

최 중
연구보고서

복합추출기법을 이용한 레토르트파우치
즉석 복어탕류의 개발

Development of the Retort Pouched Pufferfish
Broth using the Complex Extraction Method

연구기관

경 상 대 학 교

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “복합추출기법을 이용한 레토르트파우치 즉석
복어탕류의 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2010 년 1 월 일

주관연구기관명 : 경상대학교

주관연구책임자 : 오 광 수

연 구 원 : 김 형 선

연 구 원 :

연 구 원 :

요 약 문

I. 제 목

복합추출기법을 이용한 레토르트파우치 즉석 복어탕류의 개발

Development of the retort pouched pufferfish broth using the complex extraction method

II. 연구개발의 목적 및 필요성

복어류는 강한 독력에도 불구하고 담백한 맛과 더불어 알코올 분해기능이 뛰어나 예로부터 복국이나 회 등으로 조리하여 우리나라에서 즐겨 먹어온 어종이다. 현재 복어는 전문 음식점에서 복어탕이나 복어회, 전문요리 형태로 판매되고 있으나 다른 가공품으로 개발된 것은 거의 찾아볼 수 없다. 그리고, 이러한 복어탕 등의 요리를 접하기 위해서는 반드시 복어요리전문가가 있는 복어요리 음식점을 방문해야만 가능하므로, 본 개발과제에서는 복어요리를 대중화한 즉 가정에서 손쉽게 복국을 바로 먹을 수 있는 레토르트파우치 즉석 복국을 개발하고자 한다. 한편, 최근 양식 기술의 발전으로 황복을 비롯한 양식 복어류의 대량 생산이 연중생산이 가능해짐에 따라 복어는 기존 복요리 이외에 고부가가치를 창출할 수 있는 가공품으로의 개발이 시급하다.

따라서 본 개발과제에서는 무독하거나 비교적 독력이 약한 연안산 밀복을 원료로 복합추출기법을 통하여 복국용 육수의 정미를 강화할 수 있는 조미소재를 추출 조제하고, 이를 활용하여 위생적으로 안전하며 풍미를 개선시킨 고부가가치의 레토르트파우치 즉석 복어탕류를 개발하고, 본 시작품의 가공공정 표준화, 품질특성 및 상표, 포장 디자인 등 상품화 준비를 목표로 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 원료 밀복의 성분특성 조사
2. 풍미 및 수율 향상을 위한 엑스분의 복합추출 및 이를 이용한 밀복 농축엑스분의 제조
3. 밀복국용 베이스수프(육수)의 제조
4. 밀복 원료 및 각종 밀복 추출물의 독소(tetrodotoxin) 시험
5. 밀복국 제조를 위한 각종 첨가물(recipe)의 선정
6. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조조건, 포장형태 구명
7. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 가열살균에 따른 품질특성의 변화 검토
8. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 생산
9. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 품질, 저장안정성 등 검사
10. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 포장 디자인, 상표명 선정
11. 정미강화용 농축엑스분의 복합추출법 및 시작품 제조기술 특허출원

Ⅳ. 연구개발 결과

1. 원료 밀복의 육, 처리잔사와 fish frame 등 부위별 성분조성의 특성분석
2. 풍미 및 수율 향상을 위한 엑스분의 복합추출 및 이를 이용한 정미강화용 밀복 농축엑스분의 제조
3. 인근 유명 복요리전문점 및 복요리전문요리학원의 협조 하에 밀복국용 베이스수프(육수)의 제조 및 이화학적 성분분석
4. 밀복 원료, 각종 밀복 추출물 및 시작품의 독소(tetrodotoxin) 시험
5. 밀복국 제조를 위한 각종 첨가물(recipe) 선정
6. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조 조건, 포장형태 등 구명

7. 밀복국 시작품(고형물 및 액즙)의 가열살균에 따른 성분, 품질특성의 변화를 검토하여 최적 살균량(Fo값)의 설정
8. 레토르트과우치 밀복국 시작품의 생산 및 성분분석
9. 시작품의 독소(tetrodotoxin) 시험, 품질시험 및 저장안정성 시험
10. 시작품의 포장 디자인 완료, 상표명 선정 및 이에 관련한 특허등록
11. 복합추출기술 및 시작품 가공기술의 관련학회 발표
12. 풍미 및 수율 향상을 위한 엑스분의 복합추출법 및 시작품의 제조기술 특허출원
13. 지역 언론매체를 통한 지역특산 수산가공품으로의 홍보

V. 연구개발 결과의 활용계획

1. 개발 제품의 지속적 홍보 및 산업화 추진

- 본 시작품은 간편, 풍미 및 내용물의 식감이 우수하고 상온에서 유통 가능하며, 식품위생학적으로 안전함이 입증된 제품으로 상품화가 될 경우 복어요리의 대중화 및 고부가가치를 창출할 수 있을 것으로 기대
- 본 연구개발을 통하여 목표로 한 시작품의 개발, 포장, 디자인을 완성함과 동시에 제조공정의 표준화 검토, 개발기술의 특허출원
- 인근 복요리전문점을 통한 시작품의 홍보
- 지역언론매체를 통한 상온유통 인스턴트 복국의 개발 및 지역특산품으로서의 홍보 및 기호도 조사
- 레토르트파우치 밀복국의 제조기술 및 영양, 맛성분 조성을 학술대회에 발표 및 논문투고
- 산학연개발제품 전시회에 참여 : 희망산업체의 발굴 및 기술이전을 통하여 시작품이 생산 판매, 즉 상품화될 수 있도록 노력

2. 해양바이오 산업의 활성화에 활용

- 본 연구개발에서 수행된 살균기술, 미량성분의 분석 결과 등은 본 시작품과 유사한 해양바이오산업의 연구개발을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것임.

3. 기술 경제적 측면

- 레토르트파우치 밀복국의 제조기술 개발을 통한 수산물 레토르트식품의 가공기술에 대한 노하우를 축적
- 레토르트파우치 밀복국의 가공방법을 변형하여 유사한 수산물 스프 및 탕류제품의 개발에 활용 : 유사 인스턴트 즉석식품 개발시 인적 물적 경비의 손실을 최소화할 수 있음.

- 복어를 원료로 무독한 인스턴트제품 개발과 산업화를 통하여 복어 가공조리의 한계 극복 및 복어양식산업 등 관련산업의 발전을 기대할 수 있음.
- 다양한 소비자의 욕구를 충족시킬 수 있는 제품 개발로 인한 소비자의 만족도 향상에 기여.

SUMMARY

This development study was carried out to develop the retort pouched pufferfish (Brown-backed toadfish, *Lagocephalus gloveri*) broth product with good taste and long shelf-life at normal temperature. We have examined the extraction condition of the complex pufferfish extract with high yield and good sensory quality, optimum processing conditions and quality characteristics of this trial product. Also tetrodotoxin test, flavor constituents and storage stability of this trial product were examined. The contents of carried present development study were as follows.

- a. Food components analysis and tetrodotoxin test of raw pufferfish by part such as flesh, fish frame and skin.
- b. Preparation of pufferfish extract such as hot-water extract, 2 step enzymatic hydrolysate of hot-water extract scrap and the complex extract.
- c. Food components analysis and tetrodotoxin test of pufferfish extracts.
- d. Investigation of the complex extraction condition of pufferfish extracts.
- e. Analysis of Food components, yield and sensory characteristics of complex extract.
- f. Optimum addition ratio of complex extract for enhancing of the pufferfish soup stock.
- g. Preparation and food components analysis of base soup for the pufferfish broth.
- h. Establishment of optimum processing conditions for the retort pouched pufferfish broth product.
- i. Establishment of optimum retort sterilization conditions for the retort pouched pufferfish broth product.
- j. Analysis of sensory quality characteristics and shelf-life of the retort pouched pufferfish broth product.

- k. Tetrodotoxin test of the retort pouched pufferfish broth product.
- l. Commercialization of the retort pouched pufferfish broth product such as trade mark, package design and patent application.

The 3 kinds of pufferfish extracts such as hot-water extract, 2 step enzymatic hydrolysate of hot-water extract scrap and the complex extract were prepared. Yields and free amino acid contents of these extracts(Brix 10°) were 420, 490, 910 mL/kg and 336, 853, 550 mg/100mL, respectively. And tetrodotoxin toxicity of these extracts were below 6 MU/g, and revealed that these were a non-poison food material. As a taste-active components, major free amino acids and inorganic ions were taurine, urea, hydroxyproline, proline, leucine, phenylalanine, lysine, arginine, and K, Na, P, respectively. But TMAO and TMA were low in amount. As a result of physicochemical experiments and sensory evaluation, the complex extract showed a good yield improvement, and adding 3% this extract to the pufferfish base soup enhanced the taste of pufferfish-soup stock effectively.

The present retort pouched pufferfish broth was manufactured according to following unit processings; Physically detoxified pufferfish → Soaking in cold water → Identification of poisonous part → Cutting and blanching → Packing in retortable pouch with other ingrediants(soup stock, radish, bean sprouts, complex pufferfish extract) → Heat sealing → Hot-water circulating retort sterilization at 120°C for 10 min.(accumulated Fo-value 10 min.) → Cooling. This trial product was not inferior to the pufferfish broth(*Bok-Guk*) on the professional restaurant for quality characteristics and sensory acceptability.

As a result of physicochemical experiments for quality stability and shelf-life during incubating test, the present trial product showed very good conditions for preserving the quality of products, and could be reserved in excellent conditions for storage 60 days or more at $35\pm 1^{\circ}\text{C}$. In addition, the state of viable cells count was reported to be maintained negative during this storage. Also tetrodotoxin toxicity of the trial product was below 6 MU/g.

We may conclude from the results of this development study that the present trial product had a good food qualities and shelf-life compared with the professional pufferfish broth, and it can be commercialized as a new instant pufferfish broth product on the market.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	21
Section 1. Development study purpose and necessity	21
Section 2. Development study contents and extents	22
Chapter 2. The present state of development study in the inside and outside of the country, and study information	23
Section 1. The present state of study in the inside and outside of the country	23
Section 2. Study background and leading study	25
Chapter 3. Development study methods	27
Section 1. Development study contents	27
Section 2. Materials and methods	28
1. Materials	28
2. Methods	29
a. Preparation of pufferfish extracts	29
b. Proximate composition, pH, acidity, salinity and viscosity	33
c. Volatile basic nitrogen, amino nitrogen and yield	33
d. Amino acid and fatty acid composition	33
e. Taste compounds	34
f. Sensory evaluation	34
g. Tetrodotoxin toxicity	35
h. Color value, hardness and viable cells count	36
i. Incubating test and measurement of Fo-value	36
Section 3. Results and discussion	38
1. Food components of raw pufferfish by part	38

1) Food components of raw pufferfish	38
2) Tetrodotoxin toxicity of raw pufferfish by part	41
2. Food components and tetrodotoxin toxicity of pufferfish extracts ..	45
1) Food components of pufferfish extracts	45
2) Taste components of pufferfish extracts	46
3) Tetrodotoxin toxicity of pufferfish extract by part	53
3. Extraction and food components of pufferfish complex extract ...	53
1) Complex extraction condition of pufferfish extracts	53
2) Food components characteristics of complex extract	56
3) Yield and sensory characteristics of complex extract	60
4) Optimim addition ratio of complex extract	60
4. Preparation and food components of base soup for pufferfish broth	63
1) Preparations of base soup for pufferfish broth	63
2) Food components of base soup for pufferfish broth	64
5. Preparation of the retort pouched pufferfish broth	67
1) Materials and its contents of the retort pouched pufferfish broth ...	67
2) Processing flow sheet of the retort pouched pufferfish broth ...	69
3) Retort sterilization of the retort pouched pufferfish broth	73
(1) Changes in chemical compopnents of the retort pouched pufferfish broth as affected by Fo-values	73
(2) Retort sterilization of the retort pouched pufferfish broth	78
6. Sensory quality characteristics and shelf-life of the retort pouched pufferfish broth	78
1) Sensory quality characteristics of the retort pouched pufferfish broth	78
2) Tetrodotoxin toxicity of the retort pouched pufferfish broth	82

3) Shelf-life of the retort pouched pufferfish broth	84
7. Commercialization of the retort pouched pufferfish broth	87
1) Contents of 9 kinds of nutritional component of the retort pouched pufferfish broth	87
2) Trade mark and packaging design of the retort pouched pufferfish broth	89
(1) Patent application for commercialization	89
(2) Outer packaging design of the retort pouched pufferfish broth ..	92
(3) Final product of the retort pouched pufferfish broth	93
 Chapter 4. Achievement of development study and contribution for the related industries	95
1. Goal and achievement of development study	95
2. Appraisal points and standard, achievement	96
3. Contribution for the related industries	96
 Chapter 5. Practical use plan of development study results	97
1. Mass communication and commercialization of development product	97
2. Utilization for marine-bio industry development	97
3. Technical and economical side	97
 Chapter 6. Reference	99
 [Appendix] A statement of views for self-estimation	105

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	21
제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성	21
제 2 절 연구개발의 내용 및 범위	22
제 2 장 국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보	23
제 1 절 본 과제와 관련한 국내외 기술개발 현황	23
제 2 절 선행 연구사례	25
제 3 장 연구개발수행 방법	27
제 1 절 연구개발수행 내용	27
제 2 절 연구개발수행 방법	28
1. 원료	28
2. 실험 방법	29
가. 밀복 추출물의 조제	29
나. 일반성분, pH, 산도, 염도 및 점도	33
다. 휘발성염기질소, 아미노질소 및 수율	33
라. 구성아미노산 및 구성지방산 조성	33
마. 정미성분	34
바. 관능검사.	34
사. 독성(tetrodotoxin) 시험	34
아. 색조, 조직감 및 생균수	35
자. 가온검사 및 Fo값의 측정	36
제 3 절 연구개발수행 결과	38
1. 원료 밀복의 부위별 성분조성	38
1) 원료 밀복의 성분조성	38
2) 원료 밀복의 부위별 tetrodotoxin 독력	41

2. 밀복 추출물의 성분조성 및 tetrodotoxin 독력	45
1) 밀복 추출물의 이화학적 성분조성	45
2) 밀복 추출물의 정미성분 조성	46
3) 밀복 부위별 추출물의 tetrodotoxin 독력	53
3. 밀복 엑스분의 복합추출 및 밀복 복합추출물의 성분특성	53
1) 밀복 엑스분의 복합추출방법	53
2) 밀복 복합추출물의 성분조성	56
3) 밀복 복합추출물의 수율 및 관능적 특성	60
4) 밀복 복합추출물의 최적 첨가비율	60
4. 밀복국용 베이스수프의 제조 및 이화학적 성분조성	63
1) 밀복국용 베이스수프(육수)의 제조	63
2) 밀복국용 육수의 성분조성	64
5. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조	67
1) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 원료 및 함량	67
2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조공정	69
3) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 살균	73
(1) 가열살균량(Fo값)에 따른 시작품의 이화학적 성분변화	73
(2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 살균	78
6. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 관능적 품질 및 저장안전성	78
1) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 관능적 품질	78
2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 tetrodotoxin 독력	82
3) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 저장안정성	84
7. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 상품화	87
1) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 영양성분 9종 함량	87
2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 상표 및 포장 디자인	89
(1) 산업재산권 출원	89
(2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 외포장 디자인	92
(3) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 최종제품	93

제 4 장	연구개발 목표달성도 및 관련분야 기여도	95
1.	연구개발 목표 및 달성도	95
2.	평가의 착안점, 기준 및 달성 여부	96
3.	관련분야에의 기여도	96
제 5 장	연구개발 결과의 활용계획	97
1.	개발제품의 지속적 홍보 및 산업화 추진	97
2.	해양바이오 산업의 활성화에 활용	97
제 6 장	참고문헌	99
[별첨]	자체평가의견서	105

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

복어류는 강한 독력에도 불구하고 담백한 맛과 더불어 알코올 분해기능이 뛰어나 예로부터 복국이나 회 등으로 조리하여 우리나라에서 즐겨 먹어온 어종이다. 현재 복어는 전문 음식점에서 복어탕이나 복어회, 전문요리 형태로 판매되고 있으나 다른 가공품으로 개발된 것은 거의 찾아볼 수 없다. 그리고, 이러한 복어탕 등의 요리를 접하기 위해서는 반드시 복어요리전문가가 있는 복어요리 음식점을 방문해야만 가능하므로, 본 개발과제에서는 복어요리를 대중화한 즉 가정에서 손쉽게 복국을 바로 먹을 수 있는 레토르트파우치 복국을 개발하고자 한다. 한편, 최근 양식 기술의 발전으로 황복, 참복과 같은 양식 복어류의 대량 생산이 연중생산이 가능해짐에 따라 복어는 기존 복요리 이외에 고부가가치를 창출할 수 있는 가공품으로의 개발이 시급하다.

따라서 본 개발과제에서는 비교적 무독한 연안산 밀복을 원료로 복합추출기법을 통하여 복국용 베이스수프의 정미를 강화할 수 있는 조미강화소재를 추출하고, 이를 이용하여 위생적으로 안전하며 풍미를 개선시킨 고부가가치의 레토르트파우치 즉석 복국 시작품을 개발하고, 본 시작품의 품질특성, 안전성 및 상표, 포장 디자인 등 상품화 준비를 목표로 한다.

본 개발사업의 시작품이 간편, 풍미 및 첨가 부원료의 식감이 우수하고 상온에서 유통가능하며, 식품위생학적으로 안전성이 입증될 경우 상품화를 통하여 복어요리의 대중화 및 고부가가치를 창출할 수 있는 가공품이 될 것으로 기대된다.

제 2 절 연구개발의 내용 및 범위

무독한 연안산 밀복을 원료로 복합추출기법을 통하여 정미강화용 조미소재를 추출하고, 이를 활용하여 풍미를 개선시킨 고부가가치의 레토르트파우치 즉석 밀복국을 개발하고, 본 시작품의 안전성 및 품질 시험을 거친 후 상표, 포장 디자인 개발 등 상품화를 준비한다.

1. 원료 밀복의 성분특성 조사
2. 풍미 및 수율 향상을 위한 엑스분의 복합추출 및 이를 이용한 밀복 농축엑스분의 제조
3. 밀복국용 베이스수프(육수)의 제조 및 성분 분석
4. 밀복 원료 및 각종 밀복 추출물의 위생학적 안전성(tetrodotoxin) 시험
5. 밀복국 제조를 위한 각종 내용물 및 첨가물(recipe)의 선정
6. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조공정 확립 및 공정의 표준화
7. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 가열살균에 따른 품질특성의 변화 분석
8. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 생산 및 성분분석
9. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 품질, 저장안정성 등 검사
10. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 포장 디자인, 상표 개발 및 특허출원
11. 정미강화용 밀복 엑스분의 복합추출법 및 시작품 제조기술 특허출원
12. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 소비자 반응조사 및 홍보

제 2 장 국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보

제 1 절 본 과제와 관련한 국내외 기술개발 현황

난류성 어류인 복어류(pufferfish)는 우리나라 및 일본 근해에 약 40여종이 서식하고 있으며, 이 가운데 식용하는 복어류는 황복을 비롯하여 참복, 자주복, 까치복, 밀복, 은복, 검복, 줄복 및 복섬 등 10여종이 있다. 국내 자연산 복어류의 생산은 약 3,500톤, 양식산은 250여톤이며, 국내 수요 또한 단일 어종으로는 보기 드물게 3,800톤 이상이 되는 인기어종 중의 하나이다. 복어류에는 다량의 IMP가 함유되어 식미가 뛰어나며, 그 열수추출물은 숙취 후 간 해독효과 등 기능특성을 지니고 있는 것으로 알려져 있다. 이와 같이 복어는 그 맛이 시원 담백하며 영양학적으로도 우수한 어종임에도 불구하고 강력한 어패류 독의 하나인 TTX(tetrodotoxin)를 가지고 있어서 산업적으로 이용하기 어려운 문제점을 가지고 있다. 즉, 복요리 전문가에 의한 복국이나 복어회 등과 같이 단순조리식품으로만 이용되고 있어 무독성 복어를 이용한 다양한 가공품의 개발은 복어요리의 대돈화 및 소비자들의 새로운 요구에 부합할 수 있을 것으로 생각된다.

한편, 복어는 종류에 따라 맹독을 지니고 있는데, 복어의 독성은 계절에 관계없이 항상 존재하고 있다. 현재 독성과 관련하여 아무런 검증이나 제한 없이 식용에 이용되고 있으나, 금후 보다 많은 복어에 대한 독성의 조사와 함께 지역별 독성의 차이나 일반적인 조리 과정 중 독소의 감소 등 안전성에 관한 연구와 지속적인 독성의 감시와 관리가 필요할 것이다.

현재까지 복어에 관련한 연구는 복어독에 관한 것이 대부분으로 국내외에서 다수 보고되어 있다. 그리고, 복어의 영양성분 조성이나 기능성 효능, 복어 내장 지질의 활용이나 엑스분 소재의 추출, 통조림으로의 가공 등 복어의 식품성분 조성과 가공에 관한 연구도 부분적으로 진행된 바 있

으나, 무독한 밀복을 원료로 하여 복국 시작품을 개발하고 시작품의 독성, 품질 및 포장디자인 개발과 같은 상품화 등 본 과제와 유사하거나 동일한 내용의 종합적인 연구개발 사례가 없는 것으로 조사되었다. 현재 복어는 지역에 따라 다소 다르나, 주로 횡감이나 탕이 주류를 이루고 있다. 외국에서 일부 건제품이나 냉동품으로 가공되고 있으나 이들은 본 연구과제의 기술개발과 전혀 관련이 없으며, 또한 연안산 선상동결(船凍) 밀복이나 양식 복어를 이용한 고부가가치의 고차 수산가공품이 국내에 출시된 적이 없다.

본 연구과제의 관련기술은 생물공학적 추출법을 적용한 핵심 엑스분의 복합추출 기술과 시작품의 상온유통 및 열처리에 따른 내용물의 품질저하를 최소화한 고온가열처리의 최적화 기술의 조합으로서, 개발된 각 단위조작 기술을 원료의 가공적성에 맞추어 적절하게 적용하면 우수한 품질의 시작품을 가공할 수 있다고 판단된다. 본 과제개발과 관련하여 소비자 조사 결과, 복어 가공품으로는 복어탕류가 가장 적합한 것으로 조사되었으며, 위생적으로 안전하며 기능성이 있고 풍미가 뛰어난 레토르트파우치 즉석 밀복국이 상품화되어 적절한 홍보가 이루어질 경우, 현재 소비자들이 복어 전문요리점에서만 먹을 수 있는 복국을 직접 소비자가 가정에서 손쉽게 먹게 됨으로써 복요리가 대중화되며, 복어의 소비 촉진 및 복어 양식 산업이 활성화 될 것으로 기대된다.

제 2 절 선행 연구사례

복어류와 관련하여 복어의 독성, 영양성분, 지질성분, 구성성분의 활용 및 가공품으로의 개발에 관한 국내 선행 연구보고는 다음과 같다.

- 권두리, 박진현, 이인범. 2005. 복어로부터 회분식 증류를 이용하여 기능성 식품을 제조하는 방법. 대한민국 특허 출원번호 10-2003-0056425.
- 김현대. 2005. 물리적 제독처리에 의한 레토르트 팩용 복어국 및 그 제조 방법. 대한민국 특허 제 10-0467149호.
- 명인식. 1999. 복어 엑기스의 제조방법. 대한민국 특허, 출원번호 1997-033089.
- 운황병. 2005. 무독성 황복어를 이용한 건강보조식품의 제조방법. 대한민국 특허 제 10-0495173.
- 정교원. 2004. 복어 통조림의 제조방법. 대한민국 특허, 출원번호 10-2004-0039895.
- 정교원. 2004. 복어의 진공보존방법 및 그 제품. 대한민국 특허, 출원번호 10-2004-0036744.
- 김경삼, 김동수. 2000. 멕시코산 황소눈복어(*Spheroider annulatus*)의 독성 및 정미성분. 한국수산학회지 35: 75-78.
- 김동수, 조미라, 안홍, 김현대. 2000. 복어 통조림 제조 및 저장안정성. 한국식품영양과학회지 13: 181-186.
- 김동훈, 김동수, 최종원. 1994. Alcohol 섭취 쥐에서 대사효소계에 미치는 복어추출물의 효과. 한국영양식량학회지 23: 181-186.
- 김지희, Q.L. Gong, 목종수, 민진기, 이태식, 박정흠. 2003. 대한민국에서 복어독에 의한 식중독 발생특성(1991-2002). 한국식품안전성학회지 18: 133-138.

- 김희연, 신재옥, 심규창, 박희옥, 김현숙, 김상무, 조재선, 장영미. 2000. 천연산 및 양식산 뱀장어, 복어, 가물치의 맛 성분에 대한 연구. 한국식품과학회지 32: 1058-1067.
- 류창호, 김동근, 김종현, 장준호, 이종수. 2003. 복섬의 독성. 한국식품영양과학회지 32: 986-990.
- 양영, 한영실, 변재형. 1990. 가열조리가 복어 추출물 합질소화합물의 조성에 미치는 영향. 한국식품조리과학회지 6: 85-95.
- 윤재웅, 황석민, 오동훈, 남기호, 최종덕, 오광수. 2009. 복섬 엑스분의 추출 및 정미발현성분의 조성. 농업생명과학연구 43: 95-103.
- 이민경. 1997. 복어의 비가식부의 이용과 지질 조성에 관한 연구. 한국식품영양과학회지 10: 213-218.
- 전중균, 유재명. 1995. 한국산 복어의 독성. 1. 황복의 부위별 독성. 한국수산학회지 28: 137-140.
- 전중균, 유재명. 1995. 한국산 복어의 독성. 2. 국매리복의 독성. 한국수산학회지 28: 141-144.
- 전중균, O. Osamu, T. Noguchi. 2000. 한국산 복어의 독성. 3. 선어와 국매리복의 독성차이. 한국수산학회지 33: 176-178.
- 정동윤, 김동수, 이명자, 김상록, 변대석, 김현대, 박영호. 1994. 부산 시중에서 판매되고 있는 복어류의 독성. 한국수산학회지 27: 682-689.
- 주정미, 서덕훈, 김태진, 조영제. 2001. 복어 종류별에 따른 자숙액 중의 정미성분의 차이. 한국수산학회지 추계학술발표대회. 161-162.
- 최종원, 김나영, 김동수. 2003. 제독처리한 복어 간유의 생리활성. 한국식품영양과학회지 32: 1126-1131.

제 3 장 연구개발수행 방법

제 1 절 연구개발수행 내용

1. 원료 밀복의 육, 처리잔사, fish frame 등 부위별 성분조성의 특성분석
2. 풍미 및 수율 향상을 위한 엑스분의 복합추출 및 이를 이용한 정미강화용 밀복 농축엑스분의 제조
3. 밀복국용 베이스수프(육수)의 제조 및 이화학적 성분분석
4. 밀복 원료, 각종 밀복 추출물 및 시작품의 위생학적 안전성(독소) 시험
5. 밀복국 제조를 위한 각종 첨가물(recipe) 선정
6. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조 조건, 포장형태 등 구명
7. 레토르트파우치 밀복국 시작품(고형물; 육, 액즙; 육수)의 가열살균에 따른 성분, 품질특성의 변화를 검토하여 최적 살균량(Fo값)의 설정
8. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 생산 및 성분분석
9. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 독소시험, 품질시험 및 저장안정성 시험
10. 시작품의 포장 디자인 완료, 상표명 선정 및 이에 관련한 특허등록
11. 풍미 및 수율 향상을 위한 엑스분의 복합추출법 및 시작품의 제조기술 특허출원
12. 복합추출기술 및 레토르트파우치 밀복국 시작품 가공기술의 관련학회 발표 및 논문게재
13. 지역 언론매체를 통한 지역특산 수산가공품으로의 홍보

제 2 절 연구개발수행 방법

1. 원 료

원료로 사용한 밀복(흑밀복, Brown-backed toadfish, *Lagocephalus gloveri*, 체장 27 ± 1.7 cm, 체중 285 ± 18 g)은 국내 동해안산으로, 어획한 즉시 선상 동결한 최상 품질의 흑밀복(이하 밀복)을 구입하여 사용하였다.



그림 1. 원료 흑밀복(*Lagocephalus gloveri*, 체장 27 ± 1.7 cm, 체중 285 ± 18 g).

흑밀복은 예로부터 근육에 독이 없는 복어로 알려져 있으며 복국집에서 가장 많이 이용하는 복어이지만(김 등, 1994), 본 연구에서는 위생학적 안전성을 고려하여 다음과 같이 물리적 제독처리를 실시하였다(김, 1994).

성분분석 및 각 추출물 조제용 원료 밀복의 처리는 먼저 시료 밀복의 점액과 이물질을 3% 식염수로써 깨끗이 제거한 후, 각 지느러미를 떼어내고 코 앞부분의 관절과 주둥이를 잘라낸 다음 껍질을 벗겨 내었다. 그리고, 배 부분의 점막과 내장 일체, 잔존 혈액을 깨끗이 제거한 다음 아가미와 옆구리 뼈, 턱뼈, 머리뼈를 잘라 버리고 눈알을 적출하였다. 다음 복어의 척추골을 중심으로 길게 절단하여 흐르는 깨끗한 물에 5시간 정도 담그는 공정으로 제독처리를 실시하였다(그림 2).

또한, 시작품 제조용 원료 밀복의 처리는 다음과 같이 행하였다. 먼저 시료 밀복의 점액과 이물질을 3% 식염수로써 깨끗이 제거한 후, 각 지느러미를 떼어내고 코 앞부분의 관절과 주둥이를 잘라내었다. 그리고, 배 부분의 점막과 내장 일체, 잔존 혈액을 깨끗이 제거한 후 아가미와 옆구리 뼈, 턱뼈를 잘라 버리고 눈알을 적출하였다. 이어 밀복 두부와 몸통육을 분리하고 각각 적당 크기로 절단한 후 독소부위의 잔존 여부를 3차례 이상 검수한 다음 흐르는 깨끗한 물에 5시간 정도 담그는 공정으로 제독처리를 실시하였고, 이를 -25°C 에 동결저장하여 두고 실험에 사용하였다.

레토르트파우치 즉석 복국용 원료 복어로 참복, 줄복(복섬), 자주복 및 황복 등 예로부터 대중적인 기호성을 지닌 복어를 물리적 제독처리하여 레토르트파우치 복국용 원료로 사용할 수 있으나, 이들 복어는 맹독을 가진 복어들로서 불완전한 제독처리나 제품 유통 중에 일어날 수 있는 고의적인 복어독의 첨가로 인한 식품위생학적 사고 발생 등 위험요소를 고려하면 본 레토르트파우치 복국용 원료는 무독 또는 극히 독력이 낮은 약독의 흑밀복 만이 가능하다고 사료된다.

2. 실험 방법

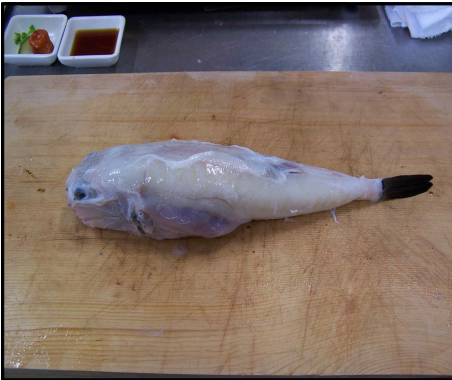
가. 밀복 추출물의 조제



⇒



⇨



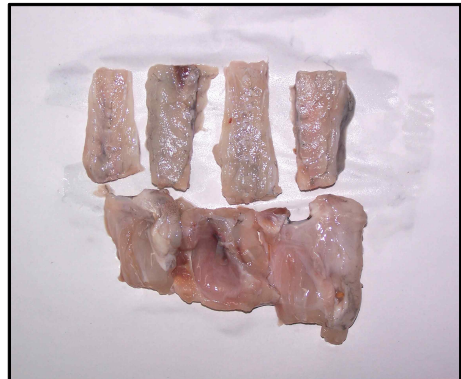
⇒



⇨



+



밀복 육 (A)

밀복 처리잔사 (B)

그림 2. 원료 밀복의 제독처리 과정 및 시료 부위.

상기와 같은 방법으로 물리적 제독처리한 후 밀복 육(A), 어체처리 잔사 및 fish frame(B)을 취해 추출용 원료로 사용하였다(그림 2). 이들 원료를 열수추출법 및 본 연구진이 특허등록한 바 있는 2단효소분해법(Moon & Oh, 2003)으로 추출하여 부위별 열수추출물과 2단효소분해물을 각각 조제한 후 고형물 농도가 Brix 10°가 되도록 여과 농축한 다음 시료로 사용하였다.

즉, 물리적 제독처리한 밀복 부위별로 일정량 정평하여 초파(chopper)로써 세절한 후 그림 3과 같은 공정에 따라 열수추출물과 2단효소분해물을 조제하였다. 열수추출물(hot-water extract)은 95℃에서 열수추출하여 조제하였으며, 1차 효소분해물(1st enzymatic hydrolysate)은 세절한 밀복 시료(A) 및 (B)를 Novo Co.의 Alcalase 0.6L로서 1차 효소분해시킨 후 열처리하여 효소를 불활성화시킨 다음 다시 Novo Co.의 Flavourzyme으로 2차 효소분해시킨 후 원심분리하여 상등액을 취해 최종 2차 효소분해물(2nd enzymatic hydrolysate)으로 하였다. 2단 효소분해시 사용한 가수분해효소 Alcalase 0.6L과 Flavourzyme의 최적 반응온도와 pH, 사용량은 효소 제조회사(Novonordisk Bioindustrials, Inc., Denmark)의 권장 사항에 따라 행하였다(표 1).

표 1. 2단 효소분해(2 step enzyme hydrolysis)에 사용된 1, 2차 가수분해용 효소

가수분해효소 (Commercial protease)		최적 온도 (°C)	최적 pH	제조회사
1차	Alcalase 0.6L	50~60	8.0~8.5	Novo Nordisk Co. (Denmark)
2차	Flavourzyme	45~55	6.0~7.0	Novo Nordisk Co. (Denmark)

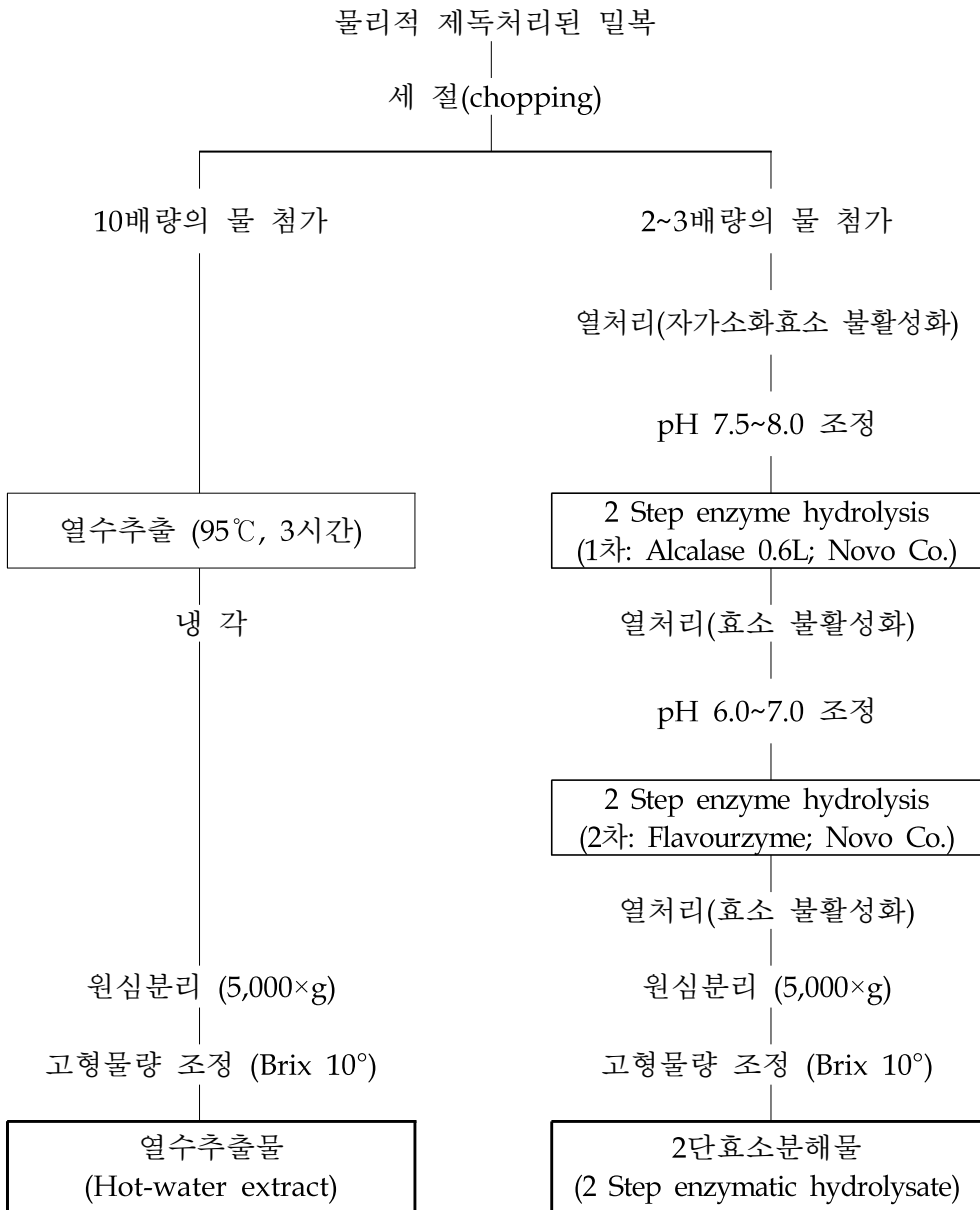


그림 3. 밀복 열수추출물 및 2단효소분해물의 제조공정도.

나. 일반성분, pH, 산도, 염도 및 점도

상법(KSFSN, 2000-a)에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 건식회화법으로 측정하였다. pH는 고형물의 경우 약 10배량의 순수물을 가하여 균질화한 다음 pH meter(Accumet Basic, Fisher Sci. Co., USA)로써 측정하였고, 액즙은 그대로 pH meter로써 측정하였다. 산도(acidity)는 pH를 측정한 시료 100 mL에 중성 formalin으로 중화한 0.1N NaOH 용액을 적가하여 pH가 8.3이 될 때까지 소요된 용액의 mL수로 나타내었다(JSSRI, 1985). 염도(salinity)는 염도계(460CP, Istek Co., Korea)로써 측정하였고, 점도(viscosity)는 상온에서 Spindle No. 3 accessory를 장착한 점도계(Brookfield DV-II-Viscometer, Brookfield Eng. Inc., USA)로써 측정하였다.

다. 휘발성염기질소, 아미노질소 및 수율

휘발성염기질소(VBN)는 Conway unit를 사용하는 미량확산법(KSFSN, 2000-b)으로 측정하였고, 아미노질소 함량은 Formol 적정법(Ohara, 1982-a)으로 측정하였다. 수율은 열수추출, 2단효소분해 및 이를 혼합한 복합추출법에 의해 얻어진 각 추출물(고형물 농도 Brix 10°)의 양(mL)을 측정하여 원료 1 kg에 대한 양으로 나타내었다.

라. 구성아미노산 및 구성지방산 조성

구성아미노산의 함량은 시료에 6N HCl을 넣어 heating block으로 24시간 분해시킨 후 감압건고하고 citrate buffer(pH 2.20, 0.20 M)로 정용한 후 아미노산자동분석기(LKB-4150a, LKB Biochrom. LTD)로써 측정하였다. 구성지방산 조성은 Bligh & Dyer(1959)의 방법에 따라 복섬 육으로부터 총지질을 추출하고, A.O.C.S official method(A.O.C.S., 1990)에 따라 검화 및 methylester화시킨 다음, iso-octane을 가해 지방산을 분리시켜 capillary column(Supelco Japan Ltd., Japan)이 장착된 GC(Shimadzu Co., Japan)로써 분석하였다. GC의 분석조건은 전보(Kim et al., 1994)와 같고,

각 구성지방산의 동정은 표준품과의 머무름시간 비교 및 equivalent chain length법에 의해 동정하였다(Ackman, 1989).

마. 정미성분

유리아미노산 및 관련화합물은 5'-sulfosalicylic acid 및 ether로써 제단백 및 탈지처리한 시료 엑스분을 감압건고한 다음, lithium buffer (pH 2.20, 0.20 M)로서 정용한 후 아미노산자동분석기(Biochrom 20, Pharmacia Biotech., England)로써 분석하였다.

핵산관련물질은 Oh et al(1987)과 Ryder(1985)의 방법을 병용하여 C₁₈ column을 사용하는 HPLC(Yeongin HPLC 9500 system)로써 분석하였다. 트리메틸아민옥사이드(TMAO) 및 트리메틸아민(TMA)은 Hashimoto & Okaichi(1957)의 방법에 따라 정량하였다.

무기성분 중 양이온은 시료 엑스분을 삼각플라스크에 일정량 취해 진한 질산으로 습식분해(Ohara, 1982-b)시킨 후 filter paper로 여과하여 일정량으로 정용한 다음, Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP, Atomscan 25, TJA, USA)로써 Na, K, Ca, Mg, P, S, Fe, Cu 및 Pb, Cd, Hg와 같은 유해 중금속의 함량을 분석하였다(Yoo et al, 1984).

바. 관능검사

복국의 관능적 특성 검사에 익숙하도록 훈련된 9인의 panel을 구성하여 각 밀복 추출물 및 레토르트파우치 밀복국 시작품의 맛, 조직감, 냄새, 종합적 기호도와 같은 관능적 특성에 대하여 5단계 평점법(5: 아주 좋음, 4: 좋음, 3: 보통, 2: 나쁨, 1: 아주 나쁨)으로 채점하고 특성을 기술하였다. 관능검사의 결과는 SPSS system(Statistical Package, SPSS Inc. USA)을 이용하여 ANOVA test 및 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 시료간의 유의성을 검정하였다(Han, 1999 ; Kim et al., 1993).

사. 독성(tetrodotoxin) 시험

원료 밀복, 추출물 및 레토르트파우치 밀복국 시작품의 tetrodotoxin 독성시험은 식품공전(한국식품공업협회, 2002) 상의 복어독시험법에 따라 다음과 같이 실시하였다.

1) 조독소의 추출

밀복의 시험 부위를 잘게 자르고 Mixer로 충분히 마쇄한 후 10 g을 비이커에 취하여 0.1% 초산용액 약 25 mL를 가한다. 끓는 수욕 중에서 교반하면서 10분간 가열 후 냉각하여 여과하고, 여과잔사는 0.1% 초산용액으로 반복 세정하여 여액을 50 mL로 정용한다.

2) 예비시험

조독소 원액을 증류수를 사용하여 10, 100, 1,000 및 10,000배까지 희석한다. 희석액을 2마리의 ICR계 마우스 (수컷, 18~21 g) 복강 내에 1 mL씩 주사하여 발현되는 증상과 사망을 관찰한다. 최소치사량(1 Mouse Unit) 부근에서는 최초 10~15분에서는 이상이 나타나지 않으나 불안상태가 되고, 사지마비가 일어나고 배를 땅에 대고 기는 상태가 되다가 25분쯤에는 사망한다. 사망 판정은 호흡 및 운동의 정지로서 결정하고 주사 후부터 사망까지의 시간을 초단위로 기록한다.

3) 본시험

예비시험에서 5~10분 사이에 사망한 희석 독액에 대하여 다시 2배 단계(2배, 4배, 8배)씩 희석한 후, 각 희석단계의 1 mL씩을 2마리의 마우스 복강 내에 주사하여 10분 정도에서 사망하는 피검액에 대하여는 다시 3~5마리의 마우스에 1 mL씩 주사한다.

4) 계 산

살아남은 것을 포함한 마우스의 중앙치사시간으로부터 MU를 구한다. 만일 마우스가 19 g 이하 혹은 21 g 이상이면 각 마우스 체중에 대한 MU를 보정한 후 중앙값을 구한다. 얻어진 MU에 희석배수와 추출비를 곱하여 검체 1 g당의 MU를 구한다.

$$\text{독력(MU/g)} = \text{치사시간 및 체중보정에 의한 MU} \times \text{희석배수} \times \text{추출비}$$

아. 색조, 조직감 및 생균수

고체시료의 표면 색조와 액체시료의 투과 색조는 직시색차계(Color difference meter ZE-2000, Nippon Denshoku Ltd., Japan)를 사용하여 시료의 색조에 대한 L값(명도), a값(적색도), b값(황색도) 및 ΔE 값(색차)을 측정하였다. 이때 표준백판(standard plate)의 L, a 및 b값은 각각 99.98, 0.01 및 0.01이었다.

조직감의 측정은 1 cm 두께의 시료 육을 최대한 균일한 것으로 선별한 후 지름 1.5 cm 평판 adapter를 사용하는 레오메터 (Rheometer Compac-100, Sun Sci. Co., Japan)로써 변형을 70%로 압착하여 얻은 force-deformation 곡선에서 시료 육의 경도(hardness)를 측정하였다. 이때 경도의 계산은 Rheology data system New 9608에 의해 컴퓨터로 처리하였다.

생균수는 A.P.H.A.의 표준한천평판배양법에 따라 $37\pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 24~48 시간 배양하여 나타난 집락수를 계측하였고, 배지는 표준한천평판배지를 사용하였다.

자. 가온검사 및 Fo값의 측정

1) 가온검사

가온검사는 식품공전의 레토르트식품 가온보존시험(KFDA, 2008)에 따라 레토르트파우치 밀복국 시작품을 포장 그대로 $35\pm 1^\circ\text{C}$ 의 incubator (JS-OV-175, Johnsam, Co., Korea)에서 60일간 보존하면서 외관상태를 육안검사하였고, 포장용기가 팽창 또는 내용물이 새는 경우 세균발육 양성으로 하여 잔존 생균수를 측정하였다.

2) Fo값의 측정

레토르트 살균은 열수침지식 레토르트(Kyunghan Nissen Co., Korea)로써 행하였으며, Fo값의 측정은 먼저 무선형 Data logger(Iblo Electronic GmbH, Germany)를 시작품과 동일한 내용물과 함께 레토르트용 파우치에 봉입포장한 다음 상기 레토르트 내에 넣고 가열살균하였으며, 가열살균 후

Data logger를 꺼내어 Fo-vac 측정장치(Iblo Electronic GmbH, Germany)와 연결하여 살균량(Fo값)을 측정하였다.

제 3 절 연구개발수행 결과

1. 원료 밀복의 부위별 성분조성

1) 원료 밀복의 성분조성

제독처리한 원료 밀복 육(A)과 밀복 처리잔사(B)의 일반성분조성은 표 2에 나타내었다. 육밀복 육(A)과 처리잔사(B)의 수분, 조단백질, 조회분 및 조지방의 함량은 각각 79.0%, 16.3%, 1.1%, 0.4% 및 79.2%, 11.1%, 6.5%, 0.2%로서 대체로 수분 함량이 많고, 조지방 함량이 낮았다.

밀복 육(A)과 밀복 처리잔사(B)의 pH, 산도, 휘발성염기질소(VBN), 트리메틸아민옥사이드(TMAO) 및 트리메틸아민(TMA) 함량을 측정한 결과는 표 3과 같다. 육의 pH는 6.1로서 잔사 부위에 비해 다소 낮은 반면, 산도, VBN의 함량은 다소 많았다. 특히 신선한 어류의 시원한 감미발현 성분인 TMAO 함량은 30.0 mg/100 g으로서 잔사의 5.8 mg/100 g에 비해 상당히 많아 일반적인 복국의 시원한 맛에 유리아미노산류와 함께 관여할 것으로 추정되었다. 한편, 선도저하에 따라 생성되는 TMAO의 환원 물질인 TMA 역시 육 부위가 다소 많았는데 이는 원료 밀복의 동결저장 중 생성된 것으로 보이나, 양적으로 보아 복어의 비린내 생성에 미치는 영향은 거의 없을 것으로 생각된다.

밀복 육(A)과 밀복 처리잔사(B)에서 추출한 지질의 구성지방산 조성을 GC로써 분석한 결과는 표 4와 같다. 밀복 육의 주요 구성지방산은 16:0, 18:0, 18:1n-9, 20:5n-3, 22:6n-3 등으로 22:6n-3의 조성이 월등히 높았으며 n-3 PUFA의 조성비는 46.2%이었다. 반면, fish frame을 주로 한 밀복 처리잔사의 주요 구성지방산은 14:0, 16:0의 조성비가 높았으며 이외에 18:0, 18:1n-9, 20:5n-3, 22:6n-3 등이 주요 지방산으로 n-3 PUFA의 조성비는 육 부위 보다 조금 적은 31.7%이었다.

표 2. 밀복 시료(A), (B)의 일반성분 조성

시 료	(g/100 g)			
	수 분	조단백질	조회분	조지방
A	79.0±0.2	16.3±0.1	1.1±0.1	0.4±0.1
B	79.2±1.4	11.1±0.2	6.5±0.1	0.2±0.1

표 3. 밀복 시료(A), (B)의 pH, 산도(acidity), 휘발성염기질소(VBN) 및 트리메틸아민옥사이드(TMAO)의 함량

시 료	pH	Acidity (mL/100 g)	VBN (mg/100 g)	TMAO ¹ (mg/100 g)	TMA ¹ (mg/100 g)
A	6.1±0.1	0.8±0.0	12.6±0.6	30.0±1.8	7.7±0.1
B	6.9±0.2	0.2±0.0	8.3±0.5	5.8±1.0	1.8±0.6

¹TMAO: trimethylamine oxide, TMA: trimethylamine.

표 4. 밀복 시료(A), (B)의 구성지방산 조성

지방산	시 료	
	A	B
14:0	1.7	5.7
iso15:0	0.6	0.2
15:0	1.2	1.0
16:0 iso	2.4	4.2
16:0	14.1	23.9
16:1n-7	2.5	2.4
16:2n-4	1.2	1.1
17:0	0.6	0.9
16:3n-4	0.8	0.5
16:4n-1	0.6	0.8
18:0	7.8	7.8
18:1n-9	9.0	8.6
18:1n-7	2.7	3.6
18:1n-5	0.3	1.3
18:2n-6	1.3	0.5
18:2n-4	0.3	0.3
18:3n-6	0.4	0.7
18:3n-3	0.3	1.1
18:4n-3	0.3	1.4
22:0	1.2	0.4
20:1n-9	1.7	3.2
20:1n-7	1.1	0.2
20:5n-3	7.5	4.3
22:1n-9	2.3	1.0
22:4n-3	0.7	0.5
22:4n-3	1.1	0.6
22:5n-3	3.5	3.2
22:6n-3	32.8	20.6
n-3 PUFA*	46.2	31.7

*PUFA : polyunsaturated fatty acid.

고도불포화지방산은 일반적으로 엑스분을 추출할 때 일부가 산화분해되어 시료 중의 유리아미노산과 반응하여 냄새에 영향을 미치는 heterocyclic compounds를 생성하는 것으로 알려져 있으나, 밀복의 경우 조지방 함량이 0.2~0.4%에 불과하므로 풍미에 미치는 영향은 미약할 것으로 보인다 (Ho et al, 1989).

시료 밀복 육의 구성아미노산의 조성을 표 5에 나타내었다. 식품밀복육의 구성아미노산의 총합량은 15,984 mg/100 g이었고, 주요 구성아미노산으로는 Pro, Gly, Ala, Lys 등의 함량이 많았고, 그 외 다른 아미노산들도 고루 함유되어 있었다. 이러한 구성아미노산의 조성은 육성분을 분해시켜 엑스분을 추출할 때 밀복 특유의 정미발현에 큰 영향을 미칠 것으로 생각된다.

원료 밀복 육(A)과 밀복 처리잔사(B)의 무기이온 함량은 표 6과 같다. 육밀복 육(A)과 처리잔사(B)의 무기이온의 조성은 양이온으로서 Na, K, Ca 및 P가 양적으로 많았으며, 처리잔사(B)의 경우 육에 비해 Ca와 P가 월등히 많았다. 한편, 역치가 낮아 적은 양에서도 수산물의 flavor 생성에 영향을 미치는 S도 처리잔사(B) 부위에 많이 함유되어 있었다. 자숙 계육의 맛에 무기질 특히 Na^+ , K^+ , Cl^- 및 PO_4^{3-} 등이 정미발현성분(Hayashi et al, 1981)이라는 점을 고려할 때 이들 무기이온 성분들은 밀복육 추출물의 정미발현에 크게 기여할 것으로 추정되었다.

2) 원료 밀복의 부위별 tetrodotoxin 독력

마우스시험법에 의하여 밀복 원료의 부위별 tetrodotoxin 함량을 측정한 결과를 표 7에 나타내었다. 표 7에서와 같이 원료 밀복 육(A), 밀복 처리잔사(B) 및 껍질의 tetrodotoxin 함량은 6 MU/g 이하(마우스 생존)로서, 복어독 기준(무독 : 10 MU/g 이하)에 의거하여 무독한 것으로 판명되었으며, 본 원료 밀복은 식품위생학적으로 레토르트파우치 밀복육의 원료로 안전하다는 것이 1차적으로 입증되었다.

표 5. 밀복 시료(A)의 구성아미노산 조성

(mg/100 g)	
아미노산	함 량
Aspartic acid	92.5 (0.6)
Threonine	348.4 (2.2)
Serine	455.7 (2.9)
Glutamic acid	607.9 (3.8)
Proline	4,915.3 (30.8)
Glycine	1,701.6 (10.6)
Alanine	1,266.6 (7.9)
Cystine	128.8 (0.8)
Valine	199.3 (1.2)
Methionine	44.1 (0.3)
Isoleucine	120.7 (0.8)
Leucine	172.7 (1.1)
Tyrosine	194.4 (1.2)
Phenylalanine	194.4 (1.2)
Histidine	29.5 (0.2)
Lysine	4,170.6 (26.1)
(NH ₃)	603.1 (3.8)
Arginine	738.5 (4.6)
합 계	15,984.0 (100.0)

표 6. 밀복 시료(A), (B)의 무기질 함량

무기 이온	시 료	
	A	B
Na	108.4±1.0	148.4±2.3
K	188.0±2.5	133.1±2.4
Ca	26.7±0.6	1,546.0±3.6
Mg	17.7±0.2	34.3±0.6
Fe	ND	0.1±0.0
Cu	ND	ND
Zn	1.5±0.1	5.4±0.1
S	6.3±0.2	37.3±1.0
P	137.2±1.5	785.9±1.7
Pb	0.9±0.1	0.9±0.1
Cd	ND	ND
Hg	ND	ND

표 7. 마우스시험법에 의한 밀복 원료의 부위별 tetrodotoxin 독력

시 료	시료 중량 (g)	추출 배수 (D)	Mouse 체중	치사 시간 (분)	가와바다에 의한 환산			Toxicity* (MU/g)
					치사 시간 MU(A)	체중 MU(B)	보정치 (C=A×B)	
A	10	50/10	19.1 ±0.1	생존	<1.05	0.96	<1.01	<6 (Non-toxic)
B	10	50/10	19.3 ±0.1	생존	<1.05	0.97	<1.02	<6 (Non-toxic)
껍질	10	50/10	19.3 ±0.1	생존	<1.05	0.97	<1.02	<6 (Non-toxic)

*복어독 기준 : 무독; 10 MU/g 이하.

2. 밀복 추출물의 성분조성 및 tetrodotoxin 독력

1) 밀복 추출물의 이화학적 성분조성

물리적 제독처리한 후 밀복 육(A), 처리잔사 및 fish frame(B)을 취해 추출용 원료로 사용하였으며, 이들 원료를 열수추출법 및 2단효소분해법으로 추출하여 부위별 열수추출물과 2단 효소분해추출물을 각각 조제한 후 고형물의 농도가 10%가 되도록 여과 농축한 후 시료로 사용하였다.

밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 수율과 점도는 표 8과 같다. 밀복 육의 경우 2단효소분해물이 열수추출물에 비해 약 2배 이상의 수율을 나타내었으며, 추출물의 점도는 2단효소분해물에 비해 열수추출물이 강한 것으로 나타났다. 반면, 처리잔사 및 fish frame(B) 부위는 열수추출물이 수율이 높고 점도도 강하였는데, 이는 잔사 및 fish frame에서 열수추출 중 collagen이 일부 용출되어 gelatin화 되었기 때문으로 생각된다. 이러한 결과로 미루어 정미강화용 밀복 추출물을 제조하고자 할 경우에는 육은 2단효소분해법이, 잔사는 열수추출법이 적합하였다.

표 8. 밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 수율, 점도

	추출물*	수 율 (mL/kg)	점 도 (cps)
A	열수추출물	422±32	17.7±1.6
	2단효소분해물	924±36	10.5±1.8
B	열수추출물	639±51	20.7±2.4
	2단효소분해물	298±46	13.1±1.6

*Brix 10°.

밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 pH, VBN 및 NH₂-N 함량을 표 9에, 색조를 표 10에 나타내었다. pH는 밀복 육과 처리잔사 사이에 큰 차이가 없었으나, VBN 함량은 육 추출물이 처리잔사 추출물에 비해 많아 밀복육 특유의 냄새는 주로 육에서 유래함을 알 수 있었다. 추출물의 맛에 가장 크게 영향을 미치는 유리아미노산의 양을 간접적으로 알 수 있는 NH₂-N 함량은 부위에 따른 차이가 거의 없었으나, 추출방법에 따른 차이는 상당히 커서 2단효소분해물이 열수추출물에 비해 2배 이상 많았다. 이러한 결과로 미루어 정미강화용 밀복 농축엑스분을 추출하고자 할 경우에는 2단효소분해법이 정미면에서 열수추출 보다 유효하다는 결론을 얻었다.

2) 밀복 추출물의 정미성분 조성

밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 유리아미노산의 조성을 아미노산 자동분석계로써 분석한 결과는 표 11과 같다. 엑스분의 가장 중요한 taste-active 성분으로 알려진 유리아미노산 총량은 밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물이 각각 336, 981 및 297, 851 mg%로서 표 9의 NH₂-N 함량과 유사하여 육의 2단 효소분해물이 가장 많았으며, 어체처리 잔사의 열수추출물이 가장 작았다. 2단 효소분해물의 주요 유리아미노산은 taurine, urea, hydroxyproline, proline, leucine, phenylalanine, lysine 및 arginine 등으로 일반 어류에 많이 함유되어 있는 taurine 및 glutamic acid, glycine, proline 등과 같은 정미성 아미노산의 조성이 다소 적었는데 이는 밀복 육질이 효소에 의해 가수분해됨에 따라 구성단백질이 저분자화되어 이들 이외의 아미노산들이 많이 생성되었기 때문으로 추정되었다. 특히, 주요 아미노산 외의 hydroxyproline과 같은 아미노산의 증가가 현저하여 열수추출물에 비해 밀복의 fish frame이나 연결조직 등에 함유된 콜라겐 단백질이 분해되었음을 알 수 있었고, 이는 추출물의 점도저하와 관련이 있을 것으로 생각된다. 유리아미노산 중 glutamic acid, glycine, proline, alanine 및 arginine 등은 맛에 관여하

표 9. 밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 pH, 휘발성염기질소(VBN) 및 아미노질소(NH₂-N) 함량

	추출물*	pH	투과 색조			
			명도(L)	적색도(a)	황색도(b)	색차(ΔE)
A	열수추출물	6.20±0.1	9.9±1.2	-0.5±0.1	0.9±0.3	86.9±1.2
	2단효소분해물	6.31±0.2	8.9±1.4	-0.7±0.2	1.9±0.3	87.9±0.8
B	열수추출물	6.30±0.2	18.7±0.8	-1.7±0.3	0.9±0.2	78.1±1.4
	2단효소분해물	6.21±0.2	11.7±0.6	-0.9±0.1	1.9±0.4	85.1±1.6

*Brix 10°.

표 10. 밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 투과 색조

	추출물*	투과 색조			
		명도(L)	적색도(a)	황색도(b)	색차(ΔE)
A	열수추출물	9.9±1.2	-0.5±0.1	0.9±0.3	86.9±1.2
	2단효소분해물	8.9±1.4	-0.7±0.2	1.9±0.3	87.9±0.8
B	열수추출물	18.7±0.8	-1.7±0.3	0.9±0.2	78.1±1.4
	2단효소분해물	11.7±0.6	-0.9±0.1	1.9±0.4	85.1±1.6

*Brix 10°.

표 11. 밀복 시료 (A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 유리아미노산 조성
(mg/100 mL)

유리아미노산 ¹	A		B	
	열수추출물 ²	2단효소분해물 ²	열수추출물	2단효소분해물
Phser	1.3 (0.4)	1.9 (0.2)	2.0 (0.7)	2.0 (0.2)
Tau	50.4 (15.0)	41.5 (4.2)	53.8 (18.1)	20.3 (2.4)
Pea	2.3 (0.7)	1.2 (0.1)	3.4 (1.1)	3.3 (0.4)
Urea	13.3 (3.9)	36.0 (3.7)	10.5 (3.5)	63.5 (7.5)
Asp	0.1 (0.02)	8.1 (0.8)	0.2 (0.1)	16.3 (1.9)
Hypro	5.8 (1.7)	83.7 (8.5)	73.9 (24.9)	77.1 (9.1)
Thr	6.4 (1.9)	21.2 (2.2)	5.0 (1.7)	21.6 (2.5)
Ser	6.5 (1.9)	16.0 (1.6)	6.4 (2.1)	21.7 (2.5)
Asn	1.7 (0.5)	25.3 (2.6)	0.9 (0.3)	35.8 (4.2)
Glu	3.2 (1.0)	13.1 (1.3)	6.4 (2.2)	28.5 (3.3)
AAAA	tr	6.0 (0.6)	1.1 (0.4)	7.0 (0.8)
Pro	6.5 (1.9)	87.7 (8.9)	7.5 (2.5)	82.9 (9.7)
Gly	30.6 (9.1)	21.6 (2.2)	15.1 (5.1)	12.2 (1.4)
Ala	22.0 (6.5)	24.8 (2.5)	17.2 (5.8)	20.5 (2.4)
Citr	tr	2.9 (0.3)	0.5 (0.2)	3.8 (0.4)
AABA	0.1 (0.0)	1.2 (0.1)	0.1 (0.0)	4.1 (0.5)
Val	2.6 (0.8)	24.4 (2.5)	2.7 (0.9)	30.3 (3.6)
Cys	tr	7.8 (0.8)	0.2 (0.1)	7.8 (0.9)
Met	1.8 (0.5)	23.3 (2.4)	1.7 (0.6)	24.5 (2.9)
Cysth	1.3 (0.4)	14.7 (1.5)	0.5 (0.2)	10.9 (1.3)
Ile	1.6 (0.5)	17.5 (1.8)	1.6 (0.6)	22.7 (2.7)
Leu	3.8 (1.1)	56.4 (5.8)	3.7 (1.2)	39.1 (4.6)
Tyr	3.1 (0.9)	16.4 (1.7)	2.3 (0.8)	21.2 (2.5)
β-ala	0.1 (0.1)	9.3 (0.9)	tr	6.3 (0.7)
Phe	3.4 (1.0)	67.9 (6.9)	3.0 (1.0)	49.9 (5.9)
Homocys	tr	21.3 (2.2)	ND	15.0 (1.8)
GABA	0.6 (0.2)	5.9 (0.6)	1.8 (0.6)	6.7 (0.8)
Ethamin	2.0 (0.6)	12.7 (1.3)	3.6 (1.2)	7.4 (0.9)
Amm	40.1 (11.9)	43.1 (4.4)	10.2 (3.4)	19.3 (2.3)
Hylys	4.4 (1.3)	4.5 (0.5)	2.7 (0.9)	19.2 (2.2)
Orn	17.4 (5.2)	16.0 (1.6)	7.6 (2.5)	6.2 (0.7)
Lys	73.1 (21.8)	79.2 (8.1)	37.1 (12.5)	44.2 (5.2)
1-M-his	2.6 (0.8)	7.2 (0.7)	1.3 (0.4)	4.0 (0.5)
His	1.9 (0.6)	19.7 (2.0)	1.7 (0.6)	22.5 (2.6)
3-M-his	1.7 (0.5)	5.8 (0.6)	1.3 (0.4)	3.2 (0.4)
Ans	2.9 (0.9)	19.1 (1.9)	1.6 (0.5)	6.2 (0.7)
Car	tr	34.2 (3.5)	tr	5.0 (0.6)
Arg	21.6 (6.4)	82.3 (8.4)	8.7 (2.9)	59.3 (7.0)
합 계	336.0(100.0)	981.1(100.0)	297.3(100.0)	851.3(100.0)

(표 11 계속)

¹Phser; phosphoserine, Phea; phosphoethanolamine, Hypro; hydroxyproline, Asn; asparagine, AAAA; α -aminoadipic acid, Citr; citrulline, AABA; α -aminobutyric acid, Cysth; cystathionine, Homocys; homocystine, GABA; γ -aminobutyric acid, Ethamin; ethanolamine, Amm; ammonia, Hyls; hydroxylysine, Orn; ornithine, 1-M-his; 1-methyl-histidine, 3-M-his; 3-methyl-histidine, Ans; anserine, Car; carnosine.

²Brix 10°, tr: 혼적량, ND: 미검출.

는 아미노산으로 알려져 있는데(Kim, 1985), 이러한 아미노산 함량의 변화는 밀복 추출물의 맛의 강도 변화와 조화에 크게 기여하리라 본다. Hayashi et al(1981)은 자숙 계육의 정미성분 중 유리아미노산류가 무기질과 더불어 가장 중요한 정미발현성분(taste-active component)이었으며, 이 중 특히 glutamic acid, glycine, alanine 및 arginine 등이 taste-active 성분이었다고 보고한 바 있다.

밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 ATP관련물질 및 TMA(O)의 함량을 분석한 결과를 표 12에 나타내었다. ATP관련물질 중 감칠맛의 주성분인 이노신산(IMP) 등은 어류의 맛에 큰 영향을 미치기 때문에 추출물을 정미강화소재로 볼 때에는 유리아미노산과 더불어 중요한 정미발현성분이 된다. IMP의 함량은 각 밀복 추출물에서 75~156 mg%로 다량 검출되었으며, 주로 육 부위에 많이 함유되어 있었고 추출방법에 따른 함량 차이는 거의 없었다. 이러한 IMP는 함량과 정미발현력을 고려할 때 밀복국의 감칠맛 발현에 크게 영향을 미칠 것이라고 추정되었다(Park et al, 1995). 또다른 정미성 ATP관련물질인 AMP는 17~37 mg% 검출되었는데, AMP의 정미발현력이 IMP의 약 1/30~1/5 정도인 점과 함량을 고려할 때 밀복국 맛의 발현에 미치는 영향은 적을 것으로 보인다.

유기염기성분으로 수산물 엑스분의 시원한 감미에 관여하고 수산생물의 삼투압을 조절하는 성분인 TMAO와 이의 환원물질인 TMA의 함량은 17~37 mg%로 비교적 소량 함유되어 있어 밀복국 맛에 미치는 영향은 미미하며, 비린내 등 어취의 생성도 거의 없을 것으로 보인다.

밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 무기이온 함량을 ICP로써 분석한 결과를 표 13에 나타내었다. 밀복 육과 어체처리 잔사의 열수추출물 및 2단 효소분해물의 무기이온 성분의 조성은 양이온으로서 Na(486~726 mg%), K(367~1,121 mg%) 및 P(132~360 mg%)가 양적으로 많이 함유되어 있었다. 그 외 Ca 및 Mg도 소량 검출되었으며, 대체로 부위별 및 추출방법에 따라 함량 차이가 있었다. 자숙 계육의 맛에 무기질

표 12. 밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 ATP관련물질 및 트리메틸아민옥사이드(TMAO) 함량

								(mg/100 mL)	
추출물*		핵산관련물질					기타 염기		
		ATP	ADP	AMP	IMP	HxR	Hx	TMAO	TMA
A	열수 추출물	tr	15.6	37.1	155.9	1.5	-	22.7 ±1.5	12.0 ±1.2
	2단효소 분해물	tr	5.6	25.6	146.2	tr	-	17.7 ±0.7	9.0 ±1.0
B	열수 추출물	tr	14.5	24.4	99.8	tr	-	5.6 ±0.2	3.1 ±0.1
	2단효소 분해물	tr	6.2	16.6	74.9	1.7	-	4.0 ±0.3	1.9 ±0.2

*Brix 10°, tr: 흔적량.

표 13. 밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 주요 무기이온 함량

무기 이온	(mg/100 mL)			
	A		B	
	열수추출물	2단효소분해물	열수추출물	2단효소분해물
Na	491.6±2.3	486.2±1.6	726.1±2.2	657.0±0.9
K	1,121.0±2.7	700.0±2.8	871.9±1.5	367.6±0.6
Ca	20.6±0.4	21.1±0.4	34.8±0.5	39.8±0.8
Mg	44.9±1.0	46.9±0.1	24.2±0.5	17.6±0.3
P	360.5±1.8	347.9±1.4	32.3±0.7	143.8±1.8
S	tr	tr	tr	tr
Fe	ND	ND	tr	tr
Cu	ND	ND	ND	ND
Pb	ND	ND	ND	ND
Cd	ND	ND	ND	ND
Hg	ND	ND	ND	ND

*Brix 10°, tr: 흔적량, ND: 미검출.

특히 Na^+ , K^+ , Cl^- 및 PO_4^{3-} 등이 주요 정미발현성분(Hayashi et al, 1981)이라는 점을 고려해 볼 때, 이들 무기이온 성분들은 밀복 추출물의 정미발현에 크게 기여할 것으로 추정된다.

3) 밀복 부위별 추출물의 tetrodotoxin 독력

마우스시험법에 의하여 밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 tetrodotoxin 독력을 측정한 결과는 표 14와 같다.

표 14에서와 같이 밀복 시료(A), (B)의 열수추출물 및 2단효소분해물의 tetrodotoxin 독력은 6 MU/g 이하(마우스 생존)로서, 복어독 기준(무독 : 10 MU/g 이하)에 의거하여 무독한 것으로 판명되었으며, 본 밀복 추출물들은 식품위생학적으로 레토르트파우치 밀복국의 육수 혹은 정미강화용 조미소재의 원료로 안전하다는 것이 입증되었다.

한편, 별도로 국가공인기관에 의한 밀복 추출물의 안전성 입증 을 위해 국립수산물품질검사원에 의뢰하여 분석한 밀복 추출물 4종의 복어독 검정 시험에서 그림 4와 같이 무독하다는 결과를 얻었다.

3. 밀복 엑스분의 복합추출 및 복합추출물의 성분특성

1) 밀복 엑스분의 복합추출방법

수산물의 엑스분을 추출하는 일반적인 방법에는 열수고음추출법과 commercial protease에 의한 효소분해법이 있는데, 열수추출법은 추출물의 풍미는 우수하나 수율과 맛의 강도가 떨어지는 단점이 있는 반면, 효소분해법은 수율과 맛의 강도가 우수한 대신 뚝뚝의 생성 등 풍미가 저하되는 단점을 지니고 있다(Hamada, 1992). 본 연구개발에서는 상기에서 살펴본 열수추출법과 2단효소분해법을 추출공정에 단계적으로 도입한 복합추출법으로 추출한 밀복 복합추출물의 성분조성 특성과 품질에 대하여

표 14. 마우스시험법에 의한 밀복 시료(A),(B)의 열수추출물 및 2단효소분해추출물의 tetrodotoxin 독력

시 료*	시료 중량 (g)	추출 배수 (D)	Mouse 체중	치사 시간 (분)	가와바다에 의한 환산			Toxicity (MU/g)	
					치사 시간 MU(A)	체중 MU (B)	보정치 (C=A×B)		
A	열수 추출물	10	50/10	19.2 ±0.1	생존	<1.05	0.97	<1.02	<6 (Non-toxic)
	2단효소 분해물	10	50/10	19.3 ±0.2	생존	<1.05	0.98	<1.03	<6 (Non-toxic)
B	열수 추출물	10	50/10	19.3 ±0.1	생존	<1.05	0.97	<1.02	<6 (Non-toxic)
	2단효소 분해물	10	50/10	19.4 ±0.2	생존	<1.05	0.98	<1.03	<6 (Non-toxic)

복어독 기준 : 무독; 10 MU/g 이하.



[별지 제50호서식]

Serial No. : 제 2009-000072-0072호

수산물검정증명서 Analysis Certificate

신청인 Applicant	성명 Name (법인의 경우에는 명칭) (Name of Firm)	오광수	주민등록번호 (법인등록번호) Registration No.	*****
	주소 Address	*****		
검정품목 Commodity	밀복 뼈 및 잔사 열수고염추출물, 밀복 뼈 및 잔사 효소분해추출물, 밀복 육 열수고염추출물, 밀복 육 효소분해추출물			
시료점수 및 증량 Quantity	밀복 뼈 및 잔사 열수고염추출물(100g), 밀복 뼈 및 잔사 효소분해추출물(100g), 밀복 육 열수고염추출물(100g), 밀복 육 효소분해추출물(100g)			
검정항목 Item of Analysis	복어독(육/피)			
검정결과 Result of Analysis	품목 (Commodity)	항목 (Item of Analysis)	결과 (Result of Analysis)	
	밀복 뼈 및 잔사 열수고염추출물	복어독(육/피)	<6 MU/g	
	밀복 뼈 및 잔사 효소분해추출물	복어독(육/피)	<6 MU/g	
	밀복 육 열수고염추출물	복어독(육/피)	<6 MU/g	
	밀복 육 효소분해추출물	복어독(육/피)	<6 MU/g	
<p>수산물품질관리법 제44조 및 동법시행규칙 제70조의 규정에 의하여 검정한 수산물의 시료에 대한 검정성적임을 위와 같이 증명합니다. This is to certify that the above mentioned results are performed on the sample according to the Fisheries Products Quality Control Act.</p> <p style="text-align: right;">Date : 2009년 08월 13일 국립수산물품질검사원 통영지원장 (인) </p> <p style="text-align: right;">Signature : _____</p> <p style="text-align: right;">Chief of TongYoung Branch National Fisheries Products Quality Inspection Service</p>				

1 / 1

그림 4. 밀복 추출물 4종의 복어독 검정증명서(국립수산물품질검사원).

검토하였다.

즉, 밀복 복합추출물은 물리적 제독처리된 밀복시료 (A), (B) 및 껍질(표 7 참조, 무독)를 함께 마쇄하여 열수추출한 다음 남은 열수추출잔사를 2단효소분해하여 잔사 효소분해추출물을 조제하였고, 이들 추출물을 혼합하여 고형물의 농도가 10%가 되도록 농축한 후 밀복 복합추출물 시료로 사용하였다. 밀복 복합추출물의 가공공정도는 그림 5에 나타내었다.

2) 밀복 복합추출물의 성분조성

그림 5의 공정 중 밀복 열수추출잔사 효소분해물(II)의 조단백질, 조회분, pH, VBN 및 $\text{NH}_2\text{-N}$ 함량 및 산도는 표 15에, 투과 색조를 직시색차계로써 측정한 결과를 표 16에 나타내었다. 밀복 열수추출잔사 효소분해물의 조단백질은 8.6%, pH는 6.2, VBN 및 $\text{NH}_2\text{-N}$ 함량은 각각 25.2 mg% 및 251 mg%이었다. $\text{NH}_2\text{-N}$ 함량의 경우 표 9의 밀복 육 2단효소분해물과 비교하였을 때 함량이 더 높아 열수추출잔사를 2단효소분해하여 열수추출물(I)에 혼합하는 방법은 전체적인 밀복 추출물의 수율 및 정미력 강화에 유효할 것으로 판단되었다. 한편, 밀복 열수추출잔사 효소분해물(II)의 투과 색조는 표 10의 밀복 추출물과는 달리 투명도가 저하하여 color value에서 상당한 차이를 보였다.

밀복 열수추출잔사 효소분해물(II)의 유리아미노산 성분조성을 분석한 결과는 표 17과 같다. 유리아미노산의 총함량은 853.6 mg%로서 밀복 육 및 어체처리 잔사 2단효소분해물의 함량과 주요 아미노산 조성면에서도 비슷하였으며(표 10 참조), 타 아미노산류도 고루 함유되어 있었다. 이로 미루어 밀복 열수추출잔사 효소분해물(II)은 맛이나 정미력, 영양성 등에서 밀복 육의 열수추출물이나 2단효소분해물에 비해 손색이 없었으며, 밀복 열수추출물(I)에 혼합 할 경우 수율이나 정미성 보강 등에 큰 역할을 할 것으로 보인다.

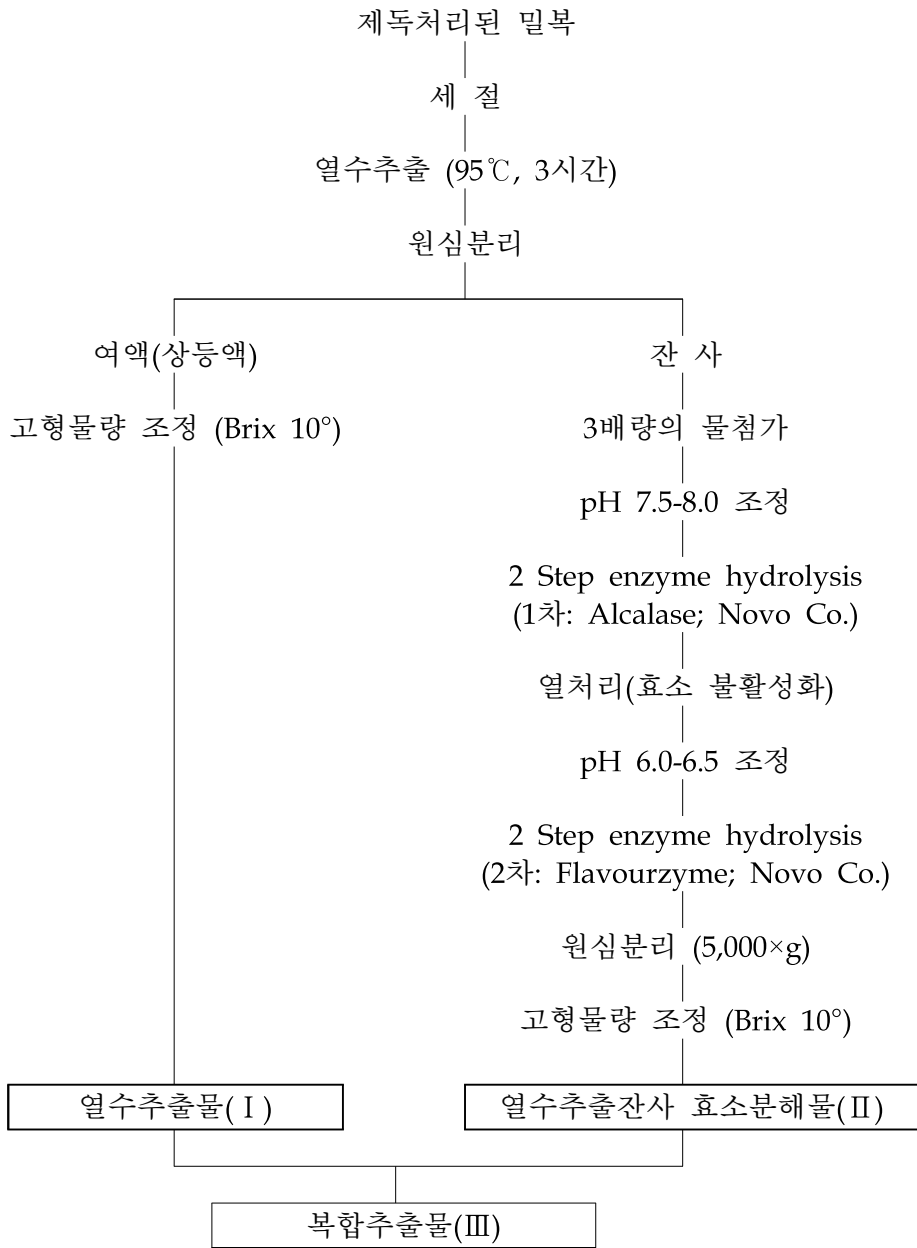


그림 5. 밀복 복합추출물의 추출공정도.

표 15. 밀복 열수추출잔사 효소분해물(II)*의 조단백질, 조회분, pH, 휘발성염기질소(VBN), 아미노질소(NH₂-N) 함량 및 산도(acidity)

(g/100 mL)					
조단백질 (g/100 mL)	조회분 (g/100 mL)	pH	VBN (mg/100 mL)	NH ₂ -N (mg/100 mL)	Acidity (mg/100 mL)
8.6±0.1	0.8±0.1	6.2±0.3	25.2±0.2	251.0±1.3	0.9±0.1

*그림 5 참조, Brix 10°.

표 16. 밀복 열수추출잔사 효소분해물(II)*의 투과 색조

투과 색조			
명도(L)	적색도(a)	황색도(b)	색차(ΔE)
62.5±1.0	1.0±0.3	13.3±0.2	40.7±1.2

*그림 5 참조, Brix 10°.

표 17. 밀복 열수추출잔사 효소분해물(II)¹의 유리아미노산 조성

(mg/100 mL)			
유리아미노산 ²	함 량	유리아미노산 ²	함 량
Phser	1.3 (0.2)	Ile	18.0 (2.1)
Tau	18.7 (2.2)	Leu	73.1 (8.6)
Pea	2.1 (0.3)	Tyr	15.8 (1.8)
Urea	16.6 (1.9)	β-ala	8.8 (1.0)
Asp	7.6 (0.9)	Phe	60.1 (7.0)
Hypro	59.6 (7.0)	Homocys	14.0 (1.6)
Thr	21.9 (2.6)	GABA	2.0 (0.2)
Ser	15.8 (1.9)	Ethamin	5.4 (0.6)
Asn	22.3 (2.6)	Amm	31.8 (3.7)
Glu	11.0 (1.3)	Hylys	34.5 (4.0)
AAAA	5.5 (0.6)	Orn	6.1 (0.7)
Pro	69.2 (8.1)	Lys	102.5 (12.0)
Gly	6.6 (0.8)	1-M-his	ND
Ala	17.2 (2.0)	His	25.2 (3.0)
Citr	1.9 (0.2)	3-M-his	4.1 (0.5)
AABA	0.3 (0.0)	Ans	11.0 (1.3)
Val	26.8 (3.1)	Car	5.7 (0.7)
Cys	4.7 (0.6)	Arg	93.6 (11.0)
Met	23.3 (2.7)		
Cysth	9.7 (1.1)	합 계	853.6 (100.0)

¹그림 5 참조, Brix 10°, ND: 미검출.

²Phser; phosphoserine, Phea; phosphoethanolamine, Hypro; hydroxyproline, Asn; asparagine, AAAA; α-aminoadipic acid, Citr; citrulline, AABA; α-aminobutyric acid, Cysth; cystathionine, Homocys; homocystine, GABA; γ-aminobutyric acid, Ethamin; ethanolamine, Amm; ammonia, Hylys; hydroxylysine, Orn; ornithine, 1-M-his; 1-methyl-histidine, 3-M-his; 3-methyl-histidine, Ans; anserine, Car; carnosine.

3) 밀복 복합추출물의 수율 및 관능적 특성

열수추출물(I)과 열수추출잔사 효소분해물(II)를 혼합하여 얻은 복합추출물(III)의 수율 및 맛, 향기 및 맛의 강도에 대하여 관능검사한 결과는 표 18과 같다. 원료 밀복 1 kg에 대하여 열수추출물(고형물 농도 10%)의 수율은 422 mL, 열수추출잔사 효소분해물(II)은 488 mL, 이를 혼합한 복합추출물(III)의 수율은 910 mL로서 약 2배 이상의 수율을 증가시킬 수 있었다.

한편, 상기 2가지 추출물을 혼합한 복합추출물(III)의 관능적 특성은 맛과 향기, 즉 풍미 면에서 열수추출물(I)과 5% 수준에서 유의차 없이 비슷하였으며, 맛의 강도 또한 열수추출물(I)에 비해 2배 정도 강화되어 본 복합추출물(III)은 열수추출물의 풍미를 강화시킬 수 있는 밀복국용 정미강화용 조미소재로서 손색이 없으며, 충분히 이용가능하다는 결론을 얻었다.

4) 밀복 복합추출물의 최적 첨가비율

상기의 밀복 복합추출물(III)을 정미강화용 조미소재로 활용하기 위하여 후술하는 밀복국용 베이스수프(육수)의 풍미를 증진시킬 수 있는 밀복 복합추출물의 최적 첨가량에 대하여 관능검사한 결과를 표 19에 나타내었다. 표 19에서와 같이 밀복국 육수의 맛과 강도를 효율적으로 증진시킬 수 있는 밀복 복합추출물(III)의 최적 첨가량은 육수에 대해 약 3%가 가장 적합하였으며, 맛의 특성면에서도 적절하였다. 3% 이상의 첨가에서는 감칠맛이 너무 강해져 밀복국 특유의 담백한 맛이 상실되는 것으로 나타났다.

표 18. 밀복 복합엑스분의 수율 및 관능검사

추출물 ¹	수율 (mL/kg)	관능검사 ²		
		맛	향기	강도
열수추출물(I)	422±22	5.0 ^a	5.0 ^a	2.5±0.2 ^a
열수추출잔사 효소분해물(II)	488±36	4.0±0.3 ^b	3.3±0.3 ^b	5.0 ^b
복합추출물(III)	910±30	4.6±0.3 ^a	4.5±0.3 ^a	4.3±0.2 ^b

¹그림 5 참조.

²5단계평점법(n=9, p<0.05)

맛, 향기; 5점: 아주 좋음=열수추출물 기준, 3점: 보통, 1점: 아주 나쁨.

강도; 5점: 아주 강함=효소분해물 기준, 3점: 보통, 1점: 아주 약함.

표 19. 밀복국용 옥수의 풍미 증진을 위한 복합추출물(Ⅲ)¹의 최적 첨가량

		옥수에 대한 복합추출물의 첨가비율 (%)					
		0	1	2	3	5	10
5단계 ² 평점법	맛	2.5 ^a	2.8±0.2 ^a	3.2±0.3 ^b	4.5±0.1 ^c	4.4±0.2 ^c	4.4±0.3 ^c
	강도	2.5 ^a	2.5±0.1 ^a	3.0±0.2 ^b	4.3±0.3 ^c	4.7±0.2 ^d	5.0±0.0 ^d
맛의 특성		-	약한 감칠맛	감칠맛	강한 감칠맛	매우강한 감칠맛	매우강한 감칠맛

¹그림 5 참조, Brix 10°.

²5단계평점법(n=9)

맛 ; 5점: 아주 좋음, 3점: 보통, 1점: 아주 나쁨.

강도 ; 5점: 아주 강함, 3점: 보통, 1점: 아주 약함 (p<0.05).

4. 밀복국용 베이스수프의 제조 및 이화학적 성분조성

1) 밀복국용 베이스수프(육수)의 제조

그림 6에 레토르트파우치 밀복국 시작품의 베이스수프(육수)로 사용할 밀복국용 육수의 첨가물 조성과 육수조제 자문 및 관능검사에 참여한 복전문 요리학원 및 복요리 전문음식점을 나타내었다.

밀복국용 베이스수프인 육수는 밀복 처리잔사(부산물)인 밀복 두부 및 뼈에 일정량의 물을 가한 후 3시간 정도 열수추출을 하였으며(Brix 2°), 이 열수추출물에 기호에 맞도록 일정량의 정제염(3~4%), 다시마, 무 및 양파 및 소량의 MSG(mono sodium glutamate) 등을 같이 넣고 다시 끓여 육수를 조제하였다. 육수의 조성은 지역에 따라 선호도의 차이가 있으므로 상품화시 제조사가 지역별 기호도에 맞추어 조성비나 첨가물의 종류를 달리 할 필요가 있다. 시중 복국용의 육수는 일반적으로 소량의 복어 처리잔사, 멸치, 가쓰오부시, 정제염 및 MSG를 주원료로 하여 조제하고 있다.

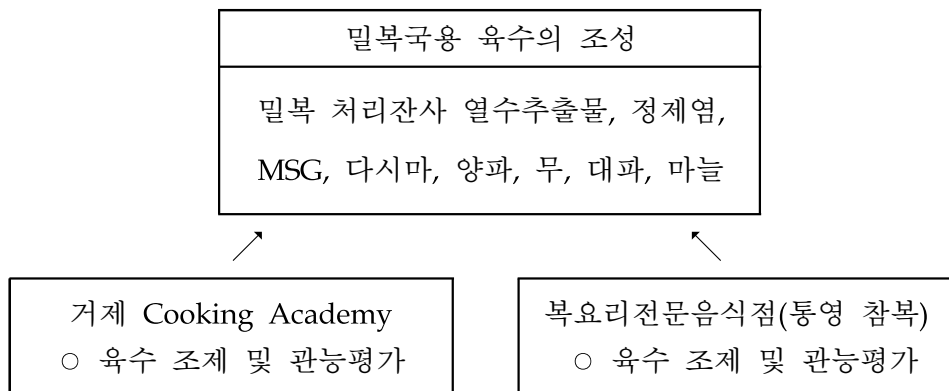


그림 6. 밀복국용 베이스수프(육수)의 조성.

2) 밀복국용 육수의 성분조성

상기에서 조제한 레토르트과우치 밀복국용 육수의 일반성분 조성, pH, 휘발성염기질소(VBN), 산도(acidity), 아미노질소(NH₂-N) 함량, 투과 색조 및 유리아미노산 조성을 측정한 결과는 표 20~23과 같다.

표 20. 밀복국용 육수의 일반성분 조성

(g/100 g)				
수 분	조단백질	조지방	조회분	탄수화물
98.0±0.2	1.5±0.4	0.5±0.1	0.2±0.0	-

표 21. 밀복국용 육수의 pH, 휘발성염기질소(VBN), 산도(acidity) 및 아미노질소(NH₂-N) 함량

pH	VBN (mg/100 g)	Acidity (mL/100 g)	NH ₂ -N (mg/100 g)
5.6±0.1	7.7±0.2	0.1±0.02	63.7±1.6

표 22. 밀복국용 육수의 투과 색조

투과 색조			
명도(L)	적색도(a)	황색도(b)	색차(ΔE)
82.5±0.3	1.1±0.2	10.1±1.2	22.8±1.0

표 23. 밀복국용 옥수의 유리아미노산 성분조성

(mg/100 mL)			
유리아미노산	함 량	유리아미노산	함 량
Phser	3.1 (0.3)	Ile	4.1 (0.5)
Tau	115.7 (12.8)	Leu	5.6 (0.6)
Pea	1.6 (0.2)	Tyr	5.8 (0.6)
Urea	tr	β-ala	tr
Asp	tr	Phe	5.2 (0.6)
Hypro	tr	Homocys	16.8 (1.9)
Thr	42.0 (4.6)	GABA	15.0 (1.7)
Ser	7.5 (0.8)	Ethamin	9.7 (1.1)
Asn	24.8 (2.7)	Amm	98.4 (10.9)
Glu	331.5(36.7)	Hylys	tr
AAAA	7.2 (0.8)	Orn	3.6 (0.4)
Pro	22.2 (2.5)	Lys	21.8 (2.4)
Gly	28.1 (3.1)	1-M-his	tr
Ala	34.8 (4.3)	His	6.8 (0.8)
Citr	tr	3-M-his	tr
AABA	tr	Ans	tr
Val	6.8 (0.8)	Car	tr
Cys	60.2 (6.7)	Arg	18.0 (2.0)
Met	2.6 (0.3)		
Cysth	0.8 (0.1)	합 계	903.4 (100.0)

tr: 흔적량

Phser; phosphoserine, Phea; phosphoethanolamine, Hypro; hydroxyproline, Asn; asparagine, AAAA; α-aminoadipic acid, Citr; citrulline, AABA; α-aminobutyric acid, Cysth; cystathionine, Homocys; homocystine, GABA; γ-aminobutyric acid, Ethamin; ethanolamine, Amm; ammonia, Hylys; hydroxylysine, Orn; ornithine, 1-M-his; 1-methyl-histidine, 3-M-his; 3-methyl-histidine, Ans; anserine, Car; carnosine.



밀복국용 육수의 조제 및 여과



정미강화용 밀복 복합추출물(그림 5)의 첨가(3%, w/w)

그림 7. 밀복국용 육수 및 정미강화용 밀복 복합추출물의 첨가.

5. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조

1) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 원료 및 함량

복전문 Cooking Academy, 국내 탕류전문생산공장 제품개발팀, 그리고 복요리전문음식점의 자문을 받아 본 연구개발 연구진이 개발한 레토르트파우치 밀복국 시작품의 원료 및 함량은 주원료인 밀복 육 및 두부 22%, 밀복국용 육수 57%, 내열성 찜용 콩나물 12%, 무 5%, 마늘 1%, 정미강화소재인 밀복 복합추출물(Brix 10°) 3%의 조성비로 되어 있으며, 이 조성비는 향후 상품화시 소비자의 식미 경향에 맞도록 재조정될 수 있다.

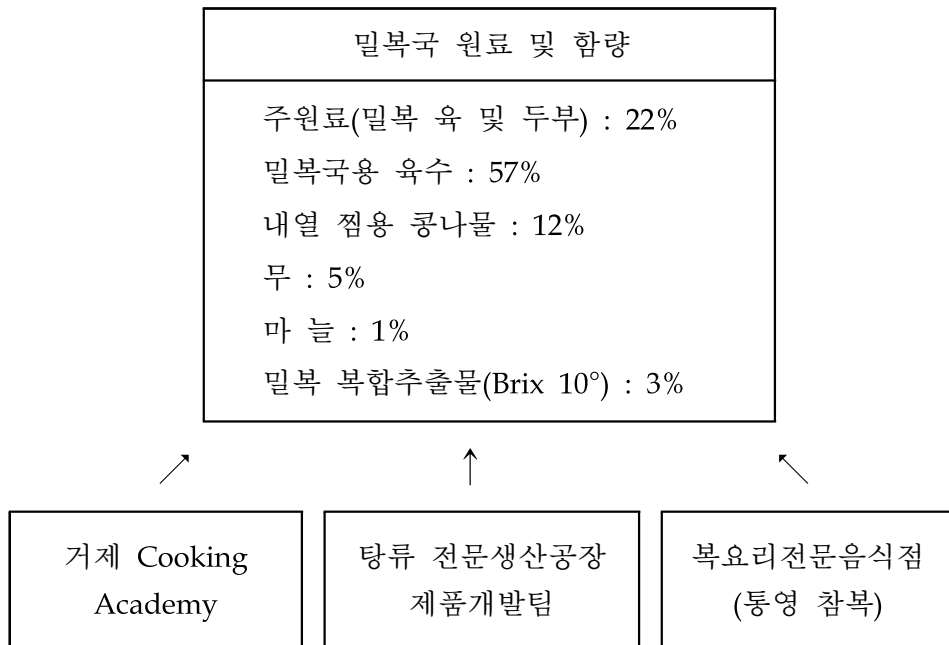


그림 8. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 원료 및 함량.



밀복 육



밀복 두부



내열성 찜용 콩나물



무

그림 9. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 원료.

2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조공정

본 연구개발과제에서 개발한 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조공정도는 그림 10에, 주요 제조공정 사진은 그림 11에 나타내었다.

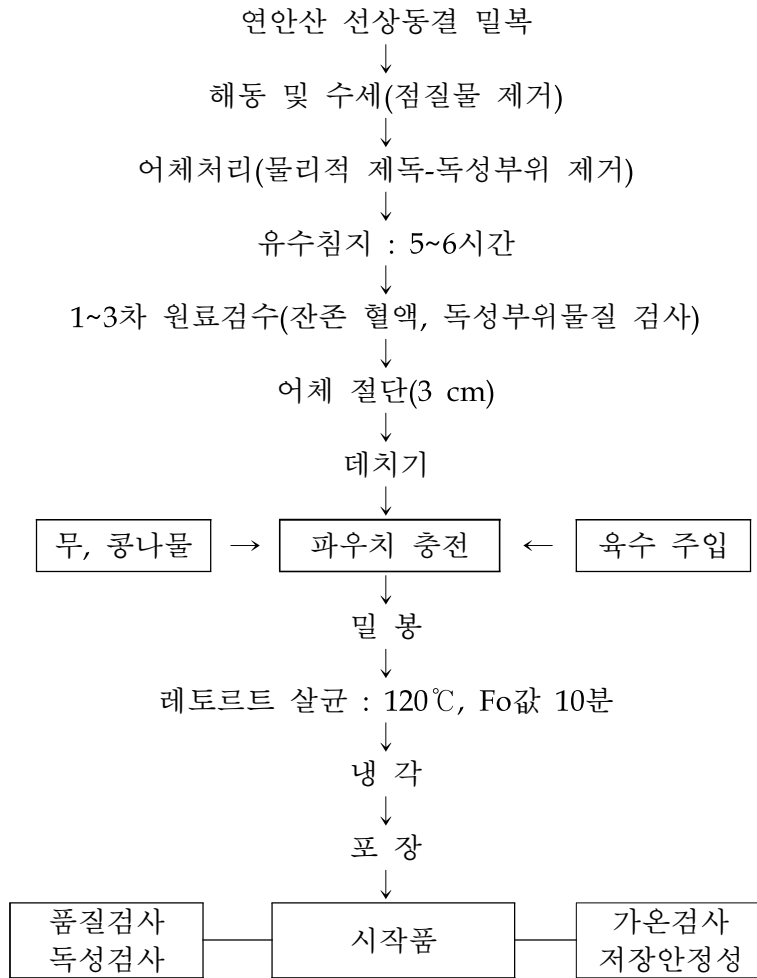


그림 10. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조공정도.



선상동결 밀복



물리적 제독처리



유수 침지



밀복 두부



1~3차 밀복 육 검수



1~3차 밀복 두부 검수

그림 11. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 주요 제조과정-1.



수 침



데 치기



내용물 준비



육수 투입



내용물 이송



파우치 충전

그림 11. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 주요 제조공정-2.



밀봉 후 살균대기



열수침지식 레토르트 살균



레토르트파우치 밀복국 시작품 및 포장

그림 11. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 주요 제조과정-3.

3) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 살균

(1) 가열살균량(Fo값)에 따른 시작품의 이화학적 성분변화

Fo값의 측정은 그림 12와 같은 무선형 Data logger 및 Fo-vac 측정장치 (Iblo Electronic GmbH, Germany)로써 측정하였으며, 레토르트살균은 열수침지식 레토르트(Kyunghan Nissen Co., Korea)로써 행하였다.

레토르트파우치 밀복국 시작품의 적정 살균조건을 구명하기 위해 본 시작품을 120℃에서 Fo값 2.5분에서 10분까지 살균하면서 가열살균량(Fo값)에 따른 시작품 고형물(밀복 육)의 이화학적 및 물리적 성분변화를 측정 한 결과를 표 24와 25에, 그리고 시작품 액즙(육수)의 이화학적 성분변화를 측정 한 결과를 표 26에 나타내었다. 내용물 중 고형물의 경우 Fo값이 증가할수록 VBN 함량은 약간씩 증가하는 경향을, 육질(hardness)은 고온 살균에 의한 단백질변성에 따른 보수력 저하로 약간씩 단단해지는 경향을 나타내었고, 명도(L), 황색도(b) 및 색차(ΔE)도 약간씩 증가하는 등 색조도 약간씩 변화되는 것으로 나타났다. 한편, 시작품의 액즙도 Fo값이 증가할수록 VBN 함량은 약간씩 증가하는 경향을, $\text{NH}_2\text{-N}$ 함량은 약간씩 감소하는 경향을 나타내었다.

레토르트파우치 밀복국 시작품의 가열살균량(Fo값)에 따른 잔존생균수 및 관능적 특성의 변화를 관능검사한 결과는 표 27과 같다. 표 27에서와 같이 Fo값 5분 이상 살균한 시료에서는 잔존생균수가 검출되지 않아 무균상태가 확인되었으며, 식품위생학적으로 안전할 것으로 판단된다. 일반적으로 통조림과 같은 가열살균 포장식품은 중심점 온도를 최소 120℃에서 4분 이상 가열(Fo값 2.4분)하여 상온유통 시키도록 되어 있으나, 일반적인 가공식품은 단백질, 탄수화물, 전분 등의 다성분계 혼합식품이며, 특히 이들 성분들이 살균지표세균인 *Cl. botulinum*균 포자의 내열성을 현저히 증가시키므로 위생학적 안전성을 고려하여 Fo값을 최소 7~8분 이상 되어야 한다(정 등, 1997).



그림 12. Fo값 측정장치(상) 및 열수침지식 레토르트(하).

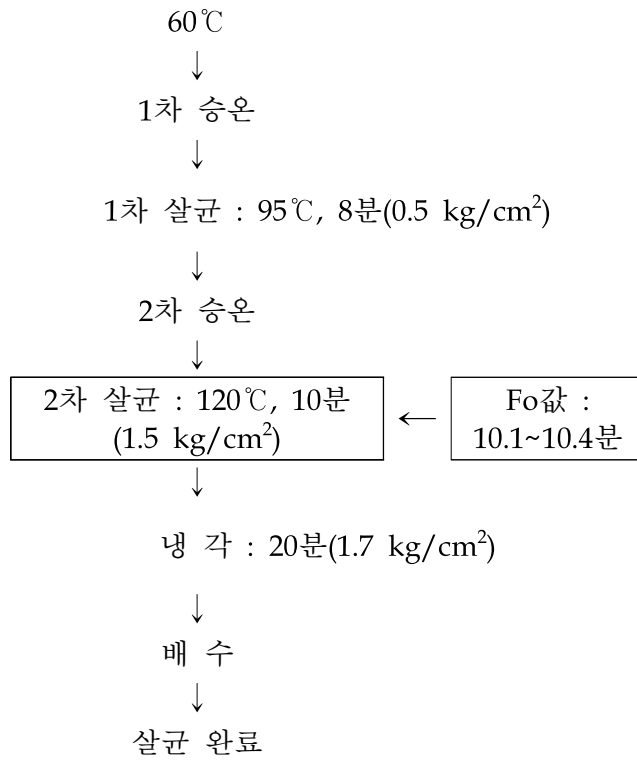


그림 13. 열수침지식 레토르트(Kyunghan Nissen Co.)의 운전조건.

표 24. 가열살균량(Fo값)에 따른 시작품 고형물의 pH, 휘발성염기질소량 (VBN) 및 경도(hardness)의 변화

Fo값	pH	VBN (mg/100 g)	Hardness (g/cm ²)
0	6.4±0.3	4.0±0.2	358.0±7.5
2.5	6.3±0.1	5.6±0.1	351.8±10.3
5.0	6.3±0.2	5.6±0.1	364.4±6.3
7.5	6.3±0.1	5.6±0.3	387.4±6.7
10.0	6.2±0.1	6.2±0.2	403.5±8.9

*살균온도 120℃.

표 25. 가열살균량 (Fo값)에 따른 시작품 고형물의 표면 색조 변화

Fo값	표면 색조			
	L	a	b	ΔE
0	57.3±1.2	-1.6±0.3	9.4±0.7	32.9±0.8
2.5	60.9±1.6	-1.6±0.4	10.7±0.6	35.8±0.4
5.0	61.5±1.0	-1.0±0.3	11.2±0.4	37.5±0.6
7.5	62.8±2.1	-2.0±0.6	12.9±0.6	38.5±0.5
10.0	63.0±0.7	-2.1±0.4	13.2±0.4	39.5±1.0

*살균온도 120℃.

표 26. 가열살균량 (Fo값)에 따른 시작품 액즙의 pH, 휘발성염기질소 (VBN), 아미노질소(NH₂-N) 함량의 변화

Fo값	pH	VBN (mg/100 mL)	NH ₂ -N (mg/100 mL)
0	6.0±0.1	4.8±0.2	47.7±0.3
2.5	6.3±0.2	5.0±0.1	41.7±0.2
5.0	6.2±0.1	5.6±0.2	41.6±0.4
7.5	6.3±0.3	7.0±0.2	40.9±0.1
10.0	6.2±0.2	7.7±0.1	40.3±0.2

*살균온도 120℃.

표 27. 가열살균량(Fo값)에 따른 시작품의 잔존생균수 및 관능적 특성 변화

Fo값	생균수 ¹ (CFU/g)	관능검사 ²			
		조직감	맛	냄새	종합평가
0	-	-	-	-	-
2.5	-	5.0 ^a	5.0 ^a	5.0 ^a	5.0 ^a
5.0	ND	4.7±0.2 ^a	4.8±0.1 ^a	5.0±0.0 ^a	4.8±0.0 ^a
7.5	ND	4.3±0.1 ^b	4.8±0.2 ^a	4.8±0.1 ^a	4.6±0.2 ^{ab}
10.0	ND	4.0±0.2 ^b	4.6±0.2 ^a	4.8±0.1 ^a	4.5±0.2 ^b

¹ : 미실시, ND : 미검출.

²5단계평점법(n=9), 5점: 아주 좋음=Fo값 2.5분 살균시료 기준, 4점: 좋음, 3점: 보통, 2점: 나쁨, 1점: 아주 나쁨 (p<0.05).

현재 업계에서는 통조림이나 어육소시지와 같은 가열살균 포장식품의 경우 장기간 상온유통 중 위생학적 안전성을 고려하여 대개 Fo값을 10~20분 정도로 가열살균처리하여 제품을 생산하고 있다(공 등, 2005).

레토르트파우치 밀복국 시작품의 가열살균량(Fo값)에 따른 관능적 특성의 변화에서 육 조직감의 경우 Fo값이 증가할수록 관능평점이 약간씩 저하하였으나 대체로 4점 이상의 우수한 평점을 받았으며, 나머지 평가항목에서도 Fo값 5분 시료와 유의적 차이를 보이지 않았다. 따라서 식품위생학적 안전성과 관능 특성을 고려하여 레토르트파우치 밀복국은 하절기에는 Fo값 10분 정도, 동절기에는 Fo값 7~8분 정도의 가열살균처리가 적합할 것으로 사료된다.

(2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 살균

레토르트파우치 밀복국 시작품의 살균량은 가열살균에 따른 내용물의 이화학적 성분조성의 변화와 *Cl. botulinum*균 포자의 사멸과 같은 식품위생학적 면 및 관능적 특성을 고려하여 Fo값 10분으로 설정하였다. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 레토르트 살균시간에 따른 Fo값의 변화와 누적 총살균량은 그림 14 및 표 28과 같다.

6. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 관능적 품질 및 저장 안전성

1) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 관능적 품질

본 레토르트파우치 밀복국 시작품의 관능적 품질을 평가하기 위하여 시작품을 복전문음식점의 밀복국 및 시중유통 냉동 복국과 관능적 품질면 즉, 맛, 밀복육의 조직감, 콩나물 및 무 등의 부원료 식감, 냄새 및 종합평가 면에 대하여 5단계평점법으로 비교 평가한 결과는 표 29와 같다.

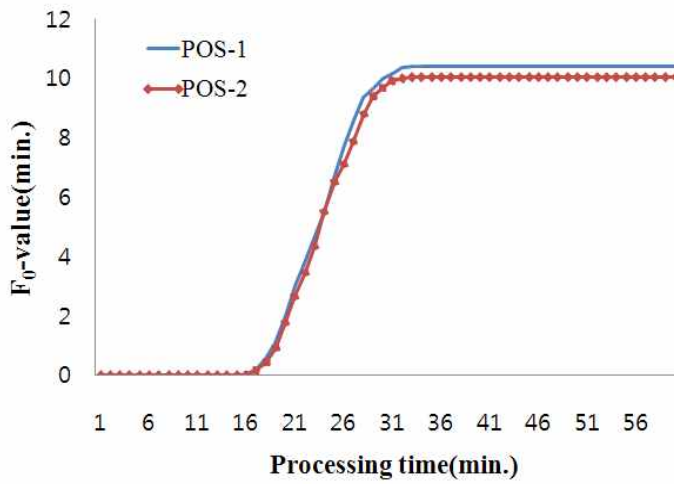
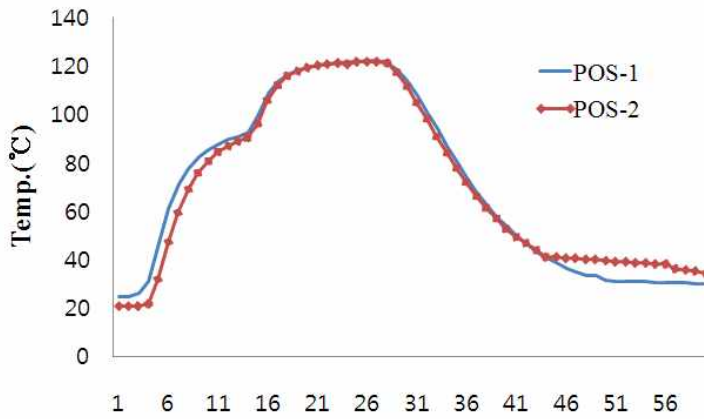


그림 14. 레토르트파우치 밀복국 시작품 살균 중 중심점의 온도변화 (위) 및 Fo값(아래)의 변화.

표 28. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 레토르트내 위치별 누적살균량

	POS-1	POS-2
레토르트내 위치	상 단	하 단
Fo값(분)	10.4±0.2	10.1±0.1

표 29. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 관능적 품질비교

제 품	관능검사*				
	맛	밀복 육 조직감	부원료 조직감	냄새	종합평가
시작품	4.6±0.2 ^a	3.8±0.4 ^a	4.5±0.2 ^a	4.5±0.1 ^a	4.3±0.2 ^a
복전문점 밀복국	5.0 ^a	5.0 ^b	5.0 ^a	5.0 ^a	5.0 ^b
시중유통 냉동복국	2.5±0.4 ^c	2.5±0.1 ^c	2.0±0.2 ^a	2.5±0.4 ^b	2.3±0.2 ^c

*5단계 평점법(n=9), 5점: 아주 좋음=복전문점 밀복국 기준, 4점: 좋음, 3점: 보통, 2점: 나쁨, 1점: 아주 나쁨 (p<0.05).

-



레토르트파우치 밀복국 시작품의 내용물



각종 부원료를 첨가한 레토르트파우치 밀복국 시작품

그림 15. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 내용물.

레토르트파우치 밀복국 시작품의 관능적 품질은 유명 복전문점의 밀복국과 비교하여 육의 조직감에서는 약간 낮은 평점을 얻었으나, 맛, 콩나물 등 부원료의 조직감, 냄새 등에서 복전문점의 밀복국과 유의차가 없을 정도로 관능적 품질이 우수하게 유지되었다. 따라서, 가열처리식품이 갖는 단점인 조직감 저하와 같은 일부 측면에서 다소 미흡하더라도 레토르트파우치 밀복국 시작품이 갖는 여러 가지 장점 및 전반적인 품질을 고려하면 본 시작품은 충분히 소비자의 다양한 욕구를 충족시킬 수 있으며 경쟁력을 갖춘 제품이 될 것으로 기대되었다.

2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 tetrodotoxin 독력

마우스시험법에 의하여 레토르트파우치 밀복국 시작품의 tetrodotoxin 독력을 측정된 결과는 표 30과 같다. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 tetrodotoxin 함량은 6 MU/g 이하(마우스 생존)로서, 복어독 기준(무독 : 10 MU/g 이하)에 의거하여 무독한 것으로 판명되었으며, 식품위생학적으로 안전하다는 것이 입증되었다. 한편, 국가공인기관에 의한 레토르트파우치 밀복국 시작품의 안전성 입증을 위해 국립수산물품질검사원에 의뢰하여 분석한 레토르트파우치 밀복국 시작품의 복어독 검정시험에서 본 연구 결과와 같이 무독하다는 결과를 얻었다(그림 16).

그림 30. 마우스시험법에 의한 밀복국 시작품의 tetrodotoxin 독력

시 료	시료 중량 (g)	추출 배수 (D)	Mouse 체중	치사 시간 (분)	가와바다에 의한 환산			Toxicity (MU/g)
					치사시간 MU(A)	체중 MU(B)	보정치 (C=A×B)	
밀복국 시작품	10	50/10	19.6 ±0.2	생존	<1.05	0.99	<1.04	<6 (Non-toxic)

복어독 기준 : 무독; 10 MU/g 이하.



[별지 제50호서식]
Serial No. : 제 2009-000090-0090호

수산물검정증명서
Analysis Certificate

신청인 Applicant	성명 Name (법인의 경우에는 명칭) (Name of Firm)	오광수	주민등록번호 (법인등록번호) Registration No.	*****
	주소 Address	*****		
검정품목 Commodity	밀복국, 황복국			
시료접수 및 중량 Quantity	밀복국(1pk, 500g), 황복국(1pk, 500g)			
검정항목 Item of Analysis	복어독(육/피)			
검정결과 Result of Analysis	품목 (Commodity)	항목 (Item of Analysis)	결과 (Result of Analysis)	
	밀복국	복어독(육/피)	<6 MU/g	
	황복국	복어독(육/피)	<6 MU/g	
<p>수산물품질관리법 제44조 및 동법시행규칙 제70조의 규정에 의하여 검정한 수산물의 시료에 대한 검정성적임을 위와 같이 증명합니다. This is to certify that the above mentioned results are performed on the sample according to the Fisheries Products Quality Control Act.</p> <p>Date : 2009년 11월 24일 국립수산물품질검사원 통영지원장 Signature : _____</p> <p>Chief of TongYoung Branch National Fisheries Products Quality Inspection Service</p>				



그림 16. 밀복국 시작품의 복어독 검정증명서(국립수산물품질검사원).

3) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 저장안정성

레토르트파우치 밀복국 시작품의 상온유통 중 shelf-life, 즉 저장안정성을 살펴보기 위해 본 시작품을 식품공전상의 가온저장시험 규정에 따라 $35^{\circ}\text{C}\pm 1$ 에서 60일간 가온저장하면서 시작품의 잔존생균수, 외관상태, 내용물의 육안검사 및 관능검사를 실시한 결과는 표 31에 나타내었다. 그리고, 가온저장 중 시작품 내용물의 이화학적 성분조성 변화를 표 32와 33에, 내용물의 색조 변화를 표 34에 나타내었다.

레토르트파우치 밀복국 시작품은 35°C 가온저장 60일 동안 생균수는 음성이었으며, 포장재 팽창 등도 전혀 관찰되지 않았다. 또한 내용물도 점질물이나 이상현상 등이 발생하지 않았고 정상상태를 유지하였으며, 맛, 조직감 및 종합적 기호도 등 관능검사 결과 본 시작품은 제조 직후에 비해 전혀 관능적 요소에 손상됨이 없이 품질을 유지하고 있었다. 이로 미루어 Fo값 10분 정도의 가열처리에 의해 파우치 내의 잔존 내열성균이나 포자 등이 사멸되었으며, 상온저장 유통 중 최소 6개월 이상 관능적 품질저하 없이 식품위생적으로 안전하게 유지됨을 확인하였다.

또한, 표 31~33에서와 같이 가온저장 중 내용물의 이화학적 및 물리적 성분조성, 색조의 변화를 측정된 결과, 본 시작품은 가온저장 60일 동안 성분변화나 색조의 변화가 거의 없이 상온에서의 shelf-life가 우수하게 유지되었으며, 이로 미루어 상온에서 상당기간 동안 이화학적 성분 변화 없이 저장 및 유통이 가능할 것으로 기대되었다.

표 31. 35±1℃ 가온저장 중 밀복국 시작품의 잔존생균수, 외관, 내용물 검사 및 관능적 특성의 변화

저장기간 (일)	생균수 (CFU/g)	외관 검사	내용물 검사	관능검사*		
				맛	조식감	종합적 기호도
0	미검출	정 상	정 상	5.0 ^a	5.0 ^a	5.0 ^a
60	미검출	정 상	정 상	5.0±0.0 ^a	4.5±0.3 ^a	4.8±0.2 ^a

*5단계평점법(n=7), 5점; 매우 좋음, 4점; 좋음, 3점; 보통=0일차 시작품, 2점; 나쁨, 1점; 매우 나쁨 (p<0.05).

표 32. 35±1℃ 가온저장 중 밀복국 시작품 고형물의 pH, 휘발성염기질소(VBN) 및 조식감(hardness)의 변화

저장기간 (일)	pH	VBN (mg/100 g)	Hardness (g/cm ²)
0	6.3±0.1	5.4±0.1	2,849±43
60	6.2±0.1	5.7±0.1	3,057±34

표 33. 35±1℃ 가온저장 중 밀복국 시작품 액즙의 이화학적 성분 조성의 변화

저장기간 (일)	pH	VBN (mg/100 g)	NH ₂ -N (mg/100 g)	Acidity (mL/100mL)	염 도 (%)
0	6.5±0.2	5.6±0.1	38.1±0.8	0.1±0.0	2.3±0.1
60	6.4±0.1	5.6±0.2	40.6±2.0	0.1±0.0	2.3±0.0

표 34. 35±1℃ 가온저장 중 밀복국 시작품 내용물의 색조 변화

시 료	저장일수	색 조			
		명도(L)	적색도(a)	황색도(b)	색차(ΔE)
고형물	0	42.7±0.2	1.7±0.2	8.0±0.3	54.5±0.2
	60	39.6±0.3	0.9±0.1	6.3±0.2	57.8±0.2
액 즙	0	13.3±0.2	-0.6±0.1	-0.6±0.2	86.7±0.3
	60	12.6±0.3	-1.2±0.3	-8.0±0.2	87.3±0.4

7. 레토르트파우치 밀복국 시작용의 상품화

1) 레토르트파우치 밀복국 시작용의 영양성분 9종 함량

레토르트파우치 밀복국의 상품화를 위해 국가공인분석기관에 의뢰하여 분석한 본 레토르트파우치 밀복국 시작용의 영양성분 9종의 함량은 표 35와 같다.

표 35. 레토르트파우치 밀복국 시작용의 영양성분 9종 함량

품 명	규 격	100 g 당 함량	%영양소기준치
	열 량	30 kcal	
	탄수화물	1 g 미만	0%
	당 류	0 g	-
	단백질	4 g	7%
밀복국	지 방	0.9 g	2%
	포화지방	0.5 g	3%
	트랜스지방	0 g	-
	콜레스테롤	5 mg	2%
	나트륨	170 mg	9%

%영양소기준치 : 1일 영양소기준치에 대한 비율.

그림 17. 국가공인기관에 의한 레토르트파우치 밀복국 시작용의 영양성분
검사성적서.

2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 상표 및 포장디자인

(1) 산업재산권 출원

- 디자인(GNU참眞복국 & 도형) 등록번호 : 등록 제 30-0549372호.
- 상표권(복어 & 도형) 등록출원번호 : 40-2009-0058857.

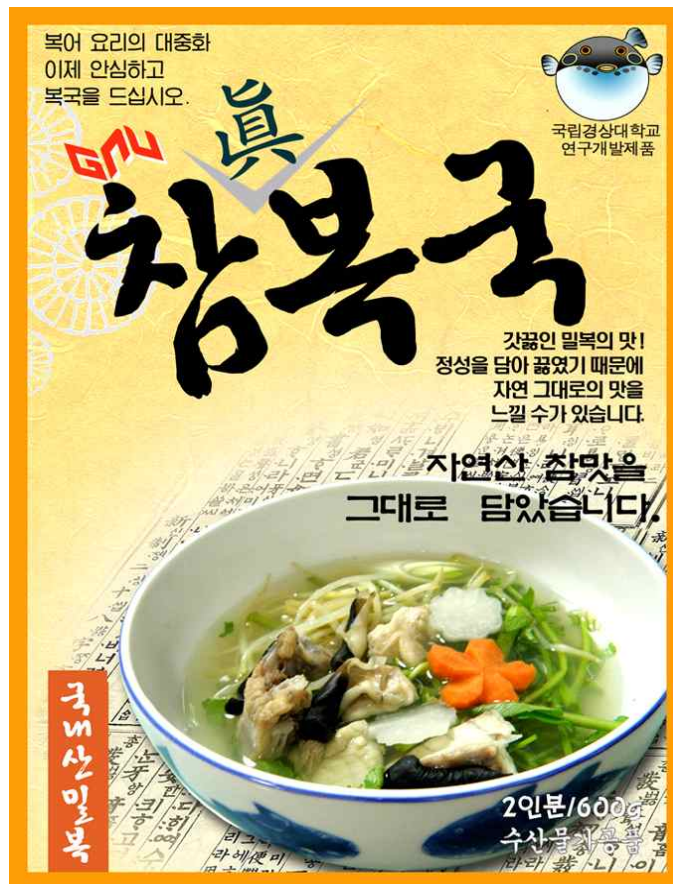


그림 18. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 디자인.

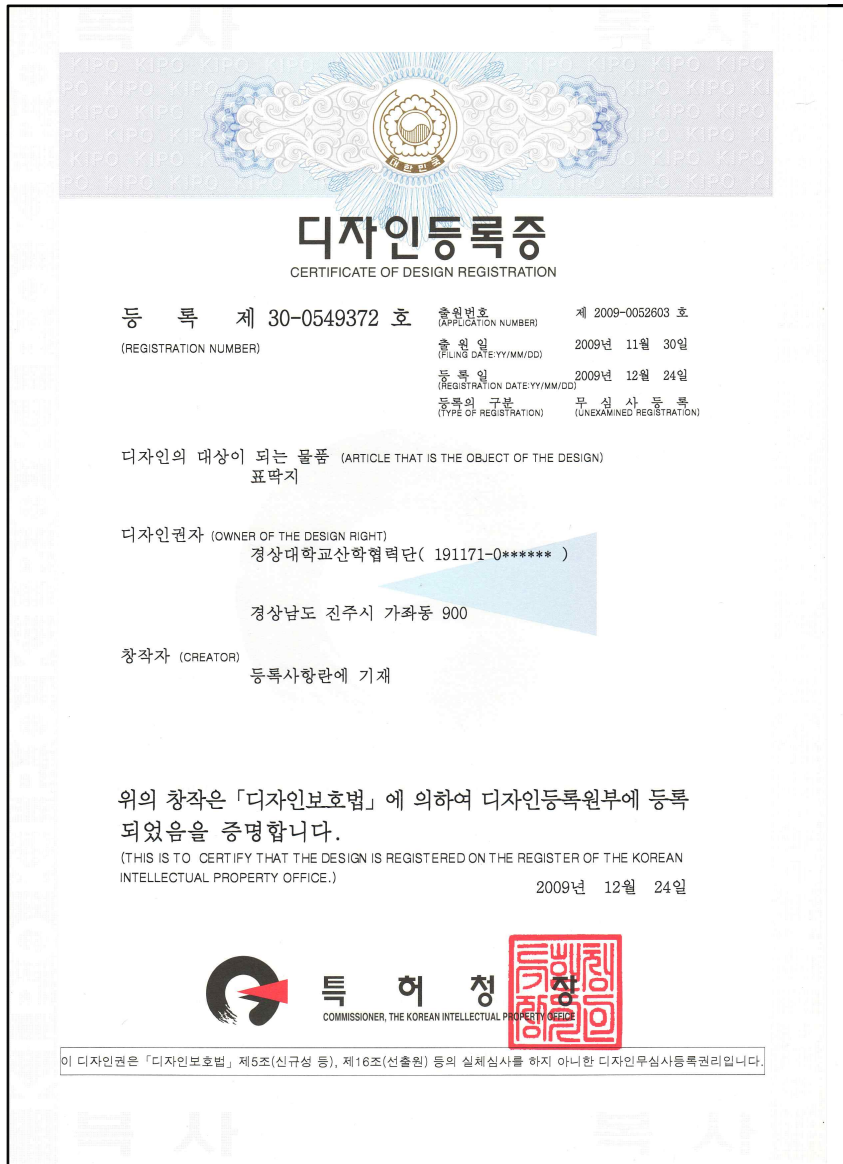


그림 19. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 디자인등록증.

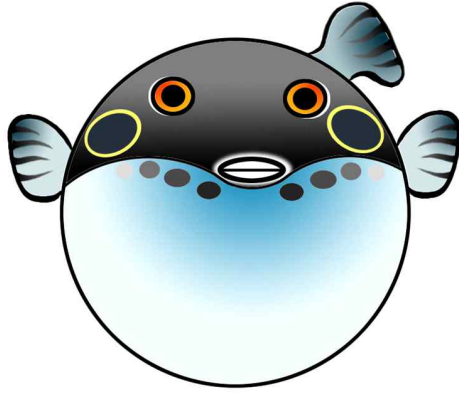


그림 20. 레토르트파우치 밀복국의 상표권(복어 & 도형).
등록출원번호 : 40-2009-0058857

(2) 레토르트파우치 밀복국 시작품의 외포장 디자인



그림 21. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 외포장 디자인.

(3) 레토르트파우치 밀복국 시작용의 최종제품



그림 22. 레토르트파우치 밀복국 시작용의 최종제품 형태.

제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야 기여도

1. 연구개발 목표 및 달성도

세부연구목표	세부연구목표 달성내용	달성도 (%)
<p>무독한 연안산 밀복을 원료로 복합 추출기법을 통하여 복국용 육수의 정미를 강화할 수 있는 조미소재를 추출하고, 이를 활용하여 위생적으로 안전하며 풍미를 개선시킨 고부가가치의 레토르트파우치 즉석 복어탕류를 개발하고, 본 시작품의 품질특성 및 디자인, 포장 등 상품화 준비를 목표로 한다.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 원료 밀복의 육, 처리잔사, fish frame 등 부위별 성분조성 및 독성 분석 완료. 2. 풍미 및 수율 향상을 위한 엑스분의 복합 추출 및 이를 이용한 정미강화용 밀복 농축엑스분의 제조 완료. 3. 밀복국용 수프(육수)의 제조 및 이화학적 성분분석 완료. 4. 밀복 원료 및 각종 밀복 추출물의 위생학적 안전성(독소) 시험을 통해 밀복의 무독함 입증. 5. 밀복국 제조를 위한 각종 내용물(recipe)의 선정. 6. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 제조공정 확립. 7. 밀복국 시작품(고형물, 액즙)의 가열살균에 따른 성분, 품질특성의 변화를 검토하여 최적 살균량(Fo값)의 설정. 8. 레토르트파우치 밀복국 시작품의 생산 및 성분분석 완료. 9. 시작품의 독소시험, 품질시험 및 저장안정성 등에 대한 가온검사 완료. 10. 시작품의 상품화를 위한 포장 디자인, 상표로고 개발 및 이에 관련한 특허출원 완료. 11. 추출 및 가공기술에 대해 관련학회발표. 12. 복요리전문점 및 지역언론매체를 통한 본 시작품의 홍보 진행. 	<p>100</p>

2. 평가의 착안점, 기준 및 달성 여부

구분	연도	세부연구개발 목표	평가의 착안점 및 기준	달성 여부
1차 년도	2009	복어 정미강화 엑스분의 복합 추출 및 풍미의 개선	복합추출기술 및 풍미개선기술	달성
		즉석 복어탕의 가공 및 살균처리의 공정개발 및 시작품 제조	시작품 제조의 성공 여부	달성
		시작품 상품화 및 가공기술의 지적재산권 취득	지적재산권 및 상품화 준비	달성

3. 관련분야에의 기여도

- 레토르트파우치 밀복국의 제조과정을 통한 수산물 레토르트식품의 가공기술에 대한 노하우 축적.
- 레토르트파우치 밀복국의 가공방법을 변형하여 유사한 당류제품의 개발에 활용 : 유사 인스턴트 즉석식품 개발시 인적 물적 경비 손실의 최소화.
- 복어를 원료로 안전한 인스턴트 제품 개발과 산업화를 통하여 복어 가공조리의 한계 극복 및 복어양식산업 등 관련산업 발전 효과.
- 다양한 소비자의 욕구를 충족시킬수 있는 제품의 개발로 인한 소비자의 만족도 향상에 기여.
- 본 연구개발에서 수행된 엑스분 추출기술, 살균기술, 미량성분의 분석 결과 등은 본 시작품과 유사한 해양바이오 산업의 연구개발을 위한 자료로 활용될 수 있을 것임.

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

1. 개발제품의 지속적 홍보 및 산업화 추진

- 본 시작품은 간편, 풍미 및 첨가물의 식감이 우수하고 상온에서 유통 가능하며, 식품위생학적으로 안전함이 입증된 제품으로 상품화가 될 경우 복어요리의 대중화 및 고부가가치를 창출할 수 있을 것으로 기대.
- 본 연구개발을 통하여 목표로 한 시작품의 개발, 포장, 디자인을 완성함과 동시에 제조 공정의 표준화 확립, 개발기술의 특허출원.
- 인근 복요리 전문점을 통한 시작품의 홍보.
- 지역 언론매체를 통한 레토르트파우치 인스턴트 볶국의 개발 및 지역특산품으로서의 홍보.
- 레토르트파우치 밀볶국의 제조기술 및 영양, 맛성분 조성을 학술대회에 발표 및 논문투고.
- 산학연개발제품 전시회에 참여 : 희망산업체의 발굴 및 기술이전을 통하여 시작품이 생산/판매 상품화될 수 있도록 노력.

2. 해양바이오 산업의 활성화

- 본 연구개발에서 수행된 유효소재 추출기술, 살균기술, 미량성분의 분석 결과 등은 본 시작품과 유사한 해양바이오 산업의 연구개발을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것임.

3. 기술 경제적 측면

- 레토르트파우치 밀볶국의 제조과정을 통한 수산물 레토르트식품의 가공기술에 대한 know-how 축적 효과.

- 레토르트파우치 밀북국의 가공방법을 변형하여 유사한 당류제품의 개발에 활용 : 유사 인스턴트 즉석식품 개발시 인적 물적 경비의 손실을 최소화할 수 있음.
- 복어를 원료로 무독한 인스턴트 제품 개발과 산업화를 통하여 복어 가공조리의 한계 극복 및 복어양식산업 등 관련산업의 발전을 기대할 수 있음.

제 6 장 참고문헌

- Ackman, R.G. 1989. Capillary gas-liquid chromatography. Elsevier Applied Pub. Co. Inc, NY, pp. 137-149.
- A.O.C.S. 1990. AOCS Official Method Ce 1b-89. In official methods and recommended practice of the AOCS, 4th ed., AOCS, Champaign, IL.
- A.P.H.A. 1970. Recommended procedures for the bacteriological examination of sea water and shellfish. 3rd ed., Am. Pub. Health Assoc. Inc, Brodway, NY, pp. 17-24.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917.
- Choi, J.W., N.Y. Kim and D.S. Kim. 2003. Bioactive functions of detoxified puffer liver oil. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 1126-1131.
- Hamada, S. 1992. Extraction techniqui of fisheries extract. New Food Industry 34: 17-23.
- Han, H.S. 1999. Statistic Data Analysis. Chungmungak, Seoul.
- Ho, C.T., L.J. Bruechert, Y. Zhang and E.M. Chiu. 1989. Thermal generation of aromas. American Chemical Society, Washington, D.C., p.105.
- Hashimoto, Y. and T. Okaichi. 1957. On the determination of TMA and TMAO. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 23: 269-272.
- Jeon, J.K. and J.M. Yoo. 1995. Anatomical distribution of toxicity of pufferfish *Takifugu obscurus*(Hwang-bok). J. Korean Fish. Soc. 28: 137-140.
- Jeon, J.K., A. Osamu, T. Noguchi. 2000. Comparison in toxicity of frozen pufferfish *Takifugu vermicularis radiatus*(Gukmeri-bok). J. Korean Fish. Soc. 33: 176-178.
- Jeong, D.Y., D.S. Kim, M.J. Lee, S.R. Kim, D.S. Byun, H.D. Kim and Y.H. Park. 1994. Toxicity of several puffers collected at a fish market of Pusan, Korea. J. Korean Fish. Soc. 27: 682-689.

- Jeong, B.Y., S.K. Moon, B.D. Choi and J.S. Lee. 1999. Seasonal variation in lipid class and fatty acid composition of 12 species of Korean fish. J. Korean Fish. Soc. 32: 30-36.
- JSSRI(Japanese Soy Sauce Research Institute). 1985. Analysis Method of Soy Sauce. Sanyushain Ins Co., Tokyo, pp. 20-21.
- Kim, D.S., Y.C. Kim, Y.D. Kim and Y.M. Kim. 1988. Studies on development of natural seasoning sauce from oyster, mussel and crab. KFRI's research paper.
- Kim, D.S., C. Koizumi, B.Y. Chung and K.S. Cho. 1994. Studies on the lipid contents and fatty acid composition of anchovy sauce prepared by heating fermentation. J. Korean Fish. Soc. 27: 469-475.
- Kim, D.S., M.R. Cho, H. Ahn and H.D. Kim. 2000. The preparation of canned pufferfish and its keeping stability. Korea J. Food & Nutr. 13: 181-186.
- Kim, D.H., D.S. Kim, J.W. Choi. 1994. Effect of puffer fish extract on hepatic alcohol metabolizing enzyme system in alcohol-treated rat. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 23: 181-186.
- Kim, H.Y., J.W. Shin, G.C. Sim, H.O. Park, H.S. Kim, S.M. Kim, J.S. Cho and Y.M. Jang. 2000. Comparison of the taste compounds of wild and cultured eel, puffer and snake head. Korean J. Food Sci. Technol. 32, 1058-1067
- Kim, J.H., Q.L. Gong, J.S. Mok, J.G. Min, T.S. Lee and J.H. Park. 2003. Characteristics of pufferfish poisoning outbreaks in Korea. J. Food Hyg. Safety 18: 133-138.
- Kim, J.H., K.T. Son, J.S. Mok, E.G. Oh, H.J. Hwang, H.S. Yu and H.J. Lee. 2007. Toxicity of the pufferfish, *Takifugu pardalis*(*Jolbok*) and *Takifugu niphobles*(*Bokseom*) from coastal area of Korea. J. Korean Fish. Soc 40: 269-275.

- Kim, K.O., S.S. Kim, R.K. Sung and Y.C. Lee. 1993. Sensory Evaluation Method and Application. Sinkwang Pub. Co., Seoul. (1991-2002).
- Kim, K.S. and D.S. Kim. 2000. Toxicity and taste components of the pufferfish, *Spherooides annulatus*(Bull's eye puffer) from Mexico. J. Korean Fish. Soc. 33: 75-78.
- Kim, Y.U., J.G. Myoung, Y.S. Kim, K.H. Han, C.B. Kang and J.G. Kim. 2001. The Marine Fishes of Korea. Hanguel Pub. Co., Busan, pp 294-301.
- KFDA. 2008. Korea Food Code. Korean food and drug administration. Seoul. p. 421.
- KSFSN. 2000-a. Handbook of Experimental in Food Science and Nutrition. Hyoil Pub. Co., Seoul, pp. 96-127.
- KSFSN. 2000-b. Handbook of Experimental in Food Science and Nutrition. Hyoil Pub. Co., Seoul, pp. 625-627.
- Lee, M.K. 1997. Studies on utilization and lipid composition of nonedible-tissues from *Fugu xanthopterus*. Korean J. Food & Nutr. 10: 213-218.
- Moon, J.H., J.T. Kim, S.T. Kang, J.W. Hur and K.S. Oh. 2003. Processing and quality characteristics of flavoring substance from short-neck clam, *Tapes philippinarum* J. Korean Fish. Soc. 36: 210-219.
- Moon, J.H. and K.S. Oh. 2003. Marine flavoring product extracted by 2 step enzyme hydrolysis and process for preparation thereof. Korean Patent 0394186.
- Oh, K.S., E.H. Lee, M.C. Kim and K.H. Lee. 1987. Antioxidative activities of skipjack meat extract. J. Korean Fish. Soc. 20: 441-446.
- Oh, K.S. 1998. Processing of flavoring substances from low-utilized shellfishes. J. Korean Fish. Soc. 31: 791-798.

- Oh, K.S., J.S. Kim and J.H. Hur. 1998. Processing of flavoring substances from small kingfish. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1339-1344.
- Oh, K.S. 2000. Processing of intermediate flavoring substance from low-utilized longfinned squid. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 663-668.
- Oh, K.S., S.T. Kang and C.T. Ho. 2001. Flavor constituents in enzyme hydrolysates from shore swimming crab and spotted shrimp. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 787-795.
- Ohara, T. 1982-a. Food analysis handbook. Kenpakusha Pub. Co., Tokyo, pp. 51-55.
- Ohara, T. 1982-b. Food analysis handbook. Kenpakusha Pub. Co., Tokyo, pp. 264-267.
- Park, H.Y., Y.J. Cho, K.S. Oh and J.K. Goo. 2000. Applied Fisheries Processing. Suhyub Pub. Co., Seoul.
- Ryder, J.M. 1985. Determination of ATP and its breakdown products in fish muscle by HPLC. J. Agric, Food Chem. 33: 678-680.
- Ryu, C.H., D.G. Kim, J.H. Kim, J.H. Jang and J.S. Lee. 2003. Toxicity of the grass puffer, *Takifugu niphobles*(*Bogseom*). J. Korean Soc. Food Sci. 32: 986-990.
- Yoo, J.H., D.J. Kwon, J.H. Park and Y.J. Koo. 1984. Use of nisin as an aid reduction of thermal process of bottled Sikhae. J. Microbial. and Biotech. 4: 141-145.
- Yun, J.Y., S.M. Hwang, D.H. Oh, G.H. Nam, J.D. Choi and K.S. Oh. 2009. Preparation and its taste-active components of grass puffer(*Takifugu niphobles*) extracts. J. Agr. & Life Sci. 40: 95-103.
- 공칭식, 남동배, 강정구, 류욱환, 최중덕, 오광수. 2005. 시판 수산물 통조림의 가열살균처리조건. 한국식품과학회 제 72차 학술발표대회. p. 136.
- 권두리, 박진현, 이인범. 2005. 복어로부터 회분식 증류를 이용하여 기능성 식품을 제조하는 방법. 대한민국 특허, 출원번호 10-2003-0056425.

- 김용억, 김용문, 김영섭. 1994. 한국연근해 유용어류도감. 예문사, 부산, p. 241.
- 김원일. 1994. 북어요리. 지구문화사, 서울.
- 김현대. 2005. 물리적 제독처리에 의한 레토르트 팩용 북어국 및 그 제조방법. 대한민국 특허, 등록번호 10-0467149.
- 명인식. 1999. 북어엑기스의 제조방법. 대한민국 특허, 출원번호 1997- 033089.
- 수협중앙회. 2000. 한국수산물명산품총람. 수협문화사, 서울, pp. 164-167.
- 윤황병. 2005. 무독성 황복어를 이용한 건강보조식품의 제조방법. 대한민국 특허 제 10-0495173.
- 정교원. 2004. 북어의 진공보존방법 및 그 제품. 대한민국 특허, 출원번호 10-2004-0036744.
- 정교원. 2004. 북어 통조림의 제조방법. 대한민국 특허, 출원번호 10-2004-0039895.
- 정동효, 박무현, 이상규, 조충묵. 1997. 레토르트식품의 기초와 응용. 광일문화사, 서울, pp. 113-119.
- 주정미, 서덕훈, 김태진, 조영제. 2001. 북어 종류별에 따른 자숙액 중의 정미성분의 차이. 한국수산학회 추계학술발표대회. 161-162.
- 한국식품공업협회. 2002. 북어독시험법. 식품공전. 문영사, 서울, pp. 1056- 1058.
- 清水潮, 横山理雄. 1979. レトルト食品の理論と實際. 幸書房, 東京.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 수산특정연구 개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 수산특정연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용을 대외적으로 발표 또는 공개할 수 없습니다.