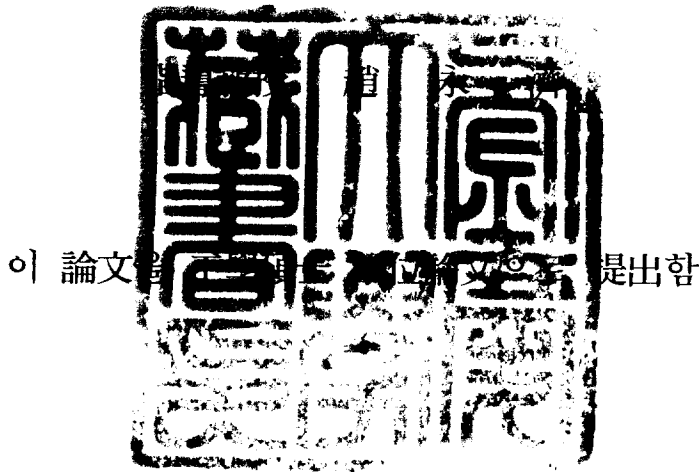


工學碩士 學位論文

적색육어류와 그 가공품에서의
Histamine과
다른 Biogenic amine 함량



2005년 2월

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

여 해 경

여해경의 工學碩士 學位論文을 認准함

2005年 2月 25日

主 審 工 學 博 士 全 炳 秀



委 員 工 學 博 士 金 泰 振



委 員 水 産 學 博 士 趙 永 濟



목 차

Abstract	1
서 론	4
재료 및 방법	8
1. 실험재료	8
1. 1. 생시료	8
1. 2. 가공품	8
1. 3. 시약	9
2. 실험방법	9
2. 1. 일반성분분석	9
2. 2. 휘발성 염기질소(VBN)	9
2. 3. 구성아미노산	10
2. 4. 유리아미노산	10
2. 5. Ion exchange chromatography histamine 함량측정	10
2. 6. HPLC에 의한 biogenic amine함량측정	11
결과 및 고찰	20
1. Biogenic amine 측정방법 검토	20
1.1 Recovery	20
2. 적색육 어류의 저장 중 biogenic amine 함량 변화	23
2. 1. 일반성분 및 구성아미노산	23

2. 2. VBN 함량 변화	27
2. 3. Biogenic amine 함량변화	29
2. 4. 관능평가	36
3. 적색육 어류 가공품의 biogenic amine 함량 변화	38
3. 1. 염장고등어	38
3.1.1. 시판 제품 중 biogenic amine 함량 변화	38
3.1.2. 선도와 염장방법에 따른 biogenic amine 함량 변화 ..	41
3. 2. 통조림	42
3. 3. 과메기	46
3.3.1 포장진공과메기	46
3.3.2 줄과메기	46
 요 약	 48
 참고문헌	 52
 감사의 글	 57

Histamine and Other Biogenic Amine Contents of Dark-Fleshed Fishes and Manufactured Goods

Hae-Kyung Yeo

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

Abstract

Biogenic amine is natural antinutrition factor and is important from a hygienic point of view as it has been implicated as the causative agents in a number of food poisoning episodes, and they are able to initiate various pharmacological reactions. Histamine, tyramine, putrescine, cadaverine, tryptamine, β -phenylethylamine, spermine, spermidine and agmatine are considered to be the most important biogenic amines occurring in foods.

Amine builds up usually results from decarboxylation of free amino acid by enzymes of bacterial origin. Amino acid decarboxylation takes place by removal of the α -carboxyl group to give the corresponding amine.

Some countries have regulated the maximum amount of histamine in some products. The European Union established 100ppm as a maximum average level for Scombridae and Scomberesocidae families.

In the United States, the Food and Drug Administration (FDA) ruled that histamine must be addressed in HACCP programs for scombroid toxic fish and set the maximum action level 50ppm.

Therefore this work was recognized on histamine, cadaverine, putrescine of contents by HPLC and was compared with VBN used as an index of a guidance change very much and was watched on safety tolerance limit point.

It will check correct condition measured VBN and a biogenic amine content in during the circulation of marketing the dark-fleshed fishes and manufactured goods.

If ion exchange chromatography 79.7% , histamine 98.6%, cadaverine 97.2% and putrescine 98.2% compares recovery rate with the amine which used ion exchange chromatography which are a measurement way of the existing histamine and the HPLC. It showed comparatively high recovery rate in case of HPLC.

As a result of having measured a biogenic amine content while storing mackerel, mackerel pike, horse mackerel, spanish mackerel four kinds of a raw sample in the 20°C that were the normal temperature and 4°C that were low temperature distribution temperature, most of biogenic amine was generated in a mackerel during a sample one.

Whereas normal temperature(20°C) storage of raw sample is able to grasp the decomposition of the fish easily, 4°C storage should be paid attention creation of biogenic amine even if not to be a problem seems at appearance.

Five marts from the problem point which it follows in biogenic amine creation of salting mackerel which it collects it was not discovered, two marts from it passed over the stable permission

critical point.

When it tries to observe the creation quantity of biogenic amine of salting mackerel which it follows in freshness and processing method, the freshness gradually disappears where the highest 35 boats about difference to south guidance is big initially in biogenic amine creation and processing method of brine salted had the storage period of 15th day.

When it tries to observe kwamaegi there was not a problem point from packing kwamaegi, a raw kwamaegi could confirm the problem of the circulation.

서 론

Biogenic amine은 인체 및 동물체내에서 중추신경의 신경전달물질 또는 직·간접적 혈관계 조절에 관여하는 필수 성분중의 하나이며, 또한 다양한 종류의 식품의 저장, 숙성 및 발효과정 중에 생성되는 물질로서 과량섭취시 신경계 및 혈관계를 자극하여 식중독 증상을 유발시키거나 혹은, 일부 biogenic amine은 N-nitrosamine과 같은 강력한 발암물질로 전환될 수 있는 잠재성을 가지고 있다(Bardocz, 1993, Shalaby, 1996, Ten Brink et al., 1990). 식품에서 주로 검출되는 biogenic amine으로는 putrescine, cadaverine, β -phenylethylamine, tyramine, tryptamine, histamine, spermine, spermidine 및 agmatine 등이 있으며, 보통 미생물에 의해 유리아미노산으로 탈탄산 반응으로 생성되는 것으로 알려져 있다. Biogenic amine은 그 종류 및 섭취량에 따라 다양한 임상병리학적 증세 및 식중독을 일으킬 수 있으며, 또한 아질산염 및 biogenic amine을 포함한 아민류가 함유된 식품을 섭취하였을 때 urinary nitrosamine이 증가하는 것으로 나타나, 식품의 안전성 측면에서 중요한 문제로 대두되고 있다.

특히 histamine은 biogenic amine 중에서도 고등어, 정어리, 꽁치, 다랑어 등 적색육 어류를 섭취하였을 때 발생하기 쉬운 allergy성 식중독의 원인물질로 알려져 있다. 식품 알레르기 환자에게 원인식품으로 자극했을 때 혈청 histamine 농도가 증가하는데, 이는 식품 알레르겐을 섭취하면 mast cell이나 basophile에서 histamine이 유리되기 때문이다. Allergy 반응을 보이는 사람의 경우, 꽃가루나 땅콩 단백질처럼 인간에게 무해한 물질에 대해 이 세포들이 반응을 보이기 때문에 allergy가 생긴다. 방출된 히스타민은 전형적인 알레르기 증상인 부종(swelling)을 비롯해 재채기(sneezing), 가려움증(itching), 자극(irritation)등을 일으키며 건강한 사람도 많은 양의 histamine을 섭취하면 여러 가지 독성을 일으킨다. 그

주작용은 말초혈관확장, 혈압강하, 기관지경련 등이 있고 대량 투여 시 호흡곤란을 일으켜 치사할 수도 있다(Goth et al., 1993).

일반적으로 어육이 완전히 부패된 단계에서는 유독 amine의 함량이 오히려 감소될 뿐 아니라, 그 부패취 때문에 섭취하는 일은 거의 없어서 식중독을 일으키는 일은 없지만, 초기단계에서는 histamine과 같은 유독 amine이 분해되지 않고 다량으로 축적되기 때문에 이들 식품을 섭취함으로써 allergy성 식중독을 일으킬 수 있어 식품위생상문제가 되고 있다. 실제로 임상업무를 담당하고 있는 의사나 영양사들에 의하면 다른 질환에 비하여 알레르기 환자에 대한 식사지침이 불분명하고 그 자료가 미비하므로 보다 자세한 정보가 절실히 필요하다고 한다.

중요 유독 amine인 histamine의 측정방법에는 크게 4가지가 있다. 첫째 河端(1974)법에 의한 비색정량법, 둘째 AOAC(1975)法에 의한 비색법 셋째 칼럼에 의한 형광법, 마지막으로 용매추출의 인한 형광법이 있다. 우리나라에서는 첫번째 방법인 河端(1974)법에 의한 비색정량법으로 histamine의 함량을 측정해왔다.

이 방법에 의해 고등어, 전어 및 정어리(박 등, 1980), 꽂치(박 등, 1981)에 있어서의 저장 및 가공중의 히스타민 함량의 변화, 고등어 가공 및 저장에 있어서 식염, 산미료 및 감미료가 histamine 생성에 미치는 영향(박 등, 1984), 시판통조림(고 등, 1982)에서의 histamine함량에 대한 보고가 있다. 젓갈중의 histamine함량에 관한 보고(장 등, 2000)에서는 평균 함량은 2 mg/100g였고 원료는 같으나 제조사마다 함량에는 차이가 있다고 보고하였다

유 등(1996)에 의해 형광검출 역상 액체크로마토그래피에 의한 histamine의 정량을 시작으로 하여 형광측정법을 이용한 histamine 분석 방법 연구(이 등, 1997)가 이루어져왔으나, histamine생성이 활발한 적색 육 어류의 저장 중 HPLC를 이용한 histamine생성에 관한 연구는 아직 발표되지 않은 실정이다.

Biogenic amine에 대한 국내 연구는 효소 reactor를 이용한 측정 방법

개발(박 등 1999), 어육의 화학적 선도 지표로서의 biogenic amine 함량 측정(김 등 1998) 및 기타 일부 식품군 중의 함량조사(Mah et al. 2001, 김 등 2002a, 2002b)등 극히 일부의 연구만이 이루어져 있으며, biogenic amine이 존재 가능한 여러 각종 식품에 관한 연구는 아직까지 상당히 미비한 실정이다. 최근에는 시판 간장 중의 biogenic amine 함량 조사(김 등, 2003)가 이루어졌다.

외국의 연구보고로는 최초로 Suzuki 등(1912)이 다랑어의 추출물에 histamine이 함유되었다고 보고한 바 있으며, Igarashi(1938)는 선도가 떨어진 어육의 쓴맛 혹은 자극성 맛은 histamine과 관계가 있다고 하였다. Ali R.(1996)이 Biogenic amine의 식품안전성과 인간에게 미치는 영향을 보고한 것이 있다.

미국의 경우 적색육어류에서 histamine 함량을 5 mg/100g (guideline)으로 하여(USFDA 2001) 어류에서 선도판정의 중요지표(safety factors)로 삼고있다. 20 mg/100g가 되면 식중독을 일으키기에 충분하다고 보고(CDC 2000)있으며, 유럽에서는 어체당 10 mg/100g이하로 제한하는 것이 타당하다고 보고(Luten et al., 1992)하고 있다.

Edmunds와 Eitenmiller(1975)가 중독허용한계량을 76~280 mg/100g이라고 보고된 것이 있으나, 우리나라에서는 100 mg/100g라고 널리 인정되고 있는 실정이라 그 허용량은 실제와는 맞지 않다. 또한 적색육어류를 수·출입할 경우 그 검사조차 이루어지지 않고 있으며 유독 amine임에도 불구하고 histamine 중독에 의한 역학조사조차 이루어지지 않고 있고 히스타민에 대한 식품 중 함량 조사가 우리나라에서는 전혀 되어 있지 않으므로 이에 대한 함량의 결정이 시급한 과제이다.

한편 FDA에서는 biogenic amine중 cadaverine, putrescine을 histamine과 같이 어육의 위생지표로 제안(Taylor and Sumner 1986, Food and Drug Administration 1995)하였으며, Rossi et al.(2002)는 참치의 biogenic amine생성에 대해 알아본 연구에서 cadaverine을 위생지표(guideline)로 제안한 바 있으며, Mietz and karmas(1978), Yamanaka

et al.(1986)은 어류에서의 biogenic amine을 부패지표로 삼는 것은 유용하다라는 보고도 있다.

따라서 본 연구에서는 적색육 어류에 있어 기존의 histamine 측정방법의 하나인 Ion exchange chromatography와 HPLC로 측정하는 방법을 비교하여 정확성을 검토하였으며, 이러한 방법을 바탕으로 선도저하가 빠른 적색육어류를 온도별로 저장하여 HPLC를 통해 histamine, cadaverine, putrescine의 함량을 조사하였고, 선도변화의 지표로 많이 사용되고 있는 VBN과 비교하여 안전허용한계점에 대해 살펴보았다. 그리고 시중에서 유통되고 있는 적색육어류의 가공품에 있어서 VBN과 biogenic amine함량을 측정하여 정확한 실태를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1. 1. 생시료

본 실험에 사용한 어종은 고등어(*Scomber japonicus*), 전갱이(*Trachurus japonicus*), 꽁치(*Cololabis saira*), 삼치(*Scomberomorus niphonius*)이다.

고등어와 꽁치는 2004년 3월 25일, 전갱이는 2004년 5월 10일, 삼치는 6월 16일 부산공동어시장에서 선도가 양호한 것을 구입한 후 빙장하여 실험실까지 운반하였다.

공시한 고등어는 체장 34~39cm, 체중 440~620g, 체고 3.5~4.5cm이고 꽁치는 체장 23.5~33cm, 체중 140~180g, 체고 1.5~2.5cm이며, 전갱이는 체장 13.9~18cm, 체중 80~110g, 체고 1.0~1.3cm이며, 삼치의 경우 체장 40~48cm, 체중 700~780g, 체고 4.3~5.2cm이며, 어체가 비슷한 것을 골라 각각 동결온도인 -20℃에서 50일 간격으로 150일간, 시중 냉장 유통온도인 4℃에서 이틀간격으로 10일간, 상온 20℃에서 하루간격으로 5일간 저장하면서 실험하였다.

1. 2. 가공품

적색육어류 중 가장 많이 가공되는 염장고등어는 A마트, B마트, C마트, D마트, E마트에서 유통 중인 것을 무작위로 수집하여 냉장유통온도인 4℃에서 10일 동안 저장하면서 biogenic amine생성량을 조사하였다. 또한 원료 고등어의 선도차이와 가공방법의 차이를 두어 직접 가공, 진공 포장하여 4℃에서 40일 동안 저장하면서 biogenic amine 함량을 살펴보았다.

마른간법은 선어상태의 고등어를 할복하여 내장과 혈액을 씻어낸 후 어체 500g당 염 200~300g을 넣고 특히 안구나 어두부분에 인위적으로 많이 첨가하여 간을 한 다음 4℃에서 24시간 숙성시키고 진공포장하였으

며, 물간법은 선어상태의 고등어를 할복하여 15~20%의 소금물이 담긴 숙성 용기에 침지시킨 다음 24시간 동안 염장하며 끝난 고등어를 꺼내어 3~4%소금물에 30분간 침지시켜 고등어 표피에 묻어 있는 과도한 소금을 제거한 후, 물빼기 하여 진공포장하였다.

쫄치의 경우 시중유통중인 A수산(1월중생산), B수산(1월중생산), C수산(3월중생산)의 진공포장과메기와 쫄과메기를 -25℃에 저장하면서 biogenic amine함량변화를 살펴보았으며, 가공품으로써 시중마트의 유통 중인 A사, B사, C사의 쫄치, 고등어 통조림을 구입하여 histamine함량을 살펴보았다.

1. 3. 시약

실험에 사용되어진 표준품 histamine dihydrochloride (HI), cadaverine dihydrochloride (cadaverine), putrescine hydrochloride (putrescine)과 형광시약인 σ -phthalaldehyde(OPT)는 Sigma사에서, 각 시약은 HPLC급으로 사용하였으며. 기타시약은 특급으로 준비되었다.

2. 실험방법

2. 1. 일반성분분석

일반성분의 측정은 수분의 경우 105℃에서 상압가열 건조법으로, 조단백질은 Kjeldahl법으로, 회분은 550℃에서 건식회화법으로 조지방은 ether를 이용한 soxhlet법으로 측정하였다.

2. 2. 휘발성 염기질소 (Volatile Basic Nitrogen, VBN)

Conway unit를 사용하여 미량확산법 (일본후생성, 1960)을 사용하였다. 마쇄한 샘플에 TCA (trichloroacetic acid) 20%용액을 20배 희석하여 4℃, 3000rpm, 15분간 원심분리 시켜 수용성 단백질을 침전시킨 후 여과하여 검액으로 사용하였다. Conway unit 내실에 1/150N HCl 1 ml을

외실에 K_2CO_3 포화용액과 검액을 넣고 37℃에서 90분간 정치 후에 1/70N $Ba(OH)_2$ 로서 적정하여 나타내었다.

2. 3. 구성아미노산

각 시료육 50 mg을 정확히 취하여 6N HCl 10ml를 넣고 밀봉한 다음 110℃에서 24시간 가수분해하였다. 가수분해 된 시료는 glass filter로 여과한 후 감압 농축하였다. 이 때 산을 완전히 제거시키기 위하여 적당량의 탈이온수로 다시 녹인 후 감압농축 과정을 3~4회 반복하였으며 sodium citrate buffer (pH 2.2)로 일정량 희석한 후 0.2 μ m membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(Pharmacia Biotech Biochrom 20(UK))로 분석하였다.

2. 4. 유리 아미노산

각 시료육 5 g을 정확히 취하여 75%ethanol 25 ml을 넣고 갈고 3000rpm, 15분간 원심분리한다. 농축수기에 상층액을 모두 붓고 75%ethanol 25 ml을 다시 첨가하여 갈고 원심분리한다. 이 과정을 상층액이 무색이 될 때까지 3번 정도 반복하였으며 감압농축하여 5'-sulfosalicylic acid 넣고 혼합하여 균질화시켜 재단백시켜 lithium citrate buffer (pH 2.2)로 일정량 희석한 후 0.2 μ m membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(Pharmacia Biotech Biochrom 20(UK))로 분석하였다.

2. 5. Ion exchange chromatography에 대한 histamine 함량 측정

河端(1974)의 방법에 따라 다음과 같이 하였다. 균질한 어육 10 g을 취하여 증류수 20 ml를 가하여 녹여 침출시킨 후 TCA(trichloroacetic acid) 10%용액을 20 ml 가하여 10분간 정치시켜 수용성 단백질을 침전

시킨 후 여과하여 50 ml로 정용하여 검액으로 사용하였다. 이 중 10 ml를 취해 10% NaOH로 pH를 4.5~4.7로 한 뒤, 여기에 0.4N 초산완충액 10 ml 가하여 혼합하고 Amberlite CG-50 수지 column(100~200mesh, ϕ 8mmX55mm)에 주입하고 이어서 80 ml의 0.2N 초산완충액을 column에 통과시킨다. 수지에 흡착된 histamine을 8 ml의 0.2N 초산으로 용출시킨다. 용출액은 1.5N Na₂CO₃로서 pH7로 하여 10 ml한다. 1.1N Na₂CO₃ 5 ml를 가한 시험관에 diazo시약 (빙욕중에서 0.9% sulfanilic acid와 5% NaNO₂를 동량 혼합한 것, 20~30분 후에 사용) 2 ml를 조용히 추가하고 1분후에 10 ml로 정용한 column로 용리액 2 ml를 가하여 격렬히 흔들어서 5분 후에 510 nm에서 흡수도를 분광광도계(shimadzu UV-2101PC)로 측정하여 검량곡선(Fig. 1.)으로부터 histamine량을 계산하였다.

2. 6. HPLC법에 의한 biogenic amine함량 측정

Veclana-Nogues et al. (1995)의 방법에 따라 균질한 시료 10 g을 취하여 0.6N HClO₄(PCA) 10 ml를 첨가한다. 4℃, 6000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 취하고 고형물에 다시 0.6N HClO₄(PCA) 10 ml를 첨가하여 원심분리한다. 상층액을 취하고 0.6N HClO₄(PCA)로 25 ml정용한다. 추출액은 -30℃ 동결고에 보관하였고, 측정시 0.45 μ m membrane filter로 여과, 탈기하여 HPLC에 주입하였다. HPLC는 아일랜드 waters사의 controller 600, TM-600 intelligent pump, Programmable Pump 590, Scanning Fluorescence detector 474, column oven 410을 사용하였하였으며 column은 Nova-Pak C18 (3.9X150mm)의 역상분배 column (Waters model 086344, Ireland)을 사용하였다. OPT시약과 시료간에 충분한 반응을 위해 T자관에 0.01 inch stainless 관 200 cm을 연결하여 분석하였다.

HPLC 측정조건은 Table 1에 나타내었다.

2.6.1. 표준곡선

Histamine, cadaverine, putrescine 농도별로 제조하여 5 μ l 주입 후 각 농도에 대한 피크 면적에 의하여 표준곡선을 작성하였다. 그 결과 각 amine의 표준곡선은 모두 양호한 직선성 ($R>0.99$)을 나타내었다. (Fig. 2, 3, 4.)

어육에 포함되어 있는 biogenic amine을 HPLC로 동시분석한 peak는 Fig. 5. 와 같이 나타났다.

Table 1. Instrument condition for HPLC analysis of biogenic amine

Instrument	Waters Associates HPLC system
Column	Nova Pak C ₁₈ (60Å 4 μ m 3.9x150mm)
Spectrofluorometer Detector	Excitation wavelength : 340nm Emission wavelength : 445nm
Temperature	25°C
Flow rate	Mobile phase : 1 ml/min Derivatization reagent : 0.5 ml/min
Retention Time	64min
Injection Volume	5 μ l

Table 2. Gradient elution program

Operation	Elution time, min	Solvent ^a	
		A %	B %
Elution period	0	80	20
	50	20	80
	52	20	80
Return and equilibration	54	80	20
	64	80	20

^a Changes of A% and B% following an exponential function of second order.

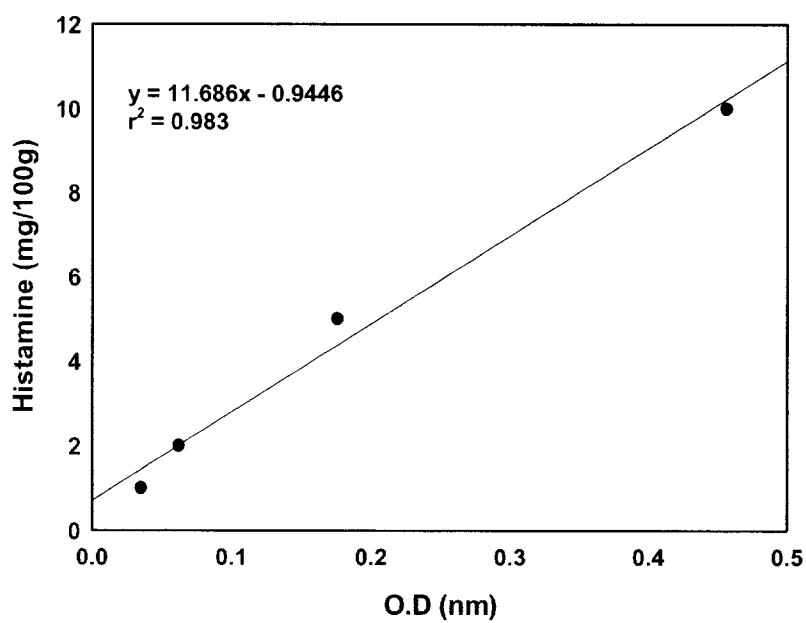


Fig. 1. Standard curve for the determination of histamine contents by ion exchange chromatography.

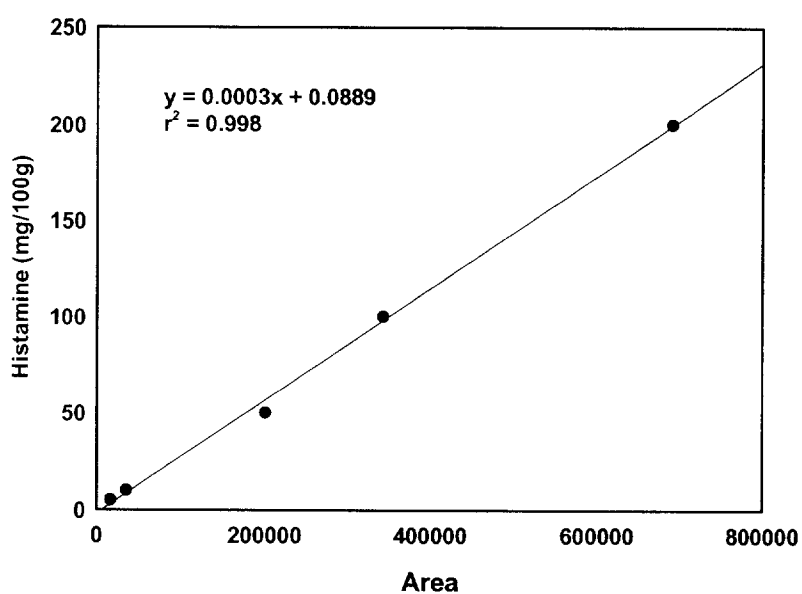


Fig. 2. Standard curve for the determination of histamine contents by HPLC.

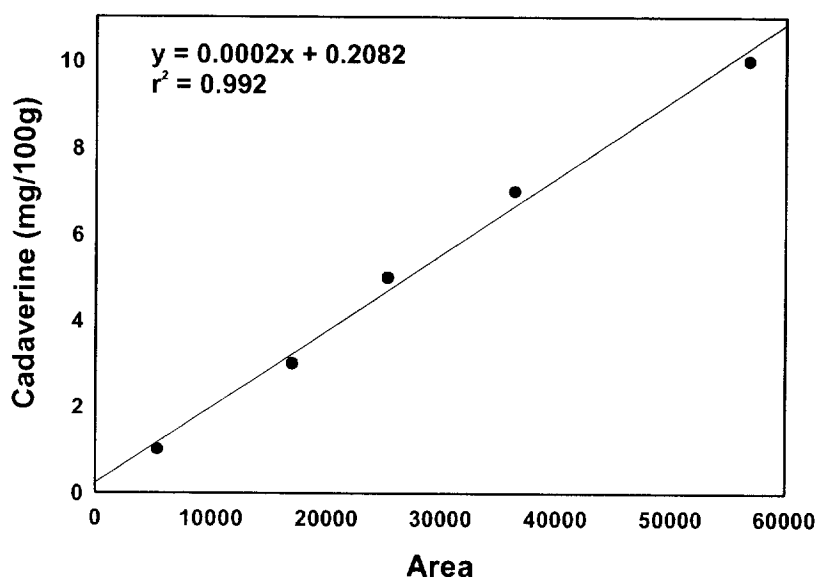


Fig. 3. Standard curve for the determination of cadaverine contents by HPLC.

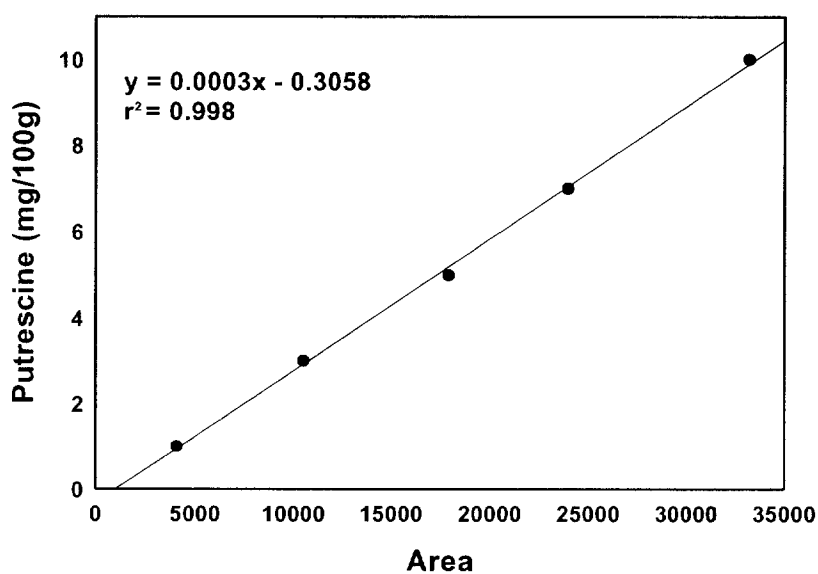


Fig. 4. Standard curve for the determination of putrescine contents by HPLC.

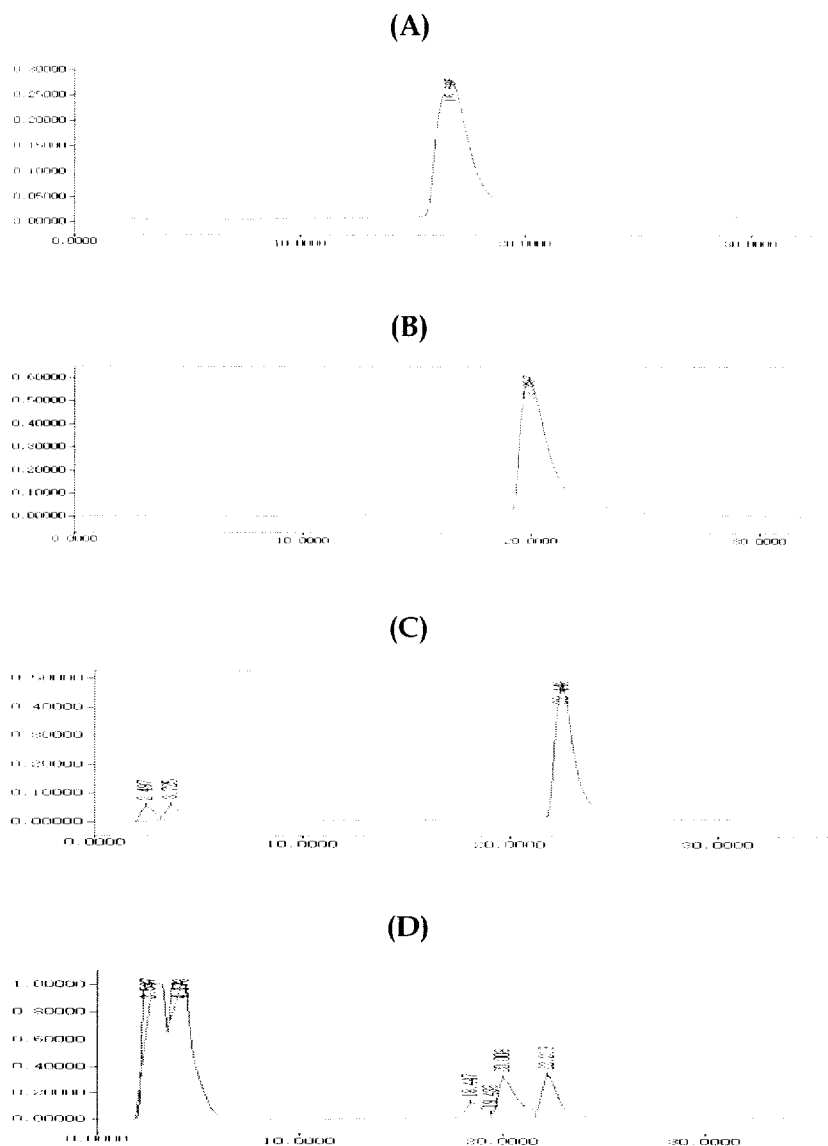


Fig. 5. Analytical pattern of biogenic amines with HPLC, putrescine (A), cadaverine (B), HI(C), Sample (D), respectively.

결과 및 고찰

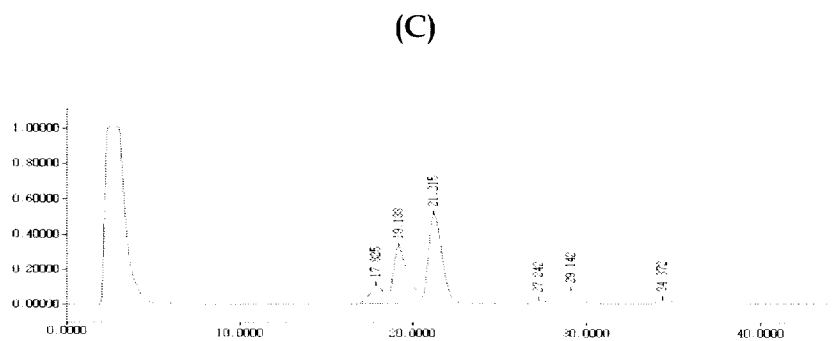
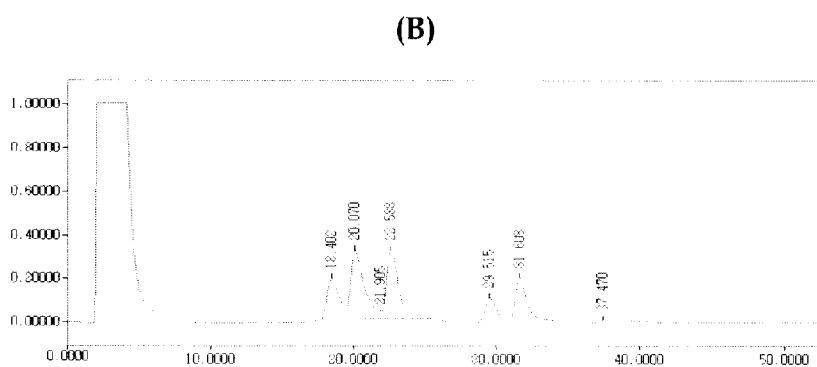
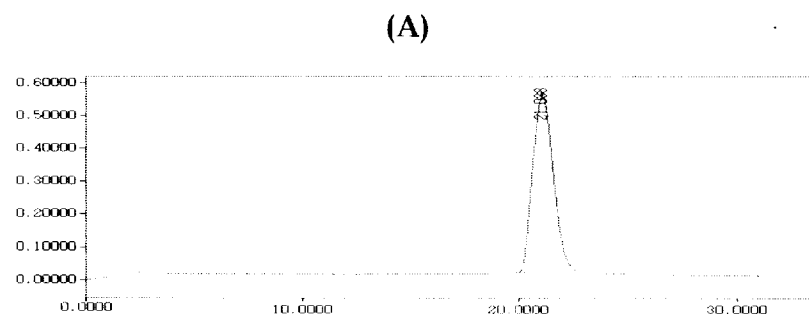
1. Biogenic Amine 측정방법 검토

1. 1. Recovery

기존의 Histamine 측정방법으로 주로 사용한 河端(1974)의 ion exchange chromatography법과 본 연구에서 biogenic amine을 분석하는데 이용한 HPLC법을 Table 3.에서 나타낸 것과 같이 회수율을 통하여 정확성을 검토하여 보았다.

먼저, 같은 sample(Spanish Mackerel, 20℃, 3days)에 표품 10 mg을 첨가하여 얻어지는 것으로 ion exchange chromatography 에서 함량을 살펴보면 박 등(1981)에서 보다 histamine 함량은 많지만 HPLC에 보다 아주 낮음을 알 수 있다.

회수율을 보면 ion exchange chromatography의 경우 79.7%로 정확성이 떨어지는 반면, HPLC의 경우에는 histamine는 98.6%, cadaverine은 97.2%, putrescine은 98.2%로 높은편이다. 이는 Veclana-Nogues et al. (1995)에서의 99.2%, 98.9%, 103.2%와 거의 비슷한 값을 보여주고 있다.



Running Time (min)

**Fig. 6. The recovery of biogenic amines with HPLC
Histamine (A), Sample (B),
Histamine + Sample (C), respectively.**

Table 3. Recovery of method for determination of biogenic amines in sample

Amine		Initial content (mg/100g)	Content after addition (10 mg/100g)	Recovery(%)
IEC	Histamine	4.18	11.30	79.7
HPLC	Histamine	15.73	25.37	98.6
	Cadaverine	21.96	31.06	97.2
	Putrescine	7.00	16.69	98.2

2. 적색육 어류의 저장 중 biogenic amine 함량변화

2. 1. 일반성분 및 구성아미노산

2.1.1. 일반성분

적색육 어류 생시료의 일반성분은 Table 4. 에 나타난 바와 같이, 수분의 함량은 고등어와 꽁치가 $66.91 \pm 0.06\%$, $62.81 \pm 0.11\%$, 전갱이와 삼치가 $72.36 \pm 0.10\%$, $71.52 \pm 0.50\%$ 이고, 단백질은 고등어, 꽁치, 전갱이는 $20.64 \pm 0.44\%$, $19.97 \pm 0.41\%$, $20.21 \pm 0.41\%$ 의 함량을 가졌으며, 삼치는 $17.92 \pm 0.34\%$ 로 세 어종의 비해 함량이 낮았다. 지방은 총 시료 중 꽁치에서 $15.37 \pm 0.19\%$ 로 가장 높았다.

2.1.2. 아미노산구성

각 biogenic amine은 전구물질의 탈탄산반응으로 인해 생성된다. 따라서 이러한 전구물질의 함량은 biogenic amine생성과 큰 상관관계를 가진다. Histamine의 전구물질인 histidine은 고등어에서 $36.53 \text{ mg}/100\text{g}$ 으로 가장 많았고 꽁치 $25.18 \text{ mg}/100\text{g}$, 전갱이 $17.54 \text{ mg}/100\text{g}$ 이며 삼치에서 $4.89 \text{ mg}/100\text{g}$ 로 함량이 가장 낮았다.

Cadaverine의 전구물질인 lysine은 고등어에서 $47.48 \text{ mg}/100\text{g}$ 로 함량이 가장 많았으며, 전갱이, 꽁치, 삼치 순이었다.

전체함량에서도 고등어의 총 구성아미노산이 $529.40 \text{ mg}/100\text{g}$ 으로 많았고 전갱이 $456.59 \text{ mg}/100\text{g}$, 꽁치 $425.95 \text{ mg}/100\text{g}$ 이고 삼치의 경우 $219.99 \text{ mg}/100\text{g}$ 으로 고등어의 총 아미노산함량의 절반에도 미치지 못하였다.

유리아미노산의 함량을 살펴보면, putrescine의 전구물질인 ornithine은 네 어종에서 크게 차이가 나지 않았다. Ornithine, lysine, histidine의 함량은 고등어에서 가장 많았고 삼치는 월등히 작은 것을 알 수 있다.

Table 4. Proximate composition of raw sample

Component	Mackerel	Mackerel Pike	Horse mackerel	Spanish mackerel
Moisture (%)	66.91±0.06	62.81±0.11	72.36±0.10	71.52±0.50
Crude protein (%)	20.64±0.44	19.97±0.41	20.21±0.41	17.92±0.34
Crude fat(%)	10.78±0.3	15.37±0.19	7.82±0.44	8.75±0.63
Crude ash(%)	1.41±0.08	1.13±0.14	1.50±0.08	1.26±0.03

Table 5. Composition amino acid

(mg/100g)

Sample Amino Acid	Mackerel	Mackerel Pike	Horse Mackerel	Spanish Mackerel
Aspartic acid	50.98	41.84	46.51	32.49
Threonine	26.08	20.91	21.85	9.23
Serine	23.52	18.22	20.33	12.22
Glutamic acid	76.01	62.09	70.17	39.85
Proline	23.83	21.22	19.62	9.40
Glycine	22.73	19.63	23.94	12.87
Alanine	32.68	26.26	30.74	17.91
Cystine	2.09	2.22	2.68	3.01
Valine	26.65	23.34	23.25	7.31
Methionine	16.19	11.84	13.58	0.44
Isoleucine	24.50	19.41	21.04	5.25
Leucine	42.44	34.83	37.74	9.86
Tyrosine	16.03	9.64	11.94	11.56
Phenylalanine	24.28	17.33	20.45	12.82
Histidine	36.53	25.18	17.54	4.89
Lysine	47.48	40.94	42.17	10.62
Ammonia(NH ₃)	7.99	8.00	6.98	15.22
Arginine	29.39	23.03	26.07	5.05
Total	529.40	425.95	456.59	219.99

Table 6. Free amino acid

		(mg/100g)		
Sample Amino Acid	Mackerel	Mackerel	Horse	Spanish
		Pike	Mackerel	Mackerel
O-Phospho-L-serine	0.02	0.02	0.02	0.01
Taurine	0.86	0.73	0.4	0.28
O-Phosphoethanolamine	0.01	0	0	0.01
Urea	0.58	0.32	0.16	0.13
L-Aspartic Acid	0.06	0.04	0	0
L-Threonine	0.15	0.10	0.07	0.06
L-Serine	0.16	0.10	0.05	0.04
L-Glutamic Acid	0.39	0.19	0.17	0.15
L-Sarosine	0	0	0.01	0
L- α -Aminoadipic	0	0	0	0.01
L-Proline	0.13	0.10	0.04	0.02
Glycine	0.17	0.14	0.11	0.06
L-Alanine	0.39	0.26	0.19	0.17
L-Citrulline	0.02	0	0	0
L- α -Aminoiso-n-butyric Acid	0.01	0	0.01	0
L-Valine	0.23	0.13	0.07	0.05
L-Cystine	0	0.02	0	0
L-Methionine	0.11	0.1	0.02	0.02
Cystathionine	0	0	0.01	0
L-Isoleucine	0.16	0.09	0.04	0.04
L-Leucine	0.25	0.16	0.07	0.06
L-Tyrosine	0.12	0.09	0.03	0.03
β -Alanine	0.03	0.02	0	0
L-Phenylalanine	0.11	0.09	0.03	0.03
Ethanolamine	0.02	0.01	0.03	0.01
Ammonium Chloride	0.27	0.29	0.11	0.13
L-Ornithine	0.02	0.02	0.02	0.01
L-Lysine	0.35	0.24	0.14	0.26
L-Histidine	2.62	2.47	0.64	0.58
3-Methyl-L-histidine	0	0.01	0	0
L-Anserine	0	0	0.1	0.13
L-Merginine	0.11	0.09	0.03	0.04
Total	7.34	5.82	2.57	2.35

2. 2. VBN함량변화

VBN함량변화는 저장온도에 따라 다르게 나타났다. Fig. 7에서 보면 4℃는 시간이 경과함에 따라 서서히 증가하면서 4일 이후로 급격한 증가를 보이고 있다. 6일 이후로 고등어, 꽁치, 전갱이 세 어종에서 VBN 초기부패점인 30 mg/100g를 넘어서고 있다. 그 중 전갱이가 세 어종 중 선도저하가 제일 빨랐다. 삼치에서 선도저하가 가장 느리게 나타났다.

20℃는 급격한 증가를 보이고 있는데, 하루가 지난 꽁치는 14.81 mg/100g이고 삼치는 17.03 mg/100g, 고등어 17.87 mg/100g 이지만 전갱이는 45.74 mg/100g로 4℃와 마찬가지로 초기 선도저하가 가장 빨랐으며 3일째 후 고등어에서 급격한 선도저하를 나타내고 있었다.

온도에 따른 VBN의 함량을 보면 4℃에서는 삼치를 제외한 어종에서 6일째 초기부패점에 달하고 있으며 20℃의 경우 상온 하루 방치로도 전갱이의 경우 충분한 부패가 일어나고 있다.

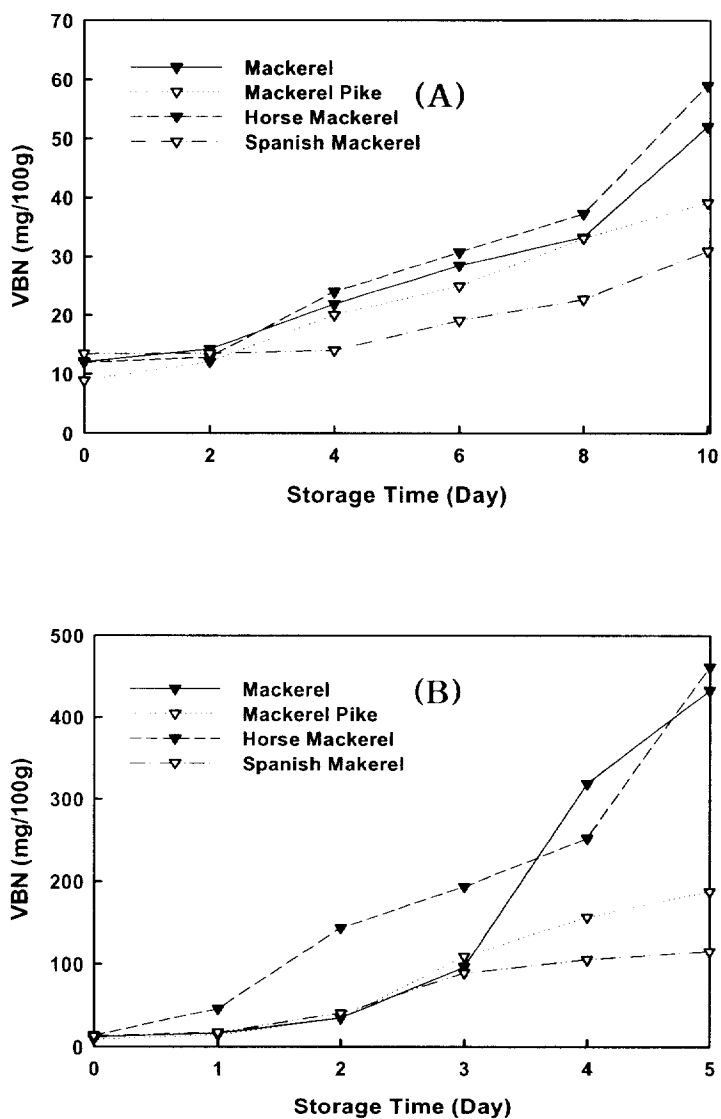


Fig. 7. Changes in VBN contents during the storage of dark fleshed fishes at 4°C (A), 20°C (B), respectively.

2. 3 Biogenic amine 함량변화

냉장유통온도인 4℃의 biogenic amine의 함량을 보면 histamine의 최종 함량이 가장 높았으며 다음으로 cadaverine, putrescine 이었다.

4℃ histamine을 보면 4일째 콩치가 5.80 mg/100g으로 가장 많이 생성되었으며 고등어 2.41 mg/100g이다. 전갱어와 삼치의 경우는 생성되지 않았다. 전갱어의 경우 8일째 5.19 mg/100g이 생성되었다. 10일째에는 고등어에서 23.23 mg/100g으로 시료 중 가장 많이 생성되었으며 콩치 20.36 mg/100g이었으며 전갱이 16.73 mg/100g이었다. 삼치의 경우 6일째 0.2 mg/100g생성되어 10일째 1.5 mg/100g으로 가장 낮은 함량을 나타내어 저온에서의 저장성이 좋은 것으로 나타났다. 콩치의 경우 초기 선도저하는 가장 빨랐다.

일반적으로 histamine은 선도저하와 더불어 *Proteus morganii* 등이 생성한 histidine decarboxylase에 의하여 탈탄산반응을 받아서 생성된다고 하는데(kimata & kawai, 1958, 1959; Kawabata & Suzuki 1959), Yamanaka et al.(1982)는 histamine의 생성은 histamine-forming bacteria 보다는 histidine decarboxylase activity가 주요한 작용을 한다고 보고한 바 있다. Histamine의 생성모체인 histidine은 단백질구성아미노산으로 어류의 운동성과 관련이 있을 뿐만 아니라 적색육 어류에는 엑스분 중에 유리상태로 다량함유 되어 있어, histamine도 많은 양이 생성된다고 한다(Hibiki & Simidu, 1956 b).

적색육어류에 있어서 histidine의 분포를 보면 동일어체일 때는 보통육이 혈합육보다, 그리고 보통육 일때는 육색이 진한 것이 육색이 묽은 것보다 많이 함유되어 있을 뿐만 아니라 같은 어종일 때는 어체가 큰 것이 그 함유가 높은 것으로 알려져 있다.(Hibiki & Simidu, 1959 b; Simidu & Hibiki, 1954; Takagi등, 1969)

Cadaverine의 경우 4일째 콩치에서 4.01 mg/100g으로 가장 많이 생성되었으며 고등어 1.58 mg/100g이 생성되었으며 삼치는 3.61 mg/100g로 histamine보다 더 많이 생성되었다. 6일째 콩치에서 5.63 mg/100g생성되

어 초기선도는 다른 어종보다 빨랐다. 10일째는 전갱이가 29.87 mg/100g으로 8일째 이후 급격히 증가하기 시작하여 가장 많은 함량을 나타내고 있으며 고등어 20.62 mg/100g, 꽁치 11.41 mg/100g였고 삼치의 경우에는 9.86 mg/100g로 다른 biogenic amine 중 가장 많이 생성되었다.

이처럼 Yamanaka et al(1986), Rossi et al(2002)에서 보고한 것과 같이 histamine과 마찬가지로 cadaverine의 경우 초기 생성이 빠르게 진행되므로 부패정도를 확인하기에 충분하다고 할 수 있다.

Putrescine의 경우 그 생성량은 histamine과 cadaverine에 비하여 아주 작았다. 4일째 꽁치에서 0.21 mg/100g 전갱이 0.12 mg/100g이 생성되었으며 10일째 고등어에서 5.58 mg/100g으로 가장 많이 생성되었으며 꽁치와 전갱이에서 3.28 mg/100g, 3.33 mg/100g으로 비슷하게 생성되었다. 삼치는 1 mg/100g으로 그 함량은 무시할 정도였다.

4℃저장에서는 꽁치의 선도저하가 가장 빨랐으며 histamine의 USFAD 기준인 5 mg/100g으로 보았을 때 4일정도가 적절하다고 판단된다.

20℃에서 biogenic amine함량을 살펴보면 histamine은 하루가 지났을 때 전갱이에서 34.67 mg/100g가장 많이 생성되었으며 고등어 10.53 mg/100g, 꽁치는 2.92 mg/100g로 4℃와는 달리 다른 어종에 비해 적게 생성되었다. 고등어는 4일째 425.30 mg/100g 가장 많이 생성되어 감소하였으며 꽁치는 3일째, 전갱이는 4일째로 최고함량을 나타내고 그 감소하였다. 이는 박 등(1980), Yamanaka et al(1984)에서 보여준 경향과 거의 일치한다.

20℃의 경우 어육이 심히 부패된 단계에서는 histamine함량이 오히려 감소할 뿐만 아니라, 그 부패취 때문에 이것을 섭취하는 일은 거의 없으므로 식중독을 일으키는 일은 거의 없으나, 4℃에서는 초기부패 단계에서 다량으로 축적되는 일이 많으므로 이러한 것에 의하여 알레르기성 식중독을 일으키는 것을 주의하여야 한다.

Cadaverine을 살펴보면 전갱이의 경우 하루만에 12.79 mg/100g이 생

성되었다. Cadaverine도 histamine과 마찬가지로 20℃에서 최고함량에 도달하여 감소하였는데 꽁치와 삼치는 3일, 전갱이는 2일 후부터 감소하기 시작하였다. 고등어에서는 계속 증가하였다. 20℃에서의 cadaverine 역시 급격히 증가하는 것을 볼 수 있다.

Putrescine을 보면 고등어는 4일째 최고함량인 40.14 mg/100g이 생성되어 감소하고 꽁치는 3일째 9.26 mg/100g으로 감소하기 시작하였으며 전갱이의 삼치의 경우 생성량이 적어 감소는 보이지 않고 증가하였다.

-25℃ 에서 150일 동안의 biogenic amine생성을 살펴보면, 고등어, 꽁치, 전갱이 에서 100일후부터 histamine이 생성되었으며 함량은 미비하였다. 150일후에도 전갱이의 histamine함량을 제외한 biogenic amine은 1 mg/100g을 넘어서지 않아, 동결저장중의 biogenic amine은 문제되지 않는 것으로 나타났다.

Hardy et al.(1976)는 72주 동안 동결하에서 histamine 생성되지 않는다는 보고하였다.

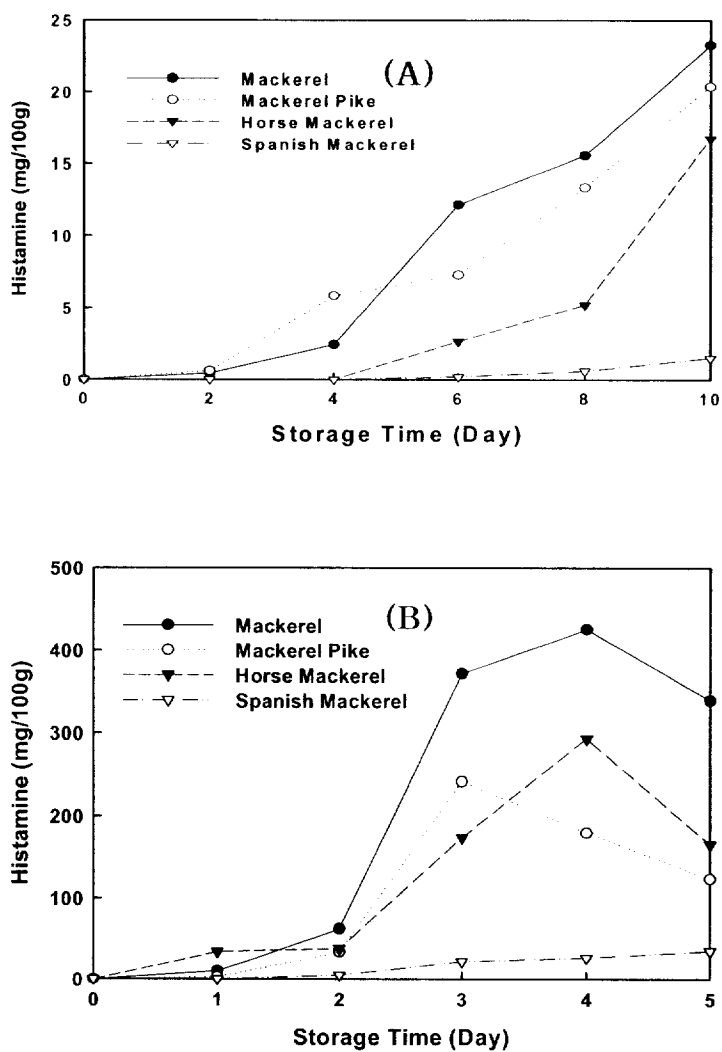


Fig. 8. Changes in histamine contents during the storage of dark fleshed fishes at 4°C (A), 20°C (B), respectively.

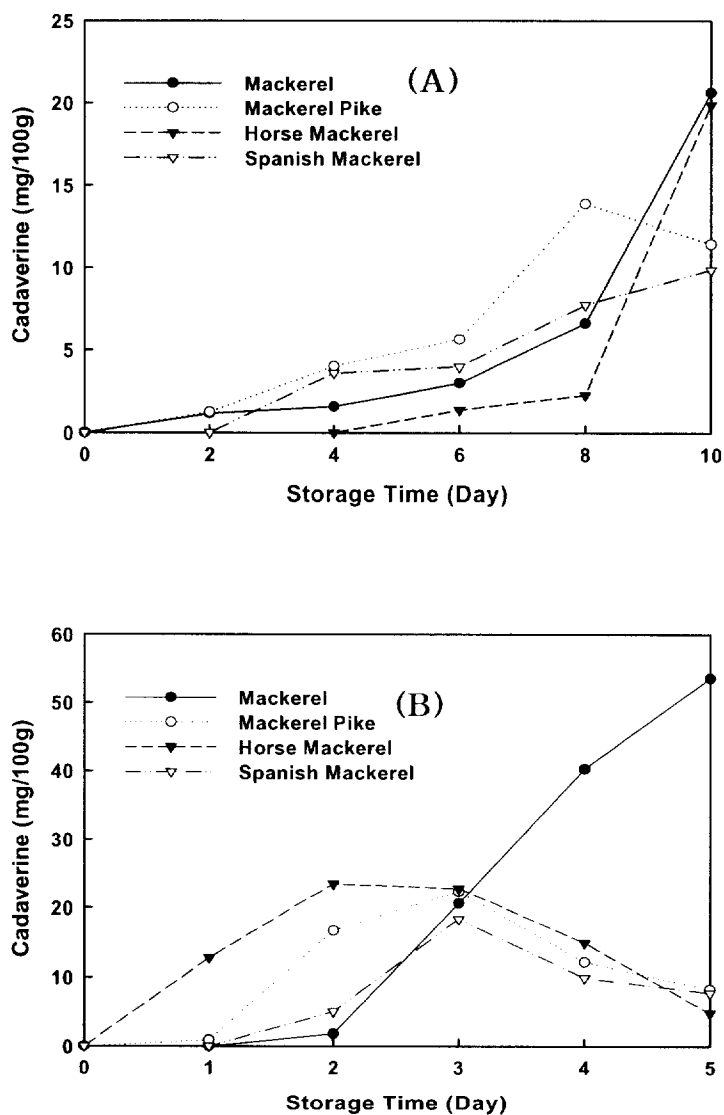


Fig. 9. Changes in cadaverine contents during the storage of dark fleshed fishes at 4°C (A), 20°C (B), respectively.

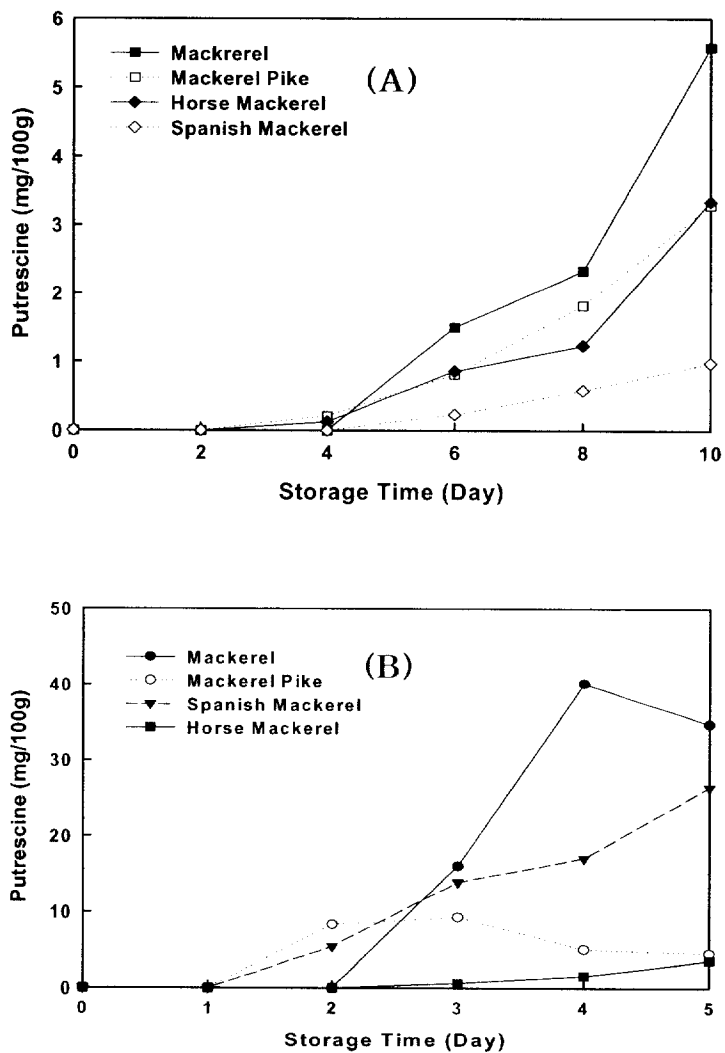


Fig. 10. Changes in putrescine contents during the storage of dark fleshed fishes at 4°C(A), 20°C(B), respectively.

Table. 5. Changes in amine and VBN of contents during the storage of dark fleshed fishes at -25 °C

Species	Amine and VBN	Amine contents (mg/100g) as days			
		0day	50days	100days	150days
Mackerel	histamine	-	-	0.41	0.85
	cadaverine	-	-	0.24	0.36
	putrescine	-	-	0.13	0.28
	VBN	12.14	17.90	20.00	22.30
Mackerel	histamine	-	-	0.39	0.69
	cadaverine	-	-	-	0.32
Pike	putrescine	-	-	-	0.28
	VBN	10.50	17.79	17.80	18.23
Horse Mackerel	histamine	-	-	0.69	1.28
	cadaverine	-	-	0.25	0.74
	putrescine	-	-	-	-
	VBN	11.96	17.94	19.54	21.54
Spanish Mackerel	histamine	-	-	-	-
	cadaverine	-	-	-	-
	putrescine	-	-	-	-
	VBN	12.07	17.54	18.15	19.86

2. 4. Sensory evaluation

20℃, 4℃에서 biogenic amine 생성량이 높았던 고등어와 꽁치 두 어종에 대한 냄새와 색깔에 익숙하도록 훈련된 13명의 panel을 구성하여 시료의 어피와 아가미, 눈동자 및 종합적 기호도에 관능적 평가를 각각의 항목마다 점수를 주어 평가하였으며, 그 결과를 정량적 묘사분석(quality descriptive analysis : QDA)으로 나타내었다.

4℃ 꽁치에서는 4일째 총점 3.18점으로 관능적으로 문제가 없어 보인다. 하지만 histamine 함량은 5.08 mg/100g이고 cadaverine의 함량은 4.01 mg/100g이다. 이는 4일째 외관상 이상이 없어도 유독 biogenic amine은 벌써 USFDA한계점을 넘어서고 있다. 따라서 4℃저장일 경우 적어도 4일안으로 소비하여야 한다. 6일째부터 eye form의 score는 2점으로 부적합하며 총점은 2.76으로 3점 이하로 떨어졌다.

20℃ 고등어의 경우 하루가 지난 후 표피의 냄새가 2점으로 떨어졌으며, 총점은 3.24였다. 이틀째 총점은 1.84로 관능적으로 부패가 되었음을 알 수 있다.

생시료의 상온저장일 경우 냄새 등으로 쉽게 생선의 부패정도를 파악할 수 있으나 4℃저장일 경우 외관상으로 문제가 없어 보여도 biogenic amine이 생성되었으므로 주의하여야 한다.

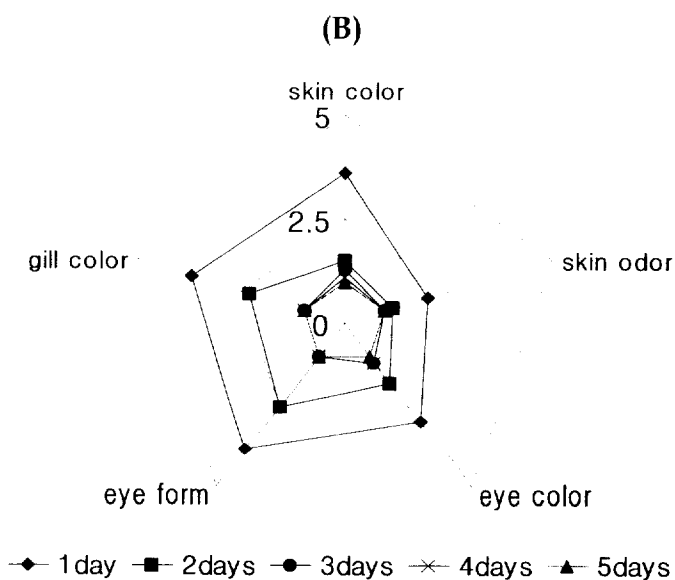
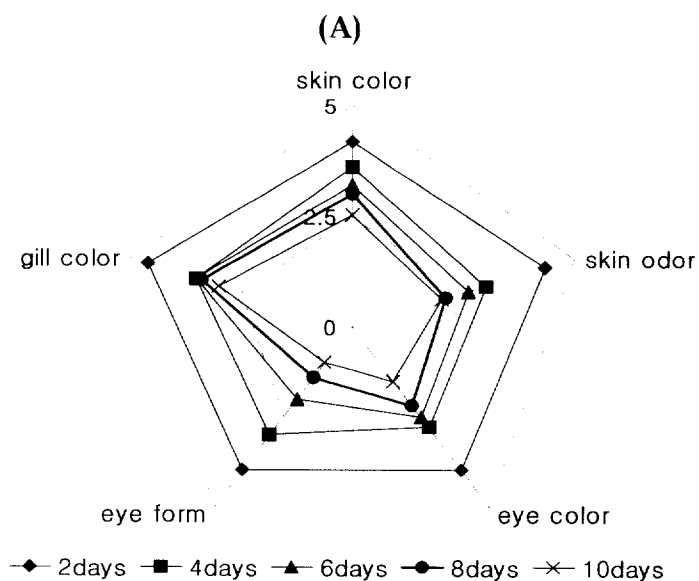


Fig. 11. QDA chromatograms in sensory evaluation for sensory characteristics of mackerel pike, mackerel, at 4°C (A), 20°C (B), respectively.

5 score scale(panel number=13), 5: very good, 3: acceptable, 1: very poor.

3. 적색육어류 가공품의 biogenic amine 함량변화

3. 1 염장고등어

3.1.1 시판 제품 중 염장고등어의 biogenic amine 함량 변화

시중 염장고등어는 제품마다 유통기한이 달랐다. 2004. 06. 11에 구입한 A마트의 경우 유통기한이 04. 08. 31일로 제조는 5월이며 유통은 3개월 정도로, 구입당시에는 한달정도 지난 것이었다. 저장 후 10일째 지난 후 1.91 mg/100g (histamine), 0.56 mg/100g (cadaverine)이 생성되었다. 선도가 양호한 것으로 보이며 유통상의 문제는 없었다.

04. 06. 17에 구입한 B마트는 유통기한이 04.06.24로 시중유통은 10일 정도로 하고 있었다. 구입당시는 3일정도 지난 것이었다. 저장기간 중 biogenic amine의 생성은 10일째 0.92 mg/100g (histamine)로 극미량 생성되었고 VBN 또한 19.32 mg/100g로 선도는 아주 양호한 것으로 유통상 문제를 발견할 수 없었다.

04. 06. 11에 구입한 C마트의 경우 04. 06. 17로 유통기한이 5일밖에 남지 않는 것이었다. 4일째 0.50 mg/100g(histamine)이 생성되기 시작하여 유통기한이 지난 6일째부터 6.89 mg/100g(histamine), 1.03 mg/100gCA), 8일째부터 PU가 생성되기 시작하였으며, 10일째 유통기한이 5일이 지난 것은 12.72 mg/100g (histamine), 8.59 mg/100g (cadaverine), 5.06 mg/100g (putrescine), 32.97 mg/100g (VBN) 으로 유통기한상의 문제는 발견되지 않았지만, 기한을 좀 더 줄여야 한다고 생각한다.

D마트에서는 10일째 VBN이 26.5 mg/100g이고 amine은 0.87 mg/100g (histamine), 0.5 mg/100g (cadaverine)이 미량 생성되었다. 제조상, 유통상 문제가 없다고 판단된다.

유통기한이 한달정도 남은 H마트의 경우 4일째부터 histamine, cadaverine이 생성되기 시작하여 8일째 19.89 mg/100g (histamine),

15.45 mg/100g (cadaverine), 0.90 mg/100g (putrescine)로 10일째에는 20.16 mg/100g (histamine), 15.96 mg/100g (cadaverine), 1.315 mg/100g (putrescine)로 생시료와 비슷한 부패속도를 보이고 있었다. 이는 심각한 위생상의 문제점을 나타내고 있다.

이처럼 시판 유통 중 염장고등어의 biogenic amine생성량이 각기 달라선도, 가공방법에 차이를 두어 제조하여 저장하면서 biogenic amine생성에 대해 알아보았다.

Table 8. Changes in biogenic amine and VBN contents during the circulation of marketing salted mackere

Mart	Amine and VBN	Amine contents (mg/100g)			
		4 Days	6 Days	8 Days	10 Days
A	histamine	–	–	–	1.91
	cadaverine	–	–	–	0.56
	putrescine	–	–	–	–
	VBN	13.11	15.66	20.12	25.37
B	histamine	–	–	–	0.92
	cadaverine	–	–	–	–
	putrescine	–	–	–	–
	VBN	15.13	16.93	17.43	19.32
C	histamine	0.50	3.56	7.74	12.72
	cadaverine	–	1.03	6.89	8.59
	putrescine	–	–	3.67	5.06
	VBN	13.61	17.85	23.05	32.97
D	histamine	–	–	–	0.87
	cadaverine	–	–	–	0.5
	putrescine	–	–	–	–
	VBN	18.317	22.87	22.83	26.50
H	histamine	4.89	13.31	19.89	20.16
	cadaverine	1.87	10.72	15.45	15.96
	putrescine	–	–	0.90	1.315
	VBN	26.61	28.15	29.63	44.02

3.1.2 선도와 염장방법에 따른 염장고등어의 biogenic amine 함량 변화

Biogenic amine의 생성량차이는 초기 시료의 선도차에 의하는 것으로 보고 그 기준은 VBN으로 하였으며, 9.15 mg/100g(A: good freshness)과 18.24 mg/100g(B: bad freshness)으로 일반적으로 많이 사용하는 개량물간법으로 제조하여 선도차이에 의한 biogenic amine 함량변화를 살펴보았다.

A를 보면 histamine은 보름 후부터 생성되기 시작하여 40일후 2.01 mg/100g, cadaverine은 2.40 mg/100g으로 함량은 아주 작았다. Putrescine은 생성되지 않았다. VBN의 함량은 26 mg/100g으로 저장성이 높은 것으로 나타났다.

B를 보면 10일후 histamine이 7.14 mg/100g생성되기 시작하여 급격히 증가하다가 40일후에는 histamine이 71.29 mg/100g, cadaverine 22.93 mg/100g, putrescine 17.77 mg/100g이 생성되었다. 그 증가량은 histamine의 경우 A와 비교하면 35배에 달한다. 이처럼 초기 선도의 차이는 biogenic amine의 급격한 성장을 보여주고 있다. Brillantes et al.(2002)은 적색육 어종인 멸치를 선도를 다르게 하여 액젓을 가공하여 본 연구에서도 처음 생시료의 선도가 biogenic amine생성에 큰 영향을 미친다고 보고한 바 있다.

선도를 배제하고 가공방법에 의한 biogenic amine함량변화를 살펴보면, 마른간법으로 하였을 때 한달째부터 histamine이 0.41 mg/100g 미량 생성되었고 40일째는 0.8 mg/100g밖에 생성되지 않았다. VBN 역시 낮은 함량을 나타내어 선도유지가 좋은편에 속하나 마른간법의 경우 외관상 보기에 좋지 않고 육 자체에도 짠맛이 많이 나는 것으로 알려져 있다.

물간법으로 하였을 경우에는 보름째 4.71 mg/100g이 생성되어 선도가

좋은 염장고등어보다 4배 정도 더 많이 생성되었다. 40일째에는 histamine 11.15 mg/100g, cadaverine 13.86 mg/100g, putrescine 0.43 mg/100g이 생성되었다.

이처럼 biogenic amine은 물간법에 비하여 마른간법이 생성량이 낮았으나, 제품의 풍미가 그다지 좋지 않다.

일반적으로 가공을 할 때는 개량물간법을 많이 사용하여 선도에 따른 변화량을 살펴본 결과, biogenic amine의 생성은 초기 원료의 선도에 크게 영향을 받는 것으로 나타났다.

유통 염장고등어의 경우 초기 원료의 선도가 가장 중요하며 적절한 선도의 고등어를 물간하여 제품화할 경우 4℃의 cold chain을 유지하며 보름정도 유통기한을 가지는 것이 적당하다고 보고 있다.

3. 3. 통조림

시중 유통중인 마트에서 3개의 회사제품의 고등어와 꽂치의 biogenic amine을 분석한 결과, 중요 유독 amine인 histamine이 소량 검출되었다. VBN은 꽂치에서 보다는 고등어에서 조금 더 높게 나왔으나 amine함량에 있어서는 큰 차이를 보이지 않았다.

적색육어류의 가공품에서는 식중독을 유발 함량에 미치지 않는 것으로 판단된다.

한편 Yamanaka et al.(1980)의 일본에서의 시판 통조림에서의 histamine함량과 박 등(1982)의 한국에서의 통조림함량에서의 위생상에 문제가 없다는 보고도 있었다.

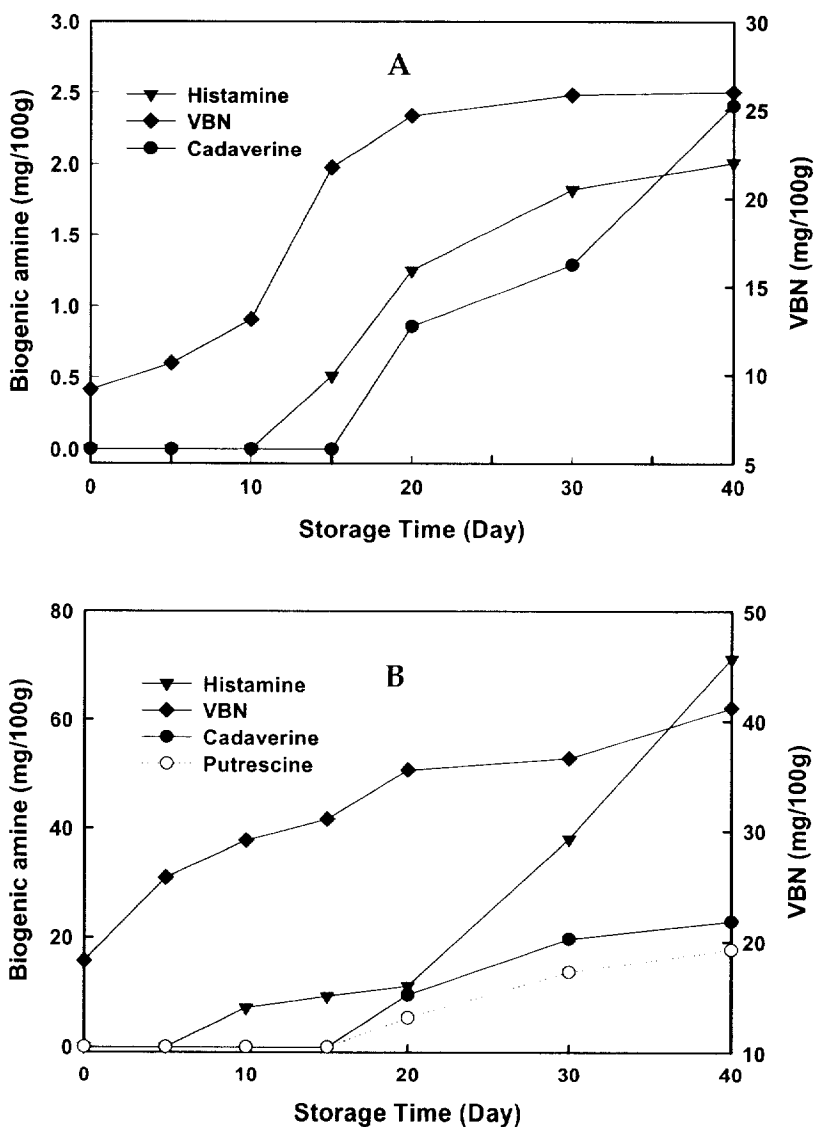


Fig. 12. Changes in biogenic amine and VBN contents during the storage of salted mackerel at 4°C.

(A) : good freshness below 10 mg/100g as VBN contents

(B) : bad freshness up 10 mg/100g as VBN contents.

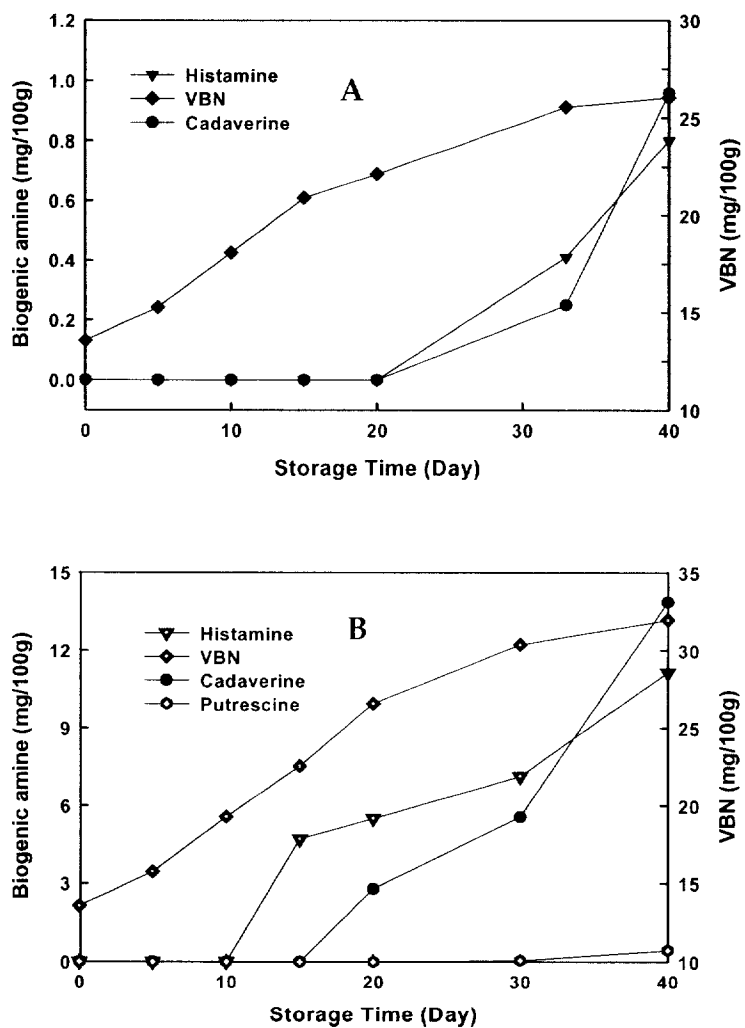


Fig. 13. Changes in biogenic amine and VBN contents during the storage of salted mackerel at 4°C.

(A) : Dry salted, (B) : Brine salted.

Table 9. Histamine and VBN contents in the canned dark-fleshed fishes on the processing factory

Sample	Company	Manufacturing date	Histamine (mg/100g)	VBN (mg/100g)
Mackerel	A	'03. 11. 21	0.1235	30.66
	B	'04. 05. 23	0.1809	26.97
	C	'04. 04. 18	0.3074	31.06
Mackerel Pike	A	'04. 04. 06	0.1778	18.27
	B	'04. 05. 04	0.1810	18.34
	C	'04. 02. 22	0.1772	19.71

3. 3. 과메기

3.3.1 포장진공과메기

일반 시중에 유통중인 과메기의 경우 보통 11월에서 3월 사이 얼렸다 녹였다는 반복하여 만든 것으로 줄과메기와 진공포장과메기 형태로 시판 되는데 이를 동결저장하면서 1년 동안 판매하게 된다. 이러한 과메기의 histamine함량을 살펴보면, 포장과메기에서는 3월에 생산한 C수산에서 120째부터 생성되기 시작하였으며 최종 150일에서는 A수산 1.20 mg/100g, B수산 2.01 mg/100g, C수산 1.3 mg/100g이 생성되었다. 위생적인 문제는 없었다.

3.3.2 줄과메기

줄과메기의 경우 진공포장과메기보다는 빨리 생성되었고 그 최종함량도 많았다. A수산에서는 90일후부터 (제조 8개월 후)생성되기 시작하여 150일 (제조 10개월 후)에는 2.31 mg/100g이 생성되었다. B수산은 6.41 mg/100g생성되어 줄과메기에서 유통상의 문제가 있음을 알 수 있었다.

우리나라에서 유통되고 있는 과메기의 경우 줄과메기 형태보다는 진공포장형태의 과메기의 위생적이며 1년 동안의 유통기한에는 문제가 없는 것으로 생각된다.

Table 10. Changes in VBN and histamine contents of a packing and raw kwamaegi during the storage at -25°C

Material		Contents(mg/100g) as days					
		30	60	90	120	150	
A Packing Kwamaegi	A	hista mine	0	0	0.42	0.79	1.20
		VBN	23.05	25.07	25.90	30.08	32.15
	B	hista mine	0	0.48	1.03	1.53	2.01
		VBN	20.19	22.53	25.08	29.23	30.26
	C	hista mine	0	0	0	0.8	1.3
		VBN	24.08	26.77	30.78	39.90	42.85
A Raw Kwamaegi	A	hista mine	0	0	0.52	1.22	2.31
		VBN	40.20	44.67	50.11	52.20	56.79
	B	hista mine	0	1.22	3.54	4.88	6.41
		VBN	45.87	50.69	59.46	63.83	66.95

요 약

적색육 어류에 있어 기존의 histamine 측정방법의 하나인 ion exchange chromatography와 HPLC로 측정하는 방법을 비교하여 정확성을 검토하고, 선도저하가 빠른 적색육어류를 온도별로 저장하여 HPLC를 통해 histamine, cadaverine, putrescine의 함량변화를 살펴보았으며, 선도변화의 지표로 많이 사용되고 있는 VBN과 비교하여 안전허용한계점에 대해 살펴보았다. 그리고 시중에서 유통되고 있는 적색육어류의 가공품에 있어서 VBN과 biogenic amine함량을 측정하여 정확한 실태를 알아보았다.

1. 기존의 histamine의 측정의 한 방법이었던 ion exchange chromatography와 HPLC의 biogenic amine의 회수율을 검토한 결과 ion exchange chromatography의 경우 79.7%의 비교적 낮은 회수율을 나타내었으나, HPLC의 경우 histamine 98.6%, cadaverine 97.2%, putrescine 98.2%로 높은 회수율을 나타내고 있다

2. 생시료의 일반성분은 고등어 꾹치가 $66.91 \pm 0.06\%$, $62.81 \pm 0.11\%$, 전갱이와 삼치가 $72.36 \pm 0.10\%$, $71.52 \pm 0.50\%$ 의 수분을, 단백질은 고등어, 꾹치, 전갱이에서 $20.64 \pm 0.44\%$, $19.97 \pm 0.41\%$, $20.21 \pm 0.41\%$ 의 함량을 가졌으며, 삼치는 $17.92 \pm 0.34\%$ 로 세 어종의 비해 함량이 낮았다. 지방은 총 시료 중 꾹치가 $15.37 \pm 0.19\%$ 로 가장 높았다.

3. 각 biogenic amine의 전구물질인 아미노산의 함량을 살펴보면 histamine의 전구물질인 histidine은 고등어에서 $36.53 \text{ mg}/100\text{g}$, 꾹치 $25.18 \text{ mg}/100\text{g}$, 전갱이 $17.54 \text{ mg}/100\text{g}$, 삼치 $4.89 \text{ mg}/100\text{g}$ 이었으며, cadaverine의 전구물질은 lysine은 고등어 $47.48 \text{ mg}/100\text{g}$ 로 가장 많이 함유되어 있으며, 전갱이, 꾹치, 삼치 순이었다. 총 구성아미노산은 고등

어가 가장 많으며, 전갱이, 꽁치, 삼치 순이었다. Putrescine의 전구물질인 ornithine의 함량은 크게 차이나지 않았다.

4. VBN함량변화를 보면 4℃는 시간이 경과함에 따라 서서히 증가하다 6일 이후로 고등어, 꽁치, 전갱이 세 어종에서 VBN 초기부패점인 30 mg/100g를 넘어서고 있다. 20℃는 급격한 증가추세를 보이고 있는데, 하루가 지난 고등어는 45.74 mg/100g로 선도저하가 가장 빨랐다. 온도에 따른 VBN의 함량을 보면 4℃에서는 삼치를 제외한 어종에서 6일째 초기부패점에 달하고 있으며 20℃의 경우 상온 하루 방치로도 고등어의 경우 충분한 부패가 일어나고 있다.

5. 생시료의 biogenic amine함량변화를 살펴보면 histamine의 최종함량이 가장 높았으며 다음으로 cadaverine, putrescine이 생성되었다. 4℃ histamine을 보면 10일째 고등어에서 23.23 mg/100g으로 시료 중 가장 많이 생성되었으며 꽁치 20.36 mg/100g이었으며 전갱이 16.73 mg/100g 이삼치는 1.5 mg/100g으로 가장 낮은 함량을 나타내어 저온에서의 저장성이 좋은 것으로 나타났다. 꽁치의 경우 초기 선도저하는 가장 빨랐다.

Cadaverine의 경우 10일째 전갱이가 29.87 mg/100g으로 8일째 이후 급격히 증가하기 시작하여 가장 많은 함량을 나타내고 있으며 고등어 20.62 mg/100g, 꽁치 11.41 mg/100g였고 삼치의 경우에는 9.86 mg/100g로 다른 biogenic amine 중 cadaverine이 가장 많이 생성되었다. Cadaverine도 histamine과 마찬가지로 초기 생성이 빠르게 진행되므로 부패정도를 확인하기에 충분하다고 할 수 있다.

6. 시료의 어피와 아가미, 눈동자 및 종합적 기호도를 정량적 묘사분석(quality descriptive analysis : QDA).으로 나타낸 결과에서는 4℃ 꽁치에서는 4일째 총점 3.18점으로 관능적으로 문제가 없어 보이지만 histamine 함량은 5.08 mg/100g이고 cadaverine의 함량은 4.01 mg/100g

이다. 이는 4일째 외관상 이상이 없어도 유독 biogenic amine은 USFDA 한계점을 넘어서고 있다. 따라서 4℃ 저장일 경우 적어도 4일안으로 소비하여야 한다. 20℃ 고등어의 경우 하루가 지난 후 표피의 냄새가 2점으로 떨어졌으며, 총점은 3.24였다. 이틀째 총점은 1.84로 관능적으로 부패가 되었음을 알 수 있다.

생시료의 상온저장일 경우 냄새 등으로 쉽게 생선의 부패정도를 파악할 수 있으나 4℃저장일 경우 외관상으로 문제가 없어 보여도 biogenic amine이 생성되었으므로 주의하여야 한다.

5. 5개의 마트에서 수집한 염장고등어의 biogenic amine생성에 따른 문제점을 살펴본 결과 유통기한상의 문제는 거의 발견되지 않았지만 2개의 마트에서 안전허용한계점을 넘어서고 있었다.

6. 선도와 가공방법에 따른 염장고등어의 Biogenic amine의 생성량을 살펴보면 선도차이의 의한 biogenic amine의 함량은 histamine의 경우 최고 35배 가까이 차이남에 따라 초기 선도가 biogenic amine의 함량에 큰 영향을 미침을 알수 있었으며 가공방법에 의한 차이를 보면 물간법으로 제조한 염장고등어는 15일정도 신선한 저장기간을 가졌으며 마른간법의 경우 biogenic amine생성이 더딘 반면 외관상 좋지 않고 육 자체의 짠맛이 나는 것으로 알려져 있다.

7. 유통중인 고등어와 꽂치의 통조림에서의 biogenic amine을 살펴본 결과 미량의 histamine이 생성되었을뿐, 위생상의 문제는 발견할 수 없었다.

8. 유통중인 3개의 포장 과메기와 2개의 줄과메기를 수거하여 동결상태에서 저장하며 biogenic amine함량을 살펴보면, 포장과메기에서 최종 150일에서는 A수산 1.20 mg/100g, B수산 2.01 mg/100g, C수산 1.3

mg/100g으로 위생적인 문제는 없었지만, 줄과메기의 경우 A수산에서는 90일후부터 (제조 후 8개월후) 생성되기 시작하여 150일 (제조 후 10개월 후) 에는 2.31 mg/100g이 생성되었고 B수산은 6.41 mg/100g생성되어 줄과메기에서 유통상의 문제가 있음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

Ali R. Shalaby. 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Research International, 29(7), 675~690.

Bardocz, S. 1993. The role of dietary polyamines. Eur.J.Clin. Nutr. 47:683-690

Centers for disease control and prevention [CDC]. 2000. Surveillance for foodborne disease outbreaks-united states, 1993~1997. MMWR 49:1~72.

Edmunds, W.T. and R.R. Eitenmiller. 1975. Effect of storage time and temperature on histamine content and histidine decarboxylase activity of aquatic species. J. Food Sci. 40(3), 516~519.

Goth, A. 1978. Histamine. In: Medical Pharmacology, 9th ed., 177.

Goth, M., F. Wantke and R. Jaarisch. 1993. Histamine-free diet; treatment for histamine-induced food intolerance and supporting treatment for chronic feadaches. Clinical and Experimental Allergy, 1982.

Hardy r. and G.M. Smith. 1976. The storage of mackerel (*Scomber scombrus*). Delvelopment of hidtamin and rancidity. J. Sci. Fd Agric., 27, 595~599.

Igarashi, H. 1938. The pungent principles of fishes produced by decrease in freshness, Part-1. J. Chem. Soc. Japan 59, 1258~1259.

Kawabata, T. and S. Suzuki. 1959. Studies on the food poisoning associated with putrefaction of marine products-8. Distribution of 1-(-)-histidine decarboxylase among proteus organisms and the specificity of decarboxylating activity with washed cell suspension. Bull. Japan Soc. Sci. Fish, 25, 473-480.

河端俊治. 1974. ヒスタミンの イオン交換クロマトグラフィー. 水産生物化学, 食品学 実験書(齊藤恒行・内山均・梅本 滋・河端俊治 編). 厚生閣, 東京, 300-305.

Koh K.B. and Y.H. Park. 1982. Studies on the histamine contents in the canned dark-flashd fishes. Korean Fish. Soc., 15(3),191-198.

Kimata, M. and A. Kawai. 1958. Studies on the histamine formation of *Proteus morganii*. Mem. College Agr. Kyoto Univ., Fish. Ser. Special Issue, 92-99.

Kimata, M. and A. Kawai. 1959. Studies on the histamine formation of *Proteus morganii*(cont.). Mem. Research Inst. Food Sci. Kyoto Univ., 18, 1-7.

Luten, J.B., W. Bouquet, L. A. J. Seuren, M. M. Burggraaf, G. Riekwel-Booy, P. Durand, M. Etienne, J. P. Gouyou, A. Landrein, M. Leclerq and R. Guinet. 1992. Biogenic amines in fishery products: Standardization methods within EC. In quality assurance in the fish industry, 427~439.

Mietz J.L. and Karmas, E. 1978. Polyamine and histidine content of rockfish, salmon, lobster and shrimp as an indicator of decomposition. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 61:139

Morii, H.A., D.C. Cann, L.Y. Taylor and C.K. Murray. 1986. Formation of histamine by luminous bacteria isolated from scombroid fish. Bulletin of the Japanese Society of Sci. Fisheries. 52(12), 2135-2141.

Okuzumi, M.Y., K.Z. Toyama, H.A. Yamanaka and M.H. Nagano. 1984. Histamine-forming bacteria in raw materials of fish meals. Bulletin of the Japanese Society of Sci. Fisheries. 50(5), 883-888.

Rossi S., C. Lee, P.C. Ellis and L.F. Pivarnik. 2002. Biogenic amines formation in bigeye tuna steaks and whole skipjack tuna. Journal of Food Science, 67(6), 2056~2060.

Shalaby, A.R. 1996. Significance of biogenic amine to food safety and human health. Food Res. Int., 29:675-690.

Suzuki, U., C. Yoneyama and S. Okada. 1912. Composition of "bonito" salt paste. J. Coll. Agr. Tokyo Imp. Univ., 5, 33~41.

Taylor, S. L. and S. S. Sumer. 1986. Determination of histamine, cadaverine and putrescine. In D. E. Kramer, & J. Liston (Eds.), Seafood quality determination. Proceedings of an international symposium Amsterdam: Elsevier Science, 245~253.

Ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H. and Huis in't, V. 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. Int.J.Food Microbiol. 11, 73-84.

Toyama, K.Z., M.Y. Okuzumi, T.N. Yokoi and H. Aoe. 1981. Histamine contents of fish meal. Bulletin of the Japanese Society of Sci. Fisheries. 47(3), 415-419.

[USFDA] U.S. Food and Drug Administration. 2001. Ch.7 Scombrototoxin (histamine) formation. In.: Fish and fishery products hazards and controls guide. 3rd ed. Washington, D.C.: Dept. of Health and Human Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood. p73-90.

Yamanaka, H.A., K.O. Shiomi, M.K. Naito and T.K. Kikuchi. 1980. Bulletin of the Japanese Society of Sci. Fisheries. 46(7), 905-907.

Yamanaka, H.A., K.O. Shiomi, T.A. Kikuchi and M.O. Okuzumi. 1984. Bulletin of the Japanese Society of Sci. Fisheries. 50(4), 695-701.

Yamanaka, H., Shimakura, K., Shiomi, K., and Kikuchi, T. 1986. Changes in nonvolatile amine contents of the meats of sardine and saury pike during storage. Bull Japan Soc. Sci. Fish. 50:695.

Yatsunami K.H. and T.S. Echigo. 1991. Isolation of salt tolerant histamine-forming bacteria from commercial rice-bran pickles of sardine. Nippon suisan gakkaiishi, 57(9), 1723-1728.

Yoguchi, R.O., M.Y. Okumi and T.O. Fujii. 1990. Seasonal variation in number of halophilic histamine-forming bacteria on marine fish. Nippon suisan gakkaiishi, 56(9), 1473-1479.

Veciana-Nogues M. T., T. Hernandez-Jover, A. Marine-Fony and M. C. Vidal-Carou. 1995. Liquid chromatographic method for determination of biogenic amines in fish and fish products. Food composition and additives, 78(4), 1045-1050.

강진훈, 박영호 . 1984. 고등어의 가공 및 저장중의 히스타민 생성에 미치는 첨가물의 영향 (1) 식염 , 산미료 및 감미료의 영향. 한수지, 15(7),

383~390.

고광배, 박영호. 1982. 적색육어류통조림의 Histamine 함량에 관한 연구. 한수지, 15(3), 191~198.

김동경, 박인선, 김남수. 1998. 냉장 및 냉동어육의 화학적 선도지표 측정. 한국식품과학회, 30, 993~999.

김재현, 박현진, 김미정, 안현주, 변명우. 2003. 연구노트 : 시판 간장 중의 biogenic amine의 함량 조사. 한국식품과학회, 35(2), 325~328.

김재현, 안현주, 김동호, 조철훈, 차보숙, 변명우. 2002a. 감마선 조사가 된장 숙성중의 biogenic amine 함량에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, 31, 713~716.

김재현, 안현주, 홍진환, 한상배, 변명우. 2002b. 시판 맥주 중의 biogenic amine 함량조사. 한국식품과학회지, 34, 1127~1129.

박영호, 김동수, 김순, 김선봉. 1980. 적색육어류의 저장 및 가공중의 histamine 함량의 변화 I . 고등어, 전어 및 정어리에 있어서의 변화. 한수지, 13(1), 15~22.

박영호, 김선봉, 정혜경, 고광배, 김동수. 1981. 적색육어류의 저장 및 가공중의 histamine 함량의 변화 - 꽂치에 있어서의 변화 . 한수지, 14(3), 122~130.

박인선, 김동경, 손동화, 조용진, 김남수. 1999. Chitopearl 효소 reactor를 이용한 biogenic amine 측정. 한국식품과학회, 31, 593~599.

유희춘, 김형룡, 김상현, 김대기, 이영미, 김형민, 안년형, 신태용. 1996. 형광검출 역상 액체크로마토그래피에 의한 histamine의 정량. Analytical science & technology, 9(2), 198~202.

이재성, 김영상, 차기석, 이희정, 홍천수, 남혜원, 명춘옥, 이기완, 이양자. 1997. 형광측정법을 이용한 히스타민 분석방법 개발 연구. 한국분석과학회, 10(1), 43~42.

허지연, 황미경, 양지영, 장동석. 2000. 젓갈 중의 Histamine 함량. 한수지. 119~120.

감사의 글

부족한 논문이 완성되기까지 세심한 지도와 끊임없는 관심, 사랑으로 항상 지도해 주시며, 제가 이 자리에 있게 이끌어 주신 조영제 교수님께 깊이 감사의 말씀을 전하고 싶습니다.

그리고, 논문발표와 심사과정에서 미처 착안하지 못한 부분까지도 교열하여 주시고 조언을 아끼지 않으신 식품공학과 장동석 교수님, 박희열 교수님, 이근태 교수님, 김선봉 교수님, 양지영 교수님, 전병수 교수님, 이양봉 교수님, 안동현 교수님, 박미연 선생님께도 감사의 말씀을 전하고자 합니다.

또한 부족한 절 늘 함께 도와주시고, 항상 배려해주신 김태진 선배님께 깊이 감사드리고, 항상 최선을 다하도록 용기와 조언을 아끼지 않으신 이남걸 교수님과 한병수, 정필근, 서덕훈, 박대찬, 임철환, 진석민, 박광호, 이기봉, 박정우 선배님들께 감사드립니다. 그리고 주정미언니, 주은정언니, 박영남언니, 김배의 언니에게도 감사드립니다.

그리고 석사생활을 하며 따금한 충고와 관심으로 저를 이끌어주신 심길보선배님과 정호진, 배진한, 김윤철, 오상민선배에게도 고마운 맘을 전합니다. 동기 철윤이와 용제 귀여운 후배 도훈이, 현규를 비롯하여 최고운, 김지연, 권정희, 엄혜원, 홍윤경, 손명진, 김수지, 정선희, 이해림, 최주희, 구운강 후배님들께도 감사의 맘을 전합니다.

또한 같이 석사생활을 하였던 송호수선배님과 김성구선배, 안종훈선배, 최주현선배, 조승목선배, 노형섭선배, 신의철선배, 박찬웅선배에게 감사의 말을 전하며 김성준, 김성진, 허민수, 장해진, 박현덕선배에게도 감사드립니다. 과학원일로 바빴던 김보미와 저의 동기인 성미경, 서정은, 조선희, 정선미언니에게도 감사의 말을 전합니다.

항상 저의 옆자리를 지키주는 현정, 미숙, 도경, 지명, 현애, 호라, 연정, 승희에게 고마움을 전하며, 윤영수선배와 문승준선배에게도 고마움을 전합니다.

저를 항상 뒷바라지 하느라 고생하시는 아버지, 어머니에게 머리 숙여 감사드리며, 말쑥쟁이 동생을 귀여워해주는 언니와 미래의 형부에게도 고마움을 전합니다.