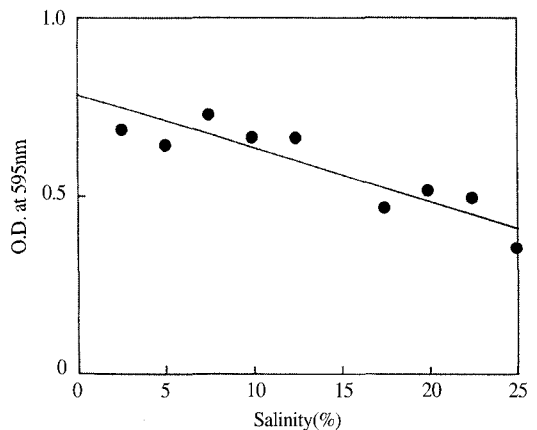


<Fig. 3> Effect of pH on crude enzyme activity of sardine viscera.

았으며, 그 이후 pH 10.0에서 약간 낮아졌으나 pH 12.5에서는 0.74였고 그 이후 급격히 떨어졌다. 이상의 결과로부터 정어리 내장 효소의 활성 최적 pH는 9.8이었다.

3. 효소의 활성에 미치는 염분농도의 영향

정어리 발효액화물의 가공조건을 설정하기 위하여 정어리 내장효소의 활성과 염분농도와의 관계를 실험한 결과는 <Fig. 4>와 같다. 염분농도 2.5%이었을 때의 흡광도는 0.68이었으며, 염분농도 5.0%이었을 때는 0.64로 약간 감소하였다. 또한 염분농도 7.5%이었을 때는 0.73이었고 10%이었을 때는 0.67이었다. 그리고 염분농도가 20%이었을 때의 흡광도는 0.53이었으나 22.5%이

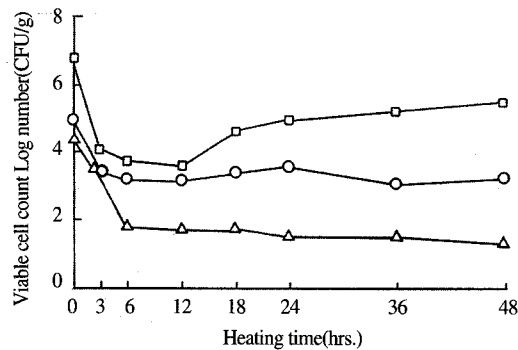


<Fig. 4> Effect of salinity on crude enzyme activity of sardine viscera

있을 때는 0.50이었으며, 25%이었을 때는 0.35로 낮아졌다. 이와 같이 염분농도의 증가에 따라 정어리 내장효소의 활성은 점점 감소되는 역상관계였다. 따라서 염분농도(X)와 정어리 내장효소의 활성을 나타내는 흡광도(Y)사이에는 $Y = -0.01362X + 0.7676 (r = -0.88)$ 의 회귀 직선식으로 나타낼 수 있었다. 일반적으로 젓갈은 식염첨가량이 많을수록 숙성소요기간이 길어지는 경향으로 알려져 있는데, 이와 같은 원인은 식염농도의 증가에 따라 젓갈의 숙성에 관여하는 효소의 활성이나 발효에 관여하는 미생물의 증식이 저해되기 때문으로 생각된다.

4. 마쇄육에 식염 첨가후 예열처리 과정중 생균수의 변화

정어리 발효액화제품의 속성발효를 목적으로 마쇄한 정어리에 식염 8%를 가하여 40°, 45° 및 50°C에서 48시간동안 예열처리 하면서 경과시간별로 생균수를 측정 한 결과는 <Fig. 5>와 같다. 40°C로 가온한 시험구에서 처음 생균수는 10⁷ CFU/g이었으나 3~6시간 가온 후에는 10⁴로 감소되었으며, 12시간 후에는 10^{3.5}로 감소되었고, 그 이후 서서히 증가하여 24, 36 및 48시간 후에는 10⁵로 차차 증가되는 경향을 보였다. 45°C로 예열처리한 것에서는 처음 생균수가 10⁶이었으나 예열처리 함에 따라 서서히 감소되어 6~12시간 후에는 10³으로 가장 낮아졌으나, 18~24시간 후에는 다소 증가하여 10^{3.2~3.5}이 되었지만 36~48시간 예열처리 후에는 10³으로 유지되었다. 50°C로 예열처리한 경우에는 처음 생균수가 10⁴이었으나, 6시간 후에는 급격히 감소되어 10^{1.8}수준으로 떨어졌으며, 그 이후는 예열처리 시간 경



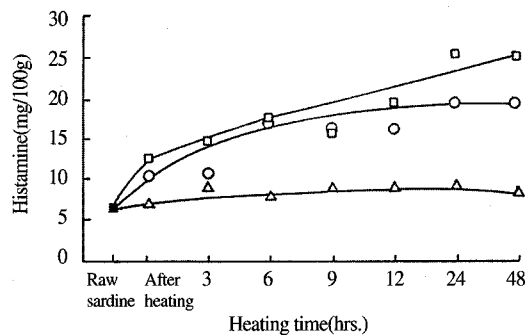
<Fig. 5> Changes of viable cell count in the chopped whole sardines with 8% NaCl during preheating process at 40°(□-□), 45°(○-○) and 50°C(△-△) for 48hrs.

과에 따라 48시간까지 10¹으로 유지되었다. 이상과 같이 정어리 마쇄육을 예열처리 하였을 때, 대부분 생균수가 감소되어 6~12시간 후에 최저치를 나타내었다. 그러나 계속 예열처리하면 처리 온도에 따라 달라서 40°C에서는 서서히 증가되었고, 45°C에서는 거의 증감 현상이 나타나지 않았으며, 50°C에서는 예열처리 시간 경과와 함께 서서히 감소되는 경향을 나타내었다. 이와 같이 정어리 마쇄육을 40°, 45° 및 50°C로 48시간 예열처리 하는 동안 생균수는 크게 증가되지 않았다.

5. 마쇄육에 식염 첨가후 예열처리 과정중 histamine 함량 변화

정어리 발효액화제품의 가공조건을 밝히기 위하여 마쇄한 정어리에 식염 8%를 가하여 40°, 45° 및 50°C로 48시간동안 예열처리하면서 경과시간별로 histamine 함량을 분석한 결과는 <Fig. 6>과 같다. 정어리 원료에서의 histamine 함량은 6.3mg/100g이었으나 40°C로 예열처리 직후는 12.5mg으로 증가되었고, 그 이후 서서히 증가되어 6시간 후에는 17.5mg이었으며, 48시간 후에는 24.0mg에 달하였다. 45°C로 예열처리 직후의 histamine 함량은 10mg으로 증가하였으며, 그 이후 완만한 증가를 보이다가 24시간 후에는 18.5mg, 그리고 48시간 후에는 18.0mg으로 큰 변화가 없었다. 50°C로 예열처리 직후의 histamine 함량은 6.5mg으로서 원료에서와 큰 차이가 없었으며, 그 이후 예열처리 48시간까지도 거의 histamine 함량 증가는 일어나지 않았다.

식품에서 histamine이 중독을 유발시킬 수 있는 한계 농도는 100mg/100g으로 보고되어 있으며,¹⁴⁾ 선도가 떨어진 어육에서 쓴맛 또는 자극성 맛은 histamine과 관

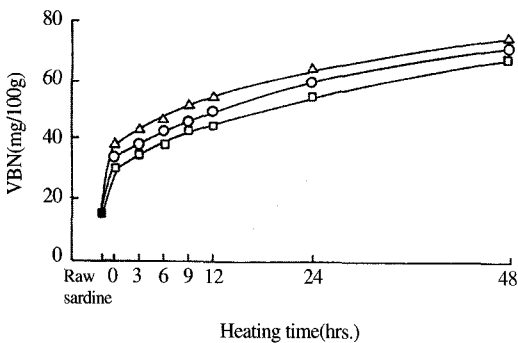


<Fig. 6> Changes of histamine contents in the chopped whole sardines with 8% NaCl during preheating process at 40°(□-□), 45°(○-○) and 50°C(△-△) for 48hrs.

계가 있다고 하였다.¹⁵⁾ 본 연구에서 신선한 정어리를 마쇄한후 식염을 가하고 40°, 45° 및 50°C로 가온 하는 경우 histamine 함량은 40°C와 45°C에서는 약간 증가하였으나 50°C에서는 거의 증가되지 않았다. 본 실험에서 histamine 함량은 모든 가온조건에서 25mg/100g 미만으로서 증독한계농도 보다 낮았다.

6. 마쇄육에 식염 첨가후 예열처리 과정중 VBN 함량 변화

정어리 발효액화물의 가공조건을 밝히기 위하여 마쇄한 정어리에 식염 8%를 가하여 40°, 45° 및 50°C로 48시간동안 예열처리 하면서 경과 시간별로 VBN 함량을 측정 한 결과는 <Fig. 7>과 같다. 정어리 원료의 VBN 함량은 15mg/100g이었으나, 40°C로 예열처리한 경우는 처리직후 30mg으로 증가되었으며, 3시간 후에는 34mg, 6시간 후에는 37mg, 12시간 후에는 43mg, 그리고 48시간 후에는 55mg까지 증가하였다. 45°C로 예열처리한 경우의 VBN 함량은 처리직후 34mg이었으며, 3시간 후에는 37mg, 6시간 후에는 41mg, 12시간 후에는 48mg, 그리고 48시간 후에는 59mg으로 완만한 증가를 보였다. 50°C로 예열처리 하였을 때의 VBN 함량은 처리 직후 38mg이었으며, 3시간 후 42mg, 6시간 후에는 45mg, 12시간 후에는 53mg, 그리고 48시간 후에는 62mg으로서 원료의 4배 이상 증가되었다. 정어리 마쇄육에 식염 8%를 첨가하여 40°, 45° 및 50°C로 예열처리하는 동안 VBN 함량은 전반적으로 증가되었으며 온도가 높을수록 VBN 함량은 높은 경향을 나타내어, 40°C에서 48시간 예열처리 후는 원료상태였을 때 VBN 함량의 3.7배, 45°C에서는 3.9배, 그리고 50°C에서는 약4.1배로 증가되었다.



<Fig. 7> Changes of volatile basic nitrogen contents in the chopped whole sardines with 8% NaCl during preheating process at 40°(□-□), 45°(○-○) and 50°(△-△) for 48hrs.

VBN은 암모니아, TMA(trimethylamine), DMA(dimethylamine) 등에서 유래하는 휘발성분으로서, 선도저하와 함께 증가한다. VBN 함량은 일반적으로 극히 신선한 어육에서는 5~10mg/100g, 보통선도의 어육에서는 15~25mg/100g, 초기부패의 어육에서는 30~40mg/100g, 그리고 부패한 어육에서는 50mg/100g으로 되어있다.¹⁶⁾ 그러므로 VBN 함량은 어류의 선도판정 지표물질로서 널리 이용되고 있으며, 젓갈류의 숙성과정 중에도 자주 측정되고 있다. 정어리 젓갈 숙성중 VBN 함량은 숙성기간에 따라 증가되는 것으로 알려져 있으며,⁶⁾ 정어리 원료에 20%의 식염을 가하여 실온(25±3°C)에서 숙성중 VBN 함량을 측정 한 예를 보면, 19일째 75.2mg/100g, 31일째 83.0mg/100g, 60일째 93.9mg/100g이었다.⁴⁾ 또한 정어리 전어체에 17%의 식염을 첨가하여 실온에서 150일간 숙성하면서 경과시간별로 VBN 함량을 측정 한 결과 숙성 60일까지는 급격히 증가하였다가 그 이후는 증가속도가 다소 둔화되면서 90일에는 288.9mg/100g으로 최고치를 나타내었고, 숙성 150일째는 오히려 약간 감소하였다.³⁾

본 연구에서 정어리 발효액화물 가공중 40°, 45° 및 50°C의 온도조건에서 48시간 예열처리 하였을 때의 VBN 함량은 경과시간에 따라 서서히 증가하는 경향이었으며, 48시간 후에는 각각 55, 59 및 62mg/100g에 달하고 있어 정어리 젓갈에서의 VBN 함량은 전처리 조건이나, 숙성조건에 따라 차이가 많은 것을 알 수 있었다.

IV. 요약 및 결론

정어리 발효액화물의 가공조건 설정을 위하여 정어리 내장 효소의 활성에 미치는 온도, pH 및 염분농도의 영향을 검토하였다. 정어리 내장 효소의 활성 최적 온도는 45~50°C, 최적 pH는 9.8이었고, 염분농도가 증가할수록 효소활성은 감소하였으며, 염분농도(X)와 효소활성을 나타내는 흡광도(Y)와의 사이에는 $Y = -0.01363X + 0.7676 (r = -0.88)$ 의 회귀식으로 나타낼 수 있었다. 저염 속성발효를 목적으로 정어리 마쇄육에 8%의 식염을 첨가하여 효소활성 최적조건에 가까운 40°, 45° 및 50°C에서 48시간 동안 예열처리 하면서 품질평가를 위하여 경과시간별로 생균수, histamine 및 VBN 함량 변화를 조사하였다. 예열처리 과정 중 처음 생균수 $10^4 \sim 7CFU/g$ 에서 각각 10^5 , 10^3 및 10^2 으로 감소되었으며, histamine은 예열처리 온도가 높을수록 함량이 낮았고, VBN은 예열처리 온도가 낮을수록 함량이 낮았다. 정어리 마쇄육의 발효 액화를 촉진시키기 위하여

내장효소의 최적 활성온도로 예열처리하는 것은 효과가 있었으며, 예열처리중 생균수, histamine 및 VBN 함량 변화는 식품 위생적으로 안전한 수준이었다.

■참고문헌

- 1) 농림수산부. 농림수산통계연보. p.291. 동양문화인쇄주식회사. 서울. 1992
- 2) 해양수산부. 해양수산통계연보. p.999. 대중인쇄사. 서울. 1998
- 3) Suh SB, Yeon HY, Park CK, and Kim SJ. Quality improvement of salt-fermented sardine by beheading of raw fish, Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency, 41:87, 1988
- 4) Lee EH, Cho SY, Jeon JK, and Kim SK. The effect of antioxidant on the processing of fermented sardine and the taste compounds of product. Bull. Korean Fish. Soc. 14(4):201, 1981
- 5) Lee EH, Cha YJ, and Lee JS. Studies on the processing of low salt fermented sea foods, 1. Processing conditions of low salt fermented sardine. Bull. Korean Fish. Soc. 16(2):133, 1983
- 6) Cha YJ, Cho SY, Oh KS, and Lee EH. Studies on the processing of low salt fermented sea foods, 2. The taste compounds of low salt fermented sardine. Bull. Korean Fish. Soc. 16(2):140, 1983
- 7) Cha YJ, Chung SY, Ha JH, Jeong IC, and Lee EH. Studies on the processing of low salt fermented sea foods, 3. Changes of microflora during fermentation of low salted sardine. Bull. Korean Fish. Soc. 16(3):211, 1983
- 8) Rinerknecht H, Geokas MC, Silverman P, and Haverback BJ. A new ultra sensitive method for the determination of proteolytic activity. Clinica Chimica Acta. 21:197, 1968
- 9) Little JE, Sjogren RE, and Carson RR. Measurement of proteolysis in natural waters. Appl. and Environ. Microbiol. 37:900, 1979
- 10) Canhos VP. Microorganisms isolated from sand filtered bay water and the proteolytic activity of a *Flavobacterium* isolate. Ph.D. Thesis p.15. Oregon State University, Corvallis, Oregon 97331, U.S.A, 1981
- 11) H.P.H.A. Recommended procedures for the bacteriological examination of sea water and shellfish. 3rd ed. Am. Pub. Health Assoc. Inc. Broadway, New York, p.17, 1970
- 12) 河端俊治. 히스타민의 이온교환크로마토그래피. 水産生物化學·食品學實 驗書. p.300. 恒星社厚生閣. 東京. 1974
- 13) 日本厚生省編. 食品衛生檢査指針 I. 揮發性 鹽基窒素. p.30. 日本食品衛生協會. 東京. 1960
- 14) Arnold H, and Brown D. Histamine(?) toxicity from fish products. Advan. Food Res. Academic Press. New York, 24:113, 1978
- 15) Igarashi H. The pungent principles of fishes produced by decrease in freshness; part-1. J. Chem. Soc. Japan 59:1258, 1938
- 16) 須山三千三, 鴻巢章二. 水産食品學. p.134. 恒星社厚生閣. 東京. 1987