

무화과를 이용한 속성발효 멸치액젓의 품질

강성국[†] · 윤성원 · 김정목 · 김선재 · 정순택

목포대학교 식품공학과 및 식품산업기술연구센터

Quality of Accelerated Salt-fermented Anchovy Sauce Prepared with Fig

Seong-Gook Kang[†], Sung-Won Yoon, Jeong-Mok Kim, Sun-Jae Kim and Soon-Teck Jung

Dept. of Food Engineering and Food Industrial Technology Research Center,
Mokpo National University, Chonnam 534-729, Korea

Abstract

To facilitate fermentation of liquid anchovy sauce, 3% unripe figs, ripe figs, or fig leaves were added to the sauce and fermented at 25°C for 60 days. The anchovy sauce prepared with ripe figs showed higher protease activity and better red-purple color than others. Amino-nitrogen content in anchovy sauce treated with ripe figs was attained to 600 mg% within 10 days. Total free amino acid content in the product with fig addition showed about twice higher, 4543.21 mg%, than the control, 2255.29 mg%. Hypoxanthin was found as a major components of nucleotide and their related compounds in the fermented anchovy sauce. However, using the unripe figs and fig leaves impart greenish color and grass taste to the product.

Key words: anchovy sauce, fig, fermentation

서 론

우리나라의 서남해안 지역에서 다량 생산되고 있는 멸치는 건조멸치 뿐만 아니라 젓갈 및 액젓으로 가공되어 우리 식단에서 없어서는 안 될 중요한 식품이다. 멸치액젓은 염장하여 육자체에 함유된 자가분해효소와 미생물이 분비하는 효소작용에 의해 육단백질이 아미노산으로 분해되면서 독특한 풍미를 갖는 전통 수산발효식품이다. 그러나 고염도에서 자연발효에 의해 제조되는 액젓은 제조기간이 많이 소요되고 발효숙성 중 주위 환경에 따라 품질이 일정하지 않는 등 많은 문제점을 갖는다.

현재까지 젓갈류에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으며, 초기에는 주로 젓갈의 영양성분에 대한 연구(1-4)들이 이루어졌으며 1980년대 이후부터 액젓의 속성발효기술(5-9), 저염화기술(9-11), 젓갈의 기능성에 관한 연구(12) 등이 보고되었다. 액젓의 속성발효기술은 단백질분해효소를 직접 첨가하는 방법, 코지를 첨가하는 방법, 고정화 균체를 이용하는 방법 등이 있다. 이들 방법은 대부분 액젓을 속성으로 발효하는 것은 가능하나 관능적으로 소비자의 기호도를 충족시키는데는 부족함이 있어 아직 산업화된 경우는 거의 없다. 한편 무화과(*Ficus carica L.*)는 아열대성 반교목성 과수로서 강력한 단백질 분해효소인 ficin을 다량 함유하고 있어 액젓의 속성발효기술에 이용할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 기존의 단백질 분해효소, 코지, 균체고정화에 의한 액젓의 속성발효기술에 비하여 무화과의 단백질 분해력을 이용하여 우수한 멸치액젓의 속성 발효기술을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

멸치액젓 제조용 멸치는 1999년 8월 제주도 추자산을 사용하였으며, 무화과는 1999년 8월 전남 영암군 삼호면에서 생산한 미숙 무화과와 속성 무화과를 사용하였고, 같은 시기에 채취한 무화과 잎을 사용하였다.

멸치액젓의 제조

멸치액젓의 제조는 500 mL 발효용기에 멸치원료 300 g을 넣고 속성 무화과, 미숙 무화과 및 무화과 잎을 믹서로 갈아 1~5%(w/w) 첨가하여 제조하였으며 식염농도는 15%(w/w)로 조절하였다. 또한 발효온도를 15, 25, 35°C로 달리하였다. 분석용 시료는 발효시작 후 60일 동안 5~10일 간격으로 분해되지 않은 멸치육과 발효액을 분리하였으며, 지방을 분리하지 않은 발효액을 분석용 시료로 사용하였다.

무화과의 단백질 분해 효소의 역할 측정

무화과와 무화과 잎의 단백질 분해효소 활성은 casein을

[†]Corresponding author. E-mail: sgkang@chungkye.mokpo.ac.kr
Phone: 82-61-453-2370. Fax: 82-61-454-1521

기질로 하는 Hagihara 등의 방법(13)을 변형하여 측정하였다. 조효소액은 시료 2 g을 마쇄하여 0.8% 식염수로 100 mL로 정용하고 2시간 동안 추출하여 제조하였다. 기질은 alkaline, neutral 및 acid protease 측정을 위하여 casein 1.2 g을 각각 0.5 M boric acid와 ammonium salt 완충용액(pH 8.0 이상), 0.05 M sodium phosphate, 및 0.05 M lactic acid 용액에 용해시키고 200 mL로 정용하였다. 효소반응은 기질 2.5 mL에 조효소액 0.5 mL를 첨가하고 30°C에서 10분간 반응시킨 후 trichloroacetic acid를 가하여 반응을 종료하였다. 반응물은 6000×g에서 10분간 원심분리(Centrifuge T-324, Kontron Instruments, Italy)한 후 275 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 활성단위 1 unit는 30°C에서 흡광도 값이 0.01 증가하는 값으로 나타냈다.

색도의 측정

60일 동안 발효시킨 액젓의 색도는 색도계(Chroma meter CR 300, Minolta, Japan)을 사용하여 L, a, b값을 측정하였다.

발효과정 중 아미노산성 질소의 변화

액젓의 발효과정 중 아미노산성 질소 함량의 변화는 Formaldehyde 적정법(14)에 준하여 측정하였다. 시료 5 mL 종류수를 가해 100 mL로 정용한 다음 1시간 실온에서 방치한 후 여과지(Whatman No. 2)를 이용하여 여과하였다. 여액 20 mL에 중성 formaline 20 mL를 가해 0.02 N NaOH 용액으로 미적색이 될 때까지 적정하여 환산하였다.

유리아미노산과 핵산관련 물질 함량

유리아미노산은 아미노산 자동분석기(LKB 4150, Pharmacia Co., England)를 이용하여 Park의 방법(15)에 의해 분석하였다. 핵산관련물질의 분석은 시료에 10% HClO₄ 용액 25 mL를 가하여 15분간 균질화하고 원심분리(4,000 rpm, 10 min)하여 상징액을 모았다. 같은 방법으로 2회 반복하여 잔사를 처리하고 모은 상징액에 5 N KOH 용액으로 pH 6.5로 조절하고 중화한 과염소산 용액으로 100 mL로 채운 후 다시 원심분리(10,000 rpm, 10 min)하였다. 상징액을 HPLC(PU-980, Jasco, Japan)로 분석하였다. μ-Bondapak C18(3.9 mm×30 cm) column, UV detector(254 nm), 이동상은 1% triethylamine을 사용하였다. 유속은 1.0 mL/min, 온도는 40°C로 하였다.

결과 및 고찰

무화과와 무화과 잎의 단백질 분해 효소 활성

멸치액젓의 발효촉진제로 사용한 미숙 무화과, 숙성 무화과 및 무화과 잎에 대하여 단백질 분해효소 활성을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 무화과의 단백질분해효소활성이 숙성 무화과가 가장 우수하였으며, 특히 산성 protease 활성이 우수하였다. 산성 protease의 경우 잎과 미숙성과는 거의 활성이 나타나지 않았으며, 숙성과의 경우 1,327 units로 높은 활성을 보였다. 중성 protease의 경우 잎이 3,704 units로 가장 높

Table 1. Protease activity of fig leaves, unripe and ripe fig

Sample	Protease activity (unit)		
	Acid protease	Neutral protease	Alkaline protease
Leaf	-	3,704	41
Unripe fig	-	386	275
Ripe fig	1,327	545	2,833

Protease activity was defined as an increase in absorbance of 0.01 at 275 nm.

게 나타났으며, 미숙과의 경우 386 units로 가장 낮았다. 알칼리 protease의 경우 숙성과가 2,833 units로 가장 높았으며, 잎과 미숙과의 경우는 각각 41과 275 units로 거의 활성이 없음을 알 수 있었다. 전체적으로 숙성과의 단백질 분해효소 활성이 높았으며, 액젓 제조 시 미숙과와 무화과 잎을 사용하였을 때 chlorophyll 색소가 추출되어 제품이 녹색을 나타내는 문제와 약간의 뜻냄새 등을 고려할 때 숙성과가 적합함을 알 수 있었다. 그러나 보다 넓은 범위의 pH에서 효소활성을 고려한다면 잎과 숙성과를 혼합하여 사용하는 것도 고려할 수 있다.

무화과를 첨가한 멸치액젓의 발효과정 중 아미노산성 질소 함량의 변화

멸치액젓의 발효과정 중 아미노산성 질소 함량 변화를 측정한 결과는 Fig. 1에 나타나 있다. 무화과 잎, 미숙과 및 숙성과를 3%(w/w) 첨가하여 액젓을 첨가하고 25°C에서 60일 동안 발효시켰을 때 아미노산성 질소 함량은 발효초기 10일째 식품공전상의 규격기준인 600 mg%에 도달하였으며 숙성과가 가장 빠른 증가율을 보였고 온도가 높을수록, 첨가농도가 높을수록 빠르게 증가하는 경향을 보였다. 발효 60일째 시험구에 따라 다소 차이는 있었으나 1500 mg%에 달하였다. 액젓의 화학성분중 아미노태 질소함량은 원료어육 단백질의 가수분해 정도의 지표가 될 뿐만 아니라 향미와도 관련이 있기 때문에 중요한 품질지표중의 하나이다(16). 국내의 액젓(어장유) 관련 검사규격중 KS규격(17)에는 액젓의 경우 600 mg% 이상, 조미액젓의 경우 300 mg% 이상으로 규정하고 있다. Kim(18)은 멸치를 이용한 액젓제조에 있어서 아미노태 질소함량과 염도와 온도의 관계를 연구한 결과 염농도가 낮고 발효온도가 높을수록 아미노태 질소함량이 높다고 보고하였으며, 염농도 15~20%, 온도 30~35°C 일 때 아미노태 질소함량이 1500 mg%에 도달하는데 약 20주정도 소요되는 것으로 보고하였다. Seo 등(19)과 Lee 등(20)은 정어리육에 각각 10%와 15%의 식염을 가하여 상온에서 발효시켰을 때 아미노태 질소함량이 1000 mg%까지 도달하는데 약 90일정도 소요된다고 보고하여 본 연구에 비하여 3배 이상 발효기간을 보였다. 즉, 무화과의 단백질분해효소가 액젓의 속성발효에 효과적임을 알 수 있었다.

제품의 색도

무화과 잎, 숙성 무화과 및 미숙 무화과를 멸치액젓의 단백

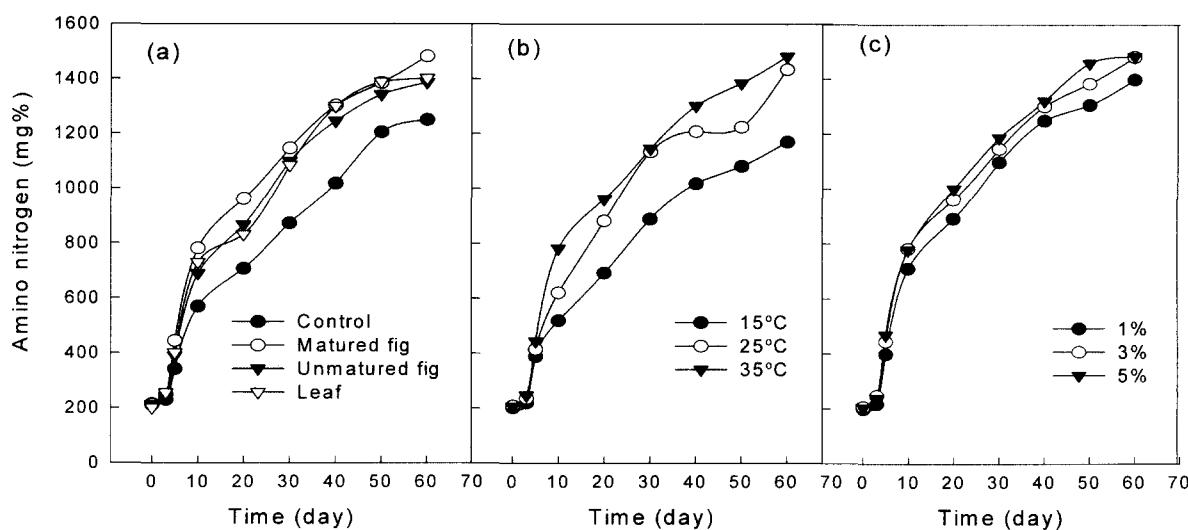


Fig. 1. Changes of amino nitrogen of fermented anchovy sauce fermented at 25°C for 60 days followed by (a) different treatments at 3% concentration, (b) different temperatures with 3% ripe fig and (c) different concentrations of ripe fig.

분해효소로 이용하여 25°C에서 60일 동안 발효시켰을 때 액젓의 색도를 비교한 결과는 Table 2와 같다. L값의 경우 대조구와 숙성무화과 시험구에서 각각 28.99와 27.26로 잎과 미숙무화과의 25.62와 25.57에 비하여 약간 높은 값을 보였는데, 이는 무화과 잎과 미숙 무화과의 경우 엽록소가 많아 명도에 영향을 미치는 것으로 생각된다. b값의 경우도 L값과 같은 경향으로 대조구가 1.63으로 잎 0.03, 미숙 무화과 0.04에 비해 훨씬 높게 나타났으며, 처리구중에서는 숙성 무화과가 0.43으로 가장 높았다. 숙성 무화과를 이용한 경우 a값이 0.48로 대조구, 잎, 미숙과를 처리한 경우 -0.14~0.05에 비하여 높은 적자색을 보였다. 멸치액젓의 경우 발효와 숙성이 진행될수록 진한 적갈색을 나타내는데 숙성 무화과의 발효촉진 효과가 가장 높은 것으로 생각된다. 잎을 사용한 경우 엽록소에서 기인하는 녹색이 남아 제품의 상품가치를 떨어뜨리는 문제점이 있었다. 미숙과의 경우도 숙성과에 비하여 맑은 적자색을 보여주지 못하였다.

제조방법을 달리한 액젓의 유리아미노산 조성

숙성 무화과, 미숙 무화과 및 무화과 잎을 3%(w/w) 첨가하여 25°C에서 60일 동안 발효시킨 제품의 아미노산 함량을 분석, 비교한 결과는 Table 3과 같다. 총 유리아미노산의 경우 숙성 무화과를 4543.21 mg%로 대조구의 2255.29 mg%에 비하여 약 2배에 이르렀다. 이는 멸치액젓 제조 시 미생물에

Table 2. Color values in the anchovy sauce fermented at 25°C for 60 days with 3% (w/w) fig leaf, unripe and ripe fig

Fermenting agent	Color value		
	L	a	b
Control	28.99	-0.14	1.63
Leaf	25.62	-0.15	-0.03
Unripe fig	25.57	0.05	-0.04
Ripe fig	27.26	0.48	-0.43

Table 3. Free amino acid contents of the fermented anchovy sauce prepared with 3% (w/w) fig leaf, unripe and ripe fig

Amino acid	Sample			
	Control	Leaf	Unripe fig	Ripe fig
Asp	96.58	278.96	46.18	282.12
Thr	146.70	238.80	157.71	243.00
Ser	88.50	142.68	67.06	127.33
Glu	405.58	475.52	364.32	773.25
Pro	-	328.97	162.19	310.25
Gly	94.93	171.63	134.52	165.01
Ala	193.30	268.16	238.81	306.88
Cys	380.58	174.72	473.35	220.32
Val	131.19	377.27	161.71	369.99
Met	25.84	297.44	31.63	272.19
Ile	148.55	248.15	184.50	231.51
Leu	174.45	282.10	218.70	261.54
Tyr	39.68	119.91	49.90	87.15
Phe	148.21	295.34	180.85	277.38
His	197.22	335.38	227.00	285.39
Lys	227.24	147.70	254.18	330.10
Arg	-	-	-	-
Total	2,255.29	3,664.97	2,748.75	4,543.41

의한 단백질 분해활성 외에 무화과의 단백질 분해활성이 크게 기여하고 있음을 의미한다. 또한 무화과 잎을 이용했을 때 미숙 무화과보다 총 아미노산 함량이 높음을 보여 주었다. 주요 아미노산은 glutamic acid, valine, proline, phenylalanine, alanine순이었다. Cha와 Lee(21)는 멸치액젓의 주요 아미노산으로 proline, alanine, glutamic acid, phenylalanine 순이라고 보고하여 본 연구와 함량차이는 다소 있었으나 유사함을 알 수 있었다.

액젓 제품의 핵산관련 물질

제조방법을 달리한 액젓제품의 핵산관련물질의 분석, 비교한 결과는 Table 4에 나타난 바와 같다. 주요한 핵산관련 물질로 hypoxanthine이 주를 이루고 있었으며 IMP, inosine

Table 4. Nucleotide and their related compounds (μmole) of the fermented anchovy sauce prepared with 3% (w/w) fig leaf, unripe and ripe fig

Sample	Nucleotide and their related compounds (μmole)					
	ATP	ADP	AMP	IMP	Inosine	Hypoxanthin
Control	-	-	-	2.3	1.2	482
Leaf	-	-	-	-	1.3	564
Unripe fig	-	-	-	-	1.4	606
Ripe fig	-	-	-	2.0	1.2	592

을 소량 함유하고 있었다. 모든 시험구에서 ATP, ADP 및 AMP는 검출되지 않았으며, IMP의 경우 대조구와 속성과를 이용한 경우 각각 2.3과 2.0 μmole 수준으로 소량이 검출되었다. Inosine은 모든 시험구에서 소량으로 검출되었으며, 주요 성분인 hypoxanthine은 대조구가 482 μmole 이었으며, 무화과 잎, 미숙과 및 속성과로 제조한 액젓이 564~606 μmole 로 대조구보다 높았으며, 미숙과를 이용하여 제조한 액젓이 가장 높았다. 일반적으로 어류 근육의 ATP 분해경로는 ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow IMP \rightarrow inosine \rightarrow hypoxanthine의 순이며, 액젓의 경우 발효와 속성 후 대부분 hypoxanthine 및 uric acid 형태로 존재하는 것으로 알려져 있다(22,23).

요 약

멸치액젓의 속성발효기술개발의 일환으로 무화과의 단백질 분해효소를 이용하여 멸치 액젓 제조기술을 개발하고자 미숙 무화과, 속성 무화과 및 무화과 잎을 3% 첨가하여 25°C에서 60일 동안 발효시킨 후 액젓의 품질 특성을 분석하였다. 단백질 분해효소 활성은 속성 무화과가 산성 protease 1,327 units, 중성 protease 535 units, 알칼리 protease 2,833 units로 가장 높았다. 60일 동안 발효시킨 후 액젓의 색은 속성 무화과를 이용하여 발효시켰을 때 a값이 0.48, b값 -0.43, L값 27.26으로 가장 우수한 적자색을 보였다. 무화과를 첨가한 멸치액젓의 발효과정 중 아미노태 질소 함량은 발효초기 10일째 식품공전상의 규격기준인 600 mg%에 도달하였으며, 속성과가 가장 빠른 증가율을 보였다. 발효 60일째 시험구에 따라 다소 차이는 있었으나 1500 mg%에 달하였다. 총 유리아미노산은 속성무화과가 4543.21 mg%로 대조구의 2255.29 mg%에 비하여 약 2배정도 높은 함량을 보였으며, 중요 핵산관련물질은 주로 hypoxanthine이었다. 액젓 제조시 미숙과와 무화과 잎을 사용하였을 때 chlorophyll 색소가 추출되어 제품이 녹색을 나타내는 문제와 약간의 풋냄새 등을 고려할 때 속성과가 적합함을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 목포대학교 식품산업기술연구센터의 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Sung, N.J.: Degradation of nucleotides and their related compounds during the fermentation of oyster. *J. Korean Soc. & Nutr.*, **7**, 1-6 (1978)
- Lee, E.H., Koo, J.K., Cha, Y.J., Ahn, C.B. and Oh, K.S.: Volatile constituents of fermented big eyed herring and slimy. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **17**, 437-442 (1985)
- Lee, E.H., Oh, K.S., Lee, T.H., Ahn, C.B. and Cha, Y.J.: Fatty acid compositions of commercial fermented fish. *J. Korean Soc. & Nutr.*, **18**, 42-47 (1986)
- Chung, S.Y., Sung, N.J. and Lee, Y.K.: Compositions of nucleotides and free amino acids of salt-fermented yellow carvenia intestins. *J. Korean Soc. & Nutr.*, **13**, 285-290 (1984)
- Han, B.H., Bae, T.J., Cho, H.D., Kim, J.C., Kim, B.S. and Choi, S.I.: Conditions for rapid processing of modified fish sauce using enzymatic hydrolysis and improvement of product quality. 1. Fish sauce from mackerel waste and its quality. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **23**, 109-124 (1990)
- Cha, Y.J., Lee, K.H., Lee, E.H., Kim, J.S. and Joo, D.S.: Studies on the processing of rapid fermented anchovy prepared with low salt contents by adapted microorganism. 3. Processing of low salt fermented anchovy with proteolytic bacteria and quality stability during storage. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **33**, 330-336 (1990)
- Cha, Y.J., Kim, E.J. and Joo, D.S.: Studies on the processing of accelerated low salt-fermented anchovy paste by adding koji. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 348-352 (1994)
- Bae, T.J., Han, B.H., Cho, H.D., Kim, J.C., Kim, B.S. and Lee, H.S.: Conditions for rapid processing of modified fish sauce using enzymatic hydrolysis and improvement of product quality. 4. Flavor components of fish sauce from whole sardine. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **23**, 373-377 (1990)
- Ryu, B.H., Kim, S.J. and Shin, D.B.: Lactic acid, ethylalcohol and 4-ethylguaiacol contents of rapid fermentation of sardine soy sauce prepared by using immobilized whole cells. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 456-462 (1992)
- Cha, Y.J.: Changes of volatile flavor compounds in low salt-fermented anchovy paste by adding koji. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 481-489 (1994)
- Kim, Y.M., Jeong, Y.M. and Hong, J.H.: Processing conditions for low-salted squid Jeotkal. *Bull. Kor. Fish. Soc.*, **26**, 312-318 (1993)
- Kaneko, K., Kim, C.H. and Kaneda, T.: Comparative study on content and composition of oligopeptide, free amino acids, 5'-ribonucleotides and free sugars in salted preserves produced at Korea and Japan. *Korean J. Dietary Culture*, **7**, 253-258 (1992)
- Hagihara, B., Matsubara, H., Nakai, M. and Okunuki, K.: Crystalline protease; 1. Preparation of crystalline protease of *Bac. subtilis*. *J. Biochem.*, **45**, 185 (1958)
- Nippon shou kankuzo: *Shou shiken hou*. Sanhosa, p.19-20 (1985)
- Park, S.S.: Studies on the chemical components and biological activity of *Ixeris sonchifolia*. *J. Biochem. Mol. Biol.*, **10**, 241-246 (1977)
- Kim, Y.M.: Influence of fermentation conditions on the quality properties and protease activity of anchovy sauce. *Ph.D. Dissertation*, Korea University, p.44-47 (1993)
- Korea Standards Association : KSH 6022 (1990)
- Kim, Y.M.: Influence of fermentation conditions on the quality properties and protease activity of anchovy sauce. *Ph.D. Thesis*, Korea University, p.55-58 (1993)
- Seo, S.B., Yoon, H.K., Park, C.K. and Kim, S.H.: Quality improvement of salt-fermented sardine by beheading of raw

- fish. Research Report of National Fisheries Research and Development Institute, Vol. 41, p.87-96 (1988)
20. Lee, E.H., Jee, S.K., Ahn, C.B. and Kim, J.S. : Studies on the processing conditions and the taste compounds of the sardine sauce extracts. *Bull. Korean Fish Soc.*, **21**, 57-62 (1998)
21. Cha, Y.J. and Lee, E.H. : Studies on the processing of low salt fermented sea foods. 6. Nucleotide compounds of low salt fermented anchovy and yellow carvenia sauce. *Bull. Korean Fish Soc.*, **18**, 325-332 (1985)
22. Lee, E.H., Cho, S.Y., Cha, Y.J., Jeon, J.K. and Kim, S.K. : The effect of antioxidants on the fermented sardine and taste compounds of product. *Bull. Korean Fish Soc.*, **14**, 201-211 (1981)
23. Koo, J.K., Lee, E.H., Ahn, C.B., Cha, Y.J. and Oh, K.S. : Taste compounds of salted and fermented big eyed herring and alimy. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **17**, 283-288 (1985)

(2001년 9월 15일 접수)