

< Original Article >

염장고등어의 히스타민 변화 조사 -보관용기 중심으로-

문백수* · 남화정 · 장승은 · 여은영 · 이은주 · 김지선 · 김정임 · 송재용 · 조남규 · 이성모
인천광역시보건환경연구원

Investigating changes of histamine content in salted mackerel - on storage containers -

Bag-Sou Moon*, Hwa-Jung Nam, Seung-Eun Jang, Eun-Yeong Yeo, Eun-Ju Lee,
Ji-Seon Kim, Jeong-Im Kim, Jae-Yong Song, Nam-Gyu Cho, Sung-Mo Lee

Incheon Research Institute of Public Health and Environment, Incheon 22320, Korea

(Received 12 March 2017; revised 15 March 2017; accepted 15 March 2017)

Abstract

In order to find a way to reduce histamine formation when storing salted mackerel at home, a series of experiments were carried to monitor the time-related changes of histamine content, total aerobic bacteria and coliform quality of mackerel marketed in Incheon by the type of storage containers (clean, zipper and vacuum bag) during storage at 4°C, 24°C and -20°C for 10 days. Histamine formation was continuously increased with passing time during storage at 4°C, whereas it was decreased after 3 days during storage at 24°C. The initial value of histamine was maintained during storage at -20°C for 10 days. During storage at 4°C, total aerobic bacteria and coliform showed a tendency to increased rapidly till 3day and then decreased gradually. The formation of histamine was increased in the order of vacuum bag < zipper bag < clean bag during storage at 4°C.

Key words : Histamine, Total aerobic bacteria, Coliform, Mackerel, Storage container, Time-related change

서 론

고등어는 우리나라 전 해역 및 대부분의 대양에 서식하는 난류성 회유성 어종으로써 경골어류 농어목 고등어과 속하는 적색어류의 등 푸른 생선이다(Lee, 2009). 고등어는 eicosapentaenoic acid (EPA) 및 docosahexaenoic acid (DHA) 등과 같은 고도불포화지방산의 조성비가 높아(Simpoulou, 1991) 한국인이 선호하는 수산물 중의 하나이다. 그러나 고등어는 선도저하가 빨라 히스타민과 같은 알레르기 성분 생성이 용이하여 냉동품, 통조림 및 염장제품 등의 형태로 많이 이용되고 있다(Lingnert와 Erikson, 1980; Shin 등, 2004).

주로 단백질을 함유한 식품이 미생물에 의해 분해되는 과정에서 아미노산의 탈탄산반응에 의해 생성되는 물질인 biogenic amine 중 가장 잘 알려진 물질은 히스타민(histamine)으로 고등어, 꽂치, 정어리, 참치 등에 다량 함유하고 있어 부패로 인해 scombrototoxicosis를 유발한다(Taylor, 1986).

따라서 본 연구에서는 시장에서 유통되는 국민 다 소비 수산물인 고등어를 대상으로, 일반 가정에서 보관방법에 따른 히스타민 생성을 저감할 수 있는 방법을 찾기 위해 냉장, 실온, 냉동 상태에서 염장고등어를 가정에서 많이 사용하는 위생백, 지퍼백, 진공백에 각각 담아 보관할 때 히스타민 및 지표세균의 경시변화를 관찰하였다.

*Corresponding author: Bag-Sou Moon, Tel. +82-32-440-8515,
Fax. +82-32-440-8508, E-mail. 100h2o@korea.kr

재료 및 방법

실험재료

시료는 2016년 5월과 8월 사이에 인천지역에서 유통 중인 염장고등어를 구입하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 고등어는 머리와 꼬리, 뼈, 내장을 제거 한 후 분쇄기(VCM-41 Haddle, Kista, Sweden)로 분쇄하여 균질화한 후 위생백(HDPE, Seoul, Korea), 지퍼백(LDPE, Seoul, Korea), 진공백(PE, Gyeonggi, Korea)에 각각 소분하여 냉장(4°C), 실온(24°C) 및 냉동(-20°C) 보관하면서 경시변화를 관찰했다.

표준품 및 시약

실험에 사용된 히스타민 표준품 및 1,7 diaminoheptane, cadaverine, dansyl chloride 는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였으며, 각 시약은 HPLC 급 또는 특급시약을 사용하였다. 히스타민 분석에 사용된 HPLC 이동상은 Acetonitril 및 water로 J.T. Baker (PA, USA)의 제품을 이용하였다. 증류수는 Milli-Q purification system (Millipore, Bedford, MA, USA)를 이용하여 조제한 3차 증류수를 사용하였다.

일반세균수는 aerobic count plate (PAC, 3M, St. Paul, MN, USA), 대장균군 및 대장균은 petri E. coli/Coliform count plate (PEC, 3M, St. Paul, MN, USA)로 측정하였다. 균수 측정을 위한 희석액은 SALINE Diluent (3M, St. Paul, MN, USA) 멸균 희석액을 사용하였다.

분석기기 및 분석조건

히스타민 분석을 위해 사용한 분석장비는 NANO-

SPACE SI-2 (Shiseido, Tokyo, Japan) HPLC를 사용하였다. 컬럼은 CAPCELL PAK C18 (MGII 5 μ L, 4.6 mm ID \times 250 mm, Shiseido, Tokyo, Japan)를 사용하였으며, 검출기는 PDA를 이용하였다. 그 외 이동상, 구배 등의 조건은 Table 1에 나타냈다.

HPLC에 의한 히스타민 표준검량선 및 크로마토그램을 Fig. 1에 각각 나타내었다. 정량한계는 0.34 mg/kg이었으며 회수율은 102%, 분리도는 2.5를 보였다.

시료 전처리

히스타민 생성량 측정을 위해 분쇄한 염장고등어 어육 5 g을 정확히 취하여 식품공전(식품의약품안전처, 2015)에 따라 실험하였다. 다만 유도체화 후 에테르 5 mL를 가하여 10분간 진탕(Mini-G, SPEX Sample-Prep, USA)후 층분리를 명확히 하기 위해 상층액을 1 mL 피펫으로 4 mL만 취하여 농축한 뒤 아세토니트릴 1 mL를 가하여 여과한 것을 HPLC로 분석하였다.

염장고등어 중 균수측정

식품공전(식품의약품안전처, 2015)에 따라 채취하

Table 1. HPLC parameters for the analysis of histamine

Description	Condition			
Column	CAPCELL PAK C18 MGII 5 μ L, 4.6 mm ID \times 250 mm, Shiseido, Tokyo, Japan			
Detector	PDA (1024 ch, 190~700 nm), 254 nm			
Gradient (%)	0 min	10 min	15 min	25 min
ACN:DW	55:45	55:45	65:35	80:20
	30 min	35 min	36 min	45 min
	90:10	90:10	55:45	55:45
Flow rate	1.0 mL/min			
Column temp.	40°C			
Data program	Agilent OpenLAB CDS (EZChrom, A.04.07)			

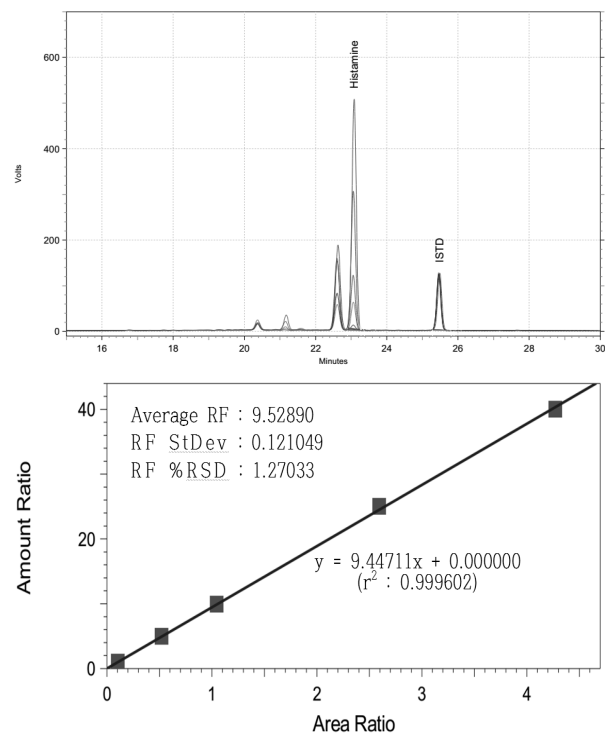


Fig. 1. HPLC chromatogram and calibration curve of histamine (1, 5, 10, 25, 40 mg/L).

여 시험액을 만든 후 SALINE 멸균희석액으로 10배 씩 희석하여 희석액 1 mL를 petri film에 분주하였다. 일반세균수는 35±1°C에서 48시간, 대장균군 및 대장균은 35±1°C에서 24시간 배양하였다.

결과 및 고찰

염장고등어의 히스타민 변화

수산물의 오염은 어획, 가공, 저장과정에서의 비위생적 취급에 의해 주로 일어나며, 동일한 품목이라도 생산 및 시판 환경에 따라 오염 정도에 차이가 많다 (Chang과 Choe, 1973). 고등어에서의 히스타민은 Nam 등(1996)은 187 mg/kg, Choi 등(2007)은 2,467 mg/kg, Muscarella 등(2013)은 2.5~246 mg/kg 이 함유되어 있다고 하였는데, 본 연구를 위해 시중에서 구입한 염장고등어 검체의 히스타민 분포는 0~2,243 mg/kg으로 다양했다. 경시변화를 관찰하기 위하여 이 중 히스타민 초기값이 3.5 mg/kg 것을 택하여 실험하였다.

Fig. 2에서 4°C 냉장 보관 시 히스타민은 1일 경과 후 위생백에서 25.8 mg/kg, 지퍼백에서 5.8 mg/kg, 진공백에서 6.2 mg/kg을 나타내었고 3일 경과 후에는 위생백에서는 113.7 mg/kg, 지퍼백에서는 14.8 mg/kg, 진공백에서는 8.9 mg/kg을 나타내었다. 5일 경과 시에는 위생백에서 247.0 mg/kg, 지퍼백에서 101.7 mg/kg, 진공백에서 87.6 mg/kg을 보였다.

위생백에서 경과시간에 대한 히스타민생성량의 기울기가 초기부터 3일까지는 37.1 mg/kg/d, 3일 경과 후부터는 63.3 mg/kg/d로 히스타민이 처음부터 급격히 증가하는 반면, 지퍼백과 진공백에서는 3일이 지나고서야 기울기가 각각 4.2 mg/kg/d와 2.3 mg/kg/d에서 78.5 mg/kg/d와 31.8 mg/kg/d로 증가하면서 히스타민이 급속히 생성되는 경향을 나타내었다.

24°C 실온 보관 시 1일 경과 후 히스타민은 위생백에서 135.0 mg/kg으로 지퍼백에서 49.3 mg/kg, 진공백에서 77.6 mg/kg보다 높게 나타났지만, 2일 경과 후부터는 진공백에서 히스타민 가장 높게 생성되는 경향을 보였다.

참치와 방어에서 7일 동안 히스타민의 경시변화는 5°C에서는 일정하고 25°C에서는 계속 증가한다는 Nei (2014)의 연구와는 달리 본 실험에서는 10일 동안 냉장 보관 시 염장고등어의 히스타민은 시간이 갈수록 계속 증가하는 반면 실온 보관 시에는 중간에

최고값을 나타내다 감소하는 경향을 보였다.

위생백에서는 5일 경과 시 실온보관보다 냉장보관에서 히스타민이 더 높게 생성되기 시작했으며, 지퍼백에서는 7일 경과 후부터 냉장보관에서 실온보관보다 히스타민이 더 많은 생성량을 보였다.

시간경과에 따른 보관용기별 히스타민 생성량은 냉장 보관 시에는 진공백 < 지퍼백 < 위생백 순으로 증가하였으며 실온보관에서는 진공백에서 가장 높게 나타났다. 한편 실온에서 비닐백에 염장고등어 검체를 보관한 경우 초기 2일 동안 히스타민이 시간 당 6.2 mg/kg이 생성되었다. 따라서 염장고등어 구입 시

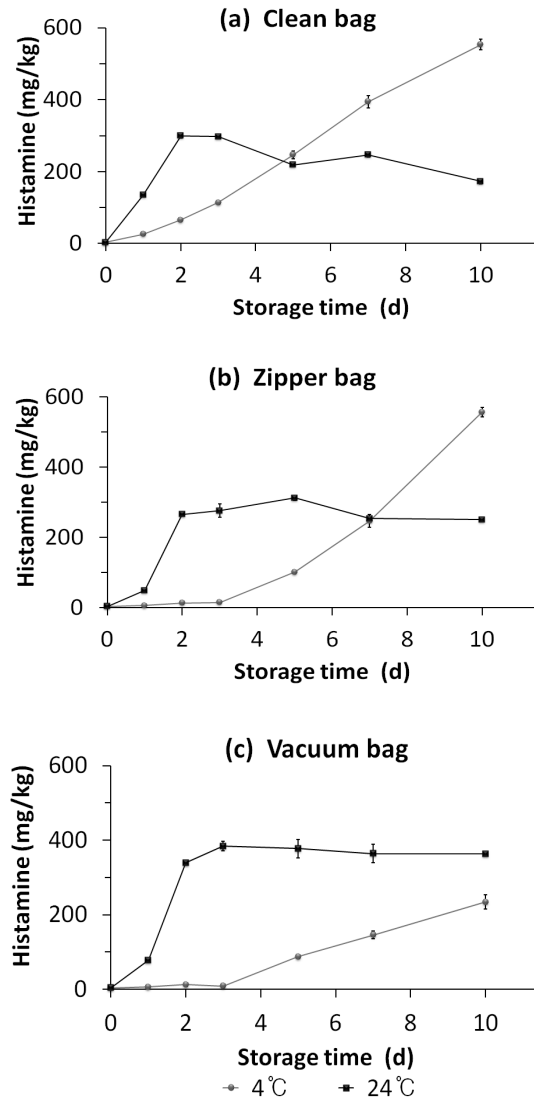


Fig. 2. Time-related changes of histamine formation of salted mackerel by storage containers during storage at 4°C (refrigerator) & 24°C (ambient). Each value represents the mean±standard deviation in triplicate.

히스타민 초기값을 높이지 않기 위해선 빠른 시간 내 저온에 보관하는 것이 필요하다.

염장고등어의 일반세균/대장균군 변화

Fig. 3에 4°C 냉장보관 및 -20°C 냉동 보관 시 일반세균 및 대장균군의 변화를 히스타민과 대비하여 나타내었다. 대장균은 모든 실험과정에서 검출되지 않았다.

가다랑어를 4°C에서 4일 동안 보관 시 일반세균의 큰 변화가 없는 Tahmouzi 등(2013)의 연구와 상이하게 염장고등어를 4°C에서 보관할 때 본 실험에서의 일반세균은 위생백에서 초기값 4.5 Log CFU에서 계속 증가하여 3일 경과 후 최고값 7.0 Log CFU을 나타낸 후 감소하는 추세를 보였으며, 지퍼백에서는 3일 경과시 최고값 6.4 Log CFU를 보이며 감소하였고, 진공백에서도 3일 경과 후 최고값 5.4 Log CFU을 나타내며 감소하기 시작했다. 대장균군도 일반세균과 비슷한 추이를 보였다. 대장균군은 위생백에서 초기값 3.0 Log CFU에서 증가하여 3일 경과 후 최고값 4.8 Log CFU을 나타낸 후 감소하는 추세를 보였으며, 지퍼백에서는 3일 경과 시 최고값 4.2 Log CFU를 보이며 감소하였고, 진공백에서도 3일 경과 후 최고값 3.5 Log CFU을 나타내며 감소하기 시작했다. 히스타민은 일반세균과 대장균군이 감소하는 3일 경과 후부터 급속히 증가했다.

초기 3일 동안 일반세균의 성장률(Log CFU/g/d)은 진공백(0.3), 저퍼백(0.6), 위생백(0.8) 순으로 크게 나타났으며, 대장균군의 성장률은 진공백(0.2), 지퍼백(0.4), 위생백(0.6) 순이었다.

냉장 보관 시 보관용기별 일반세균 및 대장균군은 진공백<지퍼백<위생백 순으로 높게 나타나 용기별 차이가 분명하였다.

-20°C 냉동 보관 시 위생백에서 염장고등어를 보관해도 히스타민은 보관일수에 따라 변화지 않으며 초기값을 유지하였다. 이는 Hardy와 Smith (1976), Cho 등(2008)의 결과와 유사해 냉동보관시 히스타민은 증가하지 않음을 알 수 있다. -20°C 냉동 보관 시에도 일반세균과 대장균군은 현저한 감소현상은 나타나지 않았다.

Fig. 4에서 염장고등어를 10일 동안 4°C에 보관했을 때 진공백에서는 5일, 지퍼백에서는 4일, 위생백에서 2일까지 히스타민이 50 mg/kg 이하로 유지되었다. 히스타민의 100 mg/kg 초과는 위생백에서는 3일,

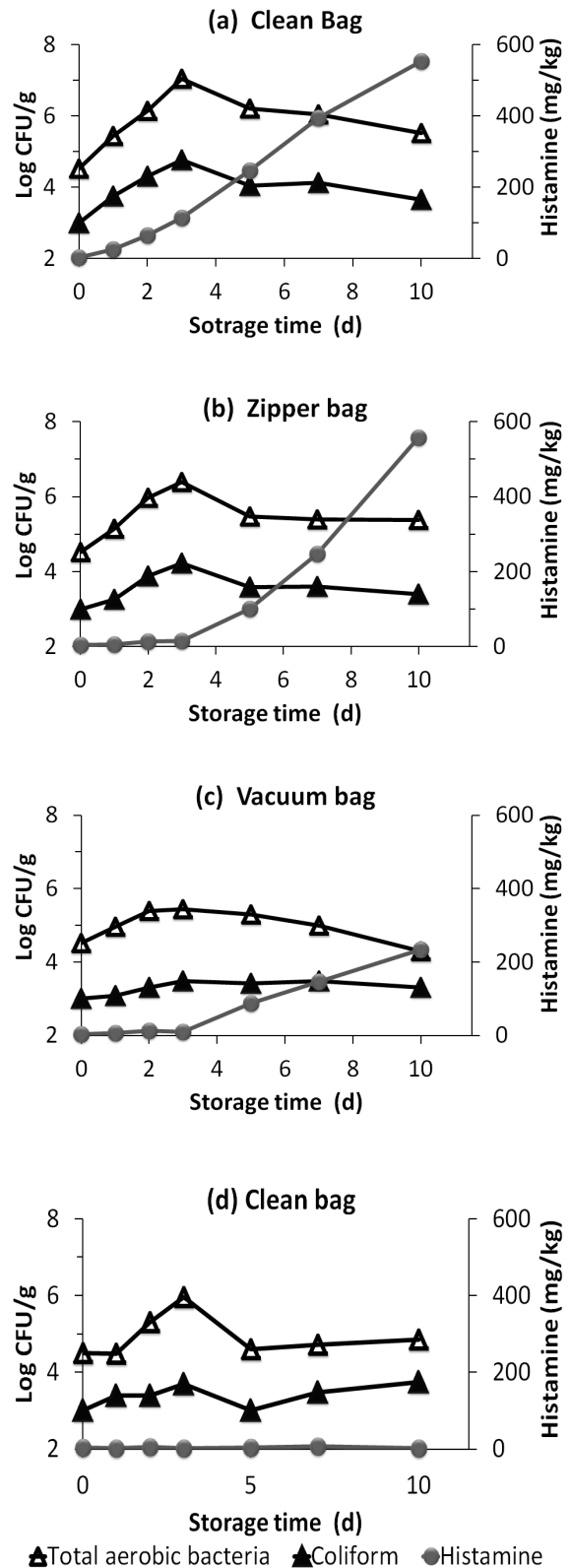


Fig. 3. Time-related changes of total aerobic bacteria&coliform with comparing histamine of salted mackerel by storage containers during storage at 4°C (a, b and c) with -20°C (d).

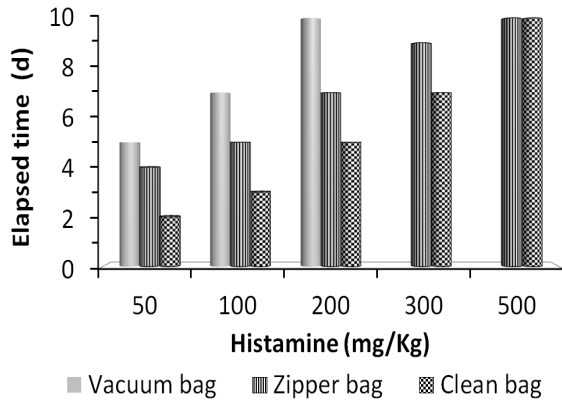


Fig. 4. Elapsed time to reach specific concentration of histamine during storage at 4°C by the type of storage containers.

지퍼백에서는 5일, 진공백에서는 7일 경과 후부터 일어났다. 식품공전의 히스타민 기준 200 mg/kg을 초과하는 경우는 위생백에서 5일, 지퍼백에서 7일, 진공백에서 10일 경과 후부터 발생했다.

Fig. 5에서 염장고등어의 냉장보관 시 1일과 3일 경과 후, 히스타민은 초기값에 비하여 진공백에서는 각각 2배와 3배가, 지퍼백에서는 각각 2배와 4배가 증가하는 반면, 위생백에서는 히스타민은 각각 7배와 33배가 증가하였다.

염장고등어를 4°C 냉장에서 3일 보관하는 경우 위생백 대신 지퍼백과 진공백에 보관 시 히스타민은 각각 8배, 11배가 감소하였다. 위생백에서 보면 4°C 냉장보관에서 3일 경과 시에 히스타민은 식품공전 기준인 200 mg/kg 이하이지만 그 이후 냉장 보관 시에도 시간경과에 따라 계속 급격히 증가하고, 초기값에 비해 대장균군은 58배가 일반세균은 333배가 증가하므로 이 경우 보관일수를 3일 이하로 하는 것이 바람직하다고 판단할 수 있다.

본 연구를 통하여 염장고등어를 가정에서 냉장고에 보관 시 비닐백에 담아 보관하는 것보다 지퍼백과 진공백에 보관하는 것이 히스타민 생성을 저감할 수 있다는 것을 알았으며, 본 실험과 연계하여 저장온도별, 첨가제별 및 히스타민 생성균과 히스타민 변화관계에 대한 지속적 연구가 필요하다.

결론

본 연구에서는 일반가정에서 염장고등어 보관시 히스타민 저감방안 일환으로, 인천관내에서 시판되고

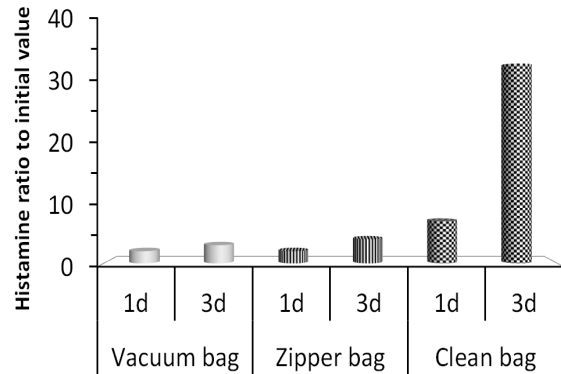


Fig. 5. Ratio 1 day&3 day to initial value of histamine during storage at 4°C by the type of storage containers.

있는 염장고등어 대하여 보관용기별 냉장, 실온 및 냉동 보관 시 히스타민 생성과, 일반세균 및 대장균군 변화를 관찰하였다.

그 결과 히스타민은 4°C 냉장 보관 시 시간경과에 따라 계속 증가하였으며 24°C 실온 보관 시에는 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었다. -20°C 냉동보관에서는 초기값을 유지하였다.

일반세균과 대장균군은 냉장 보관 시 3일 동안 급속히 증가하다 그 이후 감소하는 추이를 나타냈다.

보관용기별로는 냉장 보관 시 시간경과에 따라 진공백<지퍼백<위생백 순으로 히스타민은 증가하였다.

REFERENCES

Chang DS, Choe WK. 1973. Bacteriological studies on market sea foods. 1. Sanitary indicative bacteria in sun-dried sea foods. Bull. Korean Fish. Soc. 6: 87-91.

Cho YJ, Son MJ, Kim SM, Park HK, Yeo HK, Shim KB. 2008. Effect of storage conditions on biogenic amine levels in dark-fleshed fishes. Jour Fish Mar Sci Edu 20: 135-145.

Choi JH, Park CW, Lee CH. 2007. A Study of histamine content in food in Korea, Korean J Dermatol 45: 768-771.

Food code. 2015. Korea food & drug administration.

Hardy R, Smith JG. 1976. The storage of mackerel (*Scomber scombrus*). Development of histamine and rancidity. J Sci Food 27: 595-599.

Lee HN. 2009. Catch and oceanographic characteristics for large purse seine fisheries. MS Thesis. Pukyong National University, Busan.

Lingnert H, Erikson CE. 1980. Antioxidative mailard reaction products. I. Products from sugars and free amino acids. Food Processing Preservation 4: 161-172.

Muscarella M, Lo Magro S, Campaniello M, Armentano A, Stacchini P. 2013. Survey of histamine levels in fresh

- fish and fish products collected in Puglia (Italy) by ELISA and HPLC with fluorimetric detection. *Food Control* 31: 211-217.
- Nam HW, Lee KW, Myung CO, Rhee JS, Lee YC, Hong CS. 1996. Analysis on the Contents of Histamine in Korean Foods, *KOREAN J SOC FOOD SCI* 12: 487-492.
- Nei D, 2014. Evaluation of non-bacterial factors contributing to histamine accumulation in fish fillets. *Food Control* 35: 142-145.
- Shin SU, Jang MS, Kwon MA, Seo HJ. 2004. Processing of functional mackerel filet and quality changes during storage. *Korean J Food Preserv* 11: 22-27.
- Simopoulou AP. 1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 54: 438-463.
- Tahmouzi S, Ghasemlou M, Aliabad FS, Shahraz F, Hosseini H, Khaksar R. 2013. Histamine formation and bacteriological quality in skipjack tuna (*katsuwonus pelamis*): Effect of defrosting temperature, *Journal of Food Processing and Preservation* 37: 306-313.
- Tylor SL. 1986 Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. *Crit Rev Toxicol* 17: 91-128.