



저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

工學碩士 學位論文

원료의 선도가 멸치액젓의 품질 및 위생안전성에 미치는 영향



2014年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

鄭 啓 滢

工學碩士 學位論文

원료의 선도가 멸치액젓의 품질 및 위생안전성에 미치는 영향

指導教授 趙 永 濟

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함



2014年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

鄭 啓 滢

鄭啓滢의 工學碩士 學位論文을 認准함

2014年 2月

主 審 藥學博士 金榮穆 (印)

委 員 工學博士 沈吉輔 (印)

委 員 水産學博士 趙永濟 (印)



목 차

Abstract	iii
서 론	1
재료 및 방법	4
1. 실험 재료	4
1. 1. 멸치액젓 제조	4
2. 실험 방법	4
2. 1. 수분, 식염 함량 및 pH	4
2. 2. 총 질소 및 아미노산성 질소 함량	4
2. 3. 휘발성 염기질소 함량	5
2. 4. Histamine 함량	5
2. 5. 미생물 분리 및 동정	5
결과 및 고찰	9
1. 원료 멸치의 선도에 따른 이화학 성분변화	9
1. 1. 수분, 식염 함량 및 pH	9
1. 2. 총 질소 및 아미노산성 질소	13
1. 3. 휘발성 염기질소 및 hitamine	16

2. 원료의 선도가 액젓 품질에 미치는 영향	19
2. 1. 수분, 식염 함량 및 pH	19
2. 2. 총 질소	24
2. 3. 아미노산성 질소	27
2. 4. 휘발성 염기질소	29
2. 5. Histamine	31
3. 원료 멸치 선도가 액젓의 미생물에 미치는 영향	34
3. 1. 미생물 동정 및 histamine 생성능	34
요 약	38
참고문헌	41
감사의글	48



Effect of raw material freshness on food quality and safety of anchovy fish sauce

Min-hong Jeong

Department of Food Science and Technology, Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Fish sauce is one of the fishery product that it was extracted from the fermentation of fish with sea salt during a long period. It is used as a crucial ingredient in many types of kimchi, seasoned the vegetable, side dish etc. However, fish sauce was formed histamine that is thus identified as a hazard in fish sauce because of long fermented period under unhygienic condition. The purpose of this study is to investigate the impact of raw material freshness on the quality and hygienic safety of anchovy fish sauce and suggest the freshness of raw material to make high quality and hygienic safe of anchovy fish sauce.

At first, to devide the raw material's freshness levels, raw anchovy was left for 24 hours and each 4 hours, anchovy was mixed with salt to make fish sauce. The levels of VBN and histamine of raw materials by freshness were measured to know their exact freshness.

As a result, the levels of VBN and histamine increased as time passed each contents were 16.29-87.65 mg/100 g and 6.14-1499.63 mg/100 g, respectively. As fish sauce fermented for 18 months, the contents of VBN were 205.31-270.51 mg/100 g and histamine were 120.54-1707.22 mg/100 g, repectively. These results means the levels of VBN and histamine of raw materials are significantly associated with the hygiene of anchovy fish sauce.

Then, the content of moisture, salinity, total nitrogen and amino nitrogen and pH were measured to compare the quality of each fish sauce. At raw materials, the contents of moisture were 69.57-72.15% and there were no

significantly different. The contents of moisture of fish sauce during fermented for 18 months, it kept at all groups and at 18 months, the contents were 64.33–66.59% and it showed no significant difference. The salinity of raw materials was 1.15–1.27%, and fish sauce was 23.62–25.58% and it was also no significantly different. pH was 5.15–5.28 at raw materials and increased as freshness was decreased and 5.30–5.56 at fish sauce. The contents of total nitrogen of raw materials were 2.71–2.99%, showing no significantly different. As fish sauce fermented, At 3 months fermented fish sauce, the highest freshness group was 1.37% of total nitrogen content and as the freshness was low, the content of total nitrogen increased and the lowest freshness group was 1.56%. At 18 months, they were 2.19–2.23% and no significantly different. The contents of amino nitrogen of raw were 363.07–633.65 mg/100 g. At 3 months fermented fish sauce, the contents of amino nitrogen were 892.01–1220.34 mg/100 g that showed the content was increased as the freshness was low. At 18 months, the contents of amino nitrogen were 1271.31–1398.98 mg/100 g.

To investigate the reason of different contents of histamine at each fish sauce, bacteria from each groups were isolated and identified. At each groups, different bacteria were identified and among them, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Kocuria kristinae*, *Pantoea spp*, *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris* were known to make histamine from histidine. At group V, VI, VII those the lowest three groups of freshness level of raw materials, *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris* was identified. Each bacteria were cultured at tryptic soy broth containing 0.5% of histidine for 4 days at 35°C. *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris* produced the highest content of histamine 42.88–54.18 mg/kg and the others produced histamine 3.79–20.2 mg/kg. This means that fish sauce made by low freshness materials contain bacteria have strong ability to make histamine from histidine.

These findings suggest that the freshness of raw material influences the hygiene and safety of fish sauce, and therefore, it is the most important to manage the freshness of raw material to make the high quality and hygienically safe fish sauce.

서론

액젓은 젓갈류로 분류되는 한국의 전통 수산발효식품 중 하나로 어류, 갑각류, 연체동물류, 극피동물류 등의 전체 또는 일부분을 주원료로 하여 이에 식염을 가해 발효 숙성한 것을 여과하거나 분리한 액 또는 이에 젓갈을 여과하거나 분리하고 남은 것을 재발효 또는 숙성시킨 후 여과하거나 분리한 액을 혼합한 것을 말한다.(MFDS, 2013) 액젓은 그 원료에 따라 분류되는데 주로 쓰이는 원료로는 대표적으로 멸치, 까나리 등이 있으며, 일부에서는 갈치, 새우, 정어리, 전어, 참치 등도 이용되고 있다.

국내 액젓 산업현황을 보면 2012년을 기준으로 연간 54,165ton을 보이며 생산액은 590여억원에 이르며 이 수치는 젓갈, 양념젓갈, 조미액젓, 식혜류 등을 포함하는 젓갈류 전체 기준으로 보았을 때 약 26%에 준한다.(MFDS, 2012)

멸치액젓은 원료에 고농도의 식염을 가하여 부패를 막으면서 체내에 있는 효소의 작용을 이용하여 어육 및 장기의 단백질을 자기소화 및 미생물에 의해 분해, 숙성시켜 청징한 액상의 전통 수산발효식품으로(Cho et al. 2008), 감칠맛을 내는 이노신산과 각종 유리아미노산이 풍부하여 김치 양념, 간장대용, 무침이나 절임용 등의 음식에 사용되어 음식의 감칠맛을 더하는데 사용되고 있다(Lim, 2000).

종래에 멸치액젓은 주로 가정에서 제조하여왔으나, 근래에는 상업적인 규모로 제품화되고 있으며, 그 수요도 늘어나는 추세에 있다(Kim et al., 2000) 가정에서 담아 먹는 멸치액젓은 소량의 신선한 멸치를 이용하여 소금과 함께 짧은 시간 안에 배합하여 6~12개월간 숙성하여 배포 등을 이용해 액을 걸러 제조하던 것에 비해 상업적으로 제조하는 경우 수 톤의 멸치를 유통 후 20~25%의 소금을 배합하여 12개월정도 숙성 후 여러 단계의 여과과정을 거치고, 필요에 따라 가열살균 공정을 거치고 다시 여과하여 제품을 완성한다.

현재 국내에 시판되고 있는 멸치액젓은 40%정도가 국내 대기업 3사가 차지하고 있으며, 그 외에는 중소기업체에서 살균 또는 비살균의 과정을 거친 후 제조 및 판매하고 있다(Lee, 2013). 하지만, 대기업 및 중소기업 대부분의 시판액젓은 특유의 부패취를 가지고 있으며 이는 많은 현대 젊은 층의 사람들이 멸치액젓을 기피하는 요인 중 하나로 자리잡고 있다. 또한 액젓제조 시 비위생적인 원료의 선별 및 발효환경에 대한 실태가 알려지면서 수산가공품 및 발효식품에 대한 부정적 인식을 심어주고 있어 그 소비량에 지대한 영향을 미치고 있다.

특히 액젓 등에 부패취가 심하게 나는 이유는 선도가 좋지 않은 생선을 원료로 사용하거나 생선과 소금을 혼합하여 젓갈이나 액젓을 담그거나 발효과정 중 관리 소홀 등의 문제로 인한 것 이며, 이러한 과정은 발진, 국소피부염증(아토피 등), 구토, 설사, 복통, 두통, 울렁거림, 호흡곤란 등과 같은 중독증상 유발성분인 histamine의 생성이 증가하게 되는 요인 이라고 보고했다(Ryu, 2012).

Histamine은 biogenic amines의 하나이며, biogenic amines이란 아미노산의 탈탄산 작용 및 알데히드와 케톤의 아미노화와 아미노기 전이반응에 의해 주로 생성되는 질소화합물로, 미생물 또는 탈탄산효소에 의해 생성된다(Lehane and Olley, 2000). Biogenic amine은 현재까지 단백질 원료를 발효시킨 음식에서 많이 발견되며, 특히 histidine의 함량이 높은 멸치의 원료에서 액젓 발효 중의 histamine의 생성이 높아 문제가 되고 있다. Biogenic amine은 인체에 직·간접적인 신경전달물질로 작용하고 혈압조절 및 혈류 등의 심혈관계에도 영향을 미치며(Lovenberg, 1973), 특히 histamine은 말초혈관인 모세혈관과 동맥을 확장시키거나 H_1 반응기와의 상호작용으로 유발되는 장 평활근의 수축을 유발한다(Taylor SL, 1986). 따라서 biogenic amine 함유 식품의 섭취로 여러 가지 약리적인 현상이 나타날 수 있다. Histamine 섭취량이 많거나 histamine에 과민한 반응을 보이는 환자의 경우 두통, 재채기, 설사, 천식, 발열, 가려움증, 호흡부족과 같은 알레르기 증상을 일으킬 수 있다(Lovenberg,

1973).

이러한 위해요소로 인해 국내에서는 액젓의 histamine 함량에 대한 연구가 최근 들어 활발히 이루어지고 있다. Cho (2008)는 국내 유통식품의 Biogenic Amine 함량 및 생성인자를 해석하며 국내유통 시판 멸치액젓의 높은 histamine함량에 대해 경고했었고, Jo (2009)는 전통 발효식품 중 biogenic amines의 함량을 조사하며 액젓이 histamine의 함량이 발효식품 중 가장 높은 점을 강조하고, histamine 생성균을 배양 및 동정하였으며. Ryu (2012)는 제조공정 방법에 따른 멸치액젓 및 까나리액젓을 제조하여 발효기간동안 histamine함량을 연구해 histamine의 저감화에 대한 검토 및 위해성을 평가하며 원료 선도의 중요성을 강조하였고, Lee (2013)는 국내 유통중인 시판멸치액젓 및 까나리액젓에 대한 품질평가방법을 제시하며 histamine을 액젓의 안전성과 연관지으며 histamine함량 저감화를 위한 제조공정 개선의 필요성을 강조하였다.

현재까지 액젓에 대한 조사는 대부분이 시판의 액젓을 수거하여 품질판정 및 histamine 함량 등을 통해 안전성 부각, 제조공정별 액젓의 histamine 함량을 연구하여 위해도를 평가한 것에 국한되며, 원료의 선도에 따라 액젓의 발효과정중의 품질변화에 대한 연구 및 선도별 멸치액젓의 발효 중 영향을 끼치는 미생물에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 원료 멸치를 선도에 따라 액젓을 제조하여 발효과정 중 이화학적 성분 변화와 histamine 함량을 조사하였으며, 원료 멸치선도가 액젓내 미생물에 미치는 영향을 조사하였다. 이를 통하여 고품질의 위생적인 액젓 제조를 위한 원료의 선도 조건을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1. 1. 멸치액젓 제조

부산광역시 기장군 대변항에서 어획된 멸치액젓을 빙장상태로 실험실로 운반하여 원료로 사용하였다. 원료를 선도별로 구분하기 위해 상온에서 24시간동안 방치하며 0시간차부터 4시간단위로 구간을 나누어 24시간차까지 7구간의 원료를 25%(w/w)에 해당하는 국내산 천일염을 혼합하여 유리병에 담아 25℃에서 숙성시키며 시기별로 원액을 여과하여 사용하였으며 실험구간은 Table 1과 같다.

2. 실험 방법

2. 1. 수분 및 식염 함량 및 pH

수분은 105℃에서 상압가열 건조법(AOAC, 1995)을 이용하였으며, 식염 함량은 Mohr법으로 측정하였고(Hooi et al., 2004), pH는 pH meter (Orion 3-star series, Thermo Fisher Scientific Inc, Singapore)를 사용하였다.

2. 2. 총 질소 및 아미노산성 질소 함량

총 질소함량은 semi-micro Kjeldahl 법으로 측정하였고 아미노산성 질소(AN)는 Formol 적정법에 따라 시료용액 2 g에 증류수 10 mL을 가한 다음 0.1 N NaOH를 가하여 pH를 8.5로 조정한 후 중성 포르말린 용액 20 mL를 가하고 다시 0.1 N NaOH용액으로 pH 8.5가 될 때까지 적정하여 측정하였다.

2. 3. 휘발성 염기질소 함량

휘발성 염기질소 함량은 conway unit을 사용하는 미량확산법 (Japanese Ministry of Hygiene, 1973)으로 측정하였다.

2. 4. Histamine 함량

Biogenic amine 중 Histamine의 함량은 일본위생시험법 중 불휘발성부패 아민 분석법을 바탕으로한 식품공전 수산물에 대한규격(MFDS, 2013)에 준하여 분석하였다. 시료 1 g에 0.1 N HCl을 가하여 균질화 하고 이것을 원심분리(4,000xg, 4℃, 15 min)하여 상층액을 여과하여 취하는 조작을 2회 실시하여 50 mL로 한 후 시험용액으로 사용하였다. 0.1 HCl로 추출 및 희석시킨 시료용액 1 mL를 시험관에 취한 후 100 µg/mL의 내부표준물질(1,7 diaminoheptane) 100 µL를 가하고 포화탄산나트륨 용액 0.5 mL와 1% dansyl chloride acetone 용액 0.8 mL를 가하여 혼합한 후 45℃ water bath에서 1시간 유도체화 하고, 10% proline 용액 0.5 mL와 ether 5 mL를 가하여 10분간 진탕하고 상층액을 취하여 질소농축한 뒤 아세토니트릴 1 mL를 가하여 여과한 것을 HPLC system (Agilent 1200 series, Agilent Technology, USA)으로 분석하였으며, 분석조건은 Table 2와 같다.

2. 5. 미생물 분리 및 동정

액젓 내의 균을 동정하기 위해 0.1 mL의 액젓을 5%의 NaCl을 포함하는 건조 tryptic soy agar (TSA, Difco, Detroit, MI, USA)에 도말시키고 35℃에서 4일간 배양시켰다. 각각의 서로 다른 특성을 가진 균들을 다시 동일한 함량의 NaCl을 포함하는 TSA에 독립시켜 배양하였고, 배양균이 자란 환경과 동일한 함량의 NaCl을 포함하는 사면배지에 독립균을 도말하여 35℃에서 4일간 배양시켰다.

Table 1. Freshness grade of raw anchovy for manufactured fish sauce during storage at room temperature for 24h

Freshness level	VBN (mg/100 g)	Freshness status
Group I	6.14	very good
Group II	25.00	good
Group III	41.94	a little decomposed
Group IV	127.93	decomposed
Group V	564.96	decomposed
Group VI	1280.33	decomposed
Group VII	1499.63	decomposed

Table 2. Instrument condition for HPLC analysis of biogenic amine

Parameter	Conditions		
Detector	DAD		
Column	ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm)		
Column Temp.	40°C		
Flow rate	1 mL/min		
Run time	40 min		
Gradient	Time(min)	Acetonitrile(%)	Water(%)
	Init-10	55	45
	15	65	35
	20	80	20
	30	90	10
Wavelength	254 nm		

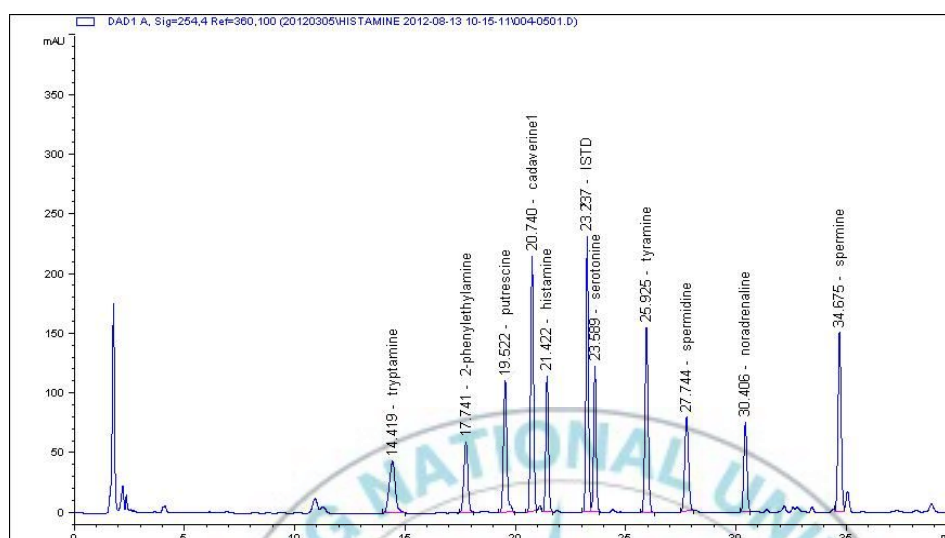


Fig. 1. Chromatogram of biogenic amines in HPLC analysis.

결과 및 고찰

1. 원료 멸치의 선도에 따른 이화학 성분변화

1. 1. 수분, 식염 함량 및 pH

실온에 방치한 각 구간별 멸치원료의 수분 및 식염함량, pH를 측정하여 Fig. 2-4에 나타내었다. 수분은 69.57-72.15%로 Group III에서 $69.57 \pm 0.70\%$ 로 가장 낮았고, Group II에서 $71.32 \pm 0.82\%$ 로 가장 높았다. 각 실험구간별로 미미한 차이는 있었으나 선도에 따른 뚜렷한 경향은 나타나지 않았다. 원료의 식염함량은 1.15-1.27%로 Group I에서 1.15%로 가장 낮았으며 Group III에서 1.27%로 가장 높은 함량을 나타냈지만, 수분과 마찬가지로 선도에 따른 경향을 보이지는 않았다. pH값은 6.29-6.74를 나타내며 Kim(2012)의 선도별 젓갈연구 중 생멸치 pH 분석결과인 6.36-6.53의 범위보다 편차는 다소 높았지만, 이는 원료의 선도가 조금씩 차이가 있기 때문으로 사료되며, 평균값은 차이가 크게 나타나지 않고, 원료가 신선할수록 낮은 pH값을 나타나는 경향은 비슷하게 나타났다. 일반적으로 어육은 즉사 후 pH값이 감소하다가 상승하는 경향을 나타내는데, 본 연구에 이용된 원료는 어획 후 구매하기까지 또는 빙장상태로 운송하는 과정 중 pH감소가 일어났으며 실험에 들어가며 서서히 pH가 증가한 것으로 사료된다.

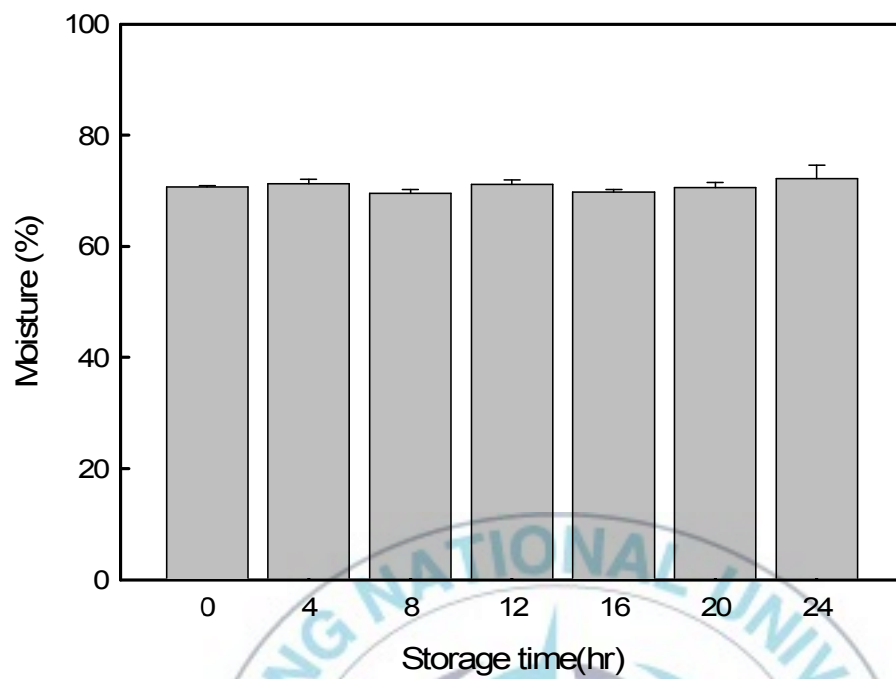


Fig. 2. The contents of moisture in raw anchovy by storage time.

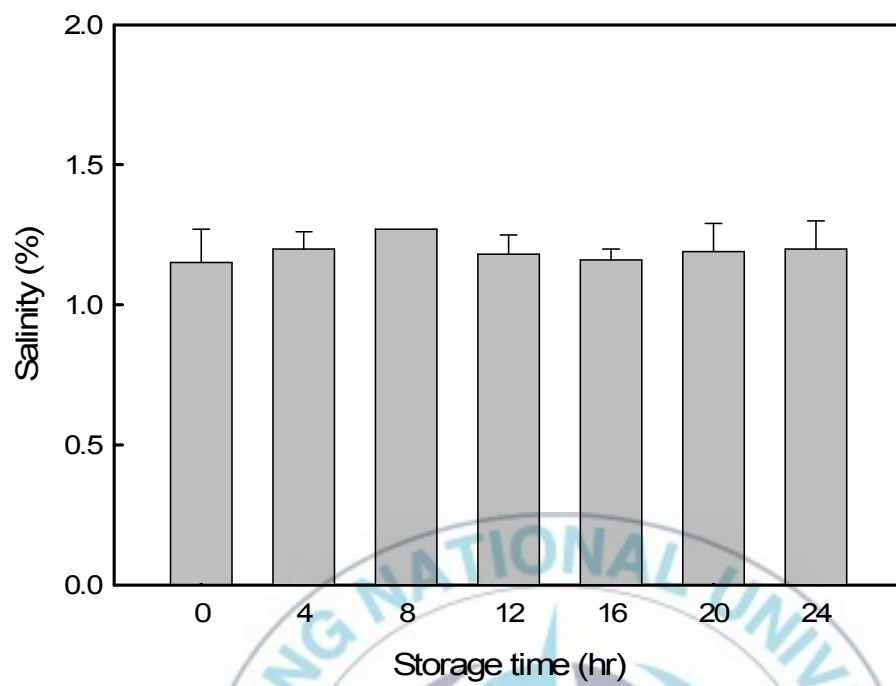


Fig. 3. The contents of salnity in raw anchovy by storage time.

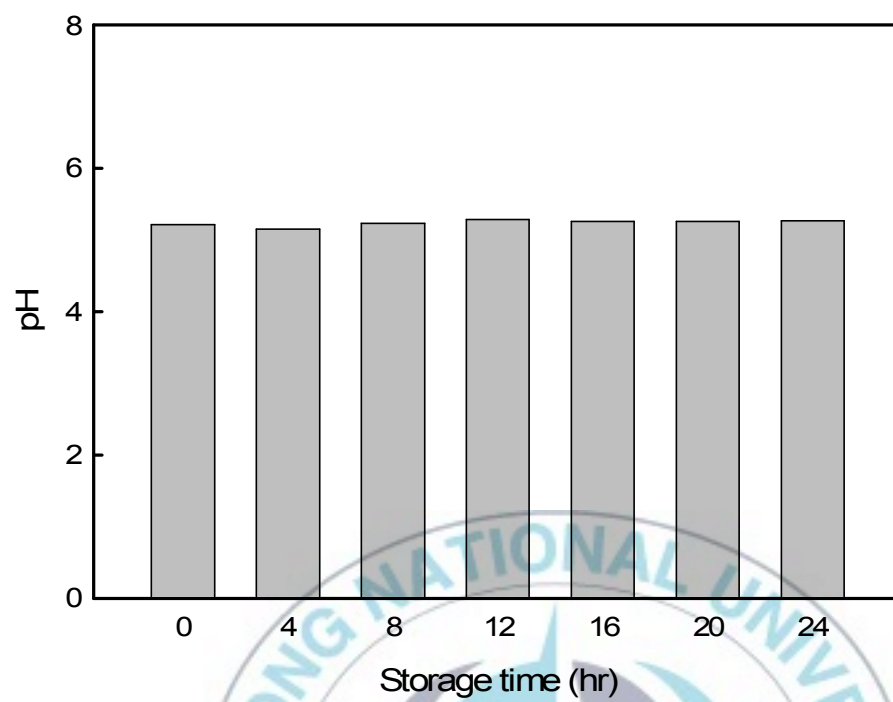


Fig. 4. pH of raw anchovy by storage time.

1. 2. 총 질소 및 아미노산성 질소

구간별 멸치원료의 총 질소 및 아미노산성 질소를 fig. 5, fig. 6에 나타내었다. 총 질소 함량은 식품의 기준 및 규격(MFDS, 2012)에서 1.0%이상으로 설정한 액젓의 품질에 대한 유일한 요소로 액젓 발효에 앞서 선도별 멸치의 함량은 2.70-2.99%로 Kim(2012)의 결과인 1.89-2.0%보다 다소 높은 결과가 나타났으나 국립수산물과학원에서 제시한 멸치의 단백질 함량인 17.7%와 비교하여 단백질환산계수(6.25)를 곱했을 때 큰 차이는 나타나지 않았다(NFRDI, 2013). Group VI에서 총 질소 함량이 2.70 %로 가장 낮았으며 GroupVII에서 2.99%로 가장 높게 나왔다. 아미노산성 질소는 유리아미노기로 존재하는 질소의 화학형태를 말하는 것으로 아미노기 말단을 갖는 화합물의 총량을 가리키는 식품의 품질지표항목으로 쓰이고 있다. 아미노산성 질소의 함량이 높다는 것은 시료 내 단백질이 미생물 또는 자가분해 효소에 의해 저분자 펩타이드를 거쳐 아미노산으로 분해된 양이 많다는 것을 의미한다. 구간별 생멸치의 아미노산성 질소의 함량은 363.07-633.65 mg/100 g 으로 Group IV에서 가장 낮았고, Group VII에서 가장 높은 함량을 나타내었다.

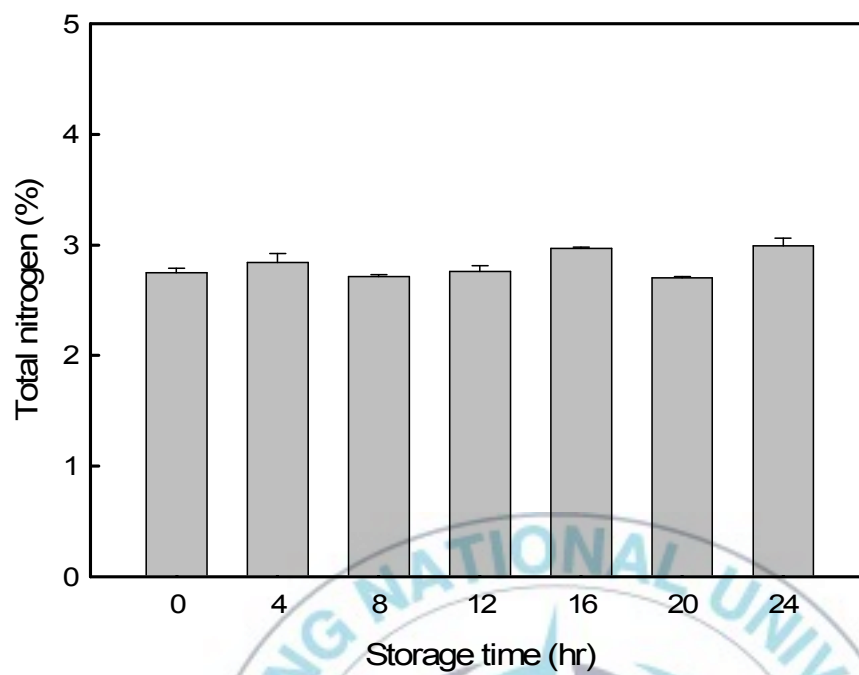


Fig. 5. The contents of total nitrogen in raw anchovy by storage time.

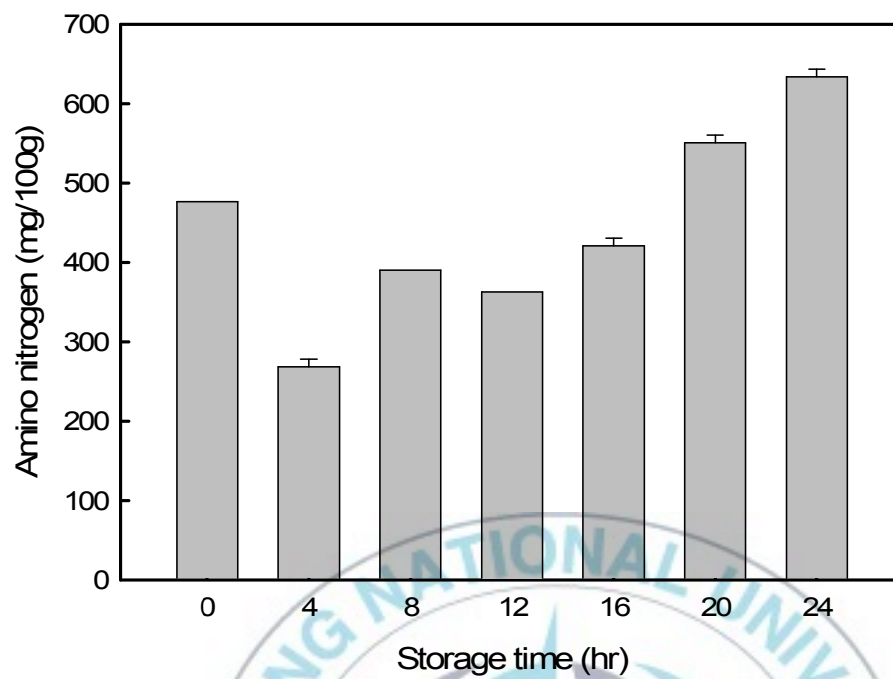


Fig. 6. The contents of amino nitrogen in raw anchovy by storage time.

1. 3. 휘발성 염기질소 및 histamine

휘발성 염기질소는 암모니아를 주로 하여 TMA, DMA 등으로 구성되는 아민류로 즉사직후에는 그 양이 미미하지만 시간이 지날수록 늘어나 수산물의 선도판정에 중요한 요인으로 신선한 어류에서는 5-10 mg/100 g, 보통 신선어육에서는 15-25 mg/100 g, 초기부패는 30-40 mg/100 g, 50 mg/100 g 이상에서는 부패한 것으로 간주한다. 각 구간별 멸치원료의 휘발성 염기질소 함량은 Fig. 7에 나타내었다. Group I의 경우 휘발성 염기질소 함량은 16.29 ± 0.39 mg/100 g 이었고, 방치 4, 8시간차인 Group II와 Group III은 각각 17.30 ± 1.20 mg/100 g, 20.64 ± 1.40 mg/100 g으로 신선한 상태는 아니었지만 보통의 어육의 범주에 속하는 선도였다. Group IV에서부터 29.68 mg/100 g으로 초기부패의 현상을 보였으며, Group V는 45.02 ± 2.07 mg/100 g으로 이미 부패가 진행되었고, 이후 Group VI, VII는 79.38 ± 7.61 mg/100 g, 87.65 ± 2.43 mg/100 g으로 급격한 선도저하가 진행되었다.

각 구간별 멸치원료의 histamine 함량은 fig. 7에 나타내었다. Group I의 histamine 함량은 6.14 mg/kg으로 상당히 낮은 수준이었으며 방치 4, 8시간차인 Group II, III에서는 25 mg/kg, 41.94 mg/kg으로 점진적으로 증가하다 12시간차인 Group IV에서는 127.93 mg/kg으로 급격히 늘어나며 Group V, VI, VII에서는 564.96 mg/kg, 1280.33 mg/kg, 1499.63 mg/kg으로 상당히 가파른 기울기를 보이며 전체적인 증가율이 휘발성 염기질소의 함량과 비슷한 경향을 보였다.

Histamine의 생성의 주원인인 decarboxylase는 대부분의 식품 부패 미생물이 가지고 있는 효소로, 단백질을 함유하는 식품에 대해 histamine은 부패 지표로 사용이 가능하므로, 식품중 histamine 및 putrescin 등의 함유량을 부패의 척도로 이용하고 있다(Bard'ocz, 1995; Ruiz-Capillas et al., 2001; Shalaby, 1996).

Codex에서는 수산물에 대해 부패의 지표로 테스트 된 검체의 평균값이 10 mg/100 g이상이면 안되고, 위생취급에 대한 지표로 어떤 제품이

은 20 mg/100 g이상을 넘지 못하도록 규정하고 있다(CODEX, 1995). 미국의 FDA에서는 참치와 mahi-mahi 등 관련 어종에 대해 histamine을 500ppm이하로 guidance level을 설정하고, 대상 어종에 따라 histamine이 균일하지 않기 때문에 50ppm을 'defect action level'로 정하여 50 ppm 또는 그 이상을 부패지표로 규정하였으며(USFDA, 2009), EU에서는 고등어과, 청어과, 멸치과, 안새기과 등의 어류에 9부분의 검체를 채취하여 histamine 평균함량이 100 mg/kg을 넘지 않아야 하고, 2개 검체의 함량이 200 mg/kg일 수 있지만, 모든 검체가 200 mg/kg을 초과해서는 안 된다고 규정하고 있다. 현재 국내에서는 수산물에 대한 규격 중 냉동식용어류머리에서 다량어류에 한해서만 200 mg/kg으로 규격으로 하고 있다(MFDS, 2013).

휘발성 염기질소와 히스타민 함량을 고려해 보면, Group I, II, III의 원료는 액젓을 제조하기 위해 적합한 선도를 지닌 것으로 판단할 수 있으며, 12시간차인 Group IV부터는 휘발성 염기질소에서는 초기부패, histamine 함량은 Codex 등 해외의 기준을 초과하므로 액젓의 원료로는 적절하지 않다고 판단된다.

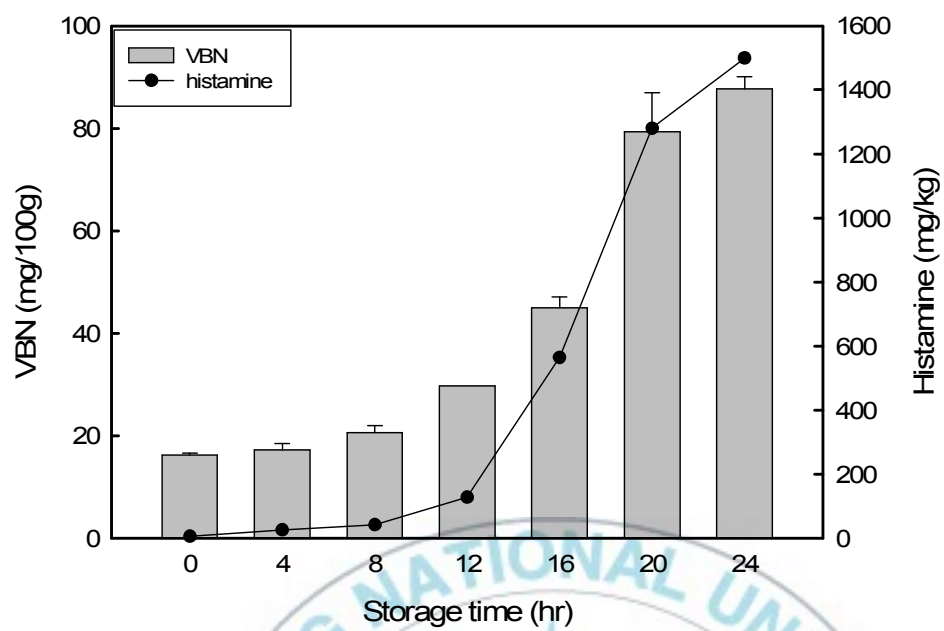


Fig. 7. The contents of volatile basic nitrogen and histamine in raw anchovy by storage time.

2. 원료 멸치의 선도가 액젓 품질에 미치는 영향

2. 1. 수분, 식염 함량 및 pH

원료의 선도에 따라 제조된 멸치액젓의 숙성 중 수분함량의 변화를 fig. 8에 나타내었다. 3개월차에서는 66.03–67.77%로 각 구간별로 큰 차이가 없었으며 6개월차까지 서서히 감소하여 64.35–65.58%로 나타났으며 이후에는 모든 구간에서 수분함량을 유지하는 경향을 보이며 18개월차에서는 64.33–66.59%를 나타내었다. 지금까지 보고된 시판멸치액젓(Choi et al., 1998; Oh, 1995; Park, 1995; Lim, 2000; Lee, 2013)의 수분함량범위는 63.3–72.8%로 본 연구결과와 비교해보았을 때 평균값이 다소 높은 것으로 나타났다. Lee(2013)는 직접 전통방식으로 제조하여 1년간 발효시킨 멸치액젓의 수분함량의 평균은 $65.84 \pm 0.08\%$ 로 보고하였고 이는 본 연구의 12개월 차에서 모든 구간의 수분함량이 65.13–66.43% 인 것과 차이가 거의 없었다. 수분함량은 액젓의 숙성기간 및 염수첨가유무 등을 판별할 수 있는 중요한 인자 중 하나로, 본 연구결과 원료의 선도에 따른 액젓의 수분함량차이는 거의 없었으므로 시판 액젓의 높은 수분함량은 액젓제조 후 염수를 첨가한 것으로 사료된다. 이러한 결과는 상당수의 제조업체에서 액젓의 제조 단가 저감화를 위해 염수 등을 첨가한다고 보고한 Lim(2000)등의 의견과 비슷하게 판단된다.

원료의 선도에 따라 제조된 멸치액젓의 식염함량의 변화는 fig. 9에 나타내었다. 3개월차의 식염함량은 23.74–24.04%로 구간별 차이는 다소 있었지만 원료의 선도에 따른 경향은 없었으며 18개월간의 발효기간동안 유지되는 경향을 보였다. Lee(2013)의 연구에 따르면 현대 시판 멸치액젓의 식염 함량 범위는 22.2–25.4%, 평균값이 24.22%로 본 연구결과보다 조금 높은 값을 보이지만 유의적인 차이는 없으며, 편차도 크지 않은 것으로 보인다. 이는 시판 멸치액젓 원료의 상태는 알 수 없지만, 염수를 첨가한다는 사실을 고려해 볼 때, 전통적인 액젓의 맛을 고려하여 제조업체에서 그와 비슷한 정도의 짭 맛을 내기 위해 식염함량을

일정하게 표준화 하여 첨가하는 것으로 사료된다.

원료의 선도에 따라 제조된 멸치액젓의 숙성중 pH변화는 fig 10에 나타내었다. 발효 3개월차에서 멸치액젓 pH의 범위는 5.12-5.26로 선도에 따른 유의적인 차이는 나지 않았지만, Group I 은 5.12, Group VII 는 5.26으로 선도가 좋지 않은 원료로 만든 액젓일수록 pH가 높아지는 경향이 있었다. 6개월차에서 pH의 범위는 5.26-5.38로 대체적으로 높아졌으며 9개월차에는 5.27-5.39로 pH값을 유지하는 경향을 보였다.



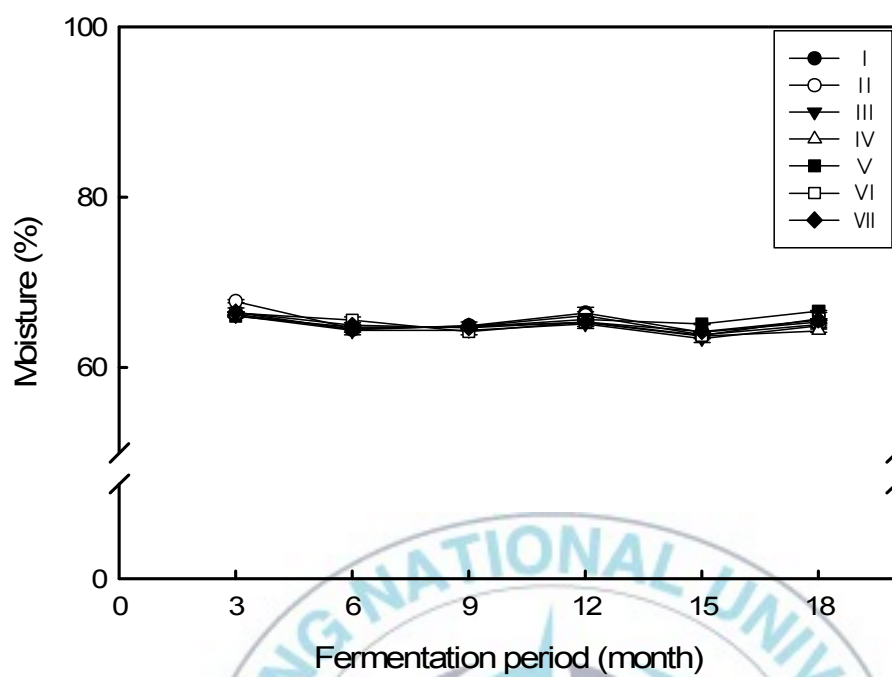


Fig. 8. The change of moisture contents of anchovy fish sauce by freshness levels of raw materials during fermentation at 25°C.

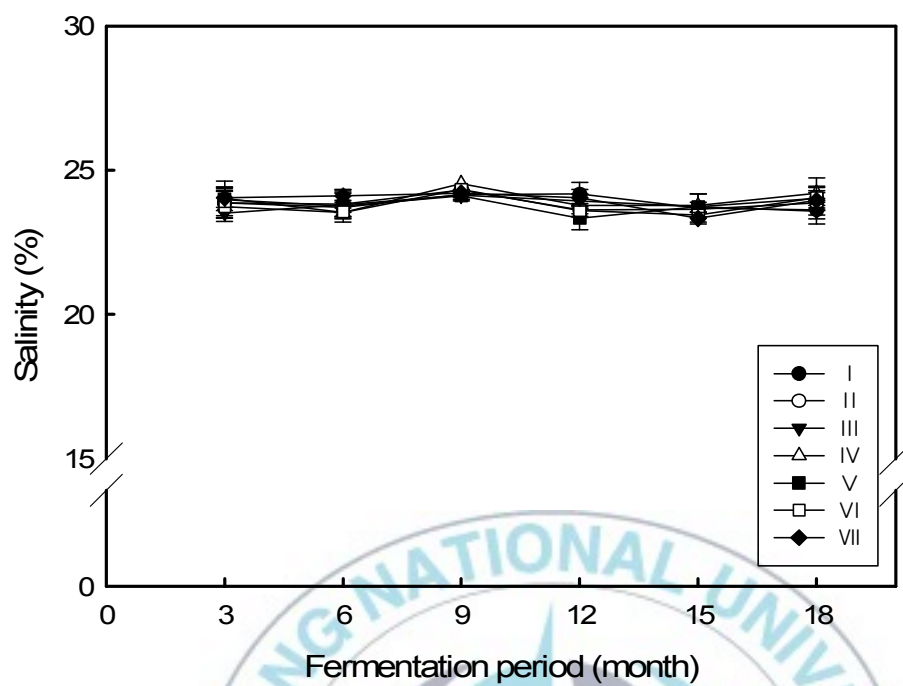


Fig. 9. The change of salinity contents of anchovy fish sauce by freshness levels of raw materials during fermentation at 25°C.

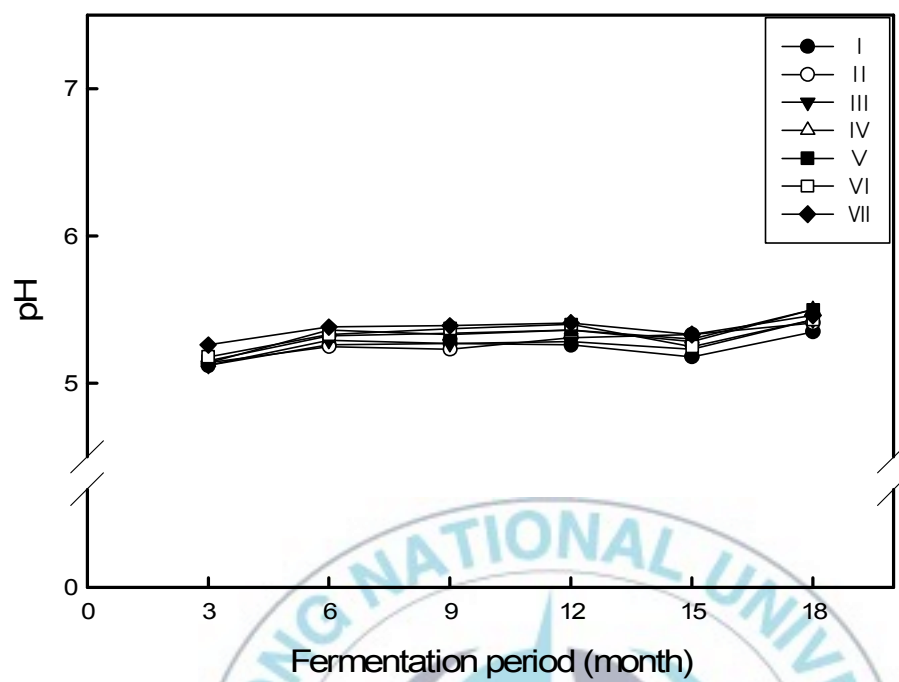


Fig. 10. The change of pH of anchovy fish sauce by freshness levels of raw materials during fermentation at 25°C.

2. 2. 총 질소

원료의 선도에 따라 제조된 멸치액젓의 발효중 총 질소 함량의 변화는 Fig. 11에 나타내었다. 발효 3개월차에는 먼저 선도가 양호한 구간인 Group I, II, III에서 각각 1.07 ± 0.04 , 1.14 ± 0.02 , $1.20 \pm 0.02\%$ 로 나왔으며 선도가 좋지 않은 Group IV, V, VI, VII에서는 각각 1.31 ± 0.00 , 1.43 ± 0.02 , 1.54 ± 0.01 , $1.60 \pm 0.00\%$ 로 나타났다. 전체적으로 액젓 원료의 선도가 좋지 않을수록 높은 총 질소 함량을 보였으며 이는 선도가 나뉠수록 부패에 관여하는 미생물 및 자가분해 효소에 의해 원료인 생멸치 단백질의 분해가 더욱 빠르게 이루어져 저분자 펩타이드 및 아미노산이 액으로 이행되었을 것으로 사료된다. 이후 발효가 진행되면서 총 질소함량은 모든 구간에서 순차적으로 증가하는 경향을 보이며 구간사이의 편차가 서서히 줄어들면서 12개월차에 들어서는 2.02–2.13%로 구간별 차이가 줄었으며, 15개월차에서는 2.05–2.11%로 서서히 증가 하였으며 18개월차에서는 2.18–2.23%로 나타났다. 평균은 2.08%로 Lee(2013)가 직접 제조한 액젓의 총 질소함량인 2.02%와 큰 차이가 나지 않았다. 이러한 결과는 각 구간별로 원료육과 비교하여 Group I–VII까지 가수분해율이 74.58–80.74%정도 가용화 된 것으로 Cho(2000)의 연구결과인 87%보다 다소 낮은 수치인 것으로 미루어보아 숙성시간이 지날수록 총 질소 함량은 더욱 높게 나타날 것으로 사료된다.

총 질소함량은 액젓의 품질을 알 수 있는 가장 중요한 인자중 하나로, 현재 국내에서는 규격을 TN 1.0%이상으로 정해져 있다(MFDS, 2013). 우리나라와 더불어 액젓의 생산 및 소비량이 많은 태국에서도 총 질소함량을 액젓의 품질지표로 삼고 있다. 하지만, 태국의 경우 액젓의 총 질소함량이 2% 이상인 경우 1등급, 1.5–2%인 경우 2등급으로 지정하여 국내의 기준보다 더 세분화 하여 엄격하게 관리하고 있다(Hjalmarsson et al., 2007; Lopetcharat et al., 2001, TISI, 1983). 특히 총 질소함량이 1.5%미만의 액젓은 원액을 희석하거나 다른 물질을 혼합했다고 반드시 표기를 하며, 원액액젓이라는 표기를 금지하는 등의 조치가 이뤄지고

있다(Brillantes, 1999).

Lim(2000)은 시판액젓 조사결과 0.93–2.20%의 총 질소함유량을 보고했고, Lee(2013)는 0.73–1.61%로 보고했다. 본 연구결과 대부분의 구간에서 발효기간이 12개월이 지나면서 총 질소함량은 2.0%이상이거나 그에 준하는 함량으로 Lim(2000)의 시판액젓 조사결과중 상위부분과 비슷한 함량을 보이고, Lee(2013)의 시판액젓 조사결과보다 높았다. 이는 원료의 선도가 최종 발효된 액젓에서의 총 질소함량에 미치는 영향은 거의 없는 것으로 사료된다. 발효초기에는 선도가 낮을수록 총 질소함량이 더 높았으나, 시간이 지날수록 모든 구간에서 증가하여 각 구간의 편차가 서서히 줄어들며 비슷한 수준이 되었다. 이는 가용화 될 수 있는 상당부분의 단백질이 분해되었으며, 선도가 좋지 않은 원료로 제조한 액젓일수록 초기에 많은 분해가 일어나 시간이 지날수록 그 수준이 더디게 진행된 것으로 사료된다.



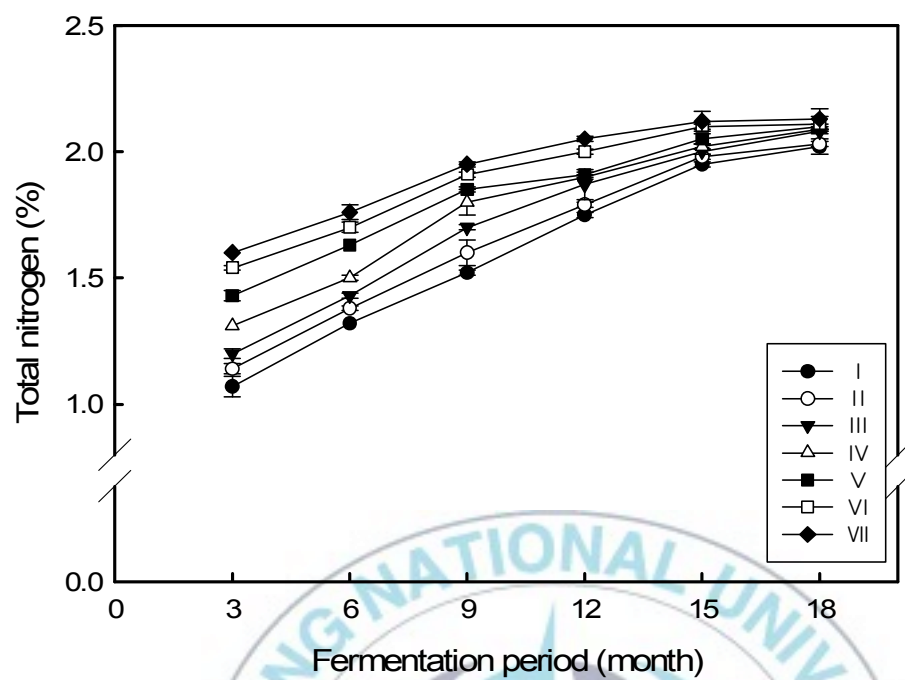


Fig. 11. The change of total nitrogen of anchovy fish sauce by freshness levels of raw materials during fermentation at 25°C.

2. 3. 아미노산성 질소

원료의 선도에 따라 제조된 멸치액젓의 발효 중 아미노산성 질소함량 변화를 fig. 12에 나타냈다. 발효 2개월차에서 Group I – VII까지 각각 800.30 mg/100 g, 855.12 mg/100 g, 887.52 mg/100 g, 935.11 mg/100 g, 964.95 mg/100 g, 1016.67 mg/100 g, 1060.58 mg/100 g로 총 질소함량과 비례하여 선도가 좋지 않은 원료로 제조한 액젓일수록 점차적으로 높아져 갔다. 이는 총 질소함량과 같이 선도가 나쁠수록 미생물, 호염성세균 및 자가분해 효소의 영향을 많이 받아 더 많은 비율의 단백질이 저분자 펩타이드 및 아미노산으로 분해되어 액젓에 가용화된 것으로 사료된다. 3개월차에서 Group I – V의 경우는 900.30 mg/100 g, 955.12 mg/100 g, 1148.06 mg/100 g, 1149.43 mg/100 g, 1203.70 mg/100 g로 약간 증가한 반면, Group VI, VII에서는 1208.95 mg/100 g, 1151.69 mg/100 g로 다소 감소하는 경향을 보였다. 이후로는 모든 구간에서 점진적으로 그 함량이 증가하다 10.5개월차에서 모든 구간이 다소 감소하는 경향을 보였지만 이후로는 총 질소함량과 비례하여 계속적으로 증가하였다. 3개월차에서 829.01–1220.34 mg/100 g이었던 것이 18개월차에서는 1271.31–1398.98 mg/100 g로 분포범위가 다소 줄어든 경향을 보이는데 이는 총 질소함량과 같은 이유로 각 구간사이의 아미노산성 질소함량의 차이가 줄어든 것으로 사료된다.

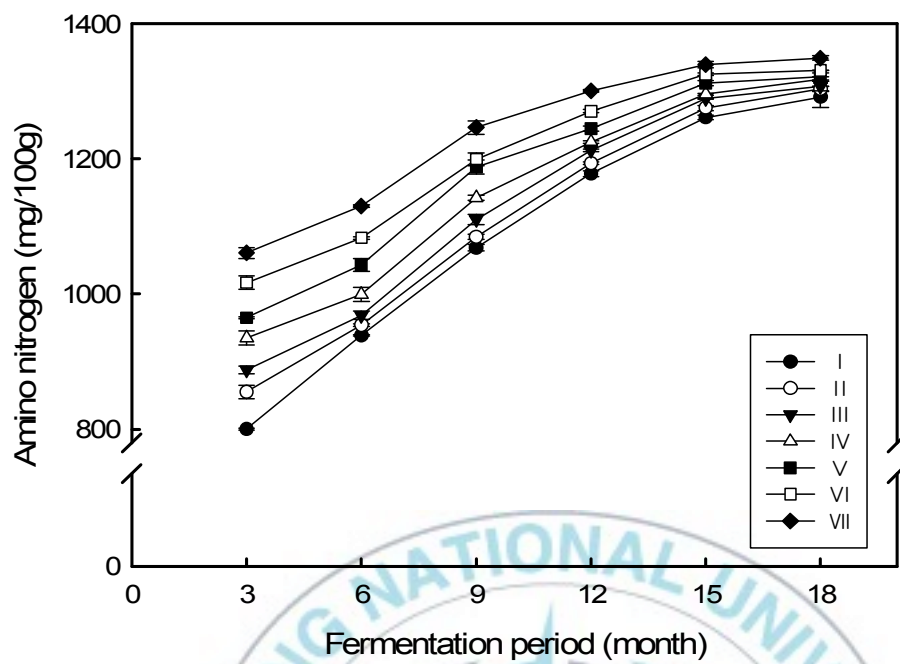


Fig. 12. The change of amino nitrogen of anchovy fish sauce by freshness levels of raw materials during fermentation at 25°C.

2. 4. 휘발성 염기질소

원료의 선도에 따라 제조된 멸치액젓의 발효중 휘발성 염기질소 함량을 fig. 13에 나타내었다. 2개월차에서는 Group I-VII까지 66.31-149.42 mg/100 g의 범위를 나타내며 선도가 낮을수록 휘발성 염기질소의 함량이 높아지는 경향은 일치하였다. 발효기간이 지날수록 전 구간에서 휘발성 염기질소 함량이 증가함과 더불어 10.5개월과 12개월차에서는 각각 94.64-187.8 mg/100 g, 113.40-211.80 mg/100 g으로 각 구간별 차이가 가장 컸다. 통계적으로 봤을 때 10.5개월차에서는 Group I-V까지 각각 94.64, 106.53, 120.03, 155.42, 181.32 mg/100 g으로 모두 유의적인 차이가 났으며($P < 0.05$), Group VI, VII은 각각 187.88, 191.65 mg/100 g로 유의적인 차이가 없었다($P > 0.05$). 12개월차 액젓에서도 10.5개월차 액젓과 같은 맥락으로 Group I, II는 유의적인 차이가 없었으며, Group V, VI에서도 유의적인 차이가 없었지만, 그 외 모든 구간에서 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다.

멸치액젓 발효 중 휘발성 염기질소 함량은 발효초기에 1차 증가한 후, 발효 4-5개월차에 다시 증가하며 이는 멸치젓갈 숙성에 관여하는 미생물의 RNA-depolymerase 활성과 관계가 있으며, 호염성 박테리아 수가 증가하면서 RNA-depolymerase 활성도 증가하여 nucleotide가 5-mononucleotide로 분해되기 때문에 2차적으로 휘발성 염기질소 함량이 증가한다(Lee, 1997). 본 연구에서는 숙성초기에 증가하는 결과는 없었지만, 4.5개월-6개월 사이에 다른 시기에 비해서 휘발성 염기질소 함량이 더욱 증가한 결과는 앞의 결과와 일치한다.

본 연구결과 초기 원료의 선도에 따라 발효중의 액젓에서의 휘발성 염기질소 함량이 유의적인 차이를 보였으며, 모든 구간에서 발효기간동안 점진적으로 증가하였다. 이는 휘발성 염기질소가 멸치액젓에 이용된 원료의 선도를 구분할 수 있는 하나의 지표임을 확인함과 동시에 초기 원료의 선도관리가 상당히 중요함을 나타내고 있다.

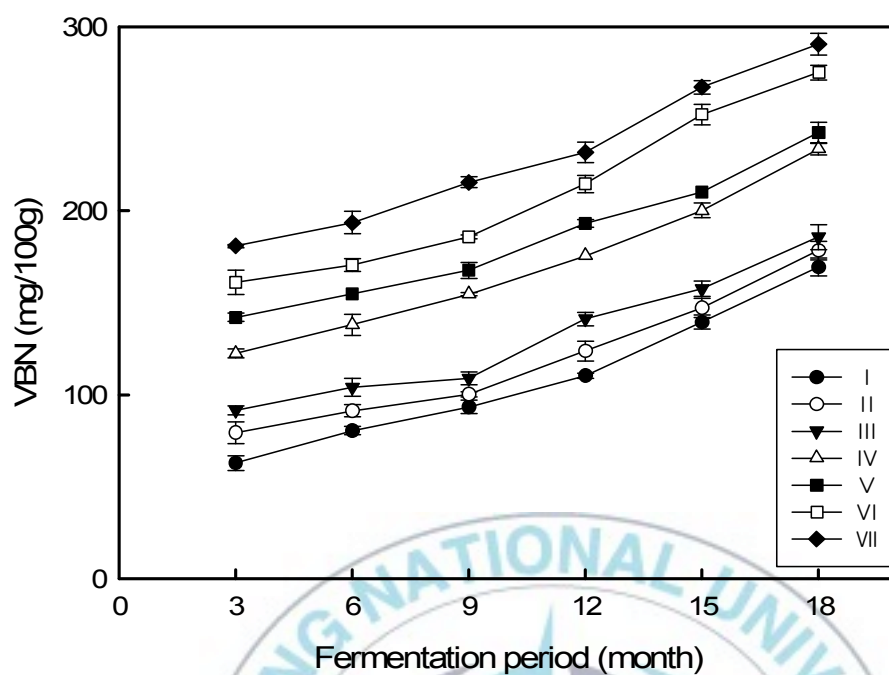


Fig. 13. The change of volatile basic nitrogen contents anchovy fish sauce by freshness levels of raw materials during fermentation at 25°C.

2. 5. Histamine

원료의 선도에 따라 제조된 멸치액젓의 발효 중 histamine 함량변화를 fig. 14에 나타내었다. 앞의 결과를 토대로 원료의 선도는 histamine의 생성에 아주 큰 영향을 미치며, 최근에 들어서 국내 식약처에서도 몇몇 수산물에 대해 histamine의 함량을 규정지를 만큼 현대사회에서 histamine은 식품의 안전성을 평가하는 중요한 지표이다. 원료에서 휘발성 염기질소와 histamine 함량이 비슷한 경향을 보이는 것과 같이 발효 2개월차에서 Group I-VII까지 각각 36.40, 42.56, 48.54, 236.12, 698.14, 1195.86, 1493.05 mg/kg의 histamine 함량을 보이며 원료의 선도가 좋지 않았던 Group IV부터 선도가 낮아질수록 급진적인 증가를 나타냈다. Ryu(2012)는 원료의 운송조건에 따라 제조한 액젓으로 histamine 검출량을 확인한 결과, 저온과 상온 모두 6시간의 운송시간과 12시간의 운송시간사이에는 유의차가 없다는 연구결과는 본 연구결과와 다소 다른 결과를 나타냈다. 본 연구에서 상온 8시간차인 Group II의 경우 원료의 histamine 함량은 41.94 mg/kg, 발효 18개월차에는 150.38 mg/kg의 함량을 나타내며 비교적 낮은 함량을 보였다.

현재 액젓에 대한 국내의 기준이 정해지지 않은 반면, 캐나다에서는 최대 수치가 200ppm이하, 미국에서는 500ppm이하로 규정하고 있으며 (Brillantes, 2002), Codex에서는 액젓을 포함하여 수산물 및 가공품에 대해서 위생지표로 200ppm을 제시하였으나, 일반 수산물에 비해 그 섭취량이 매우 작아 그 이상의 histamine 함량에도 인체에 무해하다는 태국에서의 실험적인 안전에 의해 2011년에서야 액젓에 대한 규정을 개정하였으며, 위생지표로 40 mg/100 g으로 섭취허용량을 대폭 늘렸다 (Codex, 2010, 2011). 뉴질랜드에서도 코덱스의 재개정된 규정과 관련하여 자국의 규정인 200 mg/kg를 더 높게 설정해야 할 필요성이 있다고 제시했다(MAF, 2011). MAF(2011)는 성인이 하루 40ml의 액젓을 섭취한다고 가정할 때, 550 mg/kg를 섭취해야 독물반응이 일어난다는 내용에 기초하여 현재 Codex의 규정도 여전히 논의중이라는 의견을

내고 있다.

본 실험결과를 가장 권위있는 식품규격 기관중 하나인 Codex의 기준과 비교해보면, 18개월차의 액젓에서 Group I, II, III이 348.21 mg/kg, 120.54 mg/kg, 150.38 mg/kg으로 이에 부합하며, GroupIV-VII은 430.14- 1707.22 mg/kg으로, 초기 histamine 함량이 기준에 부합하지 못했던 원료로 제조한 액젓들은 발효 후 액젓의 위생기준에도 적합하지 않았다. 이와 같은 결과는 초기 원료의 선도와 발효과정 중 또는 발효가 완료된 액젓의 histamine 생성량에 아주 큰 영향을 미치며, histamine이 저감화 된 액젓을 생산하기 위해서 무엇보다도 원료의 선도관리가 가장 중요하다고 판단된다.



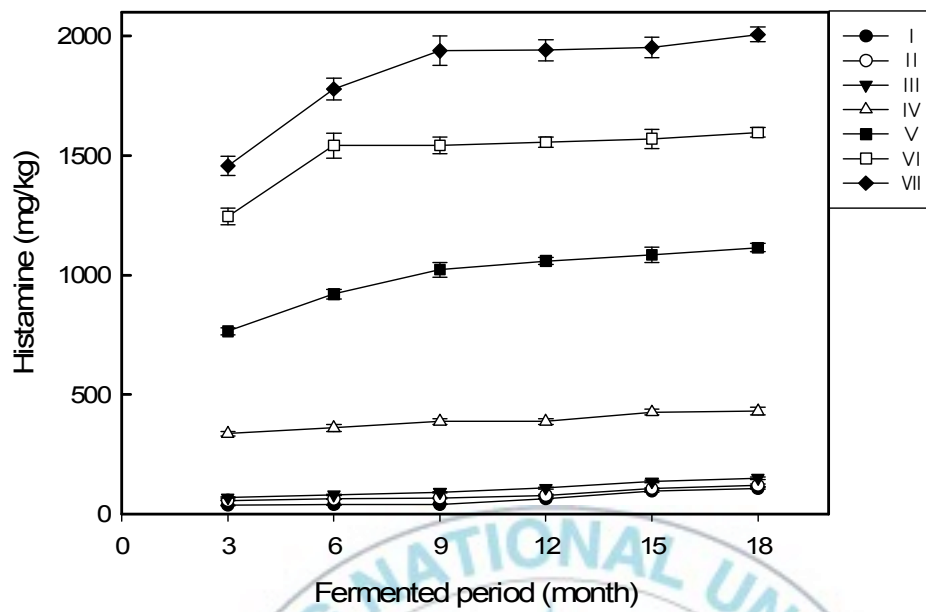


Fig. 14. The change of histamine contents of anchovy fish sauce during fermentation at 25°C.

3. 원료 멸치의 선도가 액젓 내 미생물에 미치는 영향

3. 1. 미생물 동정 및 histamine 생성능

액젓을 tryptic soy agar plate 상에서 균들을 배양한 다음 colony의 형태, 크기 및 점질물 생성 정도 등에 따라 TSA 배지에 분리하여 배양된 균주를 동정분석에는 초미량의 각종 건조 배지 및 생화학적 반응물이 들어 있는 64개 마이크로웰의 플라스틱 카드를 사용하였는데, 카드의 마이크로웰 내부에서 균이 증식 및 대사가 이루어지고, 이러한 화학반응의 변화가 매 15분마다 transmittance/ colorimetry optics에 의하여 측정되어 VITEK 2 COMPCAT의 프로그램 상에서 분석되었다.

일반적으로 biogenic amines는 식품의 제조 및 저장 과정 중 열에 의해 또는 미생물의 효소적 탈탄산 반응에 의해 생성된다. 선행연구에 따르면 이에 관여하는 미생물로는 *Aerococcus viridans*, *Alloiococcus otitis*, *Bacillus coagulans*, *B. megaterium*, *Tetragenococcus muriaticus*, *T. halophilus*, *Enterobacter cloacae*, *Paenibacillus tyramiegenes*, *Pantoea* sp., *P. agglomerans*, *Morganella morganii*, *M. psychrotolerans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Lactobacillus* sp., *L. brevis*, *L. sakei*, *L. mesenteroides*, *Staphylococcus* spp., *S. epidermidis*, *S. capitis*, *Kocuri kristinae*, *Gardnerella vaginalis*, *Leuconostoc mesenteroides* 등이 있다(Kimuar et al., 2001; Satomi et al., 2008; Tsai et al., 2005; Emborg et al., 2006; Hernandez-Herrero et al., 1999; Mah et al., 2003; Cho, 2008; S. Muhammad et al., 2009). 각 구간별로 액젓에 영향을 미친 미생물을 알아보기 위해 미생물을 분리, 배양, 동정하여 Table 2에 나타내었다. 각 구간별로 다른 미생물들이 동정되었으며, 선도가 좋지 않은 원료로 제조한 액젓인 Group V, VI, VII에서 공통적으로 *Leuconostocmesenteroides* ssp. *cremoris*가 동정되었다. 각 균들의 히스타민 생성능을 확인하기 위해 5%의 NaCl을 포함하는 TSB-histidine

에 접종 후 35℃에서 4일간 배양하여 생성된 histamine 함량을 Table 3에 나타내었다. Group II와 VII에서 동정된 *Staphylococcus hominis*, Group IV의 *Kocuria kristinae*, Group III, VII의 *Staphylococcus epidermidis*, Group V의 *Pantoea spp.*, Group V, VI, VII의 *Leuconostoc mesenteroides ssp. Cremoris*가 포함된 TSB-hisditine에서 각각 histamine이 생성되었으며 그 외의 미생물이 배양된 배지에서는 histamine이 검출되지 않았다. *Leuconostoc mesenteroides ssp. Cremoris*는 다른 미생물에 비하여 두배 이상의 histamine을 생성하여 본 실험에 동정된 미생물 중 히스타민 생성능이 가장 강한 것으로 나타났다.



Table 3. Identification of strains isolated from fish sauce by VITEK 2 COMPACT

Group	Species
I	<i>Aeromonas salmonicida</i>
II	<i>Staphylococcus hominis</i>
III	<i>Granulicatella adiacens</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus lentus</i>
IV	<i>Globicatella sanguinis</i> <i>Enterococcus cecorum</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i> <i>Kocuria kristinae</i> <i>Gardnerella vaginalis</i>
V	<i>Pantoea spp</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides ssp. Cremoris</i>
VI	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris</i>
VII	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris</i>

Table 4. Quantification of histamine produced in TSB–histidine by isolated bacteria strains after incubation of 4 days at 35°C

Species	Histamine produced (mg/kg)
<i>Aeromonas salmonicida</i>	ND
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ND
<i>Granulicatella adiacens</i>	ND
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	ND
<i>Staphylococcus lentus</i>	ND
<i>Globicatella sanguinis</i>	ND
<i>Enterococcus cecorum</i>	ND
<i>Gardnerella vaginalis</i>	ND
<i>Staphylococcus hominis</i>	3.79–4.88
<i>Kocuria kristinae</i>	6.24–10.36
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8.65–11.51
<i>Pantoea spp.</i>	13.11–20.24
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris</i>	42.88–54.18

ND : Not detected

요 약

본 연구에서는 원료의 선도가 발효 중 액젓에 끼치는 영향을 알아보기 위해 생멸치를 상온에 24시간 방치하며 4시간별로 각 구간을 나누어 액젓을 제조하였다. 선도별 원료 및 시기별로 액젓을 여과하여 액젓의 품질 측정 인자라고 할 수 있는 수분, 식염, pH, 총 질소, 아미노산성 질소를 측정하고, 각 원료의 선도 및 액젓의 위생 상태를 판별하기 위해 휘발성 염기질소, histamine 함량을 비교 분석하였다. 이를 통해 선도별 액젓의 품질의 차이를 비교하여 고품질의 위생적으로 안전성 있는 액젓을 제조하기 위한 초기 원료의 선도를 제시하고자 하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 선도별 원료의 수분함량은 69.57-72.15%로 선도에 따른 뚜렷한 경향은 나타나지 않았으며, 액젓의 경우 발효초기 3개월까지는 66.03-66.77%였으며, 18개월 경과 후에는 다소 감소하여 64.33-66.59%이었다. 그러나 원료 멸치의 선도에 따른 액젓의 수분함량은 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다. 식염함량 역시 원료에서는 1.15-1.27%로 선도별 차이가 나타나지 않았고, 18개월차의 액젓에서는 23.74-24.04%로 유의적인 차이가 없었다. pH는 원료에서 선도가 좋은 원료인 Group I에서 선도가 좋지 않은 원료인 GroupVII까지 6.29-6.74로 선도가 낮을수록 높은 pH값을 나타내었지만, 18개월간 발효시킨 액젓에서는 Group I - VII에서 5.30-5.56으로 선도가 높을수록 pH값이 높아지는 경향은 있었지만, 유의적인 차이는 없었다.
2. 총 질소함량은 액젓의 품질을 판정하는데 가장 중요한 인자로, 선도별 원료의 총 질소함량은 Group I - VII에서 2.70-2.99%로 유의적인

차이가 없었으나, 발효 3개월차에서는 각각 1.07-1.60%로 선도가 좋지 않을수록 총 질소함량이 높은 경향을 보였으나 발효기간이 지날수록 전체적인 함량은 높아졌지만, 각 구간별 차이가 줄어들어 18개월차에서는 2.18-2.23%로 원료의 선도에 따른 액젓의 총 질소함량 차이는 나타나지 않았다. 액젓의 맛에 영향을 많이 끼치는 아미노산성 질소함량에서도 총 질소함량과 같이 원료에서는 구간별로 다소 차이가 있었지만, 발효 18개월차에서는 1271.31-1398.98 mg/100 g으로 큰 차이를 보이지 않았다.

3. 휘발성 염기질소는 액젓의 부패취와 밀접한 관계를 가지고 있는 물질로, 선도별로 뚜렷한 차이를 보여 Group I-III은 각각 16.29, 17.30, 20.64 mg/100 g으로 선도가 양호한 편이었지만 GroupIV-VII은 각각 29.68, 45.02, 79.38, 87.65 mg/100 g으로 방치시간이 길어질수록 높아졌다. 발효가 진행될수록 모든 구간에서 휘발성 염기질소 함량이 높아졌으며 원료의 선도가 좋지 않을수록 높은 함량을 보이는 것을 확인했다. 이를 통해, 액젓의 휘발성 염기질소함량을 통해 액젓에 이용된 선도의 판별이 가능할 것으로 사료된다.
4. Histamine은 biogenic amines의 하나로 현재 각종 수산물에서 부패관정 및 위생지표인자로 원료의 histamine 함량은 Group I-VII에서 각 6.14, 25.76, 41.94, 127.93, 564.96, 1280.33, 1499.63 mg/100 g으로 방치시간이 길어질수록 히스타민생성이 빠르게 진행되었다. 18개월간 액젓을 발효시킨 후 histamine의 함량은 모든 구간에서 서서히 증가하며 Group I-VII에서 각각 348.21, 120.54, 150.38, 430.14, 1014.84, 1597.24, 1707.22 mg/100이었다. 국제식품규격위원회인 Codex의 histamine 함량 규격을 살펴보면 원료는 100 mg/100 g이하, 액젓에서는 400 mg/100 g이하로 설정하고 있으며, 본 실험결과 상온방치 0-8시간차인 Group I-III은 원료, 액젓 모두 codex의 규

격을 충족하는 반면, Group IV-VII는 원료 및 액젓에서의 histamine 함량 모두 초과하는 것으로, 액젓의 원료로 이용하기에는 부적합하다고 판단된다.

5. 각 구간별로 액젓에 영향을 미치는 미생물을 파악하기 위해 액젓을 배양하여 동정하였고, 대부분 *Staphylococcus*속이었으며, *Granulicatella*속, *Sphingomonas*속, *Leuconostoc*속, *Globicatella*속, *Pantoea*속, *Kocuria*속 등이 동정되었다. 각 미생물의 히스타민 생성능을 확인하기 위해 histidine이 포함된 배지에 배양한 결과 *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris*가 포함된 배지에서 가장 높은 함량의 histamine이 생성되었다.
6. 원료 멸치의 선도가 멸치액젓의 총 질소함량 및 아미노산성 질소 함량 변화에는 크게 영향을 미치지 못하지만, 휘발성 염기질소와 histamine 함량과는 아주 밀접한 연관성을 보이는 점을 미루어보아 액젓을 제조하기 위한 원료의 선도관리가 어획부터 제조까지 철저히 이루어져야 한다고 판단된다. 이는 멸치액젓의 품질 향상 뿐만 아니라 위생적으로 안전한 제품이 생산되어 유통될 수 있도록 할 것이다.

참 고 문 헌

- A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- Brillantes S., 1999. Histamine in fish sauce-health and safety considerations. Infofish Int., 4, 51-56.
- Bard'ocz S. 1995. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. Trends Food Sci. Tech., 341-346.
- Cho T.Y, 2008. Studies on the Contents and the Formation Factors of biogenic amines in korean commercial foods, Ph. D. thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Cho Y.J., and Im Y.S., 2000. Changes of components in salt-fermented anchovy, *Engraulis Japonicus* Sauce during fermentation, J. Korean Fish. Soc., 33(1), 9-15.
- Codex, 1995. Codex standard for quick frozen finfish, uneviscerated and eviscerated, codex stan 36-1981.
- Codex, 2010. On estimating the risk of developing histamine poisoning from the consumption Thai fish sauces, FFP/31 CRD 18.

Codex, 2011. Codex standard for fish sauce, Codex stan 302-2011.

Emborg, J., Dalgaard P. and Ahrens P., 2006. *Morganella psychrotolerans* sp. nov., a histamine producing bacterium isolated from various seafoods. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 56, 2473-2479.

Hernandez-Herrero, M.M., Roig-Sagues A.X., Rodriguez-Jerez J.J. and Mora-Ventura M.T., 1999. Halotolerant and halophilic histamineforming bacteria isolated during the ripening of salted anchovies (*Engraulis encrasicolus*). J. Food Protec., 62, 509-514.

Hooi R, Barbano DM, Bradley RL, Budde D, Bulthaus M, Chettiar M, Lynch J, Reddy R. 2004. Chemical and physical methods. In, Wehr HM, Frank JF (Eds): Standard Methods for the Examination of Dairy Products. American Public Health Association, Washington D.C., 363-532

Hjalmarsson G.H., Park J.W. and Kristbergsson K., 2007. Seasonal effects on the physicochemical characteristics of fish sauce made from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry, 103, 495-504.

Japanese Ministry of Hygiene, 1973. Food Sanitation Indices. I. Volatile Basic Nitrogens, 30.

- Jo K.J., 2009. Chemical and microbial analyses for biogenic amines in Korean traditional fermented foods Ph.D. thesis, Chungbuk National University Cheongju, Korea.
- Kim B.K., 2012. Impact of the raw material freshness on the quality & safety of salt-fermented anchovy. M.S. thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Kim J.H., Ryo G.H., Ahn H.J., Lee K.Y., Lee K.J., Byun M.W., 2000. Quality Evaluation of Commercial Salted and Fermented Anchovy Sauce, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 29(5), 837-842.
- Kim Y.M., 1996. Processing technique and quality control of fermented seafood. *Bulletin of Food Technology*, 9, 65-86.
- Kimura, B., Y. Konagaya and T. Fujii, 2001. Histamine formation by *Tetragenococcus muriaticus*, a halophilic lactic acid bacterium isolated from fish sauce. *Int. J. Food Microbiol.*, 70, 71-77.
- Lim Y.S., 2000. Suudies on the quality standards forthe grading of salt-fermented fish sauces. Ph.D. thesis, Pukyung National University, Busan, Korea.
- Lee H.H., 2013. Quality Evalution to Determine the Grading of Commercial Salt-Fermented Fish Sauce in Korea. Pukyung National University, Busan, Korea.

- Lee Y.S., Homma S. and Aida K. 1997. Characterization of melanoidinin soy sauce and fish sauce by electrofocusing and high performance gel permeation chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 34, 313-319.
- Lehane L and Olley J., 2000. Histamine fish poisoning revisited. *Int J Food Microbiol.*, 58, 1-37.
- Lopetcharat K, Choi Y.J., Park J.W. and Daeschel M.A., 2001. Fish sauce products and manufacturing : a review., *Food Reviews International*, 17, 65-88.
- Lovenberg W., 1973. Some vaso- and psychoactive substances in food: amines stimulates depressants and hallucinogens. In *toxicants occurring naturally in foods*, National Academy of Science, Washington, DC.
- Mah J.H., Ahn J.B., Park J.H., Sung H.C. and Hwang H.J., 2003. characterization of biogenic amine-producing microorganisms isolated from Myeolchi-Jeot, Korean salted and fermented anchovy. *J. Microbiol. Biotechnol.* 13, 692-699.
- Maria L.N.Enes Dapkevicius, M.J. Rpbert Nout, Frank M. Rombouts, Jacques H. Houben and Wieke Wymenga. 2000. Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 57, 107-114.

Ministry of Agriculture and Forestry, 2011. Survey of Histamine in Fish Products, New Zealand.

Muhammad Z.Z., Abdulmir A.S., Fatimah A. B., Jinap S. and Jamilah B., 2009. A review: Microbiological, physicochemical and health impact of high level of biogenic amines in fish sauce, American Journal of Applied Sciences, 6(6), 1199–1211.

MFDS, 2013. Korea food standard, Chap 5. 24.

MFDS, 2013. Production of food and food additives 2012, p92.

MFDS, 2013. Korea food standard, Chap. 6. 2.

NFRDI, 2009. Chemical composition of marine products in Korea

Ruiz–Capillas C, Morales J, Moral A. 2001. Combination of bulk storage in controlled and modified atmosphere with modified atmosphere packaging system for chilled whole gutted hake. J Sci Food Agric 81, 551–558

Ryu D.Y., 2012. Evaluation of histamine reduction through histamine measurements in anchovy and sand lance sauce during the manufacturing processes and the preliminary risk assessment. M.S. thesis, Korea University. Seoul, Korea.

- Satomi M., M. Furushita, Oikawa H., Takahashi M.Y. and Yano Y., 2008. Analysis of a 30 kbp plasmid encoding histidine decarboxylase gene in *Tetragenococcus halophilus* isolated from fish sauce. *Int. J. Food Microbiol.*, 126, 202–209.
- Shalaby AR. 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International* 29, 675–690.
- Taylor SL., 1986. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. *CRC Crit Rev Toxicol.*, 17, 91–128.
- The Korean society of food science and nutrition, 2000. Food nutrition experiment handbook, Hyo-II p786
- TISI, 1983. Standard for local fish sauce. Bangkok, Thailand: Thai Industrial Standards Institute, Ministry of Industry. ISBN 974–8118–56–8. 10pp.
- Tsai, Y.H., Lin C.H., Chien L.T., Lee T.M., Wei C.I. and Hwang D.F., 2006. Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. *Food Chem.*, 98, 64–70.
- Tsai Y.H., Lin C.H., Chang S.C., Chen H.C., Kung .F., Wei C.I. and Hwang D.F., 2005. Occurrence of histamine and histamine-forming bacteria in salted mackerel in Taiwan. *Food Microbiol.*, 22, 461–467.

USFDA, 2009. Decomposition and Histamine Raw, Frozen Tuna and Mahi-Mahi; Canned Tuna; and Related Species, Compliance Policy Guides, Sec. 540.525



감사의 글

본 논문이 완성될 수 있도록 격려와 조언 주신 모든 분들께 고개 숙여 감사의 인사드립니다. 학문적 지식의 가르침 뿐 만 아니라 인생의 스승으로서, 사람으로서의 모습을 보여주신 조영제 교수님께 가장 먼저 감사의 말씀 전하고 싶습니다.

논문발표와 심사과정 중 조언을 아끼지 않으시고 세세한 부분까지 교열 해 주신 김영목 교수님과 심길보 박사님께 감사드리며 학부와 대학원 과정에서 진정한 학문의 길을 가르쳐 주신 김선봉 교수님, 양지영 교수님, 이양봉 교수님, 전병수 교수님, 안동현 교수님께도 깊은 감사를 전하고 싶습니다.

바쁘신 와중에도 관심과 한없는 사랑 베풀어 주신 김태진, 민진기, 이남걸, 김세환, 정필근, 진석민, 박광호, 이기봉, 박정우, 김배의, 정호진, 김윤철, 김용제, 박철윤, 여해경, 김지연, 손명진, 박현규, 최윤석, 편성식, 장호수 선배님을 비롯한 모든 수산가공 실험실 선배님들께 늘 감사드립니다. 5년간의 실험실 생활에서 함께 했던 오상민, 정상원, 하두성, 김용훈, 김지년, 석진욱, 이흥희, 정규석(진호) 선배님, 언제나 든든한 동기 김보경, 김기동, 손해곤, 이영철, 한정엽, 박효준, 항상 부족한 선배 아래에서 뒷받침이 되어준 정우영, 조재영, 정윤혜, 황재열, 이태관, 최우석, 강세진, 김수민, 김상원, 김병조, 양경오, 계현진, 이윤영, 정연검, 문소현, 배가영, 손세희, 정효정, 우민정, 최가람 후배님께 진심으로 감사드립니다. 함께 졸업하기위해 열심히 논문을 써내려 가며 응원해줬던 졸업동기 정지용, 김태경, 박선영 선생님께도 감사의 말씀을 전합니다. 십년이 지나도록 서로를 북돋아주며 함께 응원해준 죽마고우 종철, 상훈, 종주에게도 고마움을 전합니다.

제가 앞날을 선택하는데 있어 항상 더 생각하고, 잘 나아갈 수 있도록 응원하며 무엇보다도 인성을 중시하며 저를 키워주신 아버지와 어머니께 사랑한다는 말씀을 전해드립니다. 처음으로 발걸음을 내딛는 사회에서 저에게 많은 가르침을 주시고 계신 박찬관 팀장님, 정년이 얼마 남지 않았지만 많은 정을 주시고 계신 저의 멘토 이완희 선생님, 그리고 기품원 대전2팀 모두에게 감사의 말씀과 함께 앞으로 잘 지켜 봐 달라는 부탁을 드리고 싶습니다.

이 논문은 저에게 석사생활의 끝이라 할 수 있지만, 앞으로 더욱 높은 곳을 향해 나아가는 출발점이라 생각하고 열심히 노력할 것을 약속드립니다.

감사합니다.