

최 중
연구보고서

T0024401

현장에서 싱싱회의 경과시간 판정기술
개발에 관한 연구

Studies on the Development of an Evaluation
System to Judge the Shelf-life of Sliced
Fresh Fish 'Shingshinghoe'

부 경 대 학 교

해 양 수 산 부

제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “현장에서 상성회의 경과시간 판정기술 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007 년 11 월 01 일

주관연구기관명 : 부경대학교
주관연구책임자 : 조 영 제
연 구 원 : 이 남 결
연 구 원 : 심 길 보
연 구 보 조 원 : 김 승 미
연 구 보 조 원 : 손 명 진
연 구 보 조 원 : 박 현 규
연 구 보 조 원 : 김 배 의
연 구 보 조 원 : 최 윤 석

요 약 문

I. 제 목

현장에서 싱싱회의 경과시간 판정기술 개발에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

시판 싱싱회의 즉살 후의 경과시간을 현장에서 간단하게 판정할 수 있는 방법을 확립함으로써 싱싱회의 유통질서를 확립하고, 생선회의 쫄깃쫄깃함이 유지되는 시간까지 소비자들에게 공급하도록 하여 싱싱회에 대한 소비자들의 신뢰를 확보함으로써, 싱싱회 산업을 활성화시킨다. 과잉 생산되고 있는 국내산 활어의 소비촉진으로, 수산업의 활성화에 기여한다.

2. 연구개발의 필요성

가. 기술적 측면

1) 우리나라민들이 선호하는 펄떡펄떡 튀는 활어회에 가까운 육질이 유지되는 상태의 싱싱회를 공급해야 싱싱회 산업이 활성화 된다.

- 해양수산부는 소비자 욕구에 맞고 맛있으며 위생적으로 안전한 새로운 회문화 정착을 위해 싱싱회 보급사업을 추진하였으며, 2003년 경북 포항시 소재의 한국빙온을 시작으로 싱싱회 가공공장의 건립과 지원이 이루어졌다. 2005년에는 총사업비 1백 50억원을 들여 5개소의 공장건립을 추진하여, 2007년에는 부산 기장군 소재 한국수리미와 전남 여수시 소재 한국선냉이 가동되었으나, 가동률은 대부분 10~20%대에 머물고 있으며, 인천시 항동소재의 청풍영어조합은 부도로 가동이 중단되어 있는 실정으로 싱싱회 보급사업은 부진을 면치 못하고 있다.

- Fig. 1에 나타낸 것은 해양수산부에서 싱싱회를 도입하기 위하여,

연구책임자인 본인이 용역의뢰 받아 연구한 결과이다. 활어를 즉살 후에 0℃에 보관하면서 육질의 단단함과 감칠맛 성분인 이노신산의 변화를 실험하여, 사후에 근육의 수축으로 5~10시간 후도 육질의 단단함이 활어회와 같은 상태로 유지될 뿐만 아니라, 감칠맛 성분인 이노신산이 생겨서 감칠맛이 저장 10시간 후에 10배 이상 증가하므로, 살아있는 활어보다 죽인 후에 일정시간 저장한 것이 맛이 좋아진다. 그러나 저장시간 10시간 이후로는 씹힘성(단단함)은 떨어지며 감칠맛 성분인 이노신산은 더 많아진다는 연구 결과를 발표하였다.

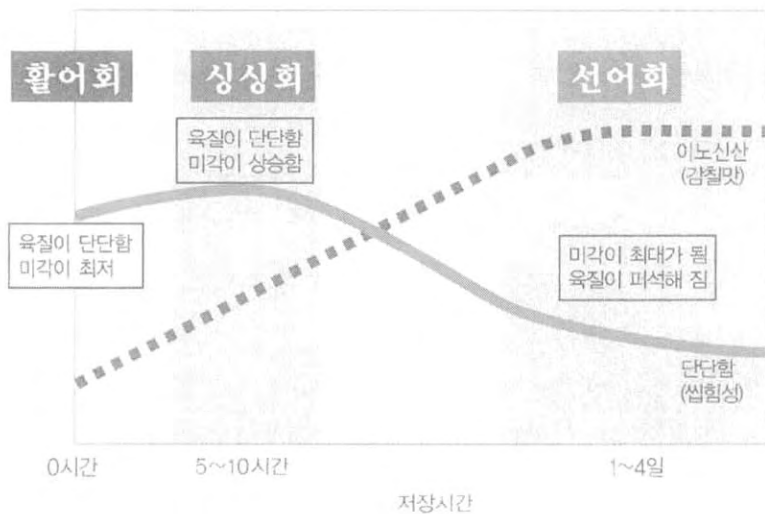


Fig. 1. Changes of breaking strength and the content of inosine in the muscle on raw fish during storage in ice.

- 일본인들의 생선회 식문화는 우리의 생선회 식문화와는 다르게 혀로 느끼는 맛을 좋아하며 초밥 위주로 먹기 때문에, 즉살 후에 감칠맛 성분인 이노신산이 최대가 되는 3~4일까지 먹는 선어회 문화이다. 이때에 초밥의 밥이 퍼석해진 생선회의 씹힘성을 보완해주고 이노신산에 의한 감칠맛이 최대로 되기 때문에, 선어회 식문화가 일반화되어 있는 것이다.

- 그러나 우리국민들은 생선회 위주로 먹기 때문에, 육질이 퍼석한

일본식의 선어회는 좋아하지 않는, 육질이 쫄깃쫄깃한 것을 좋아하는 씹힘성의 문화이다. 따라서 우리국민들이 선호하는 펼떡펼떡 튀는 활어회에 가까운 육질이 유지되는 싱싱회를 공급해야 싱싱회 산업이 활성화될 것이다.

2) 육질의 단단함이 유지되는 10시간까지의 유통 원칙을 지키지 않기 때문에 싱싱회 사업이 표류되고 있다.

- 싱싱회가 전국의 마트에서 판매되고 있지만, 10시간까지의 유통시간을 지키기가 어렵다는 이유로, 유통기간을 5일까지 임의로 정하고 육질이 퍼석한 싱싱회를 소비자에게 판매하므로, 한번 먹어본 소비자들은 다시 찾지 않기 때문에, 싱싱회 판매 코너가 다시 활어회 판매 코너로 바뀌고 있다.

- 수협중앙회에서 운영하는 별해별미는 횡감용인 싱싱회를 10시간까지, 그리고 시간이 지난 것은 일본식 선어회인 초밥용으로 사용하는 원칙을 지키기 때문에 활성화되고 있다.

3) 현장에서 싱싱회 경과시간을 신속·정확하게 판정할 수 있는 기술이 개발되고, 현장에서 관리·감독할 수 있어야만 싱싱회 산업이 활성화 될 수 있다.

- 싱싱회는 경과시간이 길어지면 육질이 퍼석해져서 씹힘성이 떨어지므로, 육질이 퍼석한 싱싱회를 먹어본 사람은 다시는 찾지 않을 것이며, 이렇게 되면 싱싱회 산업은 실패로 끝날 것이다. 따라서 싱싱회의 씹힘성이 유지되는 시간까지 소비자들이 먹을 수 있도록 하는 유통시스템의 확립이 무엇보다 중요하다.

- 싱싱회를 가공처리하여 진공포장한 제품의 경과시간을 외관으로 판정하기는 불가능하며, 시료를 수거하여 실험실로 운반하는 도중에도 시간이 경과하므로 실험실에서 판정하는 방법도 문제점을 안고 있다. 따라서 현장에서 신속·정확하게 경과시간을 판정할 수 있는 방법의 개발이 시급히 필요하다.

- 육질의 단단함이 유지되는 싱싱회를 소비자들에게 공급하여, 맛이 좋으니까 다시 찾는 형태가 되어야만 싱싱회 산업이 활성화될 수 있을 것이다. 따라서 육질의 단단함의 정도를 현장에서 신속·정확하게 판정하여, 육질의 단단함이 떨어지는 제품은 퇴출 관리하는 시스템으로 운영되어야만, 싱싱회 산업이 활성화될 수 있다.

- 시중에 유통되는 싱싱회의 경과시간을 소비자들이 보고 쉽게 알 수 있도록, 싱싱회 포장지에 즉살 시간을 명기하도록 의무화해야 한다. 그리고 언제 어디서라도 시료를 수거하여 경과시간을 확인할 수 있도록 제도화 하여야 한다.

나. 경제·산업적 측면

1) 싱싱회 식문화의 정착으로 생선회 소비가 확대된다.

싱싱회를 한 마디로 표현하면 일식집에서 먹는 생선회다. 일식집에서는 오전에 생선회를 조리하여 냉장고에 보관하면서 저녁까지 손님상에 내는 시스템이며, 일식집에서 생선회를 먹고 맛이 좋지 않다고 평가하는 사람은 거의 없다. 따라서, 즉살 후에 10시간까지 먹는, 저렴하고, 위생적이며, 씹힘성이 최대로 유지되어서 맛이 좋은 싱싱회가 보급되면 생선회 소비량이 많이 늘어날 것이다.

2) 국제 경쟁력을 갖게 된다.

일본의 선어회는 생명시간이 3~4일이나 되므로, 우리나라, 중국, 동남아 등지에서 선어회를 가공하여 일본으로 수출이 가능하다. 그러나 싱싱회는 생명시간이 10시간까지이므로, 국내에서 싱싱회 유통 시스템이 확립되면, 중국이나 동남아 등지에서 싱싱회의 수입이 불가능하므로, 국내 양식업이 보호되어서 국제 경쟁력을 갖게 된다.

3) 양식어가의 소득이 증대된다.

중국 등지에서 싱싱회의 수입이 불가능한 시스템이므로, 싱싱회의

원료는 모두 국내산으로 사용할 수밖에 없기 때문에, 양식어가의 소득이 증대된다.

4) 생선회 유통질서의 확립을 위해서도 필요하다.

생산자→도매유통업자→소매유통업자→생선 회집→소비자의 다단계 유통형태로 되어 있는 지금의 활어회 유통단계를, 생산자→소비자의 단계로 축소함으로써, 유통체계의 단순화 및 유통경비의 절감효과를 가져올 수 있다.

5) 소비자들에게 저가의 맛있는 생선회 공급이 가능하다.

다단계의 활어유통 비용을 생산자 및 소비자가 부담했던 현행의 활어회 문화와는 달리, 싱싱회 유통구조가 단순화되므로 소비자들에게 값싸고 맛있는 생선회 공급이 가능하다.

다. 사회·문화적 측면

1) 우리나라와 일본의 생선회 식문화의 차이점을 분석해야 한다.

- 우리국민의 생선회 식문화는 활어회문화-썩힘성문화-생선회문화가 상호 연관성을 갖고서 발전되어 왔으며, 일본국민들은 선어회문화-미각문화-초밥문화가 상호 연관성을 갖고서 발전되어 온 것으로, 생선회 식문화에 큰 차이가 있다.

- 일본에서 수백년전부터 상용화되어있는 선어회가 우리국민의 생선회 식문화에 맞았다면, 민간차원에서 이미 우리나라에 도입되어 있을 것이다.

2) 일본인들은 초밥 위주로 먹기 때문에 선어회가 발달되었고, 우리국민은 생선회 위주로 먹기 때문에 싱싱회로 보급되어야 한다.

- 한국인과 일본인의 생선회 소비비율은 한국인은 생선회 : 초밥이 8 : 2로 생선회 위주로 먹는 생선회 문화고, 일본인은 우리와는 반대로 생선회 : 초밥이 2 : 8로 초밥 위주로 먹는 초밥문화이다.

- 따라서 우리 국민들에게는 썩힘성이 좋은 상태의 싱싱회로

소비자에게 공급되어야만 한다. 그렇지 않고 2~3일 지나서 퍼석해진 일본식의 선어회를 공급하면, 다시는 찾지 않을 것이며, 싱싱회 사업은 실패로 끝난다.

3) 생선회 식문화가 한 단계 업그레이드될 수 있다.

- 필떡필떡 튀는 활어회가 맛이 가장 좋다는 생각 때문에, 생선회 가격이 비싸고, 여름철마다 문제가 되는 식중독 및 비브리오 패혈증 문제로 생선회 관련 산업이 타격을 받고 있다.

- 싱싱회의 장점인 맛이 좋으며, 위생적이고, 값이 싸다는 점을 홍보함으로써, 활어회 문화에서 싱싱회 문화로 바꾸어서, 생선회 식문화를 업그레이드 시켜야 한다.

4) 싱싱회의 대중화로 우리 국민의 건강수명이 늘어날 수 있다.

생산지에서 소비지까지의 원스톱 유통으로 맛있고, 싱싱하고, 저렴한, 생선회를 소비자에게 공급함으로써 소비가 확대될 것이며, 기능성 성분을 많이 갖고 있는 생선섭취로 우리 국민의 건강수명이 늘어날 것이다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 심심회 경과시간 판정지표의 검색

- 가. 심심회 경과시간에 따른 ATP관련물질의 변화를 HPLC법으로 실험조사(어종별)
- 나. 심심회 경과시간에 따른 ATP 함량의 변화를 루미노메타(Lumitester)로 실험조사(어종별)
- 다. 심심회 경과시간에 따른 육질의 단단함의 변화를 레오메타로 실험조사(어종별)

2. 현장에서 루미노메타(Lumitester)에 의한 심심회 근육중의 ATP 함량 측정방법 확립 및 개발방향 제시

가. 최적 추출용매 선정

PCA, TCA, 증류수, phosphate buffer, glycine buffer, tris-HCl buffer, tris-malate buffer, citrate buffer, borate buffer 등을 이용한 최적 추출용매를 선정한다.

나. 추출액의 농도 및 pH 선정

선정된 최적 추출용매의 농도별(0.1 M, 0.3 M, 0.5 M, 1.0 M), pH별(6.0, 6.5, 6.8, 7.0, 7.5)에 따른 RLU(Relative Light Unit)를 측정하여 최적 추출용매의 농도 및 pH를 선정한다.

다. 최적 추출방법 선정

선정된 최적 추출용매를 이용한 최적 추출방법을 선정하기 위하여 사용육의 양(0.5 g, 1.0 g, 1.5 g)과 추출액의 양(5 mL, 10 mL, 15 mL) 및 추출시간(30초, 1분, 2분, 3분, 4분, 5분) 그리고 균질기, 유리기구, 막자사발, 비닐 등을 이용한 추출방법을 선정한다.

3. 현장에서 경도계에 의한 육질의 단단함의 측정방법 확립 및 개발방향 제시

어종별, 크기별, 저장온도 및 저장기간별에 따른 육질의 단단함의 변화를 휴대용 경도계로 측정하여 최적조건을 확립한다.

4. ATP 함량의 HPLC법의 결과와 루미노메타(Lumitester) 결과 그리고 파괴강도의 레오메타 결과와 휴대용 경도계 결과의 상관성 분석

어종별에 따른 HPLC와 루미노메타를 이용하여 ATP 함량 분석결과와 레오메타와 휴대용 경도계를 이용한 파괴강도 분석결과에서 측정방법에 의한 각 값들의 상관성을 분석하고, 어종별에 따른 싱싱회 경과시간의 결과를 체계화한다.

IV. 연구개발 결과

1. 싱싱회 경과시간 판정지표의 검색

넙치, 농어, 방어, 송어, 조피볼락, 참돔, 홍민어 총 7종의 활어를 싱싱회로 제조하여 빙장 중 파괴강도와 ATP 관련물질의 변화를 조사하였다. 넙치는 즉살 직후 넙치의 파괴강도는 1.34 ± 0.04 kg였으며, 시간의 경과와 더불어 파괴강도는 빠르게 상승하여 6시간 후의 파괴강도는 1.58 ± 0.10 kg을 나타내었다. 이후 파괴강도는 감소되기 시작하였으며, 저장 16시간에 1.31 ± 0.13 kg으로 즉살 직후에 비하여 다소 높은 값을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다($P > 0.05$).

저장 16시간 이후부터 55시간까지의 파괴강도 값은 유의적인 차이는 없었으며($P > 0.05$), 즉살 직후부터 6시간까지는 파괴강도 값이 증가하였으나 그 이후에는 시간이 경과함에 따라서 파괴강도 값이 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

넙치육의 ATP 관련물질 총 함량은 약 $9.20 \mu\text{mole/g}$ 이며, 즉살 직후의 ATP 함량은 $7.67 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간 동안 서서히 감소하여 파괴강도 값이 최대로 상승한 저장 10시간에서는 $6.65 \mu\text{mole/g}$ 의 ATP 함량을 나타내었다. 또한, 생선회 감칠맛의 주체가 되는 IMP 함량은 빙장 중에 서서히 증가하였으며, 즉살 직후에는 $0.23 \mu\text{mole/g}$, 저장 10시간에는 $1.26 \mu\text{mole/g}$ 로 증가하였다. 저장 24시간 이후에는 IMP의 함량이 $5.47 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 40시간에는 $7.38 \mu\text{mole/g}$ 로 급격한 증가를 보이고 있다.

농어는 빙장 5시간 저장 동안은 파괴강도 값이 증가하였다가 그 이후에 급격히 감소하는 경향을 나타내었다. 즉, 즉살 직후에는 1.42 ± 0.09 kg의 파괴강도 값이 저장 5시간에 1.61 ± 0.07 kg의 최대 파괴강도를 나타내었다. ATP 관련물질의 총 함량은 $6.47 \sim 6.55 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 기간동안 총 함량의 변화는 거의 없었다. 그러나 ATP 함량은 즉살 직후에는 $5.30 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 10시간에는 $1.60 \mu\text{mole/g}$, 저장 15시간에는 $0.52 \mu\text{mole/g}$, 저장 25시간에는 $0 \mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다.

붉은 살 생선의 대표적인 어류인 방어는 즉살 직후는 흰살 생선인 넙치

등과는 달리 파괴강도 값은 1.25 ± 0.14 kg으로 매우 낮았으며, 저장 중 파괴강도의 상승은 그리 크지 못하였으며 저장 7.5시간까지는 즉살직후의 파괴강도 값과 유의적인 차이가 없었으며($P > 0.05$), 그 이후에는 파괴강도가 급격하게 감소하였다. ATP 관련물질의 총 함량은 약 $7.29 \sim 7.30$ $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간 동안 총 함량의 변화는 거의 없었으나, ATP 함량은 즉살직후에는 6.13 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 10시간에는 0.43 $\mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다.

참송어는 즉살 직후의 파괴강도 값은 1.28 ± 0.16 kg이었으며, 빙장 5시간동안 저장 후에는 1.47 ± 0.18 kg으로 최대 파괴강도를 나타내었다. 다른 어종과 마찬가지로 ATP 관련물질의 총 함량은 약 5.00 $\mu\text{mole/g}$ 으로 빙장 중 변화는 거의 없었으나 ATP 함량은 즉살 직후에는 3.58 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 6시간에는 1.46 $\mu\text{mole/g}$, 저장 9시간에는 1.10 $\mu\text{mole/g}$, 저장 15시간에는 0 $\mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다.

조피볼락은 넙치와 참돔 등의 흰 살생선의 저장 중 파괴강도의 변화와 유사하게 즉살 초기에는 파괴강도 값이 1.26 ± 0.13 kg이었으나, 저장 5시간에는 최대의 파괴강도 값인 1.52 ± 0.13 kg으로 증가하였다. 또한 저장 10시간 이후에는 파괴강도가 감소하였으며, 저장 30시간 경과 후에는 파괴강도의 변화가 나타나지 않았다. ATP함량은 빙장 중 서서히 감소하였다. 즉살 직후 참돔의 파괴강도는 1.48 ± 0.79 kg였으며, 시간의 경과와 더불어 파괴강도는 빠르게 상승하여 5시간 후의 파괴강도는 1.81 ± 0.12 kg을 나타내었다. 파괴강도는 10시간 이후에 급격히 감소되기 시작하였으며, 저장 20시간에 0.85 ± 0.12 kg으로 나타났다. 빙장 중 참돔 싱싱회의 ATP 관련물질의 총 함량은 $7.95 \sim 8.00$ $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, ATP 함량은 빙장 중 감소하였다. 즉살한 홍민어의 파괴강도는 1.50 kg으로 나타났으며, 저장 5시간까지 육질의 단단함이 증가하였으며, 빙장 중 육의 ATP 관련물질의 총 함량은 약 5.31 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, ATP 함량의 변화는 다른 어종과 마찬가지로 저장기간 동안 감소하였는데, 즉살 직후 4.80 $\mu\text{mole/g}$, 6시간 저장 후에는 3.70 $\mu\text{mole/g}$, 24시간 저장 후에는 0.30 $\mu\text{mole/g}$ 의 ATP 함량을 나타내었다.

어종별 싱싱회의 빙장 중 파괴강도와 ATP 함량과의 상관관계를 살펴본 결과, 모든 어종에서 싱싱회로 유통되는 시간인 10~15시간 이내까지는 파괴강도는 증가하였으며, ATP 함량은 어종별로 함량의 차이는 있으나 지속적인 감소 경향을 나타내었다.

그러므로 싱싱회의 유통시간은 파괴강도와 밀접한 관계가 있으며 파괴강도는 앞에서 언급한 바와 같이 ATP를 소모하면서 수축하게 되므로, 싱싱회의 경과시간의 판정 지표로써 어육의 파괴강도 및 어육 중 ATP 함량으로 선정하였다.

2. 현장에서 루미노메타(Lumitester)에 의한 싱싱회 근육 중의 ATP 함량 측정방법 확립 및 개발방향 제시

가. 최적의 추출용매 선정

추출용매로써는 Glycine buffer, Tris-HCl buffer, Citrate buffer, Tris-malate buffer, Tricine buffer, Phosphate buffer, Borate buffer, 증류수, Perchloric acid (PCA), Trichloroacetic acid (TCA)를 농도별, pH별로 제조하여, 이들 buffer에 8 μ mol의 ATP 표준물질과 어육추출액을 루미노메타로 측정하여 가장 높은 RLU값을 나타내는 추출용매를 선정하고자 하였다.

우선 농도 0.1 M, pH 6.8로 조정하여 각 추출용매를 제조하여 ATP 표준물질과 반응시켜 RLU를 측정한 결과, Tris-HCl (pH 6.8), Tris-malate buffer, Tricine, 증류수, 20% TCA, 10% PCA에서는 ATP 표준물질과 반응시 RLU가 나타나지 않았으며, Glycine buffer (pH 6.8)는 362,732 RLU, Citrate buffer (pH 6.8)와 Phosphate buffer (pH 6.8)는 각각 225,652 RLU와 70,660 RLU를 나타내었으며, Borate buffer (pH 6.8)는 676,402 RLU으로 나타났다.

위 결과를 토대로, ATP 표준물질을 이용한 루미노메타에서 RLU값을 얻지 못한 추출용매를 제외한, 농도별, pH별로 조제된 phosphate buffer, Citrate buffer, Borate buffer 5 mL에 어육 0.5 g을 첨가하여 소형균질기를 이용하여 40초 동안 균질화 한 후, 여과시킨 후 반응시켰다.

Phosphate buffer는 0.1 M에서 ATP 표준물질과 마찬가지로 4배까지

회석하였으나, 기계의 최대치를 초과하였으며, 0.3 M에서는 각각 1,007,841±16,596 RLU(pH 6.0), 1,857,031±85,782 RLU(pH 6.5), 2,153,742± 91,502 RLU(pH 6.8), 3,036,936±230,834 RLU(pH 7.0)를 나타내었으며, pH 7.5에서는 4배까지 회석하였으나 최대치를 초과하였다. 0.5 M에서도 0.3 M 농도의 phosphate buffer와 마찬가지로 pH가 상승할수록 높은 RLU값을 나타내었으나, 1 M에서도 기타 농도와 유사한 결과가 나타났으며, pH 7.5에서는 최대치를 초과하였다.

Citrate buffer는 phosphate buffer와 비슷한 경향으로 pH가 상승할수록 RLU값도 높아졌으나, 0.3 M, 1 M에서는 4배까지 회석하였으나 최대치를 초과하였다. 반면, 0.1 M에서는 pH 6.0에서는 449,140±112,356 RLU, pH 6.5에서는 898,817±104,022 RLU, pH 6.8에서는 1,286,510±63,258 RLU, pH 7.0에서는 1,553,825±74,680 RLU를 나타내었다. 그리고 0.5M의 농도에서는 pH별(6.0, 6.5, 6.8, 7.0, 7.5)로 각각 86,722±7,682 RLU, 310,099±2,423 RLU, 482,411±38,216 RLU, 589,265±44,292 RLU, 644,175±17,272 RLU를 나타내었다.

앞서 ATP 표준물질과의 반응에서도 살펴본 바와 같이 Borate buffer는 0.1 M에서만 pH별로 buffer가 조제되었으며, 그 결과 pH 별로 각각 560,236±85,345 RLU(pH 6.0), 896,948±101,379 RLU(pH 6.5), 1,317,381±106,916 RLU(pH 6.8), 1,881,960±50,527 RLU(pH 7.0)으로 나타나 phosphate buffer 나 glycine buffer에 비하여 낮은 RLU를 나타내었다.

이상의 결과를 살펴볼때, 현장에서 회석단계가 나뉘어지면 사용상의 문제점과 농도별, pH별로 가장 잘 반응한 phosphate buffer를 선정하였으며, 측정된 값들의 편차와 적은 회석단계 등을 고려하여, 0.5 M phosphate buffer(pH 6.8)를 루미노메타로 어육중의 ATP 함량을 측정하기 위한 최적의 추출용매로 선정하였다.

나. 최적의 추출방법 선정

본 연구의 목적은 현장에서 신속·정확하게 싱싱회 경과시간을 판정하는 것으로 어육에서 ATP를 추출하는 방법으로 일정량의 어육과 추출용매를

혼합하여 비닐팩에서 손으로 주물러 추출하는 방법을 선정하여, 사용육의 양과 추출액의 양을 조절하여 조사하였으며, 추출시간과 추출방법에 의한 어육 중의 ATP 함량을 조사하여 최적의 추출방법으로 선정하고자 하였다.

어육의 양이 증가할수록 RLU값은 증가하였으며, 추출방법에서도 균질기를 이용하는 방법과 비닐팩을 이용한 방법이 싱싱회 경과시간에 따른 ATP 함량의 감소경향이 비슷하였으며, 부위별에 따라 ATP 함량은 큰 차이를 보이지 않았다. 현장에서의 신속, 정확한 방법을 통하여 싱싱회의 경과시간을 판정하기 위한 방법으로 실험자가 손쉽게 어육에서 ATP를 추출하여 측정할 수 있는 방법을 모색하였다. 그 결과로써, 비닐팩에 어육과 추출용매를 혼합하여 손으로 주물러서 추출하고자 하였으나 실험자간의 오차 등이 확인되어, 추출방법을 비닐팩을 이용한 방법(A), 시험관을 이용한 방법(B), 막자사발을 이용한 방법(C), 소형균질기를 이용한 방법(D)으로 실험자를 달리하여 어육에서 추출된 ATP를 루미노메타로 확인한 결과, 손으로 주물러서 측정하는 방법을 실험자간의 차이를 살펴보면, 각각 $709,162 \pm 47,637$ RLU, $842,081 \pm 39,051$ RLU로 나타나, 실험자간의 차이가 유의적인 차이를 나타내었으며, 시험관을 이용한 방법은 $365,598 \pm 80,413$ RLU, $422,458 \pm 10,417$ RLU으로 나타나, A 추출방법보다는 편차는 작았으나, 전체적인 RLU 값은 낮았다. 막자사발을 이용한 방법에서는 $413,892 \pm 118,989$ RLU, $371,115 \pm 136,591$ RLU로 재현성이 매우 낮게 나타났다.

마지막으로 소형균질기를 이용한 방법은 $1,375,477 \pm 21,456$ RLU, $1,326,508 \pm 22,857$ RLU로 실험자간의 오차 및 재현성이 높았으며, 기타 추출방법보다 높은 RLU값을 나타내었다. 그러므로 신속·정확한 판정을 위하여 소형균질기를 이용하여, 소형균질기 유리 셀에 어종별 육 0.5 g, buffer 10 mL를 취해 40초간 15,000 rpm으로 균질화시키고 filtering 하여 0.5 mL를 kit에 넣어 30초간 혼든 후 1분 방치하여 루미노메타로 RLU값을 측정하는 방법을 최적의 추출방법으로 선정하였다.

최적의 추출용매와 추출방법을 이용하여 넙치, 농어, 방어, 송어, 조피볼락, 참돔, 홍민어 총 7종의 어종을 크기별로 구입하여 싱싱회로 제작한

후, 경과시간에 따른 ATP 함량을 조사한 결과, 어종별로 초기 RLU값이 차이를 보였으며, 싱싱회 경과시간이 길어질수록 ATP 함량은 급격히 감소하는 경향을 나타내었다.

3. 현장에서 경도계에 의한 육질의 단단함의 측정방법 확립 및 개발방향 제시

휴대용 경도계를 이용하여 파괴강도 값을 측정하기 위해서 원기둥 모양과 반구 모양의 plunger의 적합성 여부를 확인하고자 하였다. 넙치 싱싱회를 제조하여 육표면에 두가지 모양의 도구를 이용하여 파괴강도 값을 측정한 결과, 원기둥 모양을 사용한 파괴강도 값은 저장 10시간까지 약간 증가하였다가 감소하는 경향을 나타냈으나, 반구모양을 사용하여 측정한 파괴강도 값의 변화는 저장기간 동안 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 휴대용 경도계의 원기둥을 이용하여 조피볼락 싱싱회의 파괴강도를 측정한 결과, 저장 3시간에는 0.49 ± 0.05 kg의 파괴강도를 나타내었으며, 저장 10시간에는 0.50 ± 0.05 kg의 파괴강도를 나타내어 파괴강도의 값의 편차가 크지만 저장 10시간 이후보다는 다소 높은 값을 나타내었다. 저장 10시간까지는 평균 0.5 ± 0.1 kg을 나타내었으며, 그 이후에는 평균 0.4 kg의 파괴강도 값을 나타내었다.

참돔은 저장 기간 동안 서서히 감소하는 파괴강도 값을 나타내었으며, 저장 3시간에는 0.40 ± 0.01 kg이었으나, 저장 10시간에는 0.42 ± 0.04 kg의 파괴강도를 나타내었다. 그리고 10시간 이후에는 0.32~0.42 kg사이의 파괴강도 값을 나타내었다.

이상의 결과에서 휴대용 경도계를 이용한 파괴강도값 측정은 레오메타를 이용한 경우와 마찬가지로 10시간까지는 파괴강도 값이 일정하게 유지되거나 다소 증가하였다가 10시간 이후에는 감소하는 경향을 보이고는 있으나, 실험값의 편차가 크며 실험자의 누르는 힘의 차이 등에 의하여 고도로 숙련된 자에 의해서 실험이 행해져야 하는 문제점 등이 있다.

4. 싱싱회 경과시간에 따른 RLU값의 수치화

가. ATP 함량의 HPLC법의 결과와 루미노메타(Lumitester)결과의 상관성 분석

1,200 g, 800 g, 600 g 크기의 넙치를 싱싱회로 제작하여 HPLC와 루미노메타를 이용하여 어육 중의 ATP 함량을 측정된 결과, 크기가 클수록 다소 높은 RLU값을 나타내었으며, HPLC로 분석한 어육 중의 ATP 함량과 루미노메타로 분석한 ATP 함량은 싱싱회 경과시간에 따라 거의 유사하게 감소된 것을 확인할 수 있었다. 넙치의 크기별에 따른 RLU값의 변화와는 초기값이 다소 차이를 보였으나, 저장 10시간 경과시에는 비슷한 RLU값을 나타내었다. 1,200 g의 넙치의 초기 RLU값은 $2,154,360 \pm 5,335$ RLU를 나타내었으며, 이때 HPLC로 분석한 ATP 함량은 $9.81 \mu\text{mol/g}$ 이다. 10시간 경과시에는 각각 $1,616,368 \pm 2,817$ RLU, $7.53 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났으며, 18시간 경과시에는 $694,464 \pm 33,443$ RLU, $1.84 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났다.

800 g에서는 초기 RLU값이 $1,872,930 \pm 21,867$ RLU이며, HPLC로 분석한 ATP 결과는 $8.13 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났다. 저장 10시간 경과 시에는 $1,138,013 \pm 16,955$ RLU, $4.65 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났다. 600 g에서는 초기 RLU값이 $1,594,359 \pm 15,903$ RLU로 나타났으며, 이때 HPLC로 분석한 ATP 결과는 $7.89 \mu\text{mol/g}$ 이었으며, 10시간 경과 시에는 $922,900 \pm 13,161$ RLU, $4.03 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났으며, 기타 어종에서는 유사한 결과가 나타났다.

그러므로 싱싱회의 경과시간을 실험실에서 고가의 장비인 HPLC를 이용하여 분석하는 결과와 현장에서 소형균질기를 이용하여 어육에서 ATP를 추출한 후, 루미노메타를 이용하여 분석한 결과와의 상관성이 매우 높으므로, 루미노메타를 이용하여 현장에서 신속·정확하게 싱싱회의 경과시간을 판정할 수 있을 것으로 판단된다.

나. 파괴강도의 레오메타 결과와 휴대용경도계 결과의 상관성 분석

일정 형태의 틀을 사용하지 않고 넙치 싱싱회 육에 바로 측정하여 상관성을 조사한 결과, 일정 크기의 틀을 이용한 결과와 비슷하게,

물성측정기에서 측정한 값에 1 kg 정도 낮게 나타났으며, 두 값의 상관성이 $r=0.69$ 로 측정되었다(Fig. 3-4-3). 그러나 앞서 밝힌 바와 같이 현장에서 휴대용 경도계를 이용하여 싱싱회의 육에 대한 파괴강도를 측정시 실험자간의 누르는 힘이 다르며, 무엇보다 숙련된 기술을 요하게 된다.

이상의 결과로 살펴볼 때, 싱싱회의 경과시간을 판정할 수 있는 판정지표는 육질의 단단함, 즉 파괴강도와 ATP 함량으로 선정하였다. 본 연구의 목적이 현장에서 신속·정확하게 싱싱회의 경과시간을 판정하기 위하여 파괴강도는 휴대용 경도계, ATP 함량은 루미노메타를 이용한 방법을 제시하여, 어종별 싱싱회 경과시간에 따른 각각의 값들을 조사하였다. 그러나 휴대용 경도계를 이용한 파괴강도의 측정은 실험자간의 누르는 힘과 숙련도가 다르며, 경과시간에 따른 각 값들의 편차가 매우 적어 싱싱회 경과시간을 판정하기에는 다소 어려움이 있을 것으로 판단된다.

그러므로 싱싱회의 경과시간의 판정은 앞서 제시한 최적의 방법으로 어육에서 ATP를 추출하여 루미노메타를 이용하여 측정된 ATP 함량으로 가능할 것이다.

다. 싱싱회 경과시간에 따른 어종별 RLU값의 수치화

싱싱회로 가장 많이 제조되는 넙치, 농어, 송어, 조피볼락, 참돔의 크기에 따른 ATP관련물질의 함량 차이를 조사한 결과, 어종의 종류와 크기에 따라서 ATP 관련물질의 총 함량은 다소 차이가 있었으며, ATP 함량도 그 차이가 있었다.

그러므로 넙치 싱싱회의 크기별에 따라서

$Y=166.90X^3-8170.9X^2+16582.1X+2.11 \times 10^6$ ($R^2=0.99$)	1,200 g
$Y=245.76X^3-9756.94X^2+11549.1X+1.98 \times 10^6$ ($R^2=0.99$)	1,000 g
$Y=258.68X^3-9235.84X^2-2370.12X+1.86 \times 10^6$ ($R^2=0.99$)	800 g
$Y=232.68X^3-8116.7X^2-2973.94X+1.58 \times 10^6$ ($R^2=0.99$)	600 g

농어 싱싱회 크기별에 따라서는

$$Y=257.97X^3-10283.8X^2+46322.4X+1.22\times 10^6 \quad (R^2=0.99) \quad \dots\dots\dots 1,200 \text{ g}$$

$$Y=200.33X^3-7754.17X^2+13289.5X+1.18\times 10^6 \quad (R^2=0.98) \quad \dots\dots\dots 1,000 \text{ g}$$

$$Y=118.63X^3-5536.74X^2-4693.37X+1.13\times 10^6 \quad (R^2=0.97) \quad \dots\dots\dots 800 \text{ g}$$

방어 싱싱회 크기별로는

$$Y=1212.33X^3-40069.3X^2+112981X+2.19\times 10^6 \quad (R^2=0.95) \quad \dots\dots\dots 1,000 \text{ g}$$

$$Y=-2339.75X^3+5732.52X^2-42590.9X+2.08\times 10^6 \quad (R^2=0.99) \quad \dots\dots\dots 800 \text{ g}$$

$$Y=4698.11X^3-95552.4X^2+292180X+1.77\times 10^6 \quad (R^2=0.92) \quad \dots\dots\dots 600 \text{ g}$$

숭어 싱싱회 크기별로는

$$Y=-18.17X^3+1182.43X^2-29830.1X+2.78\times 10^5 \quad (R^2=0.97) \quad \dots\dots\dots 1,000 \text{ g}$$

$$Y=-30.69X^3+1489.66X^2-29349.1X+2.35\times 10^5 \quad (R^2=0.99) \quad \dots\dots\dots 800 \text{ g}$$

$$Y=-63.31X^3+2269.32X^2-33234.9X+2.10\times 10^5 \quad (R^2=0.99) \quad \dots\dots\dots 600 \text{ g}$$

$$Y=-110.28X^3+2779.02X^2-28106.1X+1.52\times 10^5 \quad (R^2=0.98) \quad \dots\dots\dots 400 \text{ g}$$

조피볼락 싱싱회 크기별로는

$$Y=138.35X^3-4756.25X^2+12443.1X+5.43\times 10^5 \quad (R^2=0.99) \quad \dots\dots\dots 1,000 \text{ g}$$

$$Y=137.75X^3-4296.73X^2+3255.17X+5.28\times 10^5 \quad (R^2=0.98) \quad \dots\dots\dots 800 \text{ g}$$

$$Y=240.10X^3-6313.57X^2+6430.68X+4.81\times 10^5 \quad (R^2=0.99) \quad \dots\dots\dots 600 \text{ g}$$

$$Y=259.96X^3-5510.05X^2-8968.32X+4.54\times 10^5 \quad (R^2=0.99) \quad \dots\dots\dots 400 \text{ g}$$

참돔 싱싱회 크기별로는

$$Y=488.24X^3-16136.7X^2+25405.6X+1.67\times 10^6 \quad (R^2=0.99) \quad \text{-----} \quad 1,200 \text{ g}$$

$$Y=644.15X^3-18026.2X^2+30398.5X+1.32\times 10^6 \quad (R^2=0.97) \quad \text{-----} \quad 1,000 \text{ g}$$

$$Y=1125.34X^3-25886X^2+44747.5X+1.23\times 10^6 \quad (R^2=0.96) \quad \text{-----} \quad 800 \text{ g}$$

홍민어 크기별로는

$$Y=614.44X^3-11641X^2-115196X+2.31\times 10^6 \quad (R^2=0.99) \quad \text{-----} \quad 2,500 \text{ g}$$

$$Y=566.47X^3-15470.9X^2-55032.4X+1.84\times 10^6 \quad (R^2=0.96) \quad \text{-----} \quad 1,600 \text{ g}$$

의 수식을 도출하였다 .

이 수식을 통하여 어종별로 싱싱회 경과시간을 판정할 수 있으며, 10시간이 경과한 어종별 싱싱회의 RLU범위는 넙치의 경우, 1,544,349~1,706,913 RLU(1,200 g), 1,297,279~1,433,835 RLU(1,000 g), 1,112,825~1,229,965 RLU(800 g), 922,707~1,019,834 RLU(600 g) 농어는 크기별로 867,173~958,455 RLU(1,200 g), 700,918~774,698 RLU(1,000 g), 615,621~680,423 RLU(800 g)으로 범위를 선정하였다. 방어의 경우는 저장 10시간이 경과하면 800 g과 600 g에서는 10시간이 경과 시에는 ATP가 검출되지 않아야 하며, 1,000 g에서는 498,950~551,471 RLU 범위에 있어야 한다. 송어는 75,783~83,761 RLU(1,000 g), 56,796~62,774 RLU(800 g), 39,209~43,337 RLU(600 g), 36,633~40,489 RLU(400 g)로 범위를 설정하였다. 조피볼락은 크기별로 1,000 g에서는 313,648~346,664 RLU, 800 g 에서는 255,197~282,060 RLU, 600 g에서는 146,347~161,752 RLU, 400 g에서는 69,608~76,935 RLU를 나타내면 10시간이 경과한 것으로 판정할 수 있으며, 참돔은 1,200 g에서는 758,695~838,557 RLU, 1,000 g에서는 442,239~488,791 RLU, 800 g에서 10시간이 경과하면 203,504~224,926 RLU를 나타내어야 한다. 홍민어는 10시간 경과시 2,500 g에서는 577,961~638,799 RLU, 1,600 g에서는 293,603~324,509 RLU로 범위를 설정하였다. 그리고 포장된 싱싱회는 활어의 크기를 확인할 수 없으므로 싱싱회 제조시 어종별, 크기별로 체장, 체폭, 체고 범위를 조사하여 적합한 RLU값의 범위를 적용하도록 하였다.

V. 연구개발 결과의 활용계획

본 연구과제가 수행되어서 싱싱회 경과시간 판정을 위하여 현장에 보급되면, 싱싱회 유통질서가 확립될 뿐만 아니라, 맛이 좋고, 저렴하며, 위생적인 이미지인 싱싱회의 소비가 확대될 것이다. 그리고 생선회 식문화의 업그레이드는 물론이고, 생선회 관련 산업 및 수산업의 활성화에 기여할 것이다.

그러므로 개발된 현장에서 싱싱회의 경과시간 판정기술을 싱싱회 산업을 활성화시키기 위한 관리방법으로 활용하며, 싱싱회 가공공장 및 싱싱회 유통 및 판매 업소의 현장에서 사용할 수 있도록 활용한다. 그리고 싱싱회 품질관리의 신뢰성을 확보하는 홍보 및 싱싱회 식문화 발전과 국제화를 위한 저변기술 확보에 활용한다.

1. 기술적 측면

- 싱싱회 경과시간의 신속·정확한 판정기술이 개발되고, 현장에서 관리 감독할 수 있어야만 싱싱회 산업이 활성화 될 수 있다.
- 우리국민들이 선호하는 찰떡찰떡 튀는 활어회에 가까운 육질을 유지하는 싱싱회를 공급해야 싱싱회 산업이 활성화 된다.

2. 경제·산업적 측면

- 싱싱회 문화의 정착으로 생선회 소비가 확대된다.
- 국제 경쟁력을 갖게 된다.
- 양식어가의 소득이 증대된다.
- 생선회 유통질서의 확립을 위해서도 필요하다.
- 소비자들에게 저가의 맛있는 생선회 공급이 가능하다.

3. 사회·문화적 측면

- 우리나라와 일본의 생선회 식문화의 차이점을 분석해야 한다.
- 우리국민의 식문화인 씹힘성이 좋은 싱싱회가 보급되어야 싱싱회 산업이

활성화 된다.

- 생선회 식문화가 한 단계 업그레이드될 수 있다.
- 싱싱회의 대중화로 우리 국민의 건강수명이 늘어날 수 있다

Summary

Studies on the Development of an Evaluation System to Judge the Shelf-life of Sliced Fresh Fish 'Shingshinghoe'

"A study into the technical development of an establishment's food safety system in order to promote the demand for fish using materials for sliced raw fish" was conducted by the Ministry of Maritime Affairs and Fisheries on 7 types of fish that are popular throughout Korea, including the olive flounder, black rockfish, red seabream, yellowtail, and seabass. The study determined that their freshness and chewy texture expired in 10 hours. Accordingly, they proposed guidelines for the gutting, processing, packaging, and transporting of fish. As a result, the raw fish industry has been revitalized with numerous processing factories being set up to produce the fish that will be sold in discount stores throughout the country.

The raw fish industry's mission was to promote the demand for fish by using materials for sliced raw fish (which were being over-supplied), and also to contribute to the livelihoods of fishermen and peoples' health in the process. In particular, we were able to prevent *Vibrio* septicemia and food poisoning (which is the main reason why people avoid eating sliced raw fish during the summer), and provided our customers with reliable and safe fish at a cheap price.

As mentioned before, unlike the processed raw fish in Japan, Koreans prefer chewy raw fish, which is why the expiration time for raw fish is set at 10 hours (in order to preserve that texture). However, in order to maximize profits, some discount stores are selling fish that are five days past their processed date.

Consumers who buy such outdated fish with its accompanying bad texture often decide to never purchase raw fish again. This lack of enforcement of the rules of expiration dates has been a major obstacle for attracting more customers and the raw fish industry as a whole. Yet, part of the problem also has to do with the lack of a reliable evaluation system for checking the expiration status of raw fish, making it difficult for the government to come up with an effective solution. Thus, our objective is to gain the trust of consumers, promote demand for raw fish, and contribute to the revitalization of maritime industries by developing an easy, on-the-spot method for evaluating the expiration status of fish.

To develop an index for evaluating the freshness of fish, we studied the changes in ATP related materials throughout the progression of time using a lumitester and HPLC, and we also used a Rheometer to measure the changes in meat texture. In order to make this index useful in the field, we established a method for using lumitesters for measuring ATP levels, and a portable hardness tester for measuring the level of destruction. We also selected an optimal solvent for measuring ATP levels with a lumitester, and we established a quick and accurate way to sample products in the field. Using our selected solvent and sampling methods, we produced shinshinghoe for each type of fish and studied how their ATP levels changed as time progressed. We also used a durometer in order to measure changes in the texture of the fish according to their type, size, storage temperature, and storage time. From the results attained from each of the measurement methods mentioned above, we did a correlation analysis to evaluate how they are related and find a numerical formula for the expiration time of fish. The results are as follows.

1. Searching for an evaluation index for raw fish.

We produced raw fish for 7 types of fish including olive flounder, black rockfish, red seabream, yellowtail, seabass, flathead mullet, and red drum in order to measure the changes in their breaking strength and ATP levels during their storage. The breaking strength level for the olive flounder was 1.34 ± 0.04 kg right after being slaughtered, and it increased rapidly to reach 1.58 ± 0.10 kg in 6 hours. Later, the breaking strength level started to slow down, and although it reached a fairly high level of breaking strength of 1.31 ± 0.13 kg at 16 hours of storage, in comparison to the level right after its slaughter, there were no notable differences ($P > 0.05$).

The breaking strength levels between 16 hours of storage and 55 hours of storage did not show notable differences ($P > 0.05$), showing that the level of breaking strength decreased after rapidly increasing during the first six hours of storage.

The total content of ATP related materials in the flesh of the olive flounder was approximately $9.20 \mu\text{mole/g}$. The ATP levels immediately after its death were $7.67 \mu\text{mole/g}$, and then it slowly decreased to reach $6.65 \mu\text{mole/g}$ 10 hours after being stored (when the breaking strength intensity level was at its peak). Also, the IMP content, which is what gives fish their flavor, slowly increased during storage. It recorded a level of $0.23 \mu\text{mole/g}$ right after slaughter, but rose to $1.26 \mu\text{mole/g}$ during 10 hours of storage. In 24 hours of storage, the IMP content soared to $5.47 \mu\text{mole/g}$, and after 40 hours, it reached $7.38 \mu\text{mole/g}$.

The breaking strength levels for seabass tended to rise during the first 5 hours of storage and then rapidly decreased afterwards. The breaking strength level was 1.42 ± 0.09 kg after slaughter and peaked at 1.61 ± 0.07 kg 5 hours into storage. The total content of ATP related materials was $6.47 \sim 6.55 \mu\text{mole/g}$ and there were hardly any changes in total ATP levels throughout storage. However, the

ATP content which was 5.30 $\mu\text{mole/g}$ immediately after slaughter, became 1.60 $\mu\text{mole/g}$ for 10 hours of storage, 0.52 $\mu\text{mole/g}$ for 15 hours of storage, and 0 $\mu\text{mole/g}$ for 25 hours of storage.

The breaking strength level for the yellowtail (a popular red-flesh fish) was very low at $1.25 \pm 0.14 \text{kg}$ (unlike white-flesh fish such as olive flounders), and did not increase very much throughout storage. Up to 7.5 hours of storage, the breaking strength level rose to reach the $1.24 \pm 0.23 \text{kg}$ mark, and then decreased rapidly afterwards. The total content of ATP materials was $7.29 \sim 7.30 \mu\text{mole/g}$, and there were no major changes in total content during storage. Still, the ATP content was 6.13 $\mu\text{mole/g}$ right after slaughter, and marked 0.43 $\mu\text{mole/g}$ after 10 hours of storage.

The breaking strength level for the flathead mullet immediately after death was $1.28 \pm 0.16 \text{kg}$, and peaked at $1.47 \pm 0.18 \text{kg}$ after 5 hours of storage. Like the other types of fish, its total content of ATP related materials was about 5.00 $\mu\text{mole/g}$ and the total content did not change much throughout storage. The ATP content was 3.58 $\mu\text{mole/g}$ right after slaughter, 1.46 $\mu\text{mole/g}$ after 9 hours of storage, 1.10 $\mu\text{mole/g}$ after 15 hours of storage, and 0 $\mu\text{mole/g}$ after 15 hours of storage.

Like other white-flesh fish such as the olive flounder and red seabream, the breaking strength level of the black rockfish was $1.26 \pm 0.13 \text{kg}$ immediately after death and peaked at $1.52 \pm 0.13 \text{kg}$ after 5 hours of storage. Also the breaking strength level decreased after 10 hours of storage, and did not show any change whatsoever after 30 hours of storage. The ATP content slowly decreased during storage. The breaking strength level of the red seabream was $1.48 \pm 0.79 \text{kg}$ right after death, and increased rapidly to reach $1.81 \pm 0.12 \text{kg}$ after 5 hours of storage. The breaking strength level then rapidly decreased after 10 hours and reached $0.85 \pm 0.12 \text{kg}$ after 20 hours of storage. The total content of ATP related materials for the seabream was $7.95 \sim 8.00 \mu\text{mole/g}$ right after death, and it decreased throughout storage.

The breaking strength level for the red drum was 1.50 kg and the texture of the meat became harder during the first five hours of storage. The total content of ATP related materials was 5.31 μ mole/g and like the other fish, its ATP content decreased during its storage time. The ATP level was 4.80 μ mole/g right after being slaughtered, 3.70 μ mole/g after 6 hours of storage, 0.30 μ mole/g after 24 hours of storage.

Observing the correlation between the breaking strength level and ATP content for each type of fish, we could see that all of them showed increasing breaking strength levels during the initial 10-15 hours of storage, while the ATP content continuously decreased (although the content levels varied across each fish type). Thus, the expiration time of raw fish is closely related to its breaking strength level, which contracts as it consumes the ATP (as mentioned previously). For these reasons, we selected breaking strength level and ATP content as the index for evaluating the expiration time of raw fish.

2. Establishing a method for measuring ATP content in the field using the lumitester

A. Selecting an optimal solvent

As possible candidates, we produced Glycine buffers, Tris-HCl buffers, Citrate buffers, Tris-malate buffers, Tricine buffers, Phosphate buffers, Borate buffers, Water, Perchloric acids (PCA), and Trichloroacetic acids (TCA) for each level of density and pH. Using a lumitester, we measured these buffers with 8 μ mol of standard ATP material and fish meat extracts in order to select the buffer with the best results.

Firstly we produced each buffer set at density 0.1 M and pH 6.8 and measured the RLU (relative light unit) in reaction to the standard ATP material. Tris-HCl (pH 6.8), Tris-malate buffer, Tricine, Water, 20% TCA, and 10% PCA did not exhibit any RLU reaction against the ATP material. The Glycine buffer (pH 6.8) marked 362,732 RLU, while the Citrate buffer (pH 6.8) and the Phosphate buffer (pH 6.8) each showed 225,652 RLU and 70,660 RLU, respectively. The borate buffer (pH 6.8) achieved a 676,402 RLU.

Based on the results above, we excluded the buffers that did not achieve a RLU response in the previous test and produced phosphate buffers, Citrate buffers, and Borate buffers at different densities and pH levels. We then homogenized them with 5 mL of fish meat using a small homogenizer and then tested them after filtering.

At 0.1 M, we were able to dilute the Phosphate buffer up to 4X 0.1 M (as with the ATP standard), but it exceeded the maximum level of the machine. At 0.3 M we observed $1,007,841 \pm 16,596$ RLU (pH 6.0), $1,857,031 \pm 85,782$ RLU (pH 6.5), $2,153,742 \pm 91,502$ RLU (pH 6.8), and $3,036,936 \pm 230,834$ RLU (pH 7.0). At pH 7.5, we were able to dilute it up to 4X but it exceeded the maximum level.

At 0.5 M, the phosphate buffer showed higher levels of RLU as the pH increased (as with the density set at 0.3M). Results for the 1 M testing were similar, and at 7.5 pH, we exceeded the maximum limit.

The results for the Citrate buffer test were similar to the phosphate buffer, as the RLU increased with higher pH levels. We diluted it up to 4X at 0.3 M and 1 M, but it exceeded the maximum limit. On the other hand, at 0.1 M, we observed $449,140 \pm 112,356$ RLU at pH 6.0, $898,817 \pm 104,022$ RLU at pH 6.5, $1,286,510 \pm 63,258$ RLU at pH 6.8, and $1,553,825 \pm 74,680$ RLU at pH 7.0. Also, at 0.5 M density, for each of pH level (6.0, 6.5, 6.8, 7.0, 7.5) we noticed $86,722 \pm 7,682$ RLU, $310,099 \pm 2,423$ RLU, $482,411 \pm 38,216$ RLU, $589,265 \pm 44,292$ RLU, $644,175 \pm 17,272$ RLU, respectively.

As with the responses observed for the standard ATP materials, Borate buffers for different pH levels were only produced for the 0.1 M test. The results we observed here were $560,236 \pm 85,345$ RLU(pH 6.0), $896,948 \pm 101,379$ RLU(pH 6.5), $1,317,381 \pm 106,916$ RLU(pH 6.8), $1,881,960 \pm 50,527$ RLU(pH 7.0), showing a lower RLU relative to the phosphate buffers and glycine buffers.

From these results, we selected phosphate buffers to be the most optimal for field use where the dilution levels are varied since they responded well to each of the density and pH levels. Also, in consideration to the steady measurements and lower dilution levels, we selected the 0.5M phosphate buffer (pH 6.8) to be the optimal solvent for measuring the ATP levels in fish through the Lumitester.

B. Selecting the optimal sampling method

The objective of our research is to find a quick, on-the-spot and accurate evaluation system for testing ATP levels in fish. We first considered the method of putting the solvent and fish meat into a plastic bag and mixing them together by hand, and then we experimented by putting different amounts of meat and solvents to see if it was the best way for testing ATP levels.

The level of RLU went up as the amount of fish meat increased, and the results for this method on the level of decline for ATP throughout storage time were similar to the results attained from the method using a homogenizer. Also, ATP content did not vary much throughout the various parts of the fish meat. We searched for a raw fish evaluation method that would be quick and convenient, yet also accurate. The method involving the plastic bag was devised as a result of a brainstorming session, but there were discrepancies amongst different people conducting the tests, so we added different test methods conducted by a couple of people each to compare their results (through the lumitester and ATP content).

The different tests were: (A) Using a plastic bag and squeezing them with our hands (B) Using a test tube (C) Using a pestle and mortar (D) using a small homogenizer.

For the plastic bag method, the test showed differing results at $709,162 \pm 47,637$ RLU and $842,081 \pm 39,051$ RLU, showing a significant discrepancy. The test tube method marked $365,598 \pm 80,413$ RLU and $422,458 \pm 10,417$ RLU showing more consistent results than method A, but the RLU was low here. The pestle and mortar method marked $413,892 \pm 118,989$ RLU and $371,115 \pm 136,591$ RLU showing low consistency. Finally, the homogenizer method registered the most consistent results at $1,375,477 \pm 21,456$ RLU and $1,326,508 \pm 22,857$ RLU exhibiting high repeatability. Also, the RLU level was higher than that of the other sampling methods.

Thus, for quickest and most accurate method for sampling was determined to be the homogenizer method. We put 0.5 g of each type of fish with 10 mL of the buffer solvent, and homogenized the two for 40 seconds at 15,000 rpm. After homogenization, the mixture was washed with 10 mL of the buffer solvent, filtered, and then put into a 0.5 mL kit to be shaken for 30 seconds and then left alone for 1 minute (afterwards it was ready for ATP testing via a lumitester).

For the purposes of the test, we produced each type of fish (the olive flounder, black rockfish, red seabream, yellowtail, seabass, flathead mullet, and red drum) in different sizes and then added them to the raw fish in order to test them via our optimal solvent and sampling method. Observing their ATP content over time, there were differences amongst the RLU levels depending on fish type, and ATP content decreased rapidly as more time passed.

3. Establishing a method for measuring fish meat texture (hardness) on the filed using a hardness tester

In order to measure the level of breaking strength using a portable hardness tester, we first wanted to check the appropriateness of using a cylindrical or a half-spherical adaptor. We produced shinshingheo with olive flounders and measured its level of breaking strength using both the cylindrical and half-spherical tools. The level of breaking strength measured gained from the cylindrical tool method showed that the level slightly increased for the first 10 hours of storage and then decreased. The half-spherical tool method showed that the breaking strength levels slowly decreased while being in storage. Using the cylindrical portable hardness tester to measure the breaking strength level of black rockfish raw fish, we found out that the breaking strength level was 0.49 ± 0.05 kg after 3 hours of storage, 0.50 ± 0.05 kg after 10 hours of storage. This showed that there was still a big gap between the two levels of breaking strength, but they were still higher than the measurement attained from black rockfish that went beyond 10 hours of storage. Up to 10 hours of storage, the average level was 0.5 ± 0.1 kg, and afterwards the average level of breaking strength was 0.4 kg.

The red seabream exhibited breaking strength levels that decreased slowly over storage time. It reached breaking strength levels of 0.40 ± 0.01 kg after 3 hours of storage, 0.42 ± 0.04 kg after ten hours of storage, and $0.32 \sim 0.42$ kg beyond the 10 hour mark.

As with the use of the Rheometer, the method of measuring breaking strength levels using the portable hardness tester showed levels that were constant or slightly increasing during the first 10 hours, and then a decrease afterwards. Yet, there were big discrepancies between the measurements due to differences in the

amount of force that test conductors placed on the subject and thus this method requires highly experienced people to carry out the tests.

4. The statistical analysis of RLU levels for the Shinshinghoe throughout time

A. Analyzing the correlation between the lumitester results for ATP content with the results from the HPLC method

We produced olive flounder raw fish pieces sized at 1,200 g, 800 g, and 600 g and tested their ATP content using both the HPLC and the lumitester. The RLU levels tended to be quite high, as the size of the meat increased. By observing the ATP content measured by HPLC and the lumitester, we were able to confirm that both of them decreased similarly over time. There were initial differences between the two in terms of variations in RLU levels due to olive flounder size, but their RLU measurement leveled out after reaching the 10 hour mark. The initial RLU level of the 1,200 g olive flounder was $1,187,505 \pm 152,069$ RLU, and the ATP content measure by HPLC at this time was $9.81 \mu\text{mol/g}$. After 10 hours, they each recorded $712,314 \pm 2,560$ RLU, $7.53 \mu\text{mol/g}$, and after 18 hours they were measured at $694,464 \pm 33,443$ RLU, $1.84 \mu\text{mol/g}$.

The initial RLU level for the 800 g fish was $1,872,930 \pm 21,867$ RLU, and the HPLC result was $8.13 \mu\text{mol/g}$. After 10 hours, it reached $1,138,013 \pm 16,955$ RLU and $4.65 \mu\text{mol/g}$. For the 600 g fish, the initial RLU level was $1,594,359 \pm 15,903$ RLU, and the corresponding HPLC result was $7.89 \mu\text{mol/g}$. After 10 hours the measurements read $922,900 \pm 13,161$ RLU, $4.03 \mu\text{mol/g}$, and the results were similar for all the other fish types.

The analysis results for the expiration time for raw fish using expensive lab equipment such as the HPLC displayed a high correlation to the results attained

by using a portable homogenizer and a lumitester. Thus, it seems safe to conclude that a quick field-testing method using the lumitester is also reliable and accurate.

B. Analyzing the correlation between the breaking strength level results from the Rheometer and the hardness tester

We measured the flesh of the olive flounder without setting a specific framework in terms of size, and the results were similar to measurements that had a framework for size where the measurements were about 1 kg lower than the results measured by a hardness tester. Their correlation were calculated at $r=0.69$ (Fig. 3-4-3). But, as mentioned before, the pushing force varies across people conducting the test, so experience will be required for people to accurately measure the level of breaking strength for raw fish using a portable hardness tester.

From the results above, we have selected the hardness of the flesh (or level of breaking strength), and ATP content as the measuring index for evaluating the expiration of raw fish. In order to complete our objective of finding a quick and accurate method that can be used in the field, we suggested the use of a portable durometer (for measuring the level of breaking strength), the lumitester method, and tested them according to each class of fish (for measuring ATP content). However, it will be difficult to evaluate the expiration of raw fish using a portable durometer, since pushing force and experience of the conductor will vary between different test conductors. Thus, the best method overall is the lumitester method measuring ATP content.

C. The statistical analysis of RLU levels across raw fish storage

Investigating the levels of ATP material in olive founders, seabass, flathead mullet, black rockfish, and red seabream according to size, the total ATP related material levels and ATP content did vary across different sizes. Therefore, we deduced the following RLU levels for raw fish through time, in consideration to fish size and type.

Olive flounder :

$Y=166.90X^3-8170.9X^2+16582.1X+2.11\times 10^6$ ($R^2=0.99$)	1,200 g
$Y=245.76X^3-9756.94X^2+11549.1X+1.98\times 10^6$ ($R^2=0.99$)	1,000 g
$Y=258.68X^3-9235.84X^2-2370.12X+1.86\times 10^6$ ($R^2=0.99$)	800 g
$Y=232.68X^3-8116.7X^2-2973.94X+1.58\times 10^6$ ($R^2=0.99$)	600 g

Sea bass :

$Y=257.97X^3-10283.8X^2+46322.4X+1.22\times 10^6$ ($R^2=0.99$)	1,200 g
$Y=200.33X^3-7754.17X^2+13289.5X+1.18\times 10^6$ ($R^2=0.98$)	1,000 g
$Y=118.63X^3-5536.74X^2-4693.37X+1.13\times 10^6$ ($R^2=0.97$)	800 g

Yellow tail :

$Y=1212.33X^3-40069.3X^2+112981X+2.19\times 10^6$ ($R^2=0.95$)	1,000 g
$Y=-2339.75X^3+5732.52X^2-42590.9X+2.08\times 10^6$ ($R^2=0.99$)	800 g
$Y=4698.11X^3-95552.4X^2+292180X+1.77\times 10^6$ ($R^2=0.92$)	600 g

Flathead mullet :

$$Y = -18.17X^3 + 1182.43X^2 - 29830.1X + 2.78 \times 10^5 \quad (R^2 = 0.97) \quad \text{-----} \quad 1,000 \text{ g}$$

$$Y = -30.69X^3 + 1489.66X^2 - 29349.1X + 2.35 \times 10^5 \quad (R^2 = 0.99) \quad \text{-----} \quad 800 \text{ g}$$

$$Y = -63.31X^3 + 2269.32X^2 - 33234.9X + 2.10 \times 10^5 \quad (R^2 = 0.99) \quad \text{-----} \quad 600 \text{ g}$$

$$Y = -110.28X^3 + 2779.02X^2 - 28106.1X + 1.52 \times 10^5 \quad (R^2 = 0.98) \quad \text{-----} \quad 400 \text{ g}$$

Black rockfish :

$$Y = 138.35X^3 - 4756.25X^2 + 12443.1X + 5.43 \times 10^5 \quad (R^2 = 0.99) \quad \text{-----} \quad 1,000 \text{ g}$$

$$Y = 137.75X^3 - 4296.73X^2 + 3255.17X + 5.28 \times 10^5 \quad (R^2 = 0.98) \quad \text{-----} \quad 800 \text{ g}$$

$$Y = 240.10X^3 - 6313.57X^2 + 6430.68X + 4.81 \times 10^5 \quad (R^2 = 0.99) \quad \text{-----} \quad 600 \text{ g}$$

$$Y = 259.96X^3 - 5510.05X^2 - 8968.32X + 4.54 \times 10^5 \quad (R^2 = 0.99) \quad \text{-----} \quad 400 \text{ g}$$

Red seabream

$$Y = 488.24X^3 - 16136.7X^2 + 25405.6X + 1.67 \times 10^6 \quad (R^2 = 0.99) \quad \text{-----} \quad 1,200 \text{ g}$$

$$Y = 644.15X^3 - 18026.2X^2 + 30398.5X + 1.32 \times 10^6 \quad (R^2 = 0.97) \quad \text{-----} \quad 1,000 \text{ g}$$

$$Y = 1125.34X^3 - 25886X^2 + 44747.5X + 1.23 \times 10^6 \quad (R^2 = 0.96) \quad \text{-----} \quad 800 \text{ g}$$

Red drum :

$$Y = 614.44X^3 - 11641X^2 - 115196X + 2.31 \times 10^6 \quad (R^2 = 0.99) \quad \text{-----} \quad 2,500 \text{ g}$$

$$Y = 566.47X^3 - 15470.9X^2 - 55032.4X + 1.84 \times 10^6 \quad (R^2 = 0.96) \quad \text{-----} \quad 1,600 \text{ g}$$

The numerical formula expressed below is useful in evaluating raw fish expiration time for each fish type. For raw fish that has been stored for 10 hours, the RLU limit for the olive flounder was 1,544,349 ~ 1,706,913 RLU(1,200

g), 1,297,279 ~ 1,433,835 RLU(1,000 g), 1,112,825 ~ 1,229,965 RLU(800 g), and 922,707 ~ 1,019,834 RLU(600 g). For seabass, the limit according to size was 867,173 ~ 958,455 RLU (1,200 g), 700,918 ~ 774,698 RLU(1,000 g), and 615,621 ~ 680,423 RLU (800 g). For yellowtails weighing 800 g and 600 g, ATP should not be detected after 10 hours, and for the 1,000 g class the limit should be set at 498,950 ~ 551,471 RLU.

The limit for the flathead mullet was set at 75,783 ~ 83,761 RLU(1,000 g), 56,796 ~ 62,774 RLU (600 g), 39,209 ~ 43,337 RLU(800 g), 36,633 ~ 40,489 RLU(400 g). The limit for evaluating black rockfish was set at 313,648 ~ 346,664 RLU for 1000 gs, 255,197 ~ 282,060 RLU for 800 gs, 146,347 ~ 161,752 RLU for 600 gs, and 69,608 ~ 76,935 RLU for 400 gs.

The limit for red seabream was set at 758,695 ~ 838,557 RLU for 1200 gs, 442,239 ~ 488,791 RLU for 1,000 gs, and 203,504 ~ 224,926 RLU for 800 gs. ATP should not be detected once 10 hours have passed. After 10 hours 2,500 g red drums should be limited to 577,961 ~ 638,799 RLU, and 293,603 ~ 324,509 RLU for 1,600g red drums.

If the results of this research on evaluating the expiration status of raw fish are practiced in the field, we will be able to establish a methodical distribution system that could give raw fish a reputation for being cheap, hygienic, and tasty (and naturally raise the demand for it). It would also improve the culinary culture of eating sashimi, and contribute to the revitalization of marine industries as a whole.

Thus, we must apply the new evaluation method for raw fish that we have described, as a means of regulating simultaneously the processing factories, the distribution chains, and stores and also to use it as a way of promoting the reliability of raw fish quality for the globalization of this culinary culture.

CONTENTS

Chapter I Preface

Purpose, Necessity and bounds of this study

Chapter II Status of Technical Development and Report

Chapter III Result

Section I Searching for an evaluation index for Shingshinghoe

- A. Introduction
- B. Materials and Methods
 - 1. Materials
 - 2. Methods
- C. Results and Discussion

Section II Establishing a method for measuring ATP content in the field using the lumitester

- A. Introduction
- B. Materials and Methods
 - 1. Materials
 - 2. Methods

C. Results and Discussion

1. Selecting an optimal solvent
2. Selecting the optimal sampling method

Section III Establishing a method for measuring fish meat texture (hardness) on the filed using a hardness tester

A. Introduction

B. Materials and Methods

1. Materials
2. Methods

C. Results and Discussion

Section IV The statistical analysis of RLU levels for the Shinshingheo throughout time

A. Introduction

B. Materials and Methods

1. Materials
2. Methods

C. Results and Discussion

1. Analyzing the correlation between the lumitester results for ATP content with the

results from the HPLC method

2. Analyzing the correlation between the breaking strength level results from the Rheometer and the hardness tester
3. The statistical analysis of RLU levels across Shingshinghoe storage time

Chapter III Attainment of study's goal and application

Section I Attainment of study's goal

- A. Goal
- B. Attainment and evaluation
- C. Contribution

Section II Attainment of study's result

- A. Application province
- B. Overall application
- C. Application to the other project

Chapter IV References

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	48
제 1절 연구개발의 목적	48
제 2절 연구개발의 필요성 및 범위	49
1. 연구개발의 필요성	49
2. 연구개발 내용 및 범위	52
제 2 장 국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보	54
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	55
제 1절 싱싱회 경과시간 판정지표의 검색	55
1. 서론	55
2. 재료 및 방법	56
가. 원료어	56
나. 실험방법	56
3. 결과 및 고찰	58
가. 싱싱회 경과시간에 따른 파괴강도 및 ATP 관련물질의 변화	58
1) 넙치	58
가) 파괴강도의 변화	58
나) ATP 관련물질의 변화	59
2) 농어	60
가) 파괴강도의 변화	60
나) ATP 관련물질의 변화	61
3) 방어	61

가) 파괴강도의 변화	61
나) ATP 관련물질의 변화	66
4) 승어	69
가) 파괴강도의 변화	69
나) ATP 관련물질의 변화	69
5) 조피볼락	72
가) 파괴강도의 변화	72
나) ATP 관련물질의 변화	72
6) 참돔	73
가) 파괴강도의 변화	73
나) ATP 관련물질의 변화	73
7) 홍민어	79
가) 파괴강도의 변화	79
나) ATP 관련물질의 변화	79
나. 파괴강도와 ATP 함량과의 상관관계	82

제 2절 현장에서 루미노메타에 의한 싱싱회 근육 중의 ATP 함량 측정방법 개발	87
1. 서론	87
2. 재료 및 방법	90
가. 추출용매의 조제	90
나. 루미노메타를 이용한 RLU(Relative light unit)값의 측정	90
3. 결과 및 고찰	90
가. ATP 함량 측정을 위한 최적 조건 선정	90
1) 최적의 추출용매 선정	90
2) 최적의 추출방법 선정	95

나. 싱싱회의 경과시간에 따른 루미노메타를 이용한 ATP 함량 측정	98
다. 크기 및 부위별 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP 함량 변화	101
라. 추출방법 및 실험자간의 오차	103
마. 소형균질기를 이용한 어종별, 크기별에 따른 ATP 함량 측정	108
1) 넙치 싱싱회	108
2) 농어 싱싱회	111
3) 방어 싱싱회	113
4) 송어 싱싱회	115
5) 조피볼락 싱싱회	115
6) 참돔 싱싱회	116
7) 홍민어 싱싱회	116

**제 3절 현장에서 경도계에 의한 육질의 단단함의 측정방법
확립**

1. 서론	122
2. 재료 및 방법	123
가. 원료어	123
나. 휴대용 경도계	123
3. 결과 및 고찰	123

제 4절 싱싱회 경과시간에 따른 RLU값의 수치화

1. 서론	129
2. 재료 및 방법	130
가. 원료어	130
나. 실험방법	130

3. 결과 및 고찰	132
가. ATP 함량의 HPLC법의 결과와 루미노메타 결과의 상관성 분석 ..	132
나. 파괴강도의 레오메타 결과와 경도계 결과의 상관성 분석 ...	136
다. 싱싱회 경과시간에 따른 어종별 RLU값의 수치화	138
제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	146
제 1절 연구개발목표의 달성도	146
제 2절 관련분야 기술 발전에의 기여도	149
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	152
제 1절 연구개발결과의 활용계획	152
제 2절 연구개발결과의 활용을 위한 정책제안	153
제 6 장 참고문헌	159

List of Figure

Fig. 3-1-1. Changes of breaking strength on the muscle in olive flounder during storage in ice	62
Fig. 3-1-2. Changes of ATP related compounds on the muscle in olive flounder during storage in ice.	63
Fig. 3-1-3. Changes of breaking strength on the muscle in seabass during storage in ice	64
Fig. 3-1-4. Changes of ATP related compounds on the muscle of seabass during storage in ice	65
Fig. 3-1-5. Changes of breaking strength on the muscle in yellowtail during storage in ice	67
Fig. 3-1-6. Changes of ATP related compounds on the muscle of yellowtail during storage in ice	68
Fig. 3-1-7. Changes of breaking strength on the muscle in flathead mullet during storage in ice	70
Fig. 3-1-8. Changes of ATP related compounds on the muscle of flathead mullet during storage in ice	71
Fig. 3-1-9. Changes of breaking strength on the muscle in black rockfish during storage in ice	75
Fig. 3-1-10. Changes of ATP related compounds on the muscle of black rockfish during storage in ice	76
Fig. 3-1-11. Changes of breaking strength on the muscle in red seabream during storage in ice	77
Fig. 3-1-12. Changes of ATP related compounds on the muscle of red seabream during storage in ice	78

Fig. 3-1-13. Changes of breaking strength on the muscle in red drum during storage in ice	80
Fig. 3-1-14. Changes of ATP related compounds on the muscle of red drum during storage in ice	81
Fig. 3-1-15. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of olive flounder during storage in ice	83
Fig. 3-1-16. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of seabass during storage in ice	83
Fig. 3-1-17. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of yellowtail during storage in ice	84
Fig. 3-1-18. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of flathead mullet during storage in ice	84
Fig. 3-1-19. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of black rockfish during storage in ice	85
Fig. 3-1-20. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of red seabream during storage in ice	85
Fig. 3-1-21. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of red drum during storage in ice	86
Fig. 3-2-1. Change of relative light unit(RLU) by various buffer when reaction with 8 μ mol ATP standard	93
Fig. 3-2-2. Changes of relative light unit (RLU) with phosphate, citrate, glycine and borate buffer that reaction with 8 μ mol ATP standard solution by various concentration and pH	94
Fig. 3-2-3. Changes of relative light unit (RLU) phosphate, citrate, glycine and borate buffer that reaction with extract from olive flounder by various concentration and pH	96

Fig. 3-2-4. Changes of RLU on the muscle of olive flounder which passed 10hrs during storage in ice by extraction time	99
Fig. 3-2-5. Changes of the ATP concentration on the muscle in various fish during storage in ice	100
Fig. 3-2-6. Changes of the ATP concentration measuring with lumitester by various weight and researcher	102
Fig. 3-2-7. Extraction method from the muscle of fishes and measuring method of the ATP concentration by lumitester	105~106
Fig. 3-2-8. Difference RLU that two researcher measure the content of ATP on the muscle in olive flounder by various extraction method	107
Fig. 3-2-9. Changes of RLU on the muscle in Olive flounder during storage in ice	110
Fig. 3-2-10. Changes of RLU on the muscle in seabass during storage in ice	112
Fig. 3-2-11. Changes of RLU on the muscle in flathead mullet during storage in ice	114
Fig. 3-2-12. Changes of RLU on the muscle in yellowtail during storage in ice	118
Fig. 3-2-13. Changes of RLU on the muscle in black rockfish during storage in ice	119
Fig. 3-2-14. Changes of RLU on the muscle in Red seabream during storage in ice	120
Fig. 3-2-15. Changes of RLU on the muscle in Red drum during storage in ice	121
Fig. 3-3-1. Hardness tester	125

Fig. 3-3-2.	Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in olive flounder during storage in ice	126
Fig. 3-3-3.	Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in black rockfish during storage in ice	127
Fig. 3-3-4.	Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in red seabream during storage in ice	128
Fig. 3-4-1.	Relationship between the ATP concentration that measuring with HPLC and Lumitester on the muscle in olive flounder	134
Fig. 3-4-2.	Relationship between the ATP concentration that measuring with HPLC and Lumitester on the muscle in various fishes	135
Fig. 3-4-3.	Relationship between breaking strength that measuring with Rheometer and hardness tester on the muscle in various fishes	137
Fig. 3-4-4.	Changes of the ATP concentration that measuring with HPLC on the muscle in various fishes by weight	141
Fig. 4-2-1.	Standard curve of the ATP concentration to determine with luciferin-luciferase method	151

List of Table

Table 3-1-1. The condition of measurement of breaking strength on sliced raw fish	57
Table 3-2-1. Changes of the ATP concentration measuring with the lumitester by various muscle weight	99
Table 3-2-2. Changes of the ATP concentration measuring with the lumitester by various extraction method	99
Table 3-2-3. Changes of the ATP concentration measuring with lumitester by various part	102
Table 3-4-1. The condition of measurement of breaking strength on raw sliced fish	131
Table 3-4-2. Equation for the time elapsed of fresh sliced fish (Singsingheo)	142
Table 3-4-3. RLU range for the time elapsed of fresh sliced raw fish (Singsingheo)	143
Table 3-4-4. The profile of the range of part in the muscle on olive flounder by various weight	144
Table 3-4-5. The profile of the range of part in the muscle on fish species by various weight	144
Table 5-2-1. Estimated price to measure for the content of ATP in the muscle on fishes with homogenizer	158
Table 5-2-2. Estimated price to measure for the content of ATP in the muscle on fishes with zipper bag	158

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적

2002년 10월~2003년 8월까지 해양수산부 연구용역과제로 수행한 「횃감용 선어류의 소비촉진을 위한 안전성 확보기술 개발에 관한 연구」에서 넙치, 조피볼락, 참돔, 방어, 농어 등 7어종에 대하여 우리나라 생선회 식문화에 적합한 육질의 쫄깃함이 유지되는 시간인 활어의 즉살 후 10시간을 유통시간으로 설정하고, 치사방법, 처리형태, 포장방법 및 유통방법 등을 제시하였다. 이 결과를 토대로 싱싱회 산업이 활성화되어 전국에 싱싱회 가공공장이 설립되어 할인마트를 통하여 판매되고 있다.

싱싱회 산업은 과잉생산 되고 있는 양식 활어의 소비촉진을 이루고, 건강식이며 기능성 식품인 생선회 소비를 확대함으로써 양식어민의 소득증대와 국민건강 증대에 기여하고자 하였다. 특히, 하절기 생선회를 먹어서는 안된다는 개념이 확산되고 비수기로 인식되어져 있는 원인인 비브리오 패혈증 및 식중독 예방법의 확립을 통하여 위생적으로 처리된 생선회를 소비자들에게 공급하고, 수송비용 및 생선회 관련업소 운용비용을 절감하여 저가의 생선회를 소비자들에게 공급하고자 하였다.

그러나 앞서 밝힌 바와 같이 싱싱회는 일본식의 선어회가 아닌 우리나라 국민들이 좋아하는 씹힘성이 유지되면서 맛이 좋은 시간인 10시간을 유통시간으로 설정되어 있으므로 싱싱회 가공공장에서 처리되어 10시간까지만을 싱싱회로 유통되어야 하나, 일부 수익성만을 고려하여 유통기한을 5일까지 설정하여 할인마트에서 판매되고 있다. 10시간이 경과한 싱싱회를 구입한 소비자들은 씹힘성이 떨어져 있는 싱싱회를 먹고는 다시 재구매 의욕이 사라지고 있다. 이와 같이 싱싱회 맛이 유지되는 시간을 지키지 않는 것은 싱싱회 산업의 근간을 흔들고 있으며, 나아가 생선회 소비촉진에 걸림돌이 되고 있으나, 유통시간을 지키지 않는 업계도 문제지만 싱싱회 경과시간에 대한 정확한 판정을 할 수 있는 기술개발 부재와 정부의

적극적인 대응책 마련에도 문제가 되고 있다.

그러므로 시판 싱싱회의 즉살 후의 경과시간을 현장에서 간단하게 판정할 수 있는 방법을 확립함으로써 싱싱회의 유통질서를 확립하고, 생선회의 쫄깃쫄깃함이 유지되는 시간까지 소비자들에게 공급하도록 하여 싱싱회에 대한 소비자들의 신뢰를 확보함으로써, 싱싱회 산업을 활성화시키며, 과잉 생산되고 있는 국내산 활어의 소비촉진으로, 수산업의 활성화에 기여하고자 한다.

제 2절 연구개발의 필요성 및 범위

1. 연구개발의 필요성

활어를 즉살 후에 0℃에 보관하면서 육질의 단단함과 감칠맛 성분인 이노신산의 변화를 실험하여, 사후에 근육의 수축으로 5~10시간이 경과하여도 육질의 단단함이 활어회와 같은 상태로 유지될 뿐만 아니라, 감칠맛 성분인 이노신산이 생겨서 감칠맛이 저장 10시간 후에 10배 이상 증가하므로, 살아있는 활어보다는 죽인 후에 일정시간 저장한 것이 맛이 좋아진다. 그러나 저장시간 10시간 이후로는 씹힘성(단단함)은 떨어지며 감칠맛 성분인 이노신산은 더 많아진다는 연구 결과를 해양수산부 연구용역과제에서 발표하였다(조영제, 2003).

연구용역과제 결과에서 밝힌 바와 같이, 일본인들의 생선회 식문화는 우리의 생선회 식문화와는 다르게 혀로 느끼는 맛을 좋아하며 초밥 위주로 먹기 때문에, 즉살 후에 감칠맛 성분인 이노신산이 최대가 되는 3~4일까지 먹는 선어회 문화이다. 이때에 초밥의 밥이 퍼석해진 생선회의 씹힘성을 보완해주고 이노신산에 의한 감칠맛이 최대로 되기 때문에, 선어회 식문화가 일반화되어 있는 것이다. 그러나 우리국민들은 생선회 위주로 먹기 때문에, 육질이 퍼석한 일본식의 선어회는 좋아하지 않는, 육질이 쫄깃쫄깃한 것을 좋아하는 씹힘성의 문화이다. 따라서 우리국민들이 선호하는 펼떡펼떡 튀는 활어회에 가까운 육질이 유지되는 싱싱회를 공급해야 싱싱회 산업이

활성화될 것이다. 그리고 싱싱회는 경과시간이 길어지면 육질이 퍼석해져서 씹힘성이 떨어지므로, 육질이 퍼석한 싱싱회를 먹어본 사람은 다시는 찾지 않을 것이며, 이렇게 되면 싱싱회 산업은 실패로 끝날 것이다.

해양수산부에서는 2002년부터 국내 선어회 문화 정착을 위한 싱싱회 사업을 본격 추진하여, 싱싱회 가공공장은 1개 업체가 영업을 중지한 4개의 가공공장이 정부로부터 지원을 받아 공장 건립과 가동이 이루어지고 있다.

그러나 싱싱회 섭취를 최적시기인 5~10시간 이내로 해야 하지만 일부 업계에서 유통기간을 24시간에서 최대 5일까지 연장하여 표기하여 유통함으로써 싱싱회에 대한 소비자들이 외면은 늘어나 공장의 가동율이 15%에 머물러 있으며, 싱싱회 보급 활성화를 위한 싱싱회 전문점 개설을 추진하는 등의 새로운 방안이 모색되어 15개소에 대한 정부지원이 이루어졌으나, 여전히 일부업소를 제외하고는 전체 판매량의 20~30%에 머물고 있다.

이는 앞서 언급한 바와 같이 헛감용인 싱싱회는 10시간까지, 그리고 시간이 지난 것은 일본식 선어회인 초밥용으로 사용하는 원칙을 지키고 있지 않기 때문이다.

그러므로 싱싱회 보급 활성화를 위해서는 싱싱회의 씹힘성이 유지되는 시간까지 소비자들이 먹을 수 있도록 하는 유통시스템의 확립이 무엇보다 중요하며 육질의 단단함이 유지되는 싱싱회를 소비자들에게 공급하여, 맛이 좋으니까 다시 찾는 형태가 되어야만 싱싱회 산업이 활성화될 수 있을 것이며, 육질의 단단함의 정도를 현장에서 신속·정확하게 판정하여, 육질의 단단함이 떨어지는 제품은 퇴출 관리하는 시스템으로 운영되어야만, 싱싱회 산업이 활성화될 수 있으며, 이를 위해서는 시중에 유통되는 싱싱회의 경과시간을 소비자들이 보고 쉽게 알 수 있도록, 싱싱회 포장지에 즉살 시간을 명기하도록 의무화해야 한다. 그리고 언제 어디서라도 시료를 수거하여 경과시간을 확인할 수 있도록 제도화 하여야 한다.

그러나 싱싱회를 가공 처리하여 진공포장한 제품의 경과시간을 외관으로 판정하기는 불가능하며, 시료를 수거하여 실험실로 운반하는

도중에도 시간이 경과하므로 실험실에서 판정하는 방법도 문제점을 안고 있다. 따라서 현장에서 신속·정확하게 경과시간을 판정할 수 있는 방법의 개발이 시급히 필요하다.

싱싱회 경과시간 판정기술개발은 싱싱회 유통시스템 확립에 기여하게 될 것이며, 이로 인한 소비 증대는 어가 소득 증대 및 국내 양식산 활어 보호에도 영향을 줄 것이다.

나아가 소비자→도매유통업자→소매유통업자→생선횃집→소비자의 다단계 유통형태로 되어 있는 지금의 활어회 유통단계를, 생산자→소비자의 단계로 축소함으로써, 유통체계의 단순화 및 유통경비의 절감효과를 가져오며, 소비자들은 저렴하고 맛있는 생선회 소비가 가능하게 될 것이다. 회전초밥 등 생선회 조리 업체가 증가하고 있는 가운데, 싱싱회 유통에 대한 인식전환과 유통질서 확립은 싱싱회 전문점을 통한 싱싱회 소비 촉진과 새로운 생선회 문화 정착과 국민들의 건강증대에 이바지 할 것이다.

2. 연구개발 내용 및 범위

가. 싱싱회 경과시간 판정지표의 검색

- 1) 싱싱회 경과시간에 따른 ATP관련물질의 변화를 HPLC법으로 실험조사(어종별)
- 2) 싱싱회 경과시간에 따른 ATP양의 변화를 루미노메타(Lumitester)로 실험조사(어종별)
- 3) 싱싱회 경과시간에 따른 육질의 단단함의 변화를 레오메타로 실험조사(어종별)

나. 현장에서 루미노메타(Lumitester)에 의한 싱싱회 근육중의 ATP 함량 측정방법 확립 및 개발방향 제시

1) 최적 추출용매 선정

PCA, TCA, 증류수, Phosphate buffer, Glycine buffer, Tris-HCl buffer, Tris-malate buffer, Citrate buffer, Borate buffer 등을 이용한 최적 추출용매를 선정하였다.

2) 추출액의 농도 및 pH 선정

선정된 최적 추출용매의 농도별(0.1 M, 0.3 M, 0.5 M, 1.0 M), pH별(6.0, 6.5, 6.8, 7.0, 7.5)에 따른 RLU를 측정하여 최적 추출용매의 농도 및 pH를 선정하였다.

3) 최적 추출방법 선정

선정된 최적 추출용매를 이용한 최적 추출방법을 선정하기 위하여 사용육의 양(0.5 g, 1.0 g, 1.5 g)과 추출액의 양(5 mL, 10 mL, 15 mL) 및 추출시간(30초, 1분, 2분, 3분, 4분, 5분) 그리고 균질기, 유리기구, 막자사발, 비닐 등을 이용한 추출방법을 선정하였다.

다. 현장에서 경도계에 의한 육질의 단단함의 측정방법 확립 및 개발방향 제시

어종별, 크기별, 저장온도 및 저장기간별에 따른 육질의 단단함의 변화를 휴대용 경도계로 측정하여 최적조건을 확립하였다.

라. ATP 함량의 HPLC법의 결과와 루미노메타 결과 그리고 파괴강도의 레오메타 결과와 휴대용 경도계 결과의 상관성 분석

어종별에 따른 HPLC와 루미노메타를 이용하여 ATP 함량 분석결과와 레오메타와 휴대용 경도계를 이용한 파괴강도 분석결과에서 측정방법에 의한 각 값들의 상관성을 분석하고, 어종별에 따른 싱싱회 경과시간의 결과를 체계화하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보

본 연구에서 제안한 내용은 현장에서 싱싱회의 경과시간에 따른 판정기술의 개발에 관한 연구 개발로써, 선진외국의 경우는 주로 축육에 대한 품질평가 항목을 설정하기 위하여 육의 색깔, 투명도, 보수력, pH, 색소, 전단응력 등과 같은 평가항목에 많은 연구 성과가 이루어지고 있으므로, 이 기준을 생선회에 적용하는 것은 불가능하다. 한편 수산물의 소비량이 우리와 유사한 일본의 경우는 한국과는 다른 선어회 문화로써 저장기술과 숙성기술에 관한 연구보고는 많으나, 10시간까지가 생명시간인 싱싱회와 같이 짧은 경과시간에 따른 품질평가 방법은 전무한 실정으므로, 외국에서 도입 가능한 기술이 없다. 또한 국내에서 생선회에 관한 연구를 하는 연구기관은 본인이 중심이 되고 있으며, 간헐적으로 타 기관에서 연구하는 정도이다. 특히, 싱싱회 도입을 위한 연구를 해양수산부 용역과제로 본인이 수행하였으며, 본 연구과제인 [현장에서 싱싱회의 경과시간 판정기술 개발에 관한 연구]와 관련된 타기관의 연구는 전무한 실정으로, 신속·정확한 판정기술의 개발이 필요하다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 싱싱회 경과시간 판정지표의 검색

1. 서론

활어를 싱싱회로 가공하여 유통시키기 위해서는 근육의 단단함이 유지되는 시간 내에 이루어져야 하는데, 활어를 치사시키면 근육은 일정 시간이 경과 후 단단해지는 사후경직 현상이 일어나게 된다.

사후경직은 경직의 에너지원으로 ATP를 소비하면서 Ca^{2+} 의 농도변화에 따라 수축과 이완을 반복하게 되는데, 이것은 근육 중의 막구조인 근소포체가 Ca^{2+} 의 농도 조절능을 가지고 있어 (Ebashi and Endo, 1968), 신경으로부터 전달된 자극을 받아 근소포체의 종말조를 통하여 Ca^{2+} 을 세포내로 방출하게 되며(Endo, 1977), 방출된 Ca^{2+} 이 troponin C에 결합하여 myosin과 actin간의 결합을 저해하고 있는 troponin I의 위치를 이동시킴으로써, 근원섬유의 ATPase가 ATP를 분해하여 얻은 에너지로 myosin filament와 actin filament간의 결합을 유도하여 사후 경직이 발생한다고 하였다 (Fleming et al., 1990; Watabe et al., 1989). 어류 사후 경직의 진행속도는 저장온도 및 치사방법에 따라 많은 차이를 나타내며(Iwamoto et al., 1985, 1987, 1988; Hwang et al., 1991; 조 등, 1994a), 사후경직과 저장온도와의 관계는 어종에 따라 다르고, 이것은 규칙성이 없다. 사후경직은 저장온도가 낮을수록 경직도가 높고 완전경직의 유지시간도 길어진다고 하였다(김·조, 1992). 또한 사후경직은 경직 전의 근육의 상태가 중요한 인자가 되는데, 영양상태가 불량하거나 (Watabe et al., 1991; Iwamoto et al., 1987), 고민사한 어육 (Boyd et al., 1984; Bito et al., 1983)과 전기자극사한 어육(이 등, 1995)은 즉살한 것에 비하여 사후경직의 시작이 현저하게 촉진된다고 하였다. 한편, 근육의 단단함은 사후경직의 진행속도와 일치하지 않으며(이 등, 1995), 사후경직에 비하여 빠르게 진행되다가 완전경직에 도달하기 전에 이미 근육의 단단함은

저하하기 시작하므로 싱싱회의 유통시간은 근육의 단단함에 초점을 맞추어 설정되어 있으며, 싱싱회의 품질 및 유통기간을 결정하는 중요한 요인은 저작성(촉감)이기 때문에 우리 국민들의 식습관에 부응하여 생선회의 단단함(toughness)이 그대로 유지되면서도 유통기간은 최대한으로 연장할 수 있는 방법이 개발되어져 있다(조 등, 2003).

그러므로 본 절에서는 횡감용 활어(넙치, 참돔, 조피볼락, 농어, 송어, 방어, 홍민어)를 싱싱회로 제작, 빙장하여 경과시간에 따라 근육의 파괴강도 및 ATP 관련물질의 함량을 검토하여 싱싱회 경과시간을 판정할 수 있는 지표를 선정하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 원료어

본 실험에 사용한 활어는 싱싱회로 주로 사용되고 있는 넙치(Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*), 조피볼락(Black rockfish, *Sebastes schlegeli*), 송어(Flathead mullet, *Mugil cephalus*) 참돔(Red seabream, *Pagrus major*), 농어(Sea bass, *Lateolabrax japonicus*) 및 홍민어(Red drum, *Sciaenops ocellatus*) 등 국내 양식산 6종과 동해에서 어획된 자연산 방어(Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*) 1종의 활어를 부산시 민락동 소재의 계류장인 청수활어에서 활어상태로 구입하여 실험실로 운반하여 원료어로 사용하였다.

운반된 활어는 즉살시키고 비가식부분인 내장, 표피 및 뼈를 제거한 후, 가식부를 이용하여 싱싱회로 제조 및 빙장하여 실험 재료로 사용하였다.

나. 실험방법

1) 파괴강도(breaking strength)의 측정

Ando et al.(1991a)의 방법에 따라 넙치 등육을 Table 3-1-1과 같은 조건으로 측정하였다. 즉, 넙치를 밀면이 평행하게 필렛하여 20×20×10 mm³의 크기로 정사각형의 칼집을 위에서 찍은 후에, 칼집위로 돌출된 부분을 잘라내고 육의 두께를 10 mm로 균일하게 하여 측정시료로 사용하였다.

파괴강도 값은 직경 10 mm cylinder plunger를 사용하였으며, 속도 60 mm/min때의 최고값을 측정하였으며, 실험결과는 4~8회 측정하여 평균±표준편차(mean±S.D.)로 나타내었다.

Table 3-1-1. The condition of measurement of breaking strength on sliced raw fish

Instrument	SUN RHEO Meter Compac-100, Japan
Sample thickness	10 mm ¹⁾
Cylindrical plunger	10 mm ²⁾ in diameter
Crosshead speed	1 mm/sec
Load cell	10 kg
Chart speed	60 mm/m

1) ; simulated a sliced raw fish

2) ; simulated the molar tooth

2) ATP 관련물질(ATP related compound)의 측정

Iwamoto et al.(1987)의 방법에 따라 추출하였으며, 추출한 ATP 관련물질은 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 탈기하여 HPLC (Waters 600, USA)에 주입하여 분석하였다. ATP 관련 표준물질은 Sigma사에서 구입하여 사용하였으며, HPLC는 waters사의 controller 600, TM-600 intelligent pump, dual λ absorbance detector 2487, column oven 410 및 differential refractometer를 사용하였으며, column은 CAPCELL PAK C18 (4.6×250 mm)의 역상분배 column (Shiseido Co, Ltd., type UG120, 5 μm)을 사용하였다.

이동상 용액은 2% triethylamine-phosphoric acid 완충용액(pH 7.0)을 사용하였고, 시료주입량은 10 μl, 유속 1.0 mL/min, column 온도 40 °C, 검출과장 254 nm, 분석시간 60분 그리고 peak 면적은 auto chromatography data system을 통해 적분하여 계산한 후 각각의 함량을 구하였다.

3) 통계처리

통계 처리는 SAS 프로그램을 이용한 분산분석표(analysis of variance table : ANOVA table)를 작성하였으며, Duncan의 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)으로 $P < 0.05$ 에서 결과간의 유의성을 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 싱싱회 경과시간에 따른 파괴강도 및 ATP 관련물질의 변화

1) 넙치

가) 파괴강도의 변화

활어 중에서도 넙치는 우리나라에서 양식생산량이 가장 많으며, 2006년 우리나라 양식 어류 생산량은 약 9만톤에 이르며, 이 중 넙치의 연간 생산량은 약 4만톤으로, 전체 양식어류 생산량에 48%를 차지하고 있다(옥영수, 2007). 특히, 넙치는 우리국민들이 선호하는 생선회로써 싱싱회로 가공·유통하고자 할 때 주된 대상어류가 될 것이다. Fig. 3-1-1은 즉살한 넙치를 싱싱회로 제작하여 빙장 후 경과시간에 따른 파괴강도 변화를 나타낸 것이다. 즉살 직후 넙치의 파괴강도는 1.34 ± 0.04 kg였으며, 시간의 경과와 더불어 파괴강도는 빠르게 상승하여 6시간 후의 파괴강도는 1.58 ± 0.10 kg로 즉살 직후보다 약 17% 증가하였다($P < 0.05$). 이후 파괴강도는 감소되기 시작하였으며, 저장 12시간에 1.42 ± 0.02 kg으로 즉살직후와 비슷한 파괴강도 값을 나타내었으며($P > 0.05$), 저장 16시간 이후부터 55시간까지의 파괴강도 값은 유의적인 차이는 없었다($P > 0.05$).

생선회 근육의 단단함에 영향을 미치는 요인은 치사 전에는 어류의 종류, 크기, 양식조건 등 여러 가지가 있으며, 치사 후에는 치사방법, 방혈유무, 조리형태 및 저장온도 등의 영향을 받게 된다. 어류 사후 경직의 진행속도는 저장온도 및 치사방법에 따라 많은 차이를 나타내며(Iwamoto et al., 1985, 1987, 1988; Hwang et al., 1991; 조 등, 1994a), 사후경직과 저장온도와의 관계는 어종에 따라 다르고, 이것은 규칙성이 없다. 근육의

단단함은 사후경직의 진행속도와 일치하지 않으며 (조 등, 1994b), 사후경직에 비하여 빠르게 진행되다가 완전경직에 도달하기 전에 이미 근육의 단단함은 저하하기 시작한다.

일반적으로 어육은 저장동안 급격하게 어육의 약화가 이루어지며, 어육의 선도유지를 위해서 이 현상을 늦추거나 방지하는 것이 매우 중요하다. 근육의 연화현상은 닭고기내의 근원섬유단백질의 Z 선의 감소가 원인으로 처음 보고 되었으며(Takahashi K. et al., 1967), 참돔을 수조에 운동시키면서 근원섬유의 강화와 어육의 단단함을 증가시킬 수 있다는 보고 등을 통하여 어육에서도 연구가 이루어졌다(Tachibana K. et al., 1988; Tachibana K. et al., 1993). 또한 근육 세포와 결합되어 있는 결합조직에 대한 해부학적 관찰을 통하여 근육의 단단함 저하 등에 대한 연구가 이루어졌다(Ando M. et al., 1991b; Ando M. et al., 1992). 대부분의 연구는 저장 중 어육의 연화현상을 조사하였으며, 어종별에 따라 차이가 있다고 보고하고 있다(Ando M. et al., 1991a).

이런 연구들은 어육의 선도변화만을 중점적으로 다루고 있어 일본의 선어회 문화에 적합한 섭취시기를 밝히고 있으나, 우리나라 식문화에 적합한 싱싱회에서는 조 등(2003)이 밝힌 바와 같이, 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 넙치 싱싱회의 생명시간은 파괴강도 값이 즉살직후와 비슷한 파괴강도값이 유지되는 약 10~12시간까지로 판단하여야 할 것이다.

나) ATP 관련물질의 변화

근육의 사후변화와 ATP 함량 사이에는 밀접한 연관이 있으며, ATP는 사후 $ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow IMP \rightarrow HxR \rightarrow Hx$ 의 경로로 분해된다. ATP의 분해는 각 단계마다 관련 효소의 작용에 의하여 진행되며 분해속도는 어종에 따라 다소 차이가 있다. ATP 관련물질의 함량은 적색육 어류와 백색육 어류에 따라 큰 차이가 없어 대체로 5~10 $\mu\text{mole/g}$ 이며, 어육은 사후 ATP를 소모하면서 수축을 일으키게 된다.

이와 같은 근육의 수축에 의하여 actin과 myosin이 결합하면서

근육의 단단함이 초기에 증가하며, 사후경직도가 상승하게 된다.

Fig. 3-1-2에 넙치를 즉살하여 싱싱회로 제조하여 빙장하면서 육의 ATP 관련물질의 변화를 나타내었다. 넙치육의 ATP 관련물질 총 함량은 약 9.20 $\mu\text{mole/g}$ 이며, 즉살 직후의 ATP 함량은 7.67 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간 동안 서서히 감소하여 파괴강도 값이 최대로 상승한 저장 5시간에서는 7.34 $\mu\text{mole/g}$ 의 ATP 함량을 나타내었다. 또한, 생선회 감칠맛의 주체가 되는 IMP 함량은 0°C 저장 중에 서서히 증가하였으며, 즉살직후에는 0.23 $\mu\text{mole/g}$, 저장 10시간에는 1.26 $\mu\text{mole/g}$ 로 증가하였다. 저장 24시간 이후에는 IMP의 함량이 5.47 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 40시간에는 7.38 $\mu\text{mole/g}$ 로 급격한 증가를 보이고 있다. 즉, 저장 기간이 길어질수록 생선회의 맛은 좋아지나 근육의 단단함은 급격하게 감소함으로, 우리나라 생선회문화를 고려시에는 근육의 단단함은 즉살직후와 비슷하게 유지되면서, 싱싱회 맛도 좋아지는 저장 10시간이 가장 적합하다고 판단된다. 또한 싱싱회의 경과시간에 따라 ATP 함량이 가장 많이 감소한 반면에 IMP 함량은 경과시간에 따라 증가하였다.

2) 농어

가) 파괴강도의 변화

Fig. 3-1-3에 농어를 싱싱회로 제작하여 빙장 중 파괴강도의 변화를 나타내었다. 앞에서 밝힌 어종들과 비슷한 결과로 5시간 저장 동안은 파괴강도 값이 증가하였다가 그 이후에 급격히 감소하는 경향을 나타내었다. 즉, 즉살 직후에는 1.42 ± 0.09 kg의 파괴강도 값이 저장 5시간에 1.61 ± 0.07 kg의 최대 파괴강도를 나타내었다($P < 0.05$). 넙치와 마찬가지로 5시간 이후부터 감소하기 시작하여 저장 10시간 경과시에는 즉살직후와 마찬가지로 1.43 ± 0.17 kg의 파괴강도 값을 나타내었다($P > 0.05$).

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 농어 생선회의 생명시간은 파괴강도 값이 즉살 직후에 비하여 저하된 시점이 아닌 약 10시간 이내로 유통되어 소비되어야 할 것이다.

나) ATP 관련물질의 변화

Fig. 3-1-4에 농어를 즉살하여 0℃에 저장하면서 육의 ATP 관련물질의 함량변화를 나타내었다. ATP 관련물질의 총 함량은 6.47~6.55 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 기간동안 총 함량의 변화는 거의 없었다. 그러나 ATP 함량은 즉살 직후에는 5.30 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 10시간에는 1.60 $\mu\text{mole/g}$, 저장 15시간에는 0.52 $\mu\text{mole/g}$, 저장 25시간에는 0 $\mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다. 저장 25시간에 ATP 함량은 잔존하지 않았으며, 15시간에는 생선회 맛의 주체인 IMP함량은 5.65 $\mu\text{mole/g}$ 로 저장기간 중 가장 높은 함량을 나타냈다. 즉, 앞에서 언급한 바와 같이, 파괴강도 값이 증가함으로써 생선회의 품질에 가장 큰 영향을 미치는 씹을 때의 촉감(쫄깃쫄깃함)이 즉살직후와 비슷하게 유지되고 생선회의 맛도 좋아지는 저장 10시간이 한국형 생선회의 유통에 가장 적합한 유통기간으로 판단된다.

3) 방어

가) 파괴강도의 변화

붉은 살 생선의 대표적인 어류인 방어를 즉살시킨 후 생선회로 제작하여 냉장하면서 파괴강도의 변화를 Fig. 3-1-5에 나타내었다. 사후 대사에 영향을 미치는 요인으로는 생전의 생리조건, 사후저장온도 등을 들 수 있으며, 생리조건으로는 영양상태 불량하거나 피로한 것이 glycogen 함량이 적고 그 감소 속도가 빠르며, 젖산의 축적과 ATP 분해 속도가 빨라서 경직의 진행이 촉진된다고 보고하고 있으며(Watabe et al., 1991), 어류의 생식수온의 변화도 사후경직의 진행에 영향을 미친다는 보고도 있다(Hwang et al., 1991). 사후 저장 온도의 영향은 저장 온도가 낮을수록 근소포체의 Ca 수용능력의 저하로 세포내로 Ca의 유출이 많아져서 ATP 분해가 빨라지므로 근육의 수축 사후경직 그리고 젖산축적이 빨라짐이 밝혀져 있다(김과 조, 1992; 조와 김, 1993).

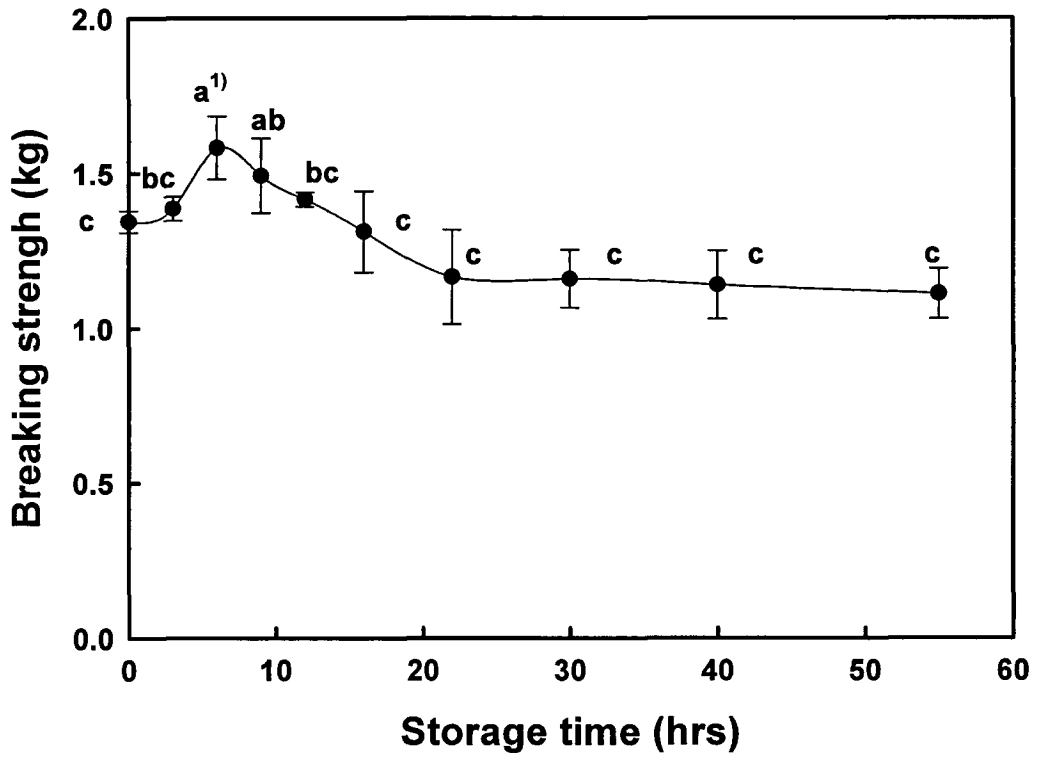


Fig. 3-1-1. Changes of breaking strength on the muscle in olive flounder during storage in ice.

¹⁾ Different set of letter on each value shows a significant difference ($P < 0.05$).

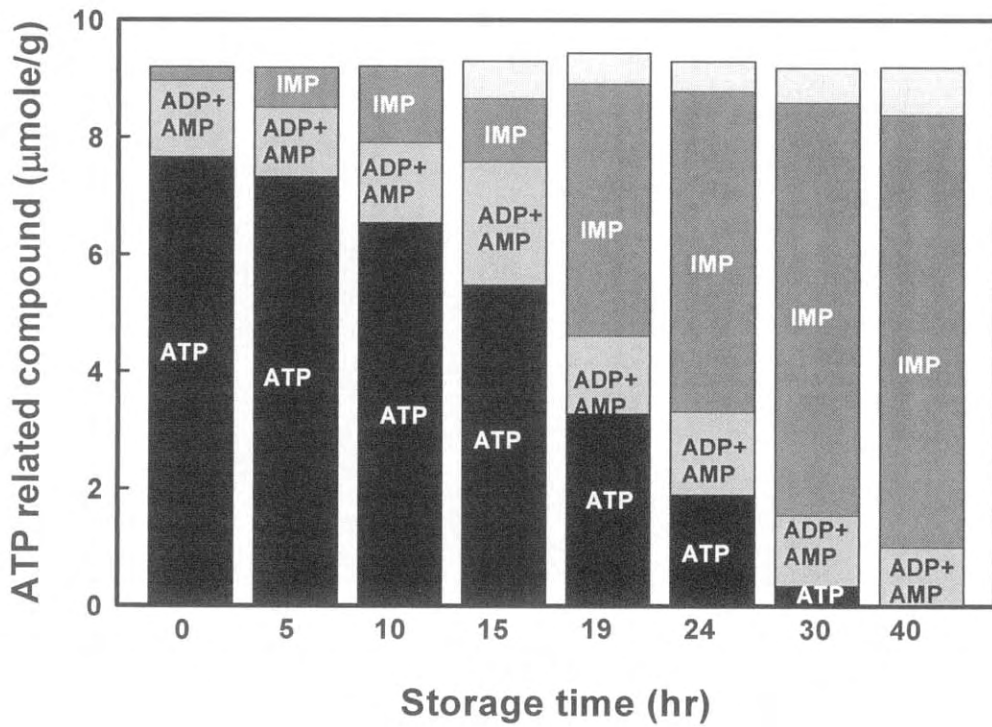


Fig. 3-1-2. Changes of ATP related compounds on the muscle in olive flounder during storage in ice.

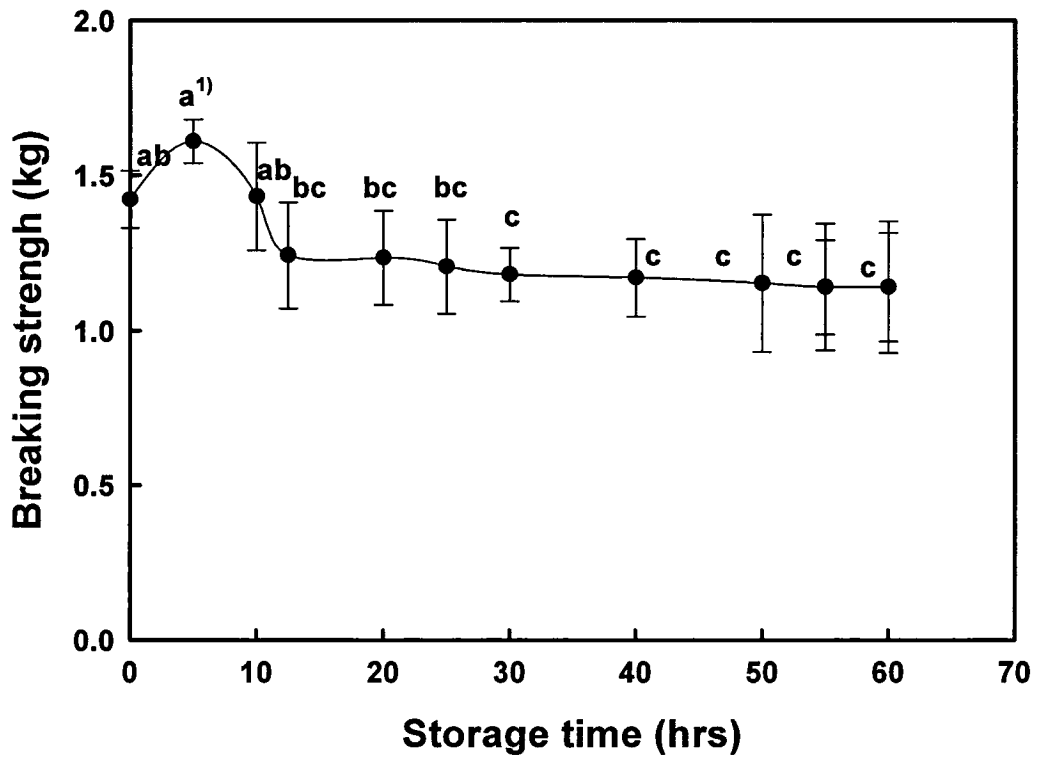


Fig. 3-1-3. Changes of breaking strength on the muscle in seabass during storage in ice.

¹ Different set of letter on each value shows a significant difference ($P < 0.05$).

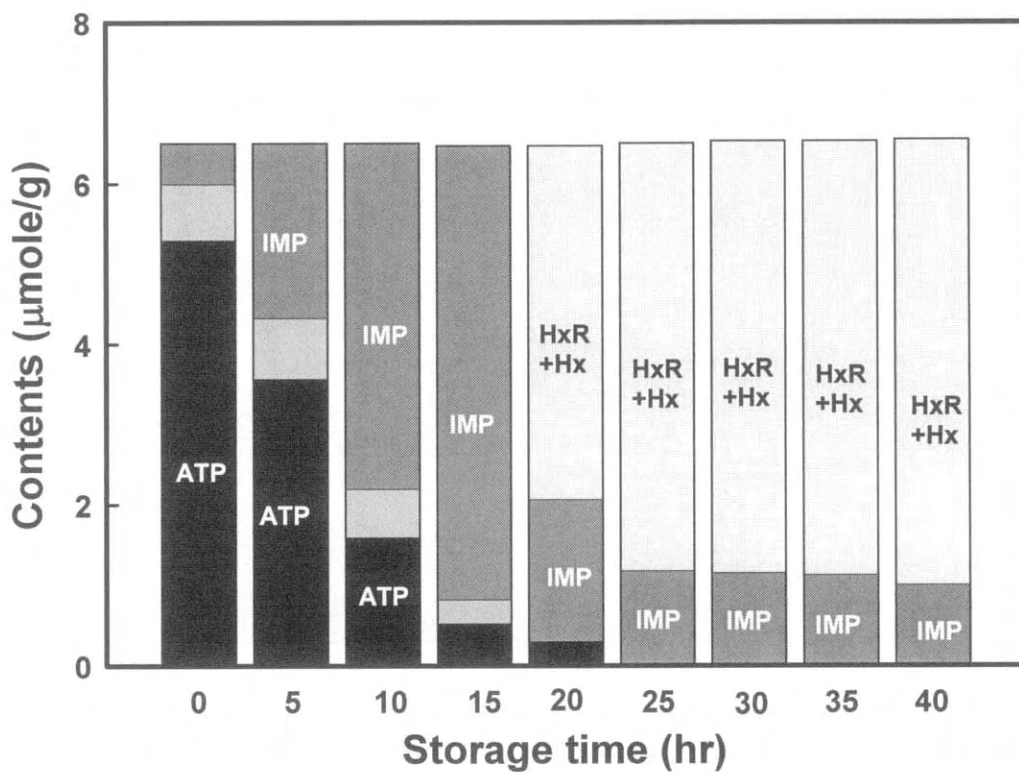


Fig. 3-1-4. Changes of ATP related compounds on the muscle of seabass during storage in ice.

붉은살 생선인 방어는 즉살 직후는 흰살 생선인 넙치 등과는 달리 파괴강도 값은 1.25 ± 0.14 kg으로 매우 낮았으며, 저장 중 파괴강도의 상승은 그리 크지 못하였으며 저장 7.5시간까지는 즉살직후의 파괴강도 값과 유의적인 차이가 없었으며($P > 0.05$), 그 이후에는 파괴강도가 급격하게 감소하였으며, 이는 4 °C 저장 중 어육의 사후연화와 콜라겐 Type V와의 상관성을 조사한 Shigemura 등 (2003)보고에서, 저장 중 방어육의 파괴강도의 감소율이 저장 3시간에 15%정도였으며, 6시간에 20%정도로, 즉살직후에 비하여 크게 감소하는 것으로 보고하였으며, 저장동안 파괴강도값의 감소율은 본 연구결과와 다소 차이는 있었으나 경향은 매우 유사하였다.

따라서 파괴강도를 기준으로 방어 싱싱회의 최적 섭취시간은 파괴강도 값이 즉살 직후와 비슷하게 유지되는 7.5시간이내에 유통되어 소비되어야 할 것으로 판단된다.

나) ATP 관련물질의 변화

Fig. 3-1-6에 즉살한 방어의 0 °C 저장 중 근육 중의 ATP 관련물질의 변화를 나타내었다. ATP 관련물질의 총 함량은 약 7.29~7.30 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간동안 총 함량의 변화는 거의 없었다.

그러나 ATP 함량은 즉살 직후에는 6.13 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 10시간에는 0.43 $\mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다. 어육내의 ATP 관련물질은 파괴강도와 밀접한 관계가 있으며, 어육의 사후 경직 중 근육의 ATP가 일정수준을 유지하고 있을 때에는 myosin과 actin의 결합에 의하여 수축된 근육은 가역적으로 이완된다. 그러나 ATP의 재생체계가 차단되어 ATP의 함량이 감소되면 myosin과 actin이 불가역적으로 강하게 결합하여 사후 경직이 급속히 진행되어 ATP의 농도가 1 $\mu\text{mole/g}$ 이하로 저하하면 사후경직이 거의 완료된다. 또한 저장 중에 IMP의 함량은 즉살 직후에는 존재하지 않다가 저장시간이 길어질수록 IMP의 함량은 증가하였다. 즉 저장 5시간에는 2.78 $\mu\text{mole/g}$, 저장 10시간에는 5.32 $\mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타냈다.

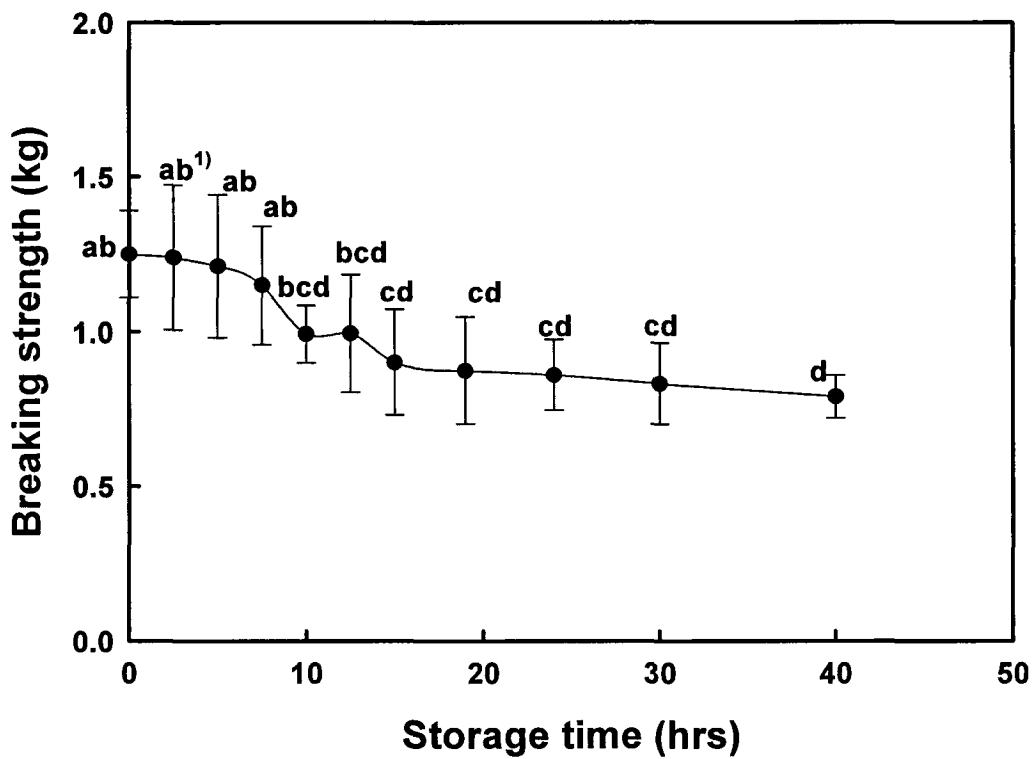


Fig. 3-1-5. Changes of breaking strength on the muscle in yellowtail during storage in ice.

¹⁾ Different set of letter on each value shows a significant difference ($P < 0.05$).

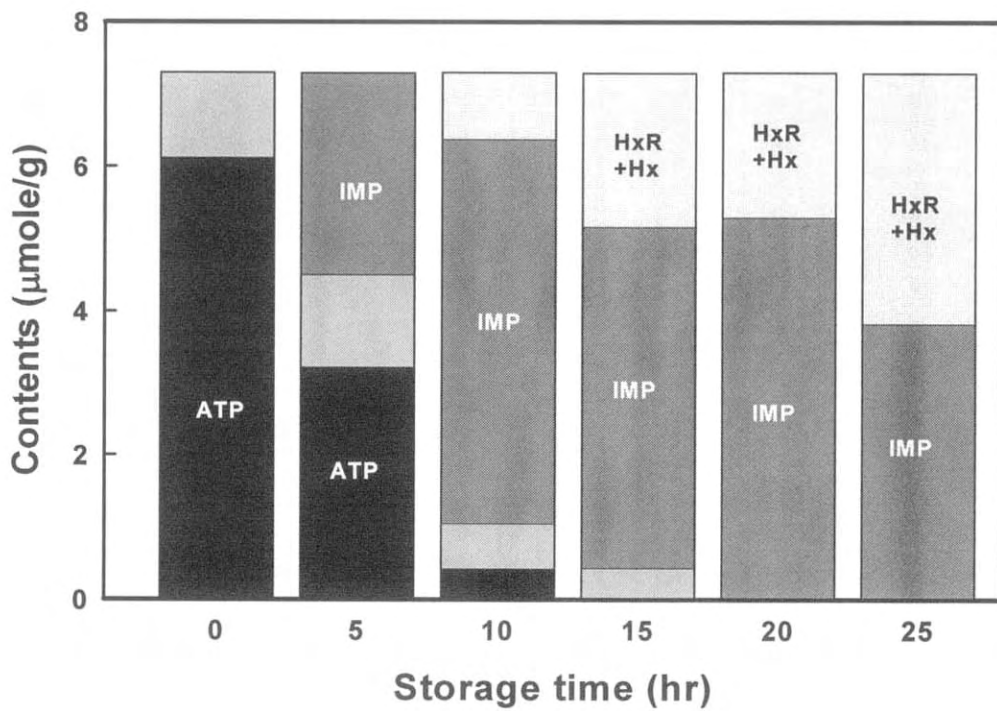


Fig. 3-1-6. Changes of ATP related compounds on the muscle of yellowtail during storage in ice.

4) 송어

가) 파괴강도의 변화

송어를 즉살하여 파괴강도의 변화를 Fig. 3-1-7에 나타내었다. 즉살 직후의 파괴강도 값은 1.28 ± 0.16 kg이었으며, 빙장하여 5시간동안 저장 후에는 1.47 ± 0.18 kg으로 최대 파괴강도를 나타내었다. 넙치와 농어와 마찬가지로 저장 10시간까지 즉살직후의 파괴강도 값이 유지되었으며, 그 이후에는 감소하였다. Haruhiko and Shimizu (1988)는 일반적으로 경직된 어체는 그 어육도 단단할 것이라고 추측되지만 어체의 사후 경직도와 어육의 단단함은 일치하지 않는다고 보고하였고 Ando et al.(1991c)도 어육의 연화는 어체의 사후경직과 달리 저장 초기에 일어나며, Hiroyasu et al.(1990)은 양자간에는 상관관계가 없으며 서로 다른 요인에 의하여 진행된다는 보고와 유사하였다.

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 즉살직후의 파괴강도 값이 유지되는 10시간 이내에 유통되어 소비되어야 할 것으로 판단된다.

나) ATP 관련물질의 변화

Fig. 3-1-8은 즉살한 송어를 0°C 에 저장하면서 육의 ATP 관련물질의 변화를 나타낸 것이다. ATP 관련물질의 총 함량은 약 $5.00 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간 동안 총 함량의 변화는 거의 없었다. 그러나 ATP 함량은 즉살 직후에는 $3.58 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 6시간에는 $1.46 \mu\text{mole/g}$, 저장 9시간에는 $1.10 \mu\text{mole/g}$, 저장 15시간에는 $0 \mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내어 ATP 함량은 잔존하지 않았다. 또한 최대의 파괴강도 값을 나타낸 15시간에는 생선회 맛의 주체인 IMP함량은 $4.02 \mu\text{mole/g}$ 로 저장기간 중 가장 높은 함량을 나타냈다. 즉, 앞에서 언급한 바와 같이 파괴강도 값이 증가함으로써 생선회의 품질에 가장 큰 영향을 미치는 씹을때의 촉감(쫄깃쫄깃함)이 증가하고 생선회의 맛도 좋아지는 저장 10시간이 한국형 싱싱회의 유통에 가장 적합한 유통기간으로 판단된다.

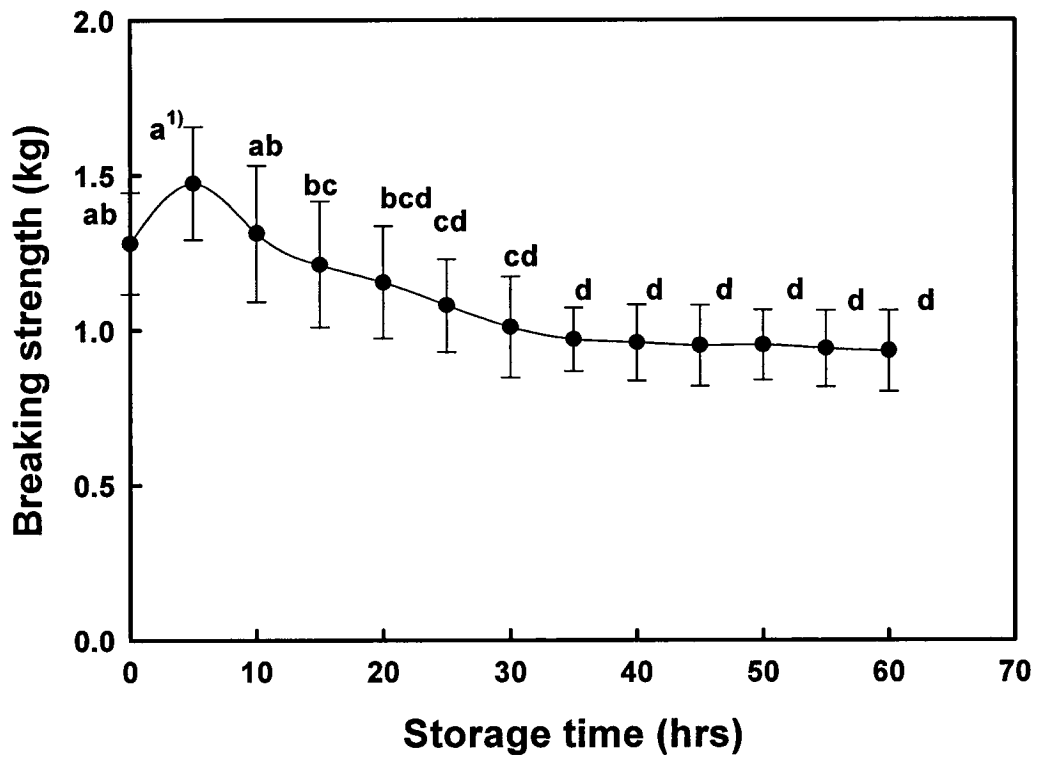


Fig. 3-1-7. Changes of breaking strength on the muscle in flathead mullet during storage in ice.

¹⁾ Different set of letter on each value shows a significant difference ($P < 0.05$).

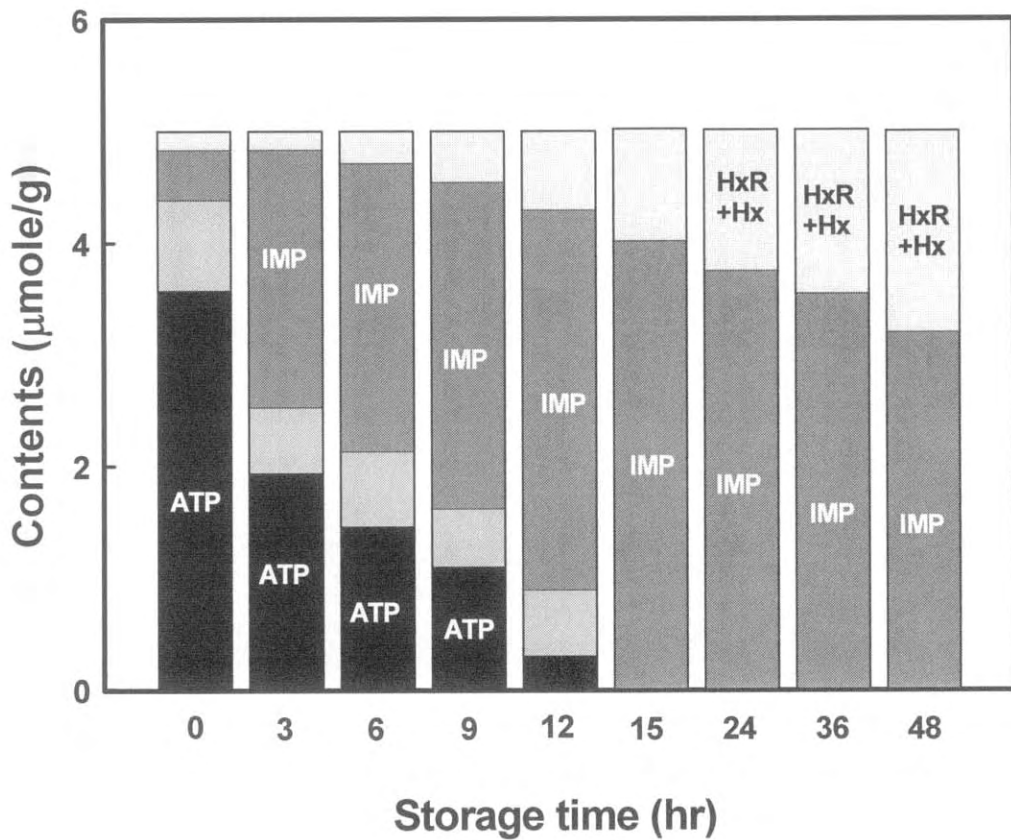


Fig. 3-1-8. Changes of ATP related compounds on the muscle of flathead mullet during storage in ice.

5) 조피볼락

가) 파괴강도의 변화

조피볼락은 다른 어종에 비해 종묘의 수급이 원활하고 질병에 강하며 우리나라 해황에 적합한 어종으로, 생산량이 과거 10년에 비하여 약 28배 증가한 27,517톤이 생산되었다(이남수, 2007). 조피볼락은 육질이 쫄깃하여 생선 헛감용 및 매운탕의 원료 등으로 주로 사용되고 있으며, 최근 양식 조피볼락의 수급 불균형과 소비자들의 선호도 변화로 인하여 조피볼락 양식업에 큰 영향을 주고 있다. 그러므로 조피볼락을 싱싱회로 제작하여 빙장 후 경과시간에 따른 파괴강도의 변화를 Fig. 3-1-9에 나타내었다.

일반적으로 사후경직 단계에서의 경직된 어체는 그 어육도 단단할 것이라고 추측되지만, 경직도가 최대인 시점에서 육은 이미 연화되어 있고, 경직개시 전후의 시점에서 육질이 가장 단단함이 알려져 있으며(Haruhiko and Shimizu, 1988), 이러한 결과는 사후 경직의 기작과 육질의 연화의 기작은 서로 다름을 나타내고 있다. 그러므로 Fig. 3-1-1과 Fig. 3-1-3에 나타낸 넙치와 농어 등의 흰살 생선의 저장 중 파괴강도의 변화와 유사하게 즉살 초기에는 파괴강도 값이 1.26 ± 0.13 kg이었으나, 저장 5시간에는 최대의 파괴강도 값인 1.52 ± 0.13 kg으로 증가하였다. 또한 저장 10시간 이후에는 파괴강도가 감소하였으며, 저장 30시간 경과 후에는 파괴강도의 변화가 나타나지 않았다.

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 조피볼락 생선회의 생명시간은 파괴강도 값이 즉살 직후에 비하여 저하된 시점인 약 10시간까지로 넙치와 참돔과 거의 비슷하였다. 그러므로 싱싱회로 유통하고자 하려면 조피볼락 근육의 단단함이 일정하게 유지되는 10시간 이내에 소비가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

나) ATP 관련물질의 변화

어육의 사후, ATP의 분해 속도는 저장온도, 치사조건, 방혈유무 등에 영향을 받으며, 저장온도가 낮을수록 분해가 촉진되며(김·조, 1992),

치사조건은 전기자극 시킨 것이 분해가 가장 촉진됨이 알려져 있다(이 등, 1995). 그리고 방혈유무는 어종에 따른 차이는 있지만, 넙치를 시료로 한 실험에서는 무방혈이 방혈보다 ATP의 분해가 억제된다고 보고하고 있다(조 등, 1997). Fig. 3-1-10은 조피볼락 싱싱회를 빙장 중 육의 ATP 관련물질의 함량변화를 나타낸 것이다. 즉살직후의 ATP 관련물질의 총 함량은 7.00 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 이 때 ATP 함량은 6.40 $\mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다. 빙장 중 ATP 함량은 서서히 감소하였으며, 저장 9시간 경과 후에는 ATP 함량이 3.7 $\mu\text{mole/g}$, IMP 함량은 2.3 $\mu\text{mole/g}$ 으로, 기타 어종과 마찬가지로 IMP 함량은 증가하는 경향을 나타내었다.

6) 참돔

가) 파괴강도의 변화

참돔은 생선회 중에서도 육질이 단단하고 맛과 향이 뛰어나 대단한 고급어종으로 취급되고 있으며, 특히 겨울에 맛이 뛰어난 생선회이다. 즉살한 참돔을 0℃에 저장하면서 파괴강도의 변화를 Fig. 3-1-11에 나타내었다. 즉살 직후 참돔의 파괴강도는 1.48 ± 0.79 kg이었으며, 시간의 경과와 더불어 파괴강도는 빠르게 상승하여 5시간 후의 파괴강도는 1.81 ± 0.12 kg을 나타내었다. 파괴강도는 10시간 이후에 급격히 감소되기 시작하였으며, 저장 20시간에 0.85 ± 0.12 kg으로 나타났다.

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 참돔 생선회의 생명시간은 파괴강도 값이 즉살 직후에 비하여 저하된 시점이 아닌 약 10~12시간으로 넙치와 거의 비슷하였다. 그러므로 조 등(2003)이 밝힌 바와 같이 싱싱회로 유통하고자 하려면 참돔의 생명시간인 10시간이내에 소비가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

나) ATP 관련물질의 변화

Fig. 3-1-12는 참돔을 0℃ 저장 중 ATP 관련물질의 변화를 나타낸 것으로, 총 함량은 7.95~8.00 $\mu\text{mole/g}$ 이었다. Fig. 3-1-2에 나타낸 넙치

근육에서의 ATP 관련물질의 변화와 마찬가지로 저장 중 ATP 함량은 차츰 감소하였다.

이와 같이, 어육 중 근육의 ATP가 일정수준을 유지하고 있을 때에는 myosin과 actin의 결합에 의하여 수축된 근육은 가역적으로 이완된다. 그러나 ATP의 재생체계가 차단되어 ATP의 함량이 감소되면 myosin과 actin이 불가역적으로 강하게 결합하여 사후 경직이 급속히 진행되어 ATP의 농도가 $1 \mu\text{mole/g}$ 이하로 저하하면 사후경직이 거의 완료된다. Bate-Smith(1948)은 사후경직이 ATP의 소비 후에 근육의 신장성이 사라지면서 발생한다고 보고하고 있으며, Bito et al.(1983)은 일부 어종에서는 ATP 함량은 사후경직과 항상 일치하는 것은 아니며, 근수축의 세기는 어종에 따라 다르며 ATP 함량과 경직상태 사이의 관련성의 다양한 요인에 의하여 일어난다고 보고하고 있다.

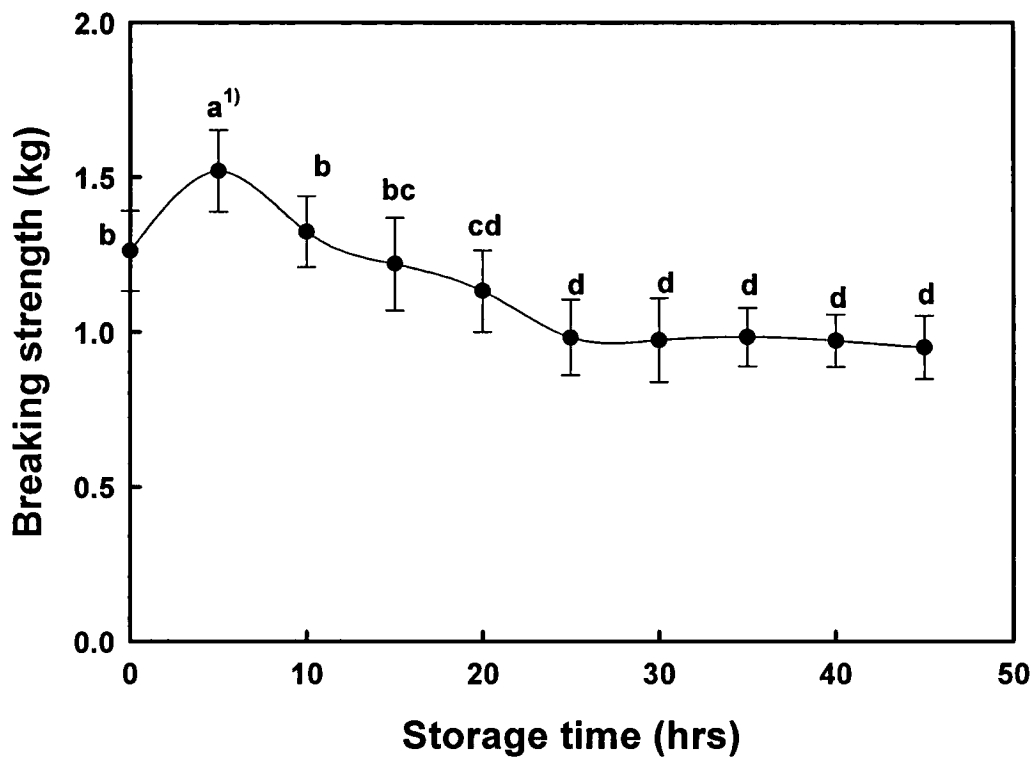


Fig. 3-1-9. Changes of breaking strength on the muscle in black rockfish during storage in ice.

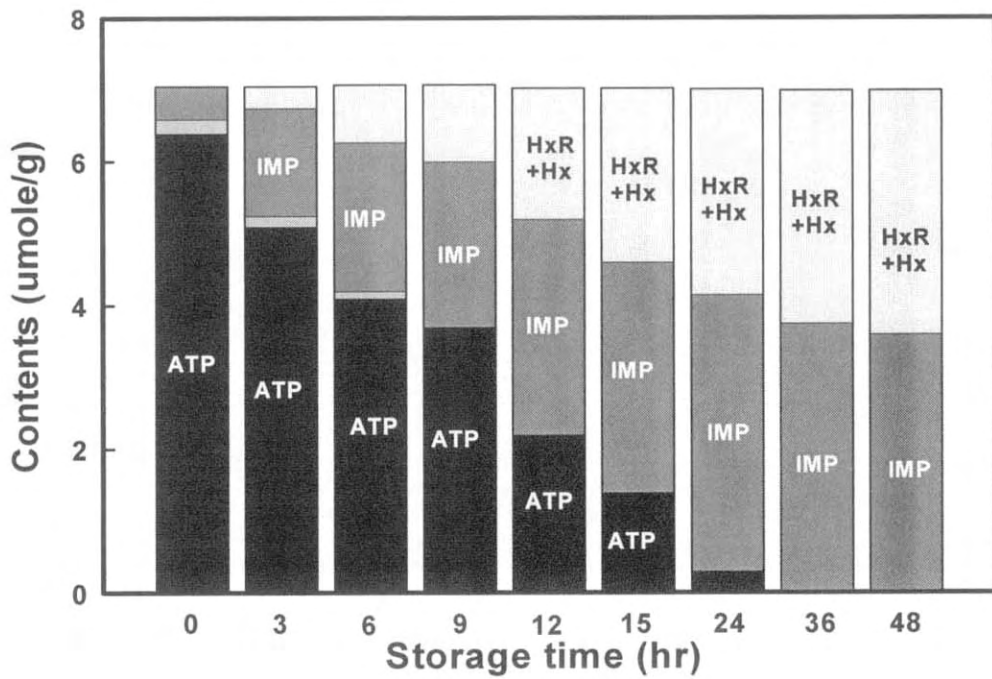


Fig. 3-1-10. Changes of ATP related compounds on the muscle of black rockfish during storage in ice.

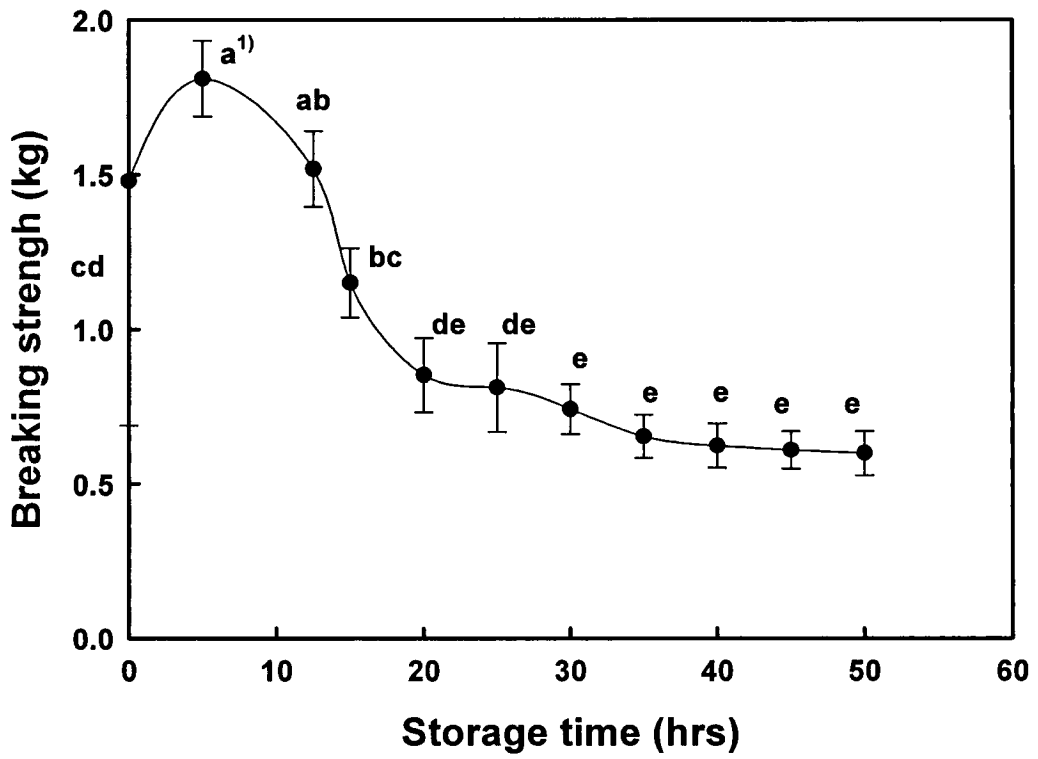


Fig. 3-1-11. Changes of breaking strength on the muscle in red seabream during storage in ice.

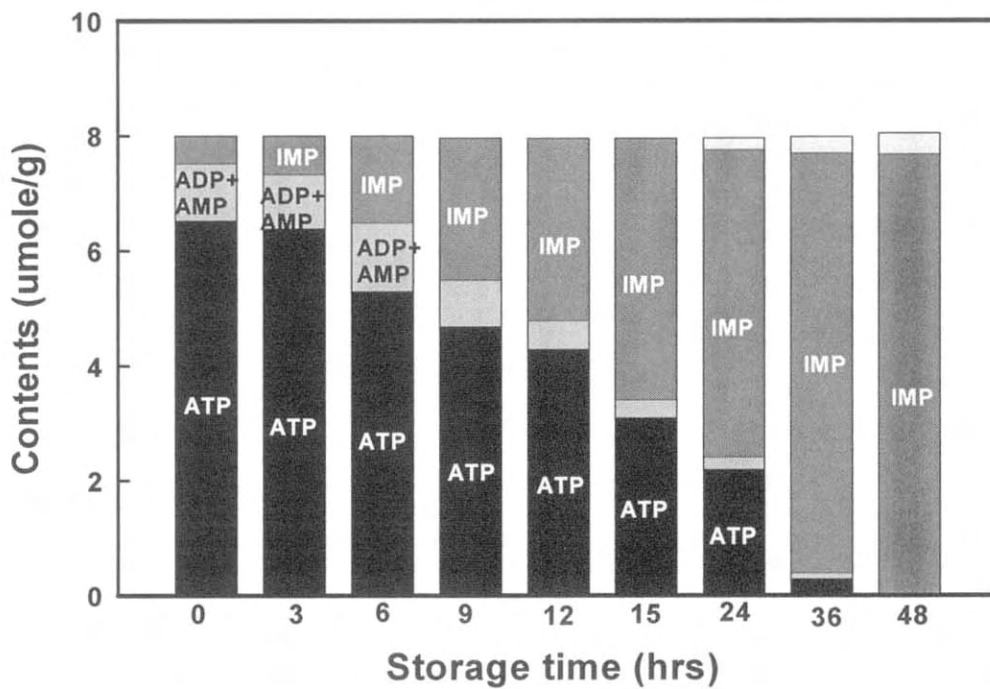


Fig. 3-1-12. Changes of ATP related compounds on the muscle of red seabream during storage in ice.

7) 홍민어

가) 파괴강도의 변화

즉살한 홍민어를 빙장하면서 파괴강도 및 사후경직도의 변화를 Fig. 3-1-13에 나타내었다. 홍민어의 파괴강도는 1.50 kg으로 나타났으며, 다른 어종과 마찬가지로 저장 5시간까지 육질의 단단함이 증가하였으며, 이때의 파괴강도 값은 1.82 kg이었다. 따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 홍민어 싱싱회의 생명시간은 파괴강도 값이 즉살 직후에 비하여 저하된 시점이 아닌 약 10시간까지로 다른 흰살생선과 거의 비슷하였다. 그러므로 싱싱회로 유통하고자 하려면 홍민어의 생명시간인 10시간 이내에 유통되어 소비되어야 할 것으로 판단된다.

나) ATP 관련물질의 변화

Fig. 3-1-14는 홍민어 싱싱회를 빙장 중 육의 ATP 관련물질의 변화를 나타내었다. ATP 관련물질의 총 함량은 약 5.31 $\mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간 동안 총 함량의 변화는 거의 없었다. ATP 함량의 변화는 다른 어종과 마찬가지로 저장 기간동안 감소하였는데, 즉살 직후 4.80 $\mu\text{mole/g}$, 6시간 저장 후에는 3.70 $\mu\text{mole/g}$, 24시간 저장 후에는 0.30 $\mu\text{mole/g}$ 의 ATP 함량을 나타내었다. 30시간 이후에 ATP 함량은 0.30 $\mu\text{mole/g}$ 이하의 함량을 보였다. IMP 함량은 ATP 함량과는 반대로 저장기간이 길어질수록 증가하였는데, 즉살 직후에는 0 $\mu\text{mole/g}$ 이었으나, 저장 3시간, 6시간에는 각각 0.7, 1.4 $\mu\text{mole/g}$ 로 함량이 증가하였다. 24시간에는 3.2 $\mu\text{mole/g}$ 로 높은 IMP을 나타내었다.

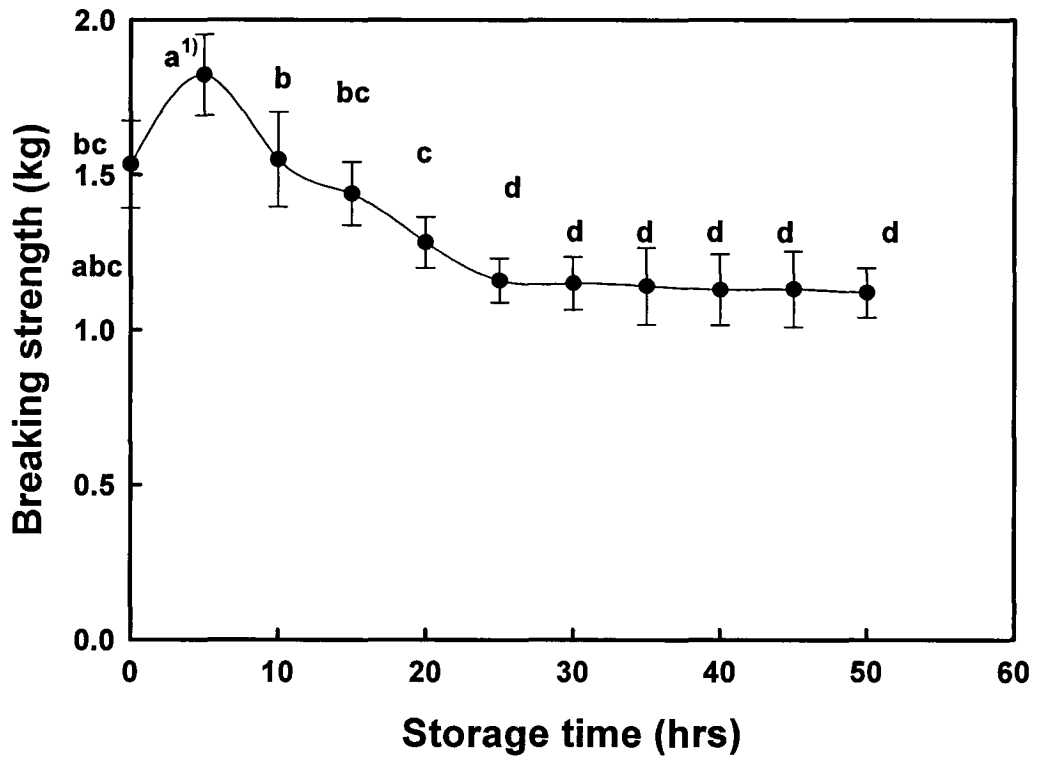


Fig. 3-1-13. Changes of breaking strength on the muscle in red drum during storage in ice.

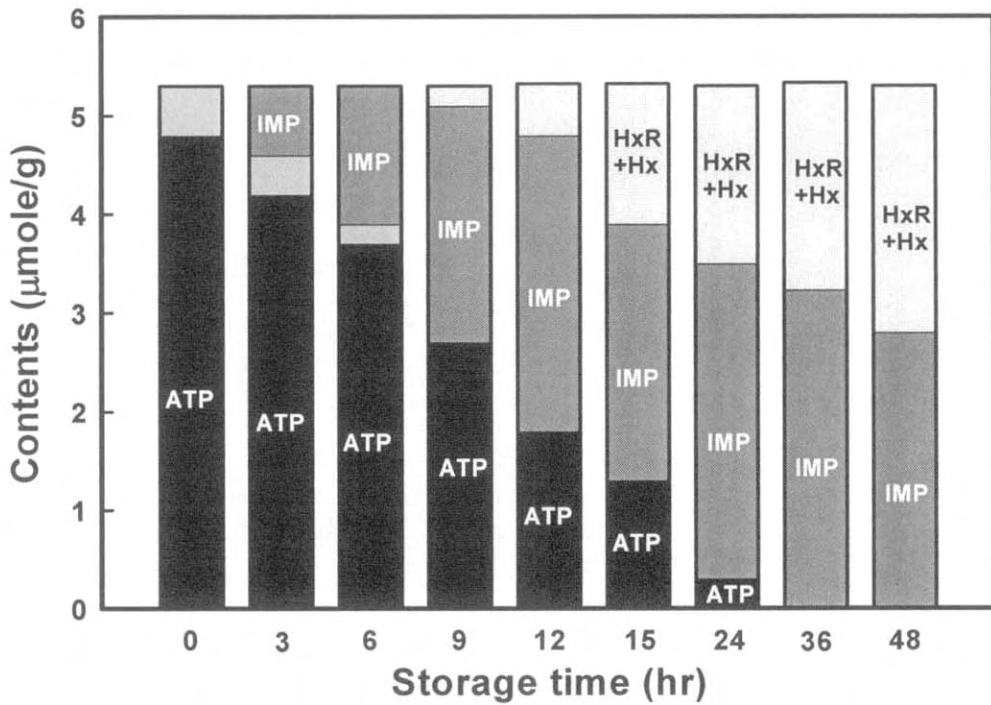


Fig. 3-1-14. Changes of ATP related compounds on the muscle of red drum during storage in ice.

나. 파괴강도와 ATP 함량과의 상관관계

앞서 살펴본 싱싱회의 원료인 넙치, 농어, 방어, 송어, 조피볼락, 참돔, 홍민어를 싱싱회로 제조하여 경과시간에 따른 파괴강도와 ATP 함량과의 상관관계를 살펴보았다(Fig. 3-1-15~3-1-21).

붉은살 생선인 방어를 제외한 조사된 모든 어종에서 싱싱회로 유통되는 시간인 10시간 이내까지는 파괴강도가 즉살직후와 비슷한 값을 유지하였으며, ATP 함량은 어종별로 함량의 차이는 있으나 지속적인 감소 경향을 나타내었다.

어류의 치사 후 맛의 변화는 Nielsen(1995)에 의하여 밝혀졌으며, 첫 번째 맛의 변화는 외관과 씹힘성에 밀접한 관련이 있다고 보고하고 있다. 그리고 씹힘성의 가장 중요한 변화는 사후경직에 의한 것이며, 경직의 개시와 진행은 어류의 종류와 저장온도에 따라서 달라지며(Nielsen, 1995), 사후경직의 진행은 ATP 함량의 감소와 밀접한 연관성이 있다고 보고되고 있다(Korhonen et al., 1990).

앞서 설명한 바와 같이, ATP의 분해는 각 단계마다 관련된 효소의 작용에 의하여 진행되며 분해속도는 어종에 따라 다소 차이가 있으며, ATP 관련물질의 함량은 적색육 어류와 백색육 어류에 따라 큰 차이가 없어 대체로 5~10 $\mu\text{mole/g}$ 이며, 어육은 사후 ATP를 소모하면서 수축을 일으키게 된다는 보고와 거의 유사한 경향을 나타내었다.

그러므로 싱싱회의 유통시간은 파괴강도와 밀접한 관계가 있으며 앞서 제시된 싱싱회 유통시간내의 ATP 함량은 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 그러므로 싱싱회는 육질의 단단함이 즉살직후와 비슷하게 유지되는 것이 가장 중요하며, 10시간 이후부터 육질의 단단함은 크게 감소하게 된다. 이런 이유에서 육질의 단단함을 측정하여 싱싱회 경과시간의 판정이 할 것이며, ATP 함량을 측정하여 간접적으로 싱싱회 경과시간을 판정할 수도 있을 것으로 판단된다.

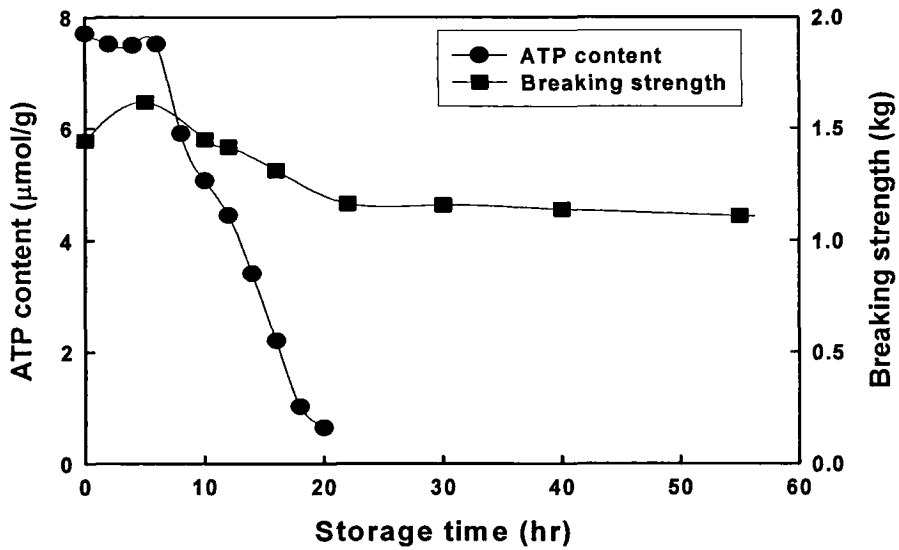


Fig. 3-1-15. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of olive flounder during storage in ice.

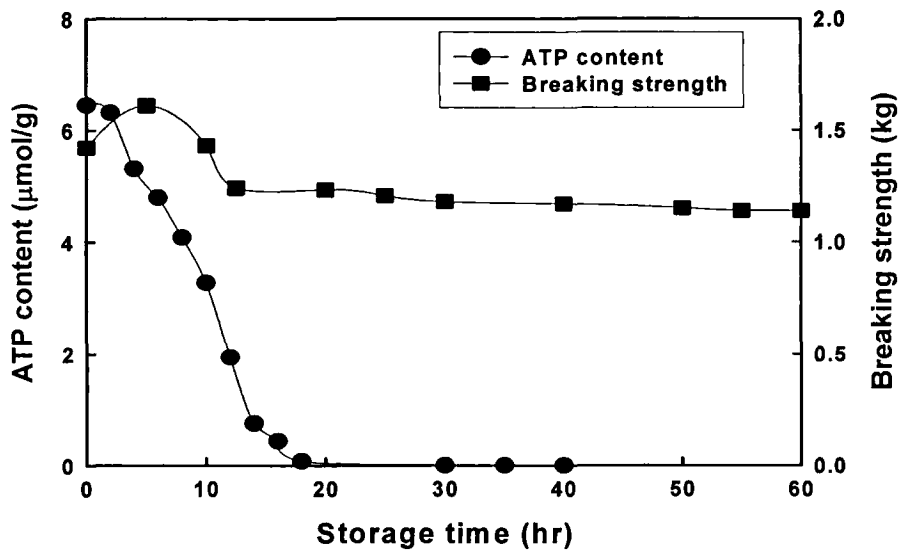


Fig. 3-1-16. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of seabass during storage in ice.

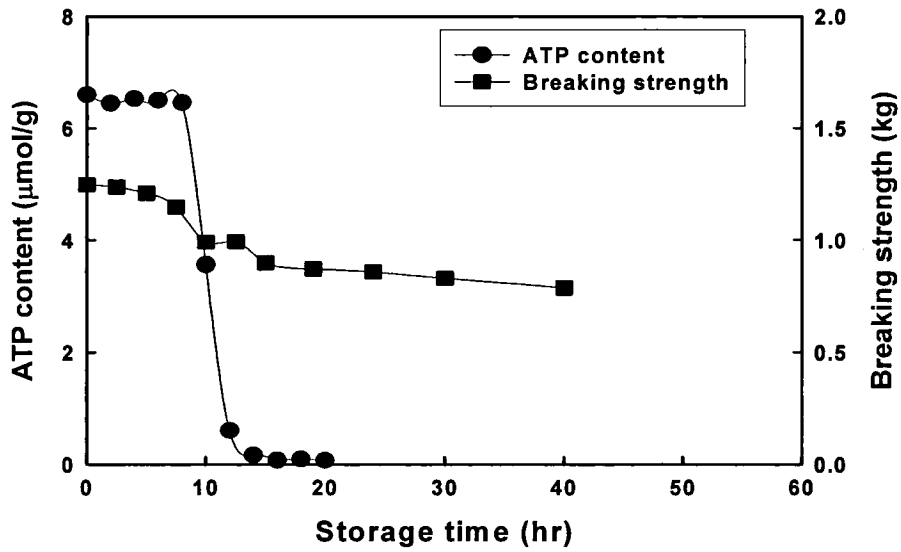


Fig. 3-1-17. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of yellowtail during storage in ice.

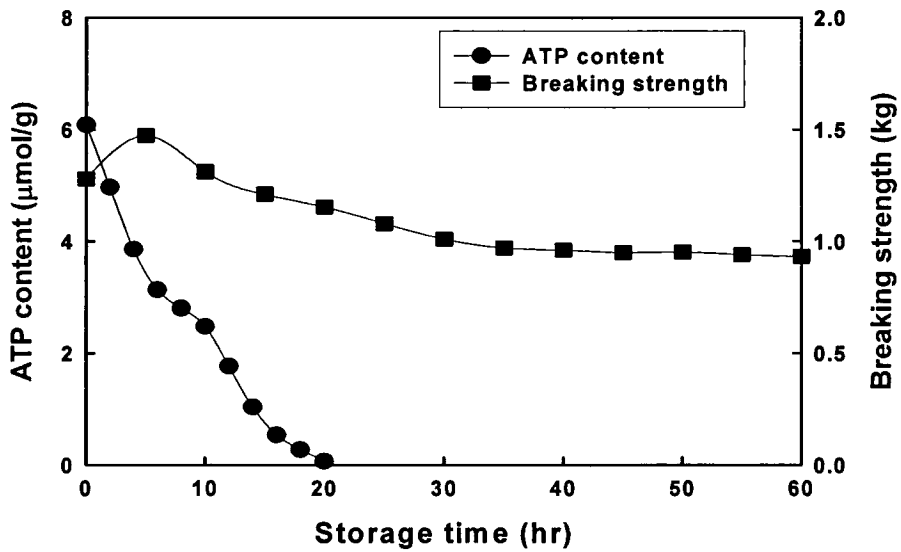


Fig. 3-1-18. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of flathead mullet during storage in ice.

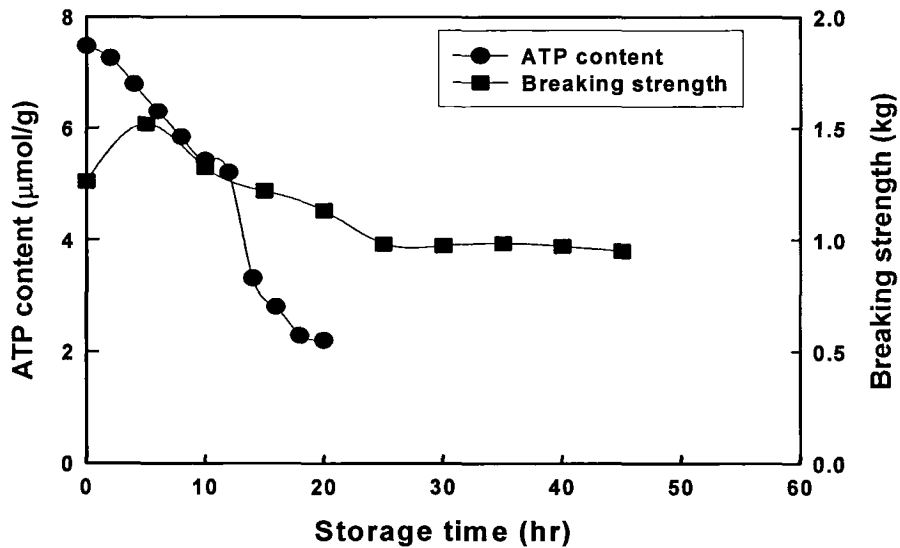


Fig. 3-1-19. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of black rockfish during storage in ice.

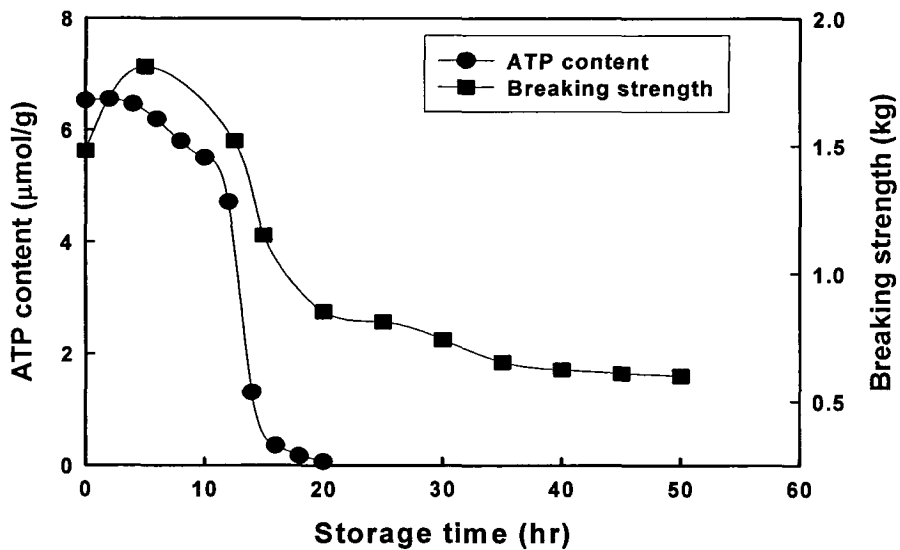


Fig. 3-1-20. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of red seabream during storage in ice.

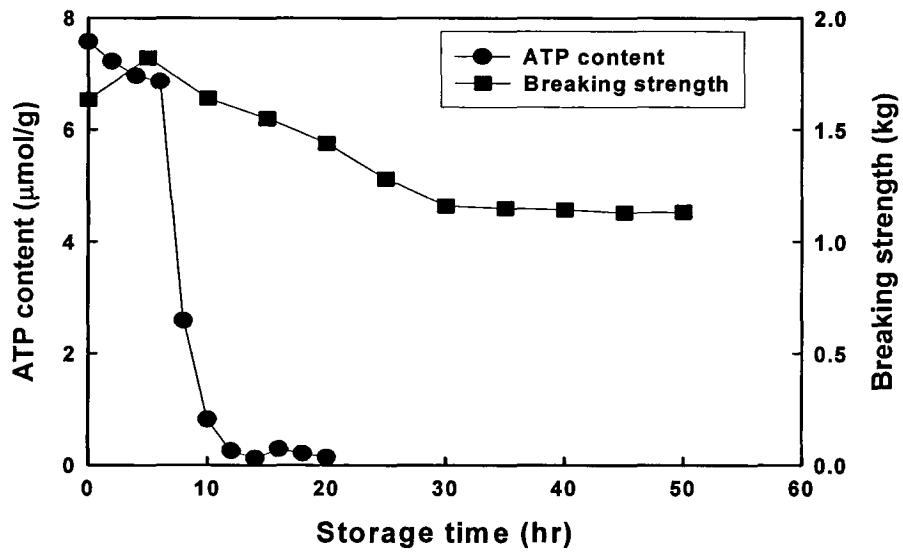


Fig. 3-1-21. Changes of breaking strength and the content of ATP on the muscle of red drum during storage in ice.

제 2절 현장에서 루미노메타에 의한 싱싱회 근육 중의 ATP 함량 측정방법 개발

1. 서론

Kennish and Kramer (1987)은 어육의 ATP 관련물질의 분해를 측정하기 위한 방법으로 어육내에 존재하는 nucleoside와 염기로부터 nucleotide를 분리하기 위해 barium염을 분획하여 추출하는 것을 제시하였으며, 가장 최근의 추출방법은 perchloric acid (PCA)를 이용하는 방법이나 trichloroacetic acid (TCA) 와 acetonitrile 기술이 이용되고 있으며, Chunyan et al., (1995)는 paper chromatography를 이용하여 IMP를 확인하였다.

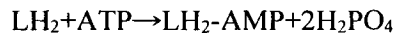
Saito et al. (1959)의 전통적인 방법은 ion exchange chromatography를 이용하는 방법이었으나, 최근에는 HPLC 방법으로 대체되고 있으며, Gill(1992)는 C18 역상칼럼을 이용하여 15분 이내에 단백질이 제거된 어육 추출물에서 IMP, inosine, hypoxanthine을 분석하였다. 기타 capillary electrophoresis(Nguyen et al., 1990), phosphorus-nuclear magnetic resonance (Chiba et al., 1991) 등이 이용되어 ATP 관련물질을 분석하여 어육의 신선함을 측정하고자 하였다. 그리고 North American firefly의 일종인 *Photinus pyralis* 발견된 luciferase라는 효소를 이용하여 어육 내의 ATP 함량을 측정하는 방법이 제시되었으나, 선도측정하기 위한 ATP 함량 측정은 ATP가 치사 후 급격히 감소하기 때문에 적절하지 못하다고 밝히고 있다(Tapani, 1997).

일반적으로 생물학적 발광반응을 이용한 미생물 내에 존재하는 ATP 함량을 정량분석하여 미생물을 간접적으로 신속히 측정하는 방법으로 식품의 경우 Sharp 등(1970)은 여러 가지 식품제조시 생산품의 오염과 손실 및 품질을 관리하는 방법으로 이 방법의 이용가능성을 제시하였으며, Goldschmidt와 Fung(1978)에 의하면 식품에는 미세균성 ATP와 생물학적 발광반응을 방해하는 억제물질이 존재하기 때문에 세균 ATP를 측정하는데 어려움이 있다고 보고하였다. 이처럼 생물학적 발광반응을 이용한 ATP 함량

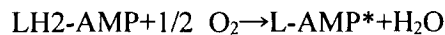
측정은 미생물을 간접적으로 측정하는 방법으로 연구되어져 왔다.

Bioluminescence를 이용하는 assay의 기본 원리는 세포생존(cell viability) 유지에 필수적인 요소인 ATP를 측정하는 것이다. ATP는 건강한 세포에서는 정확하게 조절되지만, 세포의 죽음과 동시에 급격한 분해가 일어난다. ATP는 North American firefly의 일종인 *Photinus pyralis* 발견된 luciferase라는 효소를 이용하여 측정할 수 있다. Luciferase는 ATP와 기질인 D-luciferin사이의 반응을 oxyluciferin으로 산화시킨 뒤 빛을 생성시킨다. 이 반응은 산소, 마그네슘, ATP의 존재 하에 가능하다.

이 발광기구는 반딧불이에서 많이 연구되었는데, 그 개요는 다음과 같다. 즉 발광물질인 D-luciferin은 ATP와 결합하여 D-luciferin-ATP의 복합물을 형성하면서 무기인산 H_3PO_4 두 분자를 생성한다. 이 때 D-luciferin은 환원형이어서 LH_2 와 같이 표기된다.



이 반응에서 생긴 LH_2-AMP (luciferyl adenylate)는 산소와 반응하여 산화되면서 불안정한 에너지 상태에 있게 된다. 따라서 불안정한 상태의 산화 산물은 곧 분해되어 oxyluciferin과 AMP를 생성하면서 빛(hv)을 낸다.



위 식에서 L은 oxyluciferin, L-AMP는 불안정한 에너지 상태의 luciferyl adenylate 복합물을 가리킨다. LH_2-AMP 가 산소($1/2 O_2$)와 반응하여 산화되는 과정은 luciferase라는 효소의 촉매작용에 의하여 이루어진다. 따라서 생물발광은 D-luciferin, ATP, luciferase 및 산소의 존재 하에서 일어난다. ATP가 반드시 필요한 반응이기 때문에 Kinase의 활성을 평가하는데, 이 반응을 이용하기도 한다. 이 밖에도 2가 양이온 중에서 Mg^{2+} , Mn^{2+} , CO^{2+} 등이 있어야 한다는 것도 알려져 있다.

Luciferin과 luciferase가 과량으로 존재할 경우 생성되는 빛의 양은 ATP의 함량에 직접적으로 비례한다.

앞서 살펴본 바와 같이, 심심회의 경과시간 판정지표로써 파괴강도와

ATP 함량을 선정하게 되었는데, 현장에서 레오메타를 이용하여 파괴강도를 측정하는 것과 HPLC를 이용하여 ATP 함량을 측정하는 것은 현장에서의 이용은 여러 가지 문제점이 있다.

그러므로 본 연구에서는 ATP 함량은 미생물을 간접적으로 신속히 측정하는 방법인 luciferase assay kit를 이용한 방법과 육질의 단단함은 휴대용 경도계를 이용한 방법을 이용하여 신속·정확하게 싱싱회 경과시간을 측정하고자 하였다.

식품 중의 세균함량을 간접적으로 측정하기 위해 사용되는 루미노메타는 ATP가 생물학적 물질로 세포내외에 고루 분포하고 있으며, 건물기준으로 ATP 함량은 세균의 세포내 2~10 nmol/mg dwt 함량으로 존재하여 세균마다 차이는 있으나 그 차이는 미미하다. 그러므로 ATP 함량의 추출과 분석을 통하여 세균학적 생물량의 간접적인 정량을 위한 luciferin-luciferase 방법이 사용되어 해수, 임상표본들, 우유, 활성 슬러지 등의 세균함량을 측정하는데 응용되어 왔다. 그리고 Robert and Osmund (1967)는 해양세균의 ATP 함량은 $0.5 \sim 6.5 \times 10^{-9} \mu\text{g}/\text{cell}$ 이라고 보고한 것과 같이, 세균내의 ATP 함량은 극미량으로 이들 함량이 루미노메타를 이용하여 간접적으로 어육내의 ATP 함량 측정에 미치는 영향은 매우 적다.

본 절에서는 어육 중의 함유되어 있는 ATP가 luciferase를 활성화시켜 빛을 발생하게 되며, 빛의 강도는 ATP 함량에 따라서 달라지므로 루미노메타에 나타나는 수치로 어육 중의 ATP 함량을 확인하고자 하였다. 그러나 루미노메타는 측정하고자 하는 도구의 표면을 kit에 설치되어 있는 면봉으로 닦고, kit내의 용액과 반응시켜 RLU값을 측정하게 되어 있다. 그러나 어육내에서 ATP를 추출하기 위해서는 표면만을 닦는 형태가 아니라 어육 중의 함유하고 있는 ATP를 추출하여야 하므로, 어육 중에 있는 ATP의 추출이 용이하고, 루미노메타로 측정이 가능한 최적 용매를 선정하고자 하였으며 선정된 용매를 이용하여 현장에서 신속·정확하게 추출할 수 있는 방법을 확립하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 추출용매의 조제

최적의 추출용매를 선정하기 위하여 각각의 시약을 Sodium phosphate, Dibasic, 12-water($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), Sodium phosphate, monobasic($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), Citric acid($\text{C}_3\text{H}_4(\text{OH})(\text{COOH})_3$), Sodium citrate($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Glycine($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$), Hydrochloric acid, Sodium borate($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), Tris($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$), Tricine($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5$), Trichloroacetic acid (CCl_3COOH), Perchloric acid (HClO_4) 시그마사에서 구입하여 농도별 및 pH별로 제조하여 사용하였다.

나. 루미노메타를 이용한 RLU(Relative light unit)값의 측정

각 농도 / pH에 따라 버퍼를 제조 후 ATP 표준물질의 농도가 $8 \mu\text{mol}/100\text{mL}$ 로 제조하여, 각각의 버퍼 10 mL에 넣고 표준용액을 넣고 혼합한 후, 0.5 mL 취해 Kit (Lucipack W, Swab test, Kikkoman, Japan)에 넣어 반응시킨 후 루미노메타(PD-10, Kikkoman, Japan)를 이용하여 RLU (Relative Light Units)값을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

가. ATP 함량 측정을 위한 최적 조건 선정

1) 최적의 추출용매 선정

추출용매로는 glycine buffer, tris-HCl buffer, citrate buffer, tris-malate buffer, tricine buffer, phosphate buffer, borate buffer, perchloric acid (PCA), trichloroacetic acid (TCA)를 농도별, pH별로 제조하여, 이들 buffer에 $8 \mu\text{mol}$ 의 ATP 표준물질과 어육추출액을 루미노메타로 측정하여 가장 높은 수치를 보이는 버퍼를 선정하고자 하였다.

우선 농도 0.1 M, pH 6.8로 조정하여 각 버퍼를 제조하여 ATP 표준물질과 반응시켜 RLU를 측정한 결과, tris-HCl (pH 6.8), tris-malate buffer, tricine, Water, 20 % TCA, 10 % PCA에서는 ATP 표준물질과 반응시 RLU값이

나타나지 않았으며, glycine buffer (pH 6.8)는 362,732 RLU, citrate buffer (pH 6.8)와 phosphate buffer (pH 6.8)는 각각 225,652 RLU와 70,660 RLU값을 나타내었다. 그리고 borate buffer (pH 6.8)는 676,402 RLU로 나타났다(Fig. 3-2-1).

조사된 결과를 바탕으로 ATP 표준물질을 용해시켜 루미노메타에서 RLU값이 나타나지 않은 용액, tris-HCl (pH 6.8), tris-malate buffer, tricine, water, 20% TCA, 10% PCA는 제외시키고, 이들 추출용매에서 ATP 표준물질을 용해시켜 루미노메타와 반응한, glycine buffer, citrate buffer, phosphate buffer, borate buffer를 농도는 0.1M, 0.5M, 1.0M, pH는 6.0, 6.8, 7.5로 제조하여 반응시켰다(Fig. 3-2-2).

버퍼의 특성상 glycine은 pH 1.8, 2.0, 2.5, 2.8, 6.0, 6.8, 7.5, 농도는 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M로 조제하여 ATP 표준물질과 반응시킨 결과, Fig. 3-2-1과 비슷하게 0.1 M, pH 6.8의 glycine buffer에서만 370,852 RLU로 나타났으며, 동 농도의 pH 2.8에서는 36 RLU, 0.5 M, pH 2.0에서는 2 RLU로 나타났으며, 기타 버퍼에서는 4배까지 희석하였으나 최대치를 초과하였다(Fig. 3-2-2.(C))

Borate buffer phosphate buffer, citrate buffer는 농도 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, pH 6.0, 6.8, 7.5로 각각 조제하여 ATP 표준물질과 반응시켰다. 그 결과, borate buffer는 0.1 M의 농도에서는 각각 217,679±28,090 RLU (pH 6.0), 664,323±5,157 RLU (pH 6.8), 656,707±24,765 RLU (pH 7.5)로 나타났다(Fig. 3-2-2.(D)).

그러나 기타 농도에서는 pH에 의한 용해도 문제로 인하여 buffer가 제조되지 않아 측정할 수 없었다.

Phosphate buffer은 1 M의 농도에서는 표품을 4배까지 희석하였으나, 최대검출한계인 999,999 RLU를 초과하였으며, pH 6.8, 7.5, 6.0순으로 나타났으며(Fig. 3-2-2.(A)), Citrate buffer는 phosphate buffer와 마찬가지로의 농도별, pH별로 제조하여 조사 한 결과, 0.5 M, 1.0 M, 0.1 M순으로, pH 7.5, 6.8, 6.0순으로 나타났다(Fig. 3-2-2.(B)).

위 결과를 토대로, ATP 표준물질을 이용한 루미노메타에서 RLU값을

얻지 못한 버퍼를 제외한, 농도별, pH별로 조제된 phosphate buffer, citrate buffer, borate buffer 10 mL에 어육 0.5 g을 첨가하여 소형균질기를 이용하여 40 초 동안 균질화 한 후, 여과시킨 액을 0.5 mL 취해 Kit (Lucipack W, Swab test, Kikkoman, Japan)에 넣어 반응 시킨 후 루미노메타를 이용하여 RLU값을 측정하였다.

Phosphate buffer는 0.1 M에서 ATP 표품과 마찬가지로 4배까지 희석하였으나 기계의 최대치를 초과하였으며, 0.3 M에서는 각각 1,007,841±16,596 RLU(pH 6.0), 1,857,031±85,782 RLU(pH 6.5), 2,153,742±91,502 RLU(pH 6.8), 3,036,936±230,834 RLU(pH 7.0)를 나타내었으며, pH 7.5에서는 4배까지 희석하였으나 최대치를 초과하였다. 0.5 M에서도 0.3 M 농도의 phosphate buffer와 마찬가지로 pH가 상승할수록 높은 RLU값을 나타내었으며, 1 M에서도 기타 농도와 유사한 결과가 나타났으나 pH 7.5에서는 최대치를 초과하였다(Fig. 3-2-3.(A)).

Citrate buffer는 phosphate buffer와 비슷한 경향으로 pH가 상승할수록 RLU값도 높아졌으나, 0.3 M, 1 M에서는 4배까지 희석하였으나 최대치를 초과하였다. 반면, 0.1 M에서는 pH 6.0에서는 449,140±112,356 RLU, pH 6.5에서는 898,817±104,022 RLU, pH 6.8에서는 1,286,510±63,258 RLU, pH 7.0에서는 1,553,825±74,680 RLU를 나타내었다. 그리고 0.5 M의 농도에서는 pH별(6.0, 6.5, 6.8, 7.0, 7.5)로 각각 86,722±7,682 RLU, 310,099±2,423 RLU, 482,411±38,216 RLU, 589,265±44,292 RLU, 644,175±17,272 RLU를 나타내었다. (Fig. 3-2-3.(B)).

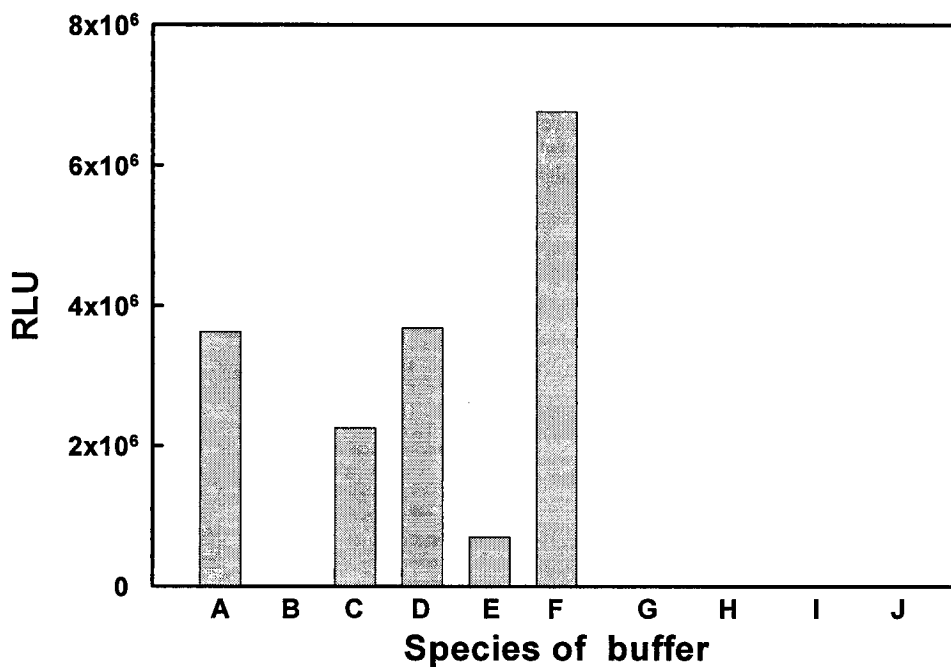


Fig. 3-2-1. Change of relative light unit(RLU) by various buffer when reaction with 8 μ mol ATP standard.

A : Glycine buffer (pH 6.8)

B : Tris-HCl (pH 6.8)

C : Citrate buffer (pH 6.8)

D : Tris-malate buffer (pH 6.8)

E : Phosphate buffer (pH 6.8)

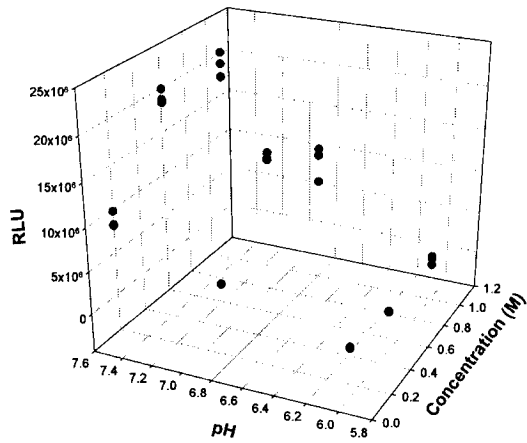
F : Borate buffer (pH 6.8)

G : Tricine

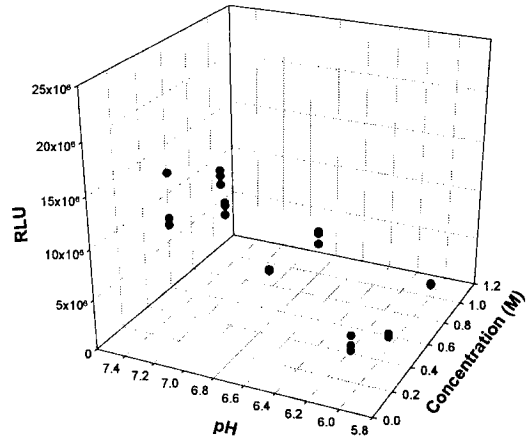
H : Water

I : 20% TCA

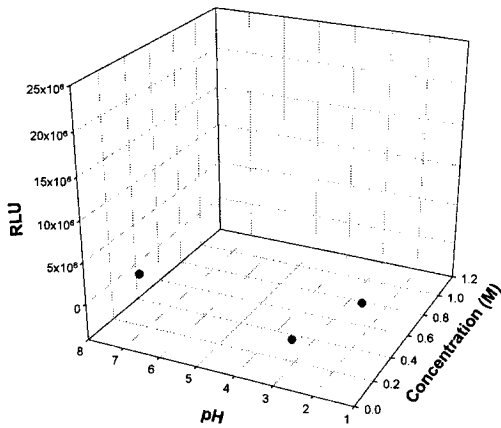
J : 10% PCA



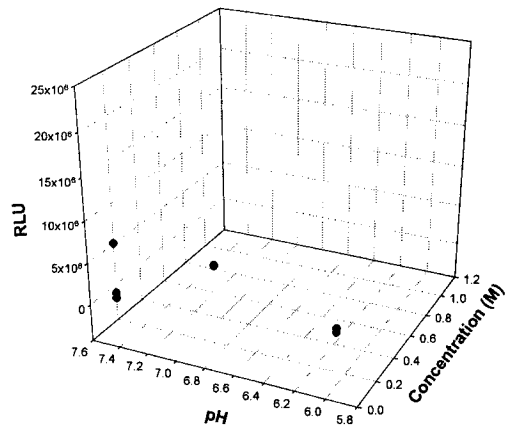
(A) Phosphate buffer



(B) Citrate buffer



(C) Glycine buffer



(D) Borate buffer

Fig. 3-2-2. Changes of relative light unit (RLU) with phosphate, citrate, glycine and borate buffer that reaction with 8 μ mol ATP standard solution by various concentration and pH.

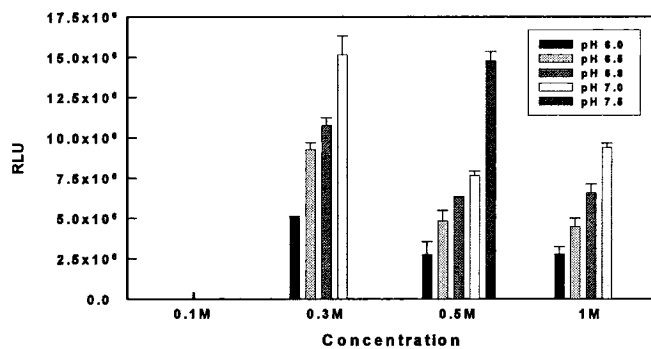
앞서 ATP 표준물질과의 반응에서도 살펴본 바와 같이 Borate buffer는 0.1 M에서만 pH별로 buffer가 조제되었으며, 그 결과 pH 별로 각각 371,180±96,229 RLU(pH 6.0), 414,290±302,953 RLU(pH 6.5), 1,090,820±251,855 RLU(pH 6.8), 1,253,133±393,883 RLU(pH 7.0), 1,054,434±573,554 RLU(pH 7.5)으로 나타나 phosphate buffer, glycine buffer에 비하여 낮은 RLU를 나타내었다(Fig. 3-2-3.(C)).

그러나 ATP Bioluminescence assay kit CLS II의 매뉴얼을 살펴보면 *in vitro* 상에는 luciferase 반응의 가장 적합한 pH는 7.75이며, 고농도의 버퍼의 기타 pH를 가지는 시료나 지나친 pH값을 가지는 시료는 예견하지 않는 빛반응에 영향을 줄 수 있다고 하였으나 실제 어육의 이용에서는 다소 차이가 있었으며 또한 Tris-buffer 계열이 어육 내에서 ATP를 추출하기에는 용이하나 본 연구가 luciferin-luciferase 혼합물을 이용하여 ATP함량을 측정하는 것으로, 이 추출용매가 효소반응을 저해하여 RLU값이 전혀 나타나지 않는 결과를 확인하였다.

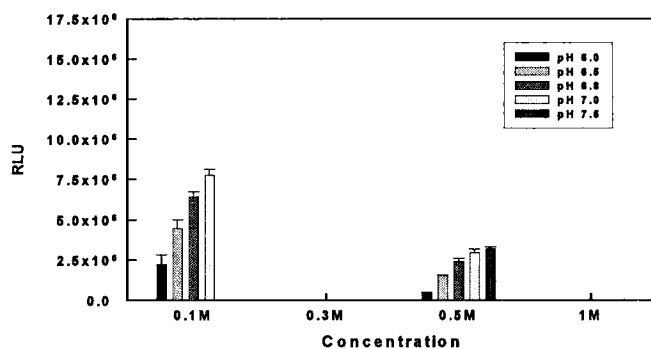
이상의 결과를 살펴볼 때, 저온 보관시 염이 형성되는 단점은 있으나 현장에서 희석단계가 나뉘어지면 사용상의 문제점과 농도별, pH별로 가장 잘 반응한 phosphate buffer를 선정하였으며, 측정된 값들의 편차와 적은 희석단계 등을 고려하여, 0.5M phosphate buffer (pH 6.8)를 루미노메타로 어육 중의 ATP함량을 측정하기 위한 최적의 추출용매로 선정하였다.

2) 최적의 추출방법 선정

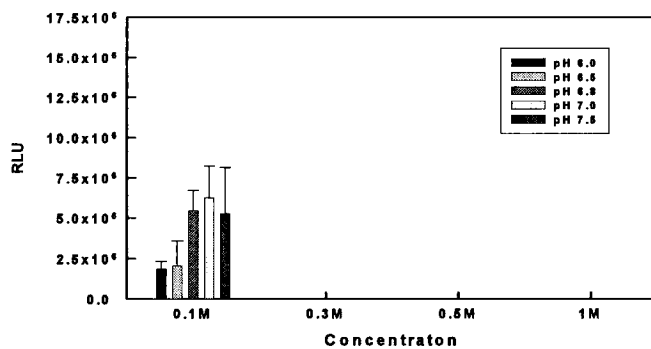
본 연구의 목적은 현장에서 신속·정확하게 심심회 경과시간을 판정하는 것이며, 이를 위해서는 장비 등을 이용하여 추출하는 방법보다는 손쉽게 어육내의 ATP를 추출할 수 있는 방법을 선정하는 것이 매우 중요하다. 그러므로 일정량의 어육과 추출용매를 혼합하여 비닐팩에서 손으로 일정시간 주물러 추출하는 방법을 고려하였다.



(A) Phosphate buffer



(B) Citrate buffer



(C) Borate buffer

Fig. 3-2-3. Changes of relative light unit (RLU) phosphate, citrate, glycine and borate buffer that reaction with extract from olive flounder by various concentration and pH.

그러므로 이를 위한 방법으로 최적의 사용육의 양과 추출액의 양을 조사하였으며, 추출시간과 추출방법에 의한 어육 중의 ATP 함량을 조사하여 최적의 추출방법으로 선정하고자 하였다.

Table 3-2-1은 0.5 M phosphate buffer(pH6.8) 50 mL에 어육의 양을 증가시키는 방법을 통해 추출용매 중의 ATP함량을 측정한 결과로써 어육 양이 증가할수록 ATP 함량은 증가되는 것을 확인할 수 있었다.

다음으로는 균질기를 이용한 추출방법과 비닐팩에 어육과 추출용매를 넣고 주물러서 추출하는 방법을 검토하여, 최적의 추출방법을 선정하기 위해 넙치 싱싱회를 빙장 중 경과시간에 따른 RLU값을 측정하여 보았다(Table 3-2-2). 이 때, 균질기를 이용한 방법은 50 mL 원심관에 즉살한 어육 2.5 g과 22.5 mL의 추출용매를 넣고 균질기로 균질화 한 후 5분간 방치하고 주사기 여과한 후 측정하였으며, 비닐팩에 즉살한 어육 2.5 g과 22.5 mL의 buffer를 넣고 손으로 약 1분간 주무른 후 주사기로 여과한 후 측정된 결과, 균질기를 이용하여 균질화한 시료와 비닐팩을 이용하여 손으로 주물러서 추출한 방법은 측정값에서는 다소 차이가 있었으나 비슷한 감소경향을 나타내었다.

이와 같이 어육의 양이 증가할수록 RLU값은 증가하였으며, 추출방법에서도 균질기를 이용하는 방법과 비닐팩을 이용한 방법이 싱싱회 경과시간에 따른 ATP 함량의 감소경향이 비슷하여, 손으로 주물러서 추출하는 방법으로 최적의 주무르는 시간을 선정하고자 하였다. 그러나 추출용매와 사용육의 양이 각각 50 mL, 2.5 g의 경우는 주무르는 동안 어육을 완전히 문지르지 못하는 경우가 발생하여 각각의 양을 5배로 줄여 사용하게 되었다.

다음으로는 사용되는 근육의 양은 일정하게 하고 손으로 문지르는 시간에 따른 ATP 함량 변화를 조사하였다. 즉, 넙치를 싱싱회로 제조하여 10시간 경과 후, 근육 0.5 g, 추출용매 10 mL 그리고 비닐팩을 사용하여 각각 1분, 2분, 3분, 4분간 주무른 후 ATP 함량을 조사하였다(Fig. 3-2-4). 주무르는 시간이 증가할수록 측정되는 RLU값은 증가하였으나, 2분 이후에는 감소하는

경향을 나타내어 최적의 조건은 2분 동안 주물러서 추출하는 것으로 판단된다(Fig. 3-2-4).

현장에서 신속·정확하게 어육 중의 ATP 함량을 측정하기 위해서는 비닐팩을 이용하며, 어육은 0.5 g에 추출용매 10 mL를 넣고 2분 동안 손으로 주물러서 루미노메타로 측정하는 방법을 선정하였다.

나. 싱싱회의 경과시간에 따른 루미노메타를 이용한 ATP 함량 측정

앞서 살펴본 손으로 주물러서 어육으로부터 ATP를 추출하는 방법을 이용하여 넙치, 농어, 방어, 송어, 조피볼락, 참돔, 홍민어를 싱싱회로 제조하여 빙장 중 저장시간에 따라 ATP 함량을 조사한 결과를 Fig. 3-2-5에 나타내었다. Fig 3-1-15~3-1-21에 나타낸 넙치, 참돔, 조피볼락, 농어, 송어, 방어, 홍민어의 ATP함량을 HPLC로 분석한 결과와 유사하게 저장기간동안 감소하는 경향을 나타내었다. 그러나 농어와 송어는 다른 어종과는 달리 낮은 RLU값을 나타내었으며, 방어는 8시간 이후에 급격하게 감소하였다. 또한 넙치, 조피볼락, 참돔은 비슷한 경향으로 시간이 경과함에 따라서 감소하였으며, 방어, 참돔, 홍민어는 12~14시간 경과 후에는 ATP가 완전히 소멸된 것을 확인할 수 있었다.

이와 같이 손으로 주물러서 어육 중의 ATP를 추출하여 루미노메타로 RLU값을 조사하여 싱싱회 경과시간에 따른 ATP 함량 조사가 가능할 것이며, 현장에서 쉽고 신속·정확하게 판정할 수 있을 것이다.

그러나 어종별로 감소하는 경향이 다르게 나타나, 하나의 통일된 RLU값을 모든 어종의 싱싱회 경과시간에 적용하기에는 다소 무리가 있을 것으로 판단되며, 어종별로 각기 다른 RLU값의 범위를 적용하기 위해서는 어종별로 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP 함량의 변화를 정확하게 확인하여야 할 것이다.

Table 3-2-1. Changes of the ATP concentration measuring with the lumitester by various muscle weight (unit : RLU)

Muscle weight	RLU
0.1g/50mL buffer	33,592
2g/50mL buffer	633,995
5g/50mL buffer	805,592

Table 3-2-2. Changes of the ATP concentration measuring with the lumitester by various extraction method (unit : RLU)

	Homogenizer	Clean bag
0hr	102,594	93,133
8hr	149,839	125,851
28hr	1372	899
52hr	878	672
76hr	437	743
100hr	541	331

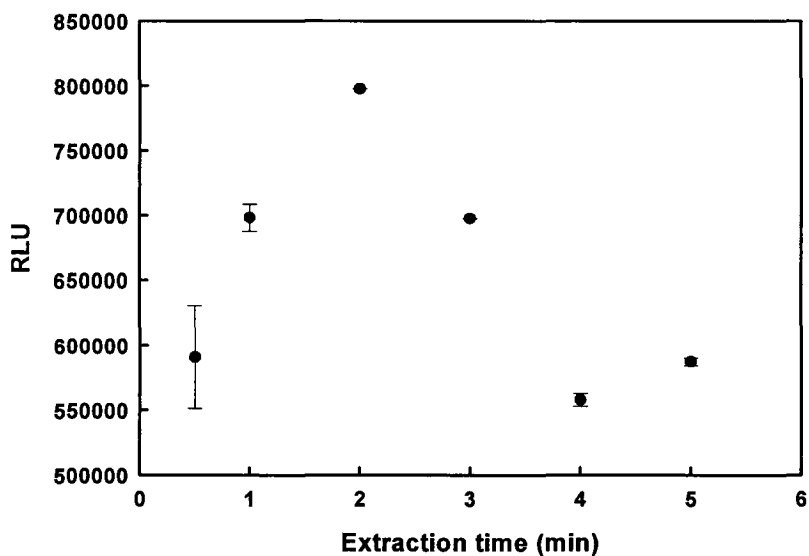


Fig. 3-2-4. Changes of RLU on the muscle of olive flounder which passed 10hrs during storage in ice by extraction time.

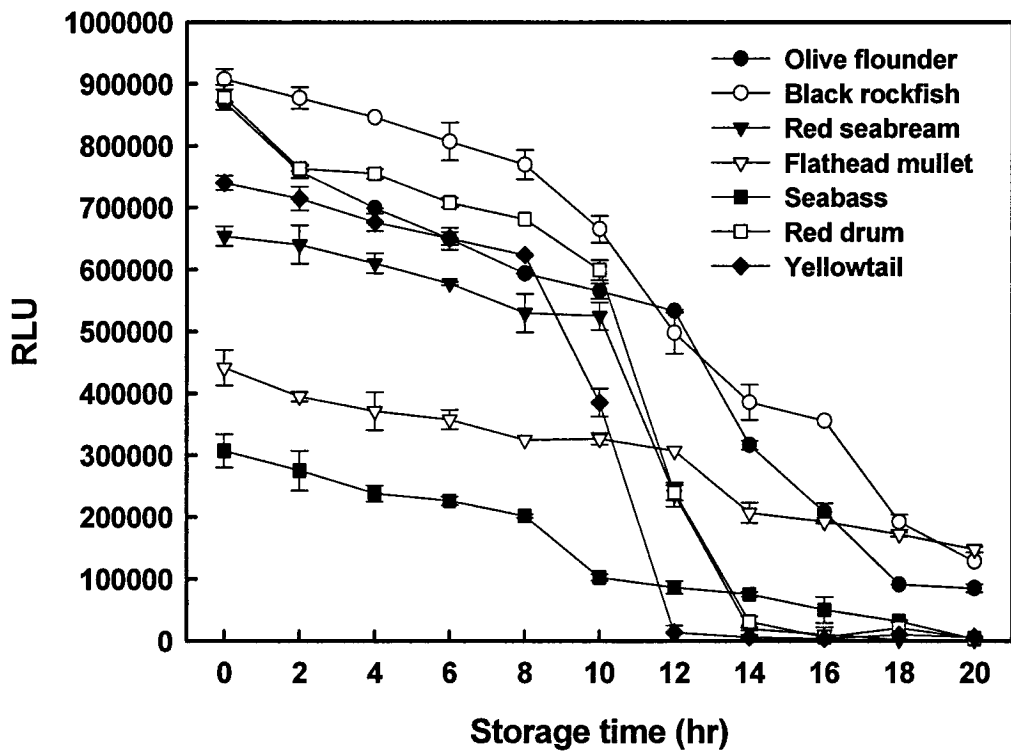


Fig. 3-2-5. Changes of the ATP concentration on the muscle in various fish during storage in ice.

다. 크기 및 부위별 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP 함량 변화

Fig. 3-2-6은 넙치를 500 g, 700 g, 1,050 g 크기별로 구입하여 싱싱회로 제조하여 빙장 중 ATP 함량을 조사하였으며, 손으로 주물러서 추출하는 방법은 실험자간의 누르는 힘의 차이 등으로 인하여 실험오차가 발생할 수 있으므로 실험자를 달리하여 조사하였다. 그 결과, 500 g의 넙치 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP함량의 변화는 실험자 1은 경과 8시간에 612,935 RLU였으나 실험자 2는 731,167 RLU값을 나타내었다. 또한 700 g의 넙치 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP함량의 변화는 실험자 1은 경과 8시간에 654,837 RLU였으나 실험자 2는 756,529 RLU값을 나타내었다. 또한 1,050 g의 넙치 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP함량의 변화는 실험자 1은 경과 8시간에 689,417 RLU였으나 실험자 2는 770,336 RLU값을 나타내었다. 크기가 클수록 높은 RLU값을 나타내었으며, 경과시간에 따라 앞서 살펴본 결과와 마찬가지로 RLU값이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 실험자를 달리하여 측정한 값은 감소하는 경향은 유사하였으나 500 g, 1,050 g에서는 측정값 RLU값에는 다소 차이가 나타났으며, 싱싱회의 저장 10시간을 기준으로, 10시간 전에는 실험자간의 편차가 심하였으나, 10시간 이후에는 그 편차가 미미하였다.

다음으로는 800 g내외의 제주산 넙치를 등육, 중간육, 꼬리육, 배육으로 나누어 부위별에 따른 넙치 싱싱회의 ATP 함량을 조사한 결과, 부위별 차이는 미미한 것으로 나타났다(Table. 3-2-3).

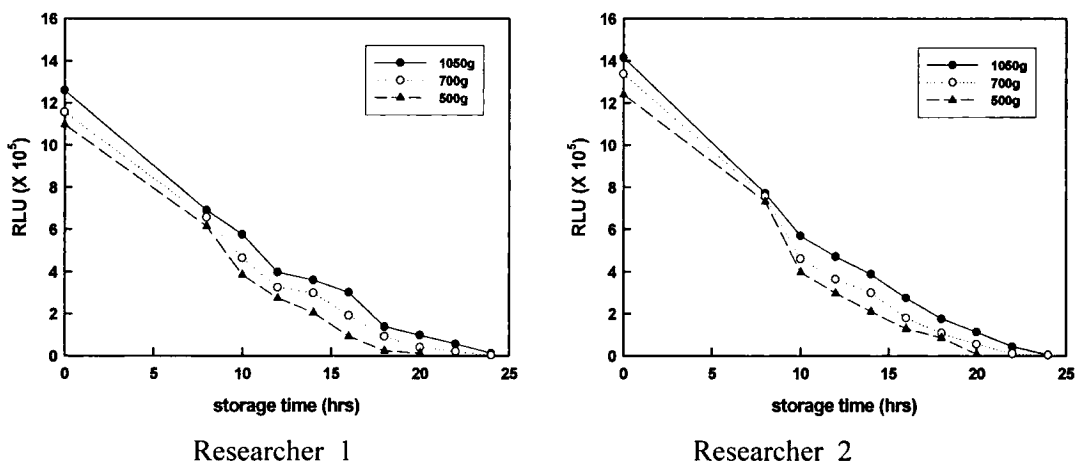


Fig. 3-2-6. Changes of the ATP concentration measuring with lumitester by various weight and researcher.

Table 3-2-3. Changes of the ATP concentration measuring with lumitester by various part

Part I (Dorsal muscle)		Part II (Middle muscle)		Part III (Tail muscle)		Part IV (ventral muscle)	
RLU	ATP ¹⁾ contents ($\mu\text{mol/mL}$)	RLU	ATP contents ($\mu\text{mol/mL}$)	RLU	ATP contents ($\mu\text{mol/mL}$)	RLU	ATP contents ($\mu\text{mol/mL}$)
1,937,612	6.1	1,935,888	6.1	1,856,744	5.9	1,899,396	6
1,927,588	6.1	1,801,516	5.7	1,825,188	5.8	1,808,176	5.7
1,778,588	5.6	1,740,620	5.5	1,760,344	5.6		

¹⁾; Estimated value from ATP standard curve using D-luciferin/luciferase luminescent reagent.

라. 추출방법 및 실험자간의 오차

현장에서의 신속, 정확한 방법을 통하여 싱싱회의 경과시간을 판정하기 위한 방법으로 실험자가 손쉽게 어육에서 ATP를 추출하여 측정할 수 있는 방법을 모색하였다. 그 결과로써, 비닐팩에 어육과 추출용매를 혼합하여 손으로 주물러서 추출하고자 하였으나 실험자간의 큰 편차 등이 확인되어, 추출방법을 달리하여 즉, 추출방법을 비닐팩을 이용한 방법(A), 시험관을 이용한 방법(B), 막자사발을 이용한 방법(C), 소형균질기를 이용한 방법(D)으로 실험자들을 달리하여 어육에서 추출된 ATP를 루미노메타로 확인하고자 하였다(Fig. 3-2-7).

손으로 주물러서 측정하는 방법을 실험자간의 차이를 살펴보면, 각각 $709,162 \pm 47,637$ RLU, $842,081 \pm 39,051$ RLU로 나타나 실험자간의 유의적인 차이를 나타내었으며, 시험관을 이용한 방법은 $365,598 \pm 80,413$ RLU, $422,458 \pm 10,417$ RLU으로, A 추출방법보다는 편차는 작았으나, 전체적인 RLU값은 낮았다. 막자사발을 이용한 방법에서는 $413,892 \pm 118,989$ RLU, $371,115 \pm 136,591$ RLU로 재현성이 매우 낮게 나타났다(Fig. 3-2-8).

마지막으로 소형균질기를 이용한 방법은 $1,375,477 \pm 21,456$ RLU, $1,326,508 \pm 22,857$ RLU로 실험자간의 편차가 다른 추출방법과 비교하여 매우 낮았으며, 높은 재현성과 기타 추출방법보다 높은 RLU값을 나타내었다.

앞서 손으로 주물러서 추출한 방법의 어육의 양, 부위별 그리고 크기별에 따른 ATP 함량의 차이와 어종별로 싱싱회 경과시간에 따른 ATP 함량의 감소경향을 살펴보았으며, 그 결과 어육의 양이 증가할수록 RLU값이 상승하였으며, 측정 부위에 따른 RLU값의 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 3-2-8).

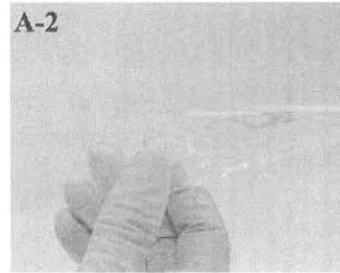
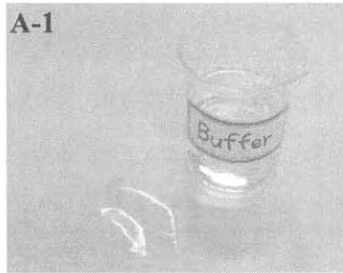
그러나 본 연구에서는 싱싱회 경과시간을 ATP와 luciferin-luciferase 혼합물이 반응하여 루미노메타에서 나타난 RLU값을 경과시간에 따라 범위를 설정하여 판정하고자 한다. 이런 이유에서 손으로 주물러서 판정하는 방법은 실험자간의 편차가 심하며, 시험관 및 막자사발을 이용한 방법은 실험자간의 편차 및 재현성 등이 문제가 있어 현장에서 신속하게는 이용 가능하지만

정확한 판정이 어려울 것으로 판단된다.

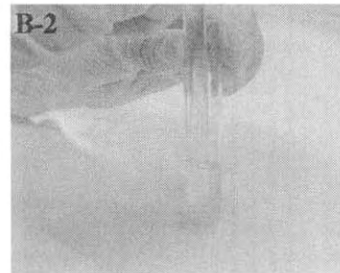
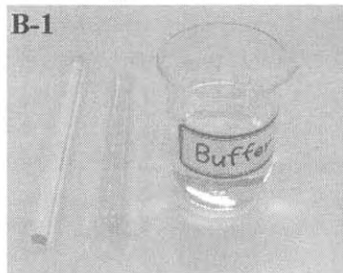
그러므로 신속·정확한 판정을 위하여 소형 균질기를 이용한 방법을 최적의 추출방법으로 선정하였으며, 그 방법은 다음과 같다(Fig. 3-2-7(D)).

소형균질기의 유리 용기에 근육 0.5 g, 0.5 M phosphate buffer (pH 6.8) 10 mL를 취해 40초간 15,000 rpm으로 균질화시키고 여과하여 0.5 mL를 kit (Lucipack W, Swab test, Kikkoman, Japan)에 넣어 30초간 흔든 후 1분 방치하여 루미노메타(PD-10, Kikkoman, Japan)로 RLU값을 측정한다.

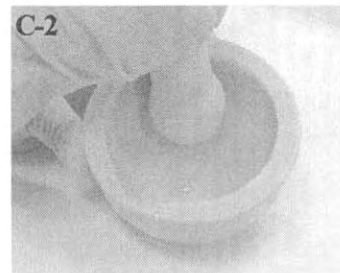
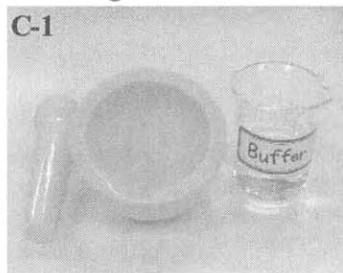
Extractive method



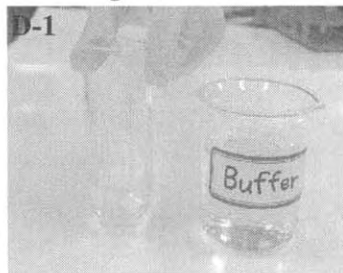
A. Using Clean bag



B. Using test tube



C. Using mortar



D. Using homogenizer

Fig. 3-2-7. Extraction method from the muscle of fishes and measuring method of the ATP concentration by lumitester.

Measuring of the ATP concentration by Lumitester

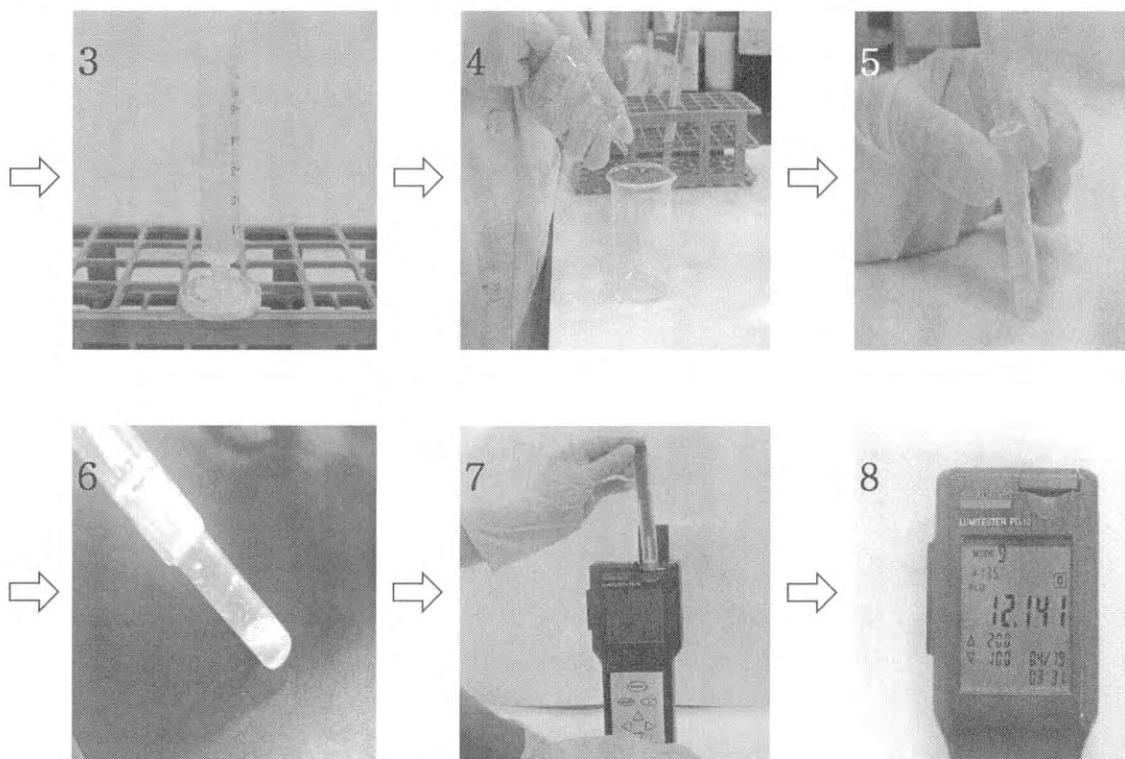


Fig. 3-2-7. Extraction method from the muscle of fishes and measuring method of the ATP concentration by lumitester.

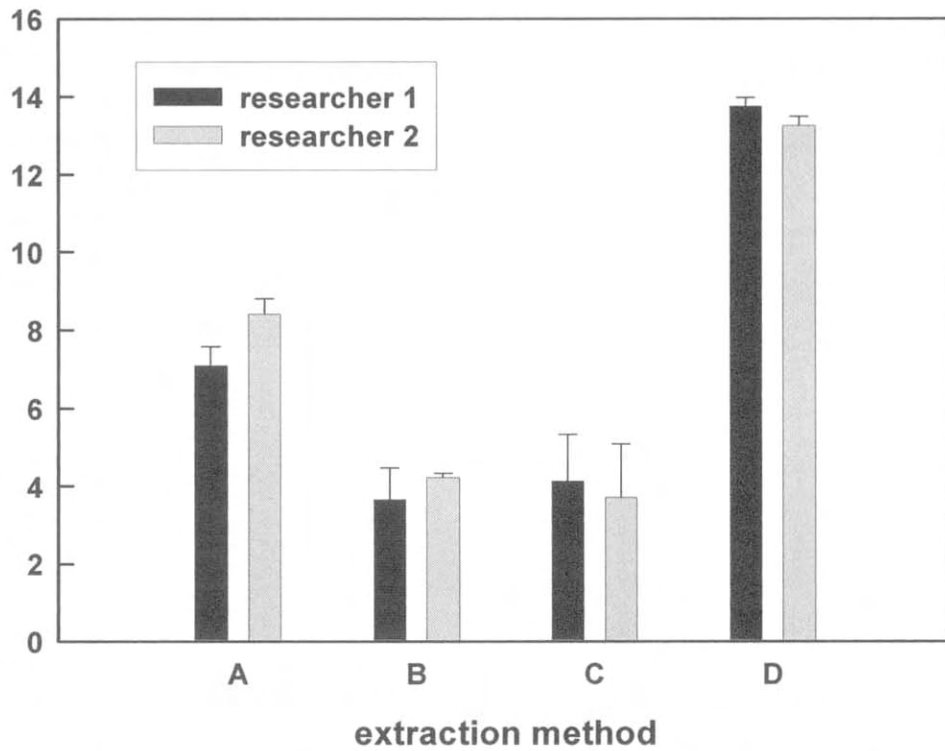


Fig. 3-2-8. Difference RLU that two researcher measure the content of ATP on the muscle in olive flounder by various extraction method.

마. 소형균질기를 이용한 어종별, 크기별에 따른 ATP 함량 측정

넙치, 농어, 방어, 송어, 조피볼락, 참돔, 홍민어를 크기별로 구입하여 싱싱회로 제작한 후, 경과시간에 따른 ATP 함량을 소형균질기(AM-2, NISSEI, JAPAN)를 이용하여 조사하였다. 앞서 최적의 추출방법으로 제시한 소형균질기 유리 셀에 근육 0.5 g, 0.5 M phosphate buffer (pH 6.8) 10 mL를 취해 40초간 15,000 rpm으로 균질화 시키고 filtering 하여 0.5 mL를 kit (Lucipack W, Swab test, Kikkoman, Japan)에 넣어 30초간 흔든 후 1분 방치하여 루미노메타(PD-10, Kikkoman, Japan)로 RLU값을 측정하였다.

1) 넙치 싱싱회

ATP 관련물질의 함량은 어종에 따라 다소의 차이는 있으나 대체로 근육 중에는 5~10 $\mu\text{mol/g}$ 정도 함유되어 있으며, 어육은 사후 ATP가 급속히 분해됨에 따라 IMP의 함량이 증가된다고 한다(Iwamoto et al., 1987, 1988). ATP의 분해생성물은 시료어의 처리조건, 피로도 등에 따라 다소의 차이를 나타낸다. 그리고 넙치 근육내에 ATP와 creatine phosphate 감소 및 젖산의 축적이 사후에 일어나게 되며 저장 온도의 영향이 매우 크며, 이는 근소포체의 ATPase와 creatine kinase, 근원섬유단백질의 creatine phosphate 소비와 ATP 내에 포함된 효소의 활성이 온도의존성이 강하기 때문으로 보고하고 있다(Iwamoto et al., 1988).

크기별에 따른 넙치 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP 함량을 측정한 결과, Fig. 3-2-9에 나타내었다. 앞서 살펴본 HPLC를 이용한 분석결과와 비슷한 경향으로 감소하였으며, 손으로 주물러서 분석한 결과와 비교하여 10배 정도 높은 값을 나타내었다(Fig. 3-2-8).

즉살 이후의 값은 1,200 g에서는 2,154,360 \pm 5,335 RLU, 1,000 g에서는 1,988,320 \pm 35,016 RLU, 800 g에서는 1,872,930 \pm 21,867 RLU, 600 g에서는 1,594,359 \pm 15,903 RLU이 나타나 크기가 클수록 RLU값이 높게 나타났다. 저장시간에 따라 RLU 값은 서서히 감소하였으며, 10시간 경과 후에는

크기별(1,200 g, 1,000 g, 800 g, 600 g)로 각각 1,616,368±2,817 RLU, 1,500,712±42,460 RLU, 1,138,013±16,955 RLU, 922,900±13,161 RLU 값을 나타내었으며, 크기별로 초기값에 비하여 25.0 %, 24.5 %, 39.2 %, 42.1 % 감소하였다. 가장 큰 감소 폭을 보인 600 g의 녀치의 경우, 10시간 이후에는 다른 크기와 비슷한 감소 폭을 나타내었다.

저장 16시간 경과 시에는 952,342±545 RLU(1,200 g), 665,185 ±61,404 RLU(1,000 g), 516,954±2,113 RLU(800 g), 421,700±12,578 RLU(600 g)으로 나타났으며, 24시간 경과 시에는 크기별로 각각 68,955±31,185 RLU, 7,225±3,290 RLU, 6,471±2,700 RLU, 6,374±364 RLU 값을 나타내어, 크기별로 초기 값의 96.8 %(1,200 g), 99.6 %(1,000 g), 99.7 %(800 g), 99.6 %(600 g) 감소한 RLU값을 나타내었다.

그러므로 싱싱회 경과시간에 따른 루미노메타로 측정된 RLU값 범위의 데이터 구축을 통하여 크기별에 따른 경과시간을 계산할 수 있을 것으로 판단된다.

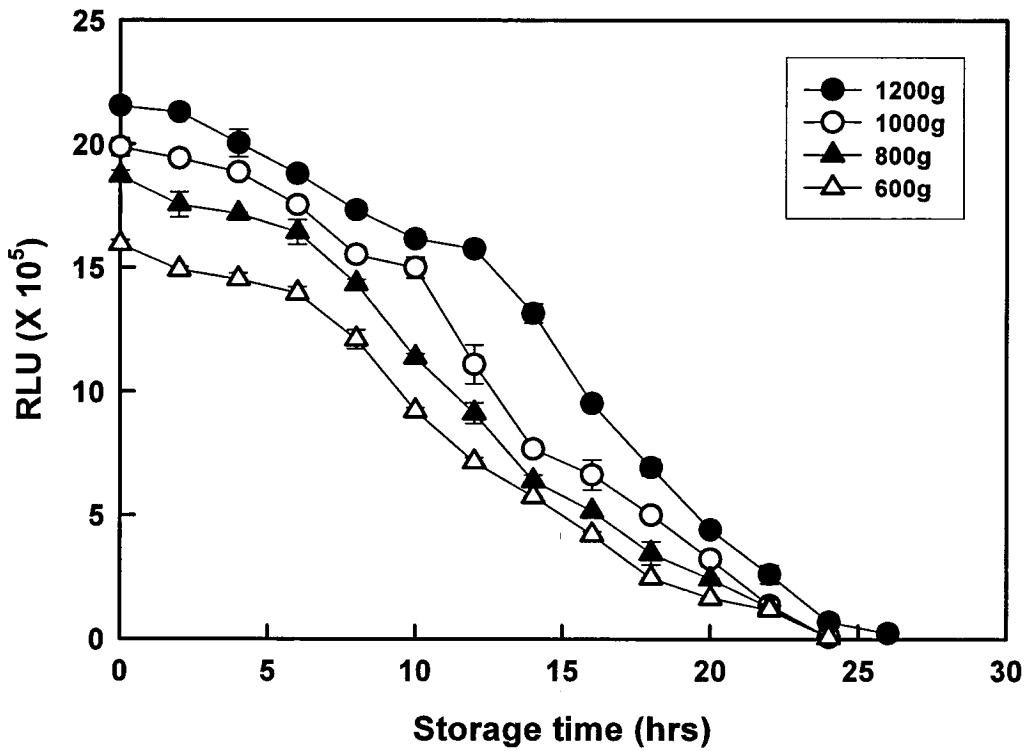


Fig. 3-2-9. Changes of RLU on the muscle in Olive flounder during storage in ice.

2) 농어 심상회

농어의 초기 RLU값은 넙치에 비하여 매우 낮은 값을 나타내었으며, Fig. 3-2-8에 나타낸 손으로 주물러서 추출한 방법에서도 비슷한 결과를 나타내었다.

심상회 경과시간에 따라 크기별 농어의 RLU값의 변화는 Fig. 3-2-10에 나타내었다. 크기별로 1,200 g의 농어는 $1,271,406 \pm 15,432$ RLU, 1,000g의 농어는 $1,225,014 \pm 548$ RLU, 800 g 농어는 $1,159,264 \pm 15,592$ RLU으로 나타났다. 넙치와 마찬가지로 저장시간이 경과함에 따라 RLU값이 감소하였으며, 1,200 g의 농어는 넙치와 유사하게 24시간 경과 시 ATP가 완전히 분해되었으나 1,000 g과 800 g에서는 저장 20시간에 완전히 분해된 것을 확인할 수 있었다. 저장 10시간 경과 시에는 크기별로 $972,557 \pm 8,654$ RLU, $828,805 \pm 18,075$ RLU, $784,272 \pm 9,583$ RLU로 나타났으며, 초기값에 비하여 1,200 g은 23.5 % 감소하였으며, 1,000 g은 32.3 %, 800 g은 32.4 % 감소하였다.

그리고 저장 16시간에는 크기별로 1,200 g은 $336,622 \pm 190$ RLU, 1,000 g은 $145,940 \pm 7,133$ RLU, 800 g은 $70,396 \pm 3,681$ RLU로 나타났으며, 각각 73.5 %, 88.1 %, 93.9 %의 초기값 대비 감소한 것으로 나타났다.

담수어와 해산어의 빙장 중 ATP 관련물질의 변화를 조사한 보고에 따르면(Shota et al.,1999) 무지개 송어는 ATP 함량이 다른 어종에 비하여 $0.3 \mu\text{mol/g}$ 의 낮은 함량을 나타내었으며, 제외한 조사된 기타 담수어의 ATP 함량은 $1.4 \sim 4.5 \mu\text{mol/g}$, 해산어는 $2.4 \sim 8.2 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났으나 저장 1일 경과 시에 $0.1 \sim 0.5 \mu\text{mol/g}$ 로 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 반면, IMP 함량은 ATP가 감소한 것과 반대로 급격히 증가하였으며, 어종별로 약간의 이후에는 서서히 감소하는 것으로 보고하고 있어, 본 연구결과에서도 유사한 결과를 도출하였다. 그리고 앞서 살펴본 넙치와 농어 등 어종별 ATP 분해 속도의 차이는 ATP를 분해하는 ATPase 효소 활성이 어종별로 차이가 나기 때문이다(Shota et al., 1999).

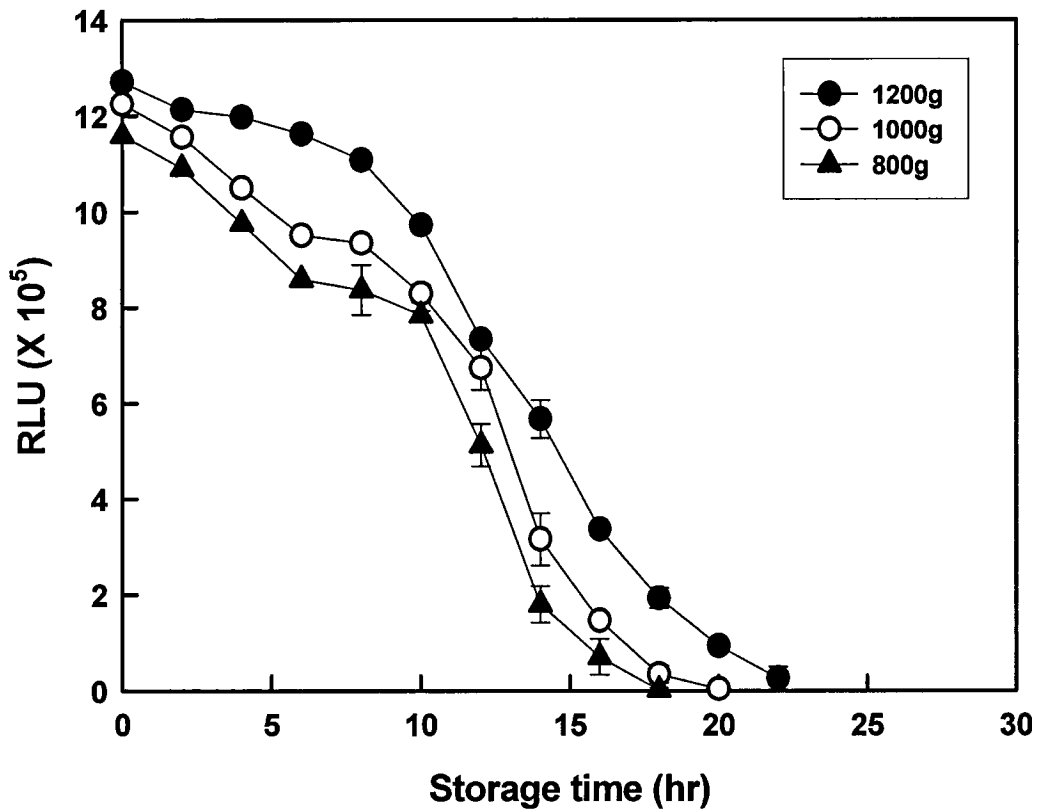


Fig. 3-2-10. Changes of RLU on the muscle in seabass during storage in ice.

3) 방어 싱싱회

방어 싱싱회의 빙장 중 ATP 함량을 측정한 결과, 크기별에 따른 초기 ATP 함량에 따른 RLU값은 2,269,516±12,589 RLU(1,000 g), 2,096,304±42,890 RLU(800 g), 1,877,916±23,798 RLU(600 g)으로 나타났으며, 저장 7시간 경과 시에는 ATP 함량이 감소하여 크기별로 각각 1,366,445±9,700 RLU, 1,322,899±27,316 RLU, 931,944±584 RLU를 나타내었다. 저장 7시간 이후에는 급격히 감소하였다(Fig. 3-2-11).

빙장 중 흰살은 ATP가 IMP로 급격히 분해되며, 서서히 Inosine이 형성되나, 붉은살은 inosine이 급격하게 축적되어 선도를 판정하는 K값이 증가된다(Murata et al., 1986). 이는 신선한 흰살과 붉은살에 존재하는 NAD(Nicotinamide adenine dinucleotide, 0.8 vs 0.4 $\mu\text{mol/g}$)는 저장 초기단계에서 급격하게 감소되기 때문이다.

전갱이를 저장 온도를 달리하여 저장 중 사후경직의 변화를 살펴본 결과, 0 °C, 5 °C, 15 °C에서는 6시간 까지는 비슷한 감소경향을 나타내었으나 6시간 이후부터는 급속히 감소하였다. ATP 함량의 급속한 감소로 0 °C에서는 12시간 이후에는 검출되지 않았으며, 5 °C, 15 °C에서는 18시간 이후에 검출되지 않았다. 반면, 10 °C 저장된 육에서는 서서히 감소하여 24시간 경과 후에도 1 $\mu\text{mol/g}$ 이 검출되어 다른 온도와 매우 다른 경향을 나타내었다(Mishima et al., 2005).

또한 Murata and Sakaguchi (1986)는 방어의 보통육과 혈압육을 각각 빙장 중 ATP 관련물질 변화는 보통육과 혈압육 모두 저장 초기에 ATP는 모두 분해되고 없으며, 보통육에서는 IMP가 증가하다가 ATP가 완전히 소모될 때 최대치를 나타내었다가 감소하기 시작하며, 이때 inosine이 증가한다. 반면, 보통육은 ATP와 IMP가 저장 초기에 급격히 감소하고 inosine이 증가한 후 저장기간 동안 유지된다고 보고하고 있다.

본 연구결과에서도 마찬가지로 빙장 중 ATP 함량의 급속한 감소와 12시간 이후에는 ATP 함량이 검출되지 않아, 전갱이 육과 비슷한 경향을 나타내었다.

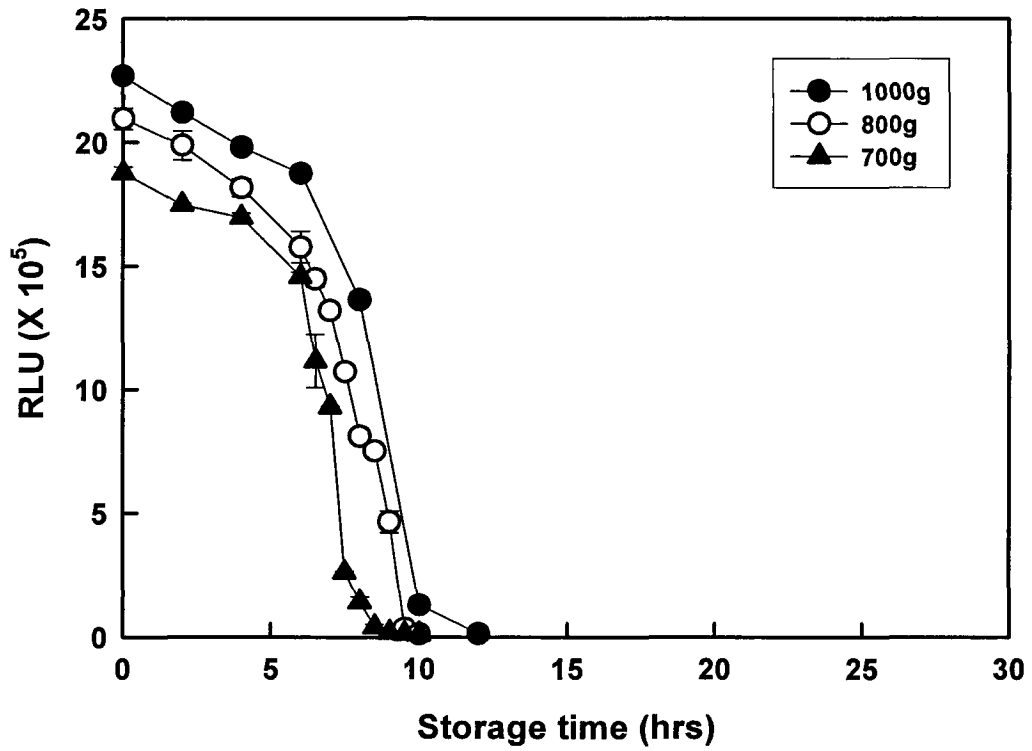


Fig. 3-2-11. Changes of RLU on the muscle in yellowtail during storage in ice.

4) 송어 싱싱회

송어 싱싱회는 조사된 넙치, 농어, 방어, 조피볼락, 참돔, 홍민어에 비하여 가장 낮은 RLU값을 나타내었으며, 이 결과는 앞서 살펴본 손으로 주물러서 추출한 ATP의 RLU값에서도 같은 결과를 도출하였다(Fig. 3-2-12).

초기 송어 싱싱회의 크기별에 따른 RLU값은 각각 286,189±9,809 RLU(1,000 g), 232,062±3,923 RLU(800 g), 208,864±7,896 RLU(600 g), 157,581±6,300 RLU(400 g)로 나타났으며, 1,000 g의 송어에서 다른 크기보다 높은 RLU값이 나타났다.

2002년 10월~2003년 8월까지 해양수산부 연구용역과제로 수행한 「횃감용 선어류의 소비촉진을 위한 안전성 확보기술 개발에 관한 연구」에서 넙치, 조피볼락, 참돔, 방어, 농어, 홍민어, 송어 등 7어종에 대하여 우리나라 생선회 식문화에 적합한 육질의 쫄깃함이 유지되는 시간인 10시간을 유통시간으로 설정하고, 치사방법, 처리형태, 포장방법 및 유통방법 등을 제시하였으며, 연구결과에서 송어의 생명시간은 10시간으로 제시되었다.

저장 8시간이 경과한 송어 싱싱회의 크기별에 따른 RLU값은 1,000 g에서는 108,521±8,765 RLU(초기값 대비 62.1%감소), 800 g에서는 74,868±1,906 RLU(초기값 대비 67.7%감소), 600 g에서는 58,754±1,766 RLU(초기값 대비 71.9%감소), 51,501±2,436RLU(초기값 대비 67.3%감소)으로 나타났다. 600 g의 송어 싱싱회는 빙장 16시간이후에는 ATP가 검출되지 않았으며, 400 g의 송어 싱싱회는 빙장 14시간 이후에 ATP가 검출되지 않았다.

5) 조피볼락 싱싱회

조피볼락 싱싱회의 크기별에 따른 ATP 함량 변화를 루미노메타를 이용하여 측정한 결과를 Fig. 3-2-13에 나타내었다. 400 g과 600 g의 조피볼락 싱싱회는 시간이 경과할수록 감소하는 경향을 나타내었으며, 그 중에서 400 g의 조피볼락에서는 10시간 경과 후에 ATP가 모두 소비되었으며, 600 g은

14시간 경과 후에는 ATP가 거의 분해되었음을 알 수 있었다. 반면, 1,000 g과 800 g의 조피볼락 싱싱회는 저장기간 동안 서서히 감소하였으며, 저장 1일이 경과 시에는 ATP함량이 검출되지 않았다.

크기별 조피볼락 싱싱회의 초기값은 563,409±11,332 RLU(1,000 g), 538,797±1,365 RLU(800 g), 496,668±10,635 RLU(600 g), 464,243±46,659 RLU(400 g)으로 나타났으며, 저장 10시간 경과 후에는 1,000g에서는 초기 값에 40.7 % 감소한 334,328±15,288 RLU를 나타내었으며, 800 g에서는 초기값에 48.4 % 감소한 277,896±3,976 RLU, 600 g에서는 초기값에 67.4 % 감소한 161,770±21,459 RLU를 나타내었고, 마지막으로 400 g에서는 초기값에 84.89 % 감소한 70,156±12,063 RLU를 나타내었다.

6) 참돔 싱싱회

Fig. 3-2-14는 참돔 싱싱회를 제작하여 빙장 중 ATP함량을 측정한 결과로써, 다른 어종과는 달리 매우 빠른 ATP함량의 소모 경향을 나타내었으며, 저장 16시간 이후에는 ATP 함량이 검출되지 않았다.

참돔 싱싱회의 초기 ATP 함량은 크기별로 1,200 g에서는 1,691,477±45,630 RLU, 1,000 g에서는 1,361,111±30,175 RLU, 800 g에서는 1,266,640±25,264 RLU를 나타내었다. 참돔 싱싱회의 생명시간인 저장 10시간이 경과 후에는 크기별로 각각 919,676±9,591 RLU (1,200 g) 372,020±5,542 RLU (1,000 g), 218,164±14,549 RLU (800 g)로 나타났으며, 초기 ATP 함량에 대한 RLU값에 1,200 g은 45.6 %가 감소하였으며, 1,000 g은 72.6 %, 800 g은 82.8 %가 감소하였다.

7) 홍민어 싱싱회

중국에서 우리나라에 많이 수입되고 있는 2.5 kg, 1.6 kg의 홍민어를 구입하여 싱싱회로 제조한 후, 빙장 중 ATP 함량을 조사하였다(Fig. 3-2-15).

그 결과, 다른 어종과 마찬가지로 저장시간이 경과함에 따라 ATP 함량의 감소를 확인할 수 있었으며, 2.5 kg의 홍민어는 16시간, 1.6 kg의

홍민어는 12시간 이후에 ATP 함량이 검출되지 않았다.

또한 참돔과 비슷하게 10시간이 경과 후에는 초기 ATP 함량에 대한 RLU값에 2.5 kg에서는 82.1 %, 1.6 kg에서는 96.5 % 감소되었다.

이상의 결과를 통하여 어종별, 크기별에 따라 초기 ATP 함량에 대한 RLU값은 다르게 나타났으나 대체적으로 넙치, 방어, 참돔, 홍민어의 초기값이 비슷하였으며, 농어, 송어, 조피볼락은 다른 어종에 비하여 낮은 초기 RLU값을 나타내었으며, 24시간 이내에 ATP가 모두 분해되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 크기별로는 크기가 클수록 다소 높은 RLU값을 나타내었으며, 감소폭도 크기가 클수록 다소 느린 것으로 나타났다.

그러므로 어종별, 크기별에 따른 상실회 경과시간에 따른 RLU값의 data base화를 통하여 경과시간을 현장에서 신속, 정확하게 판정할 수 있을 것으로 판단된다.

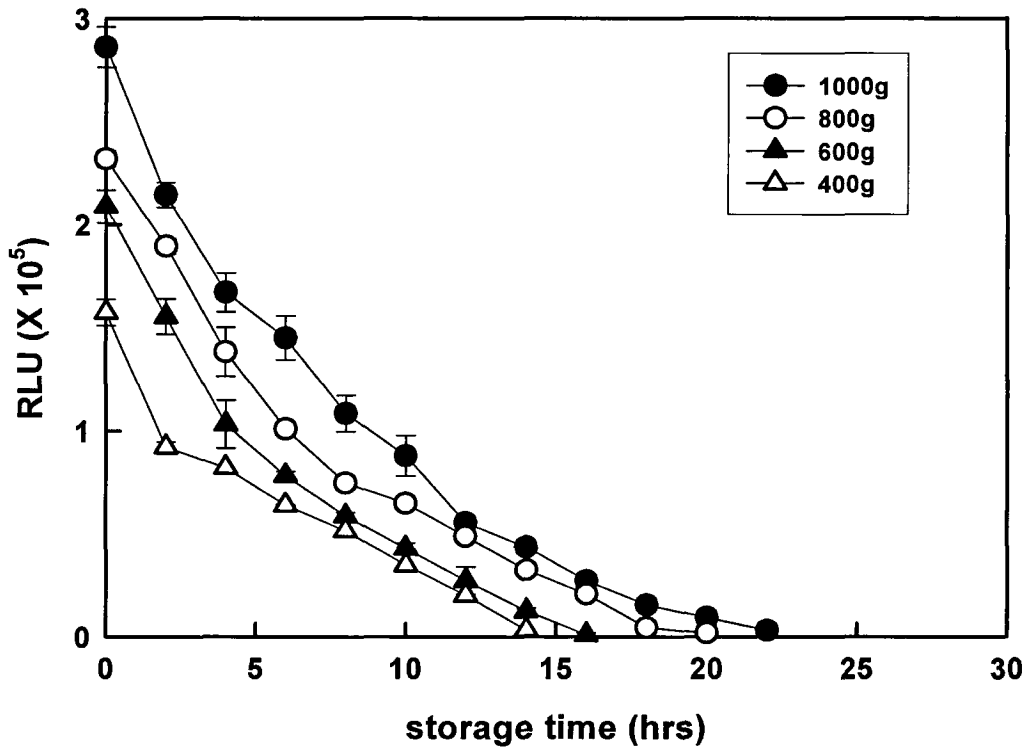


Fig. 3-2-12. Changes of RLU on the muscle in flathead mullet during storage in ice.

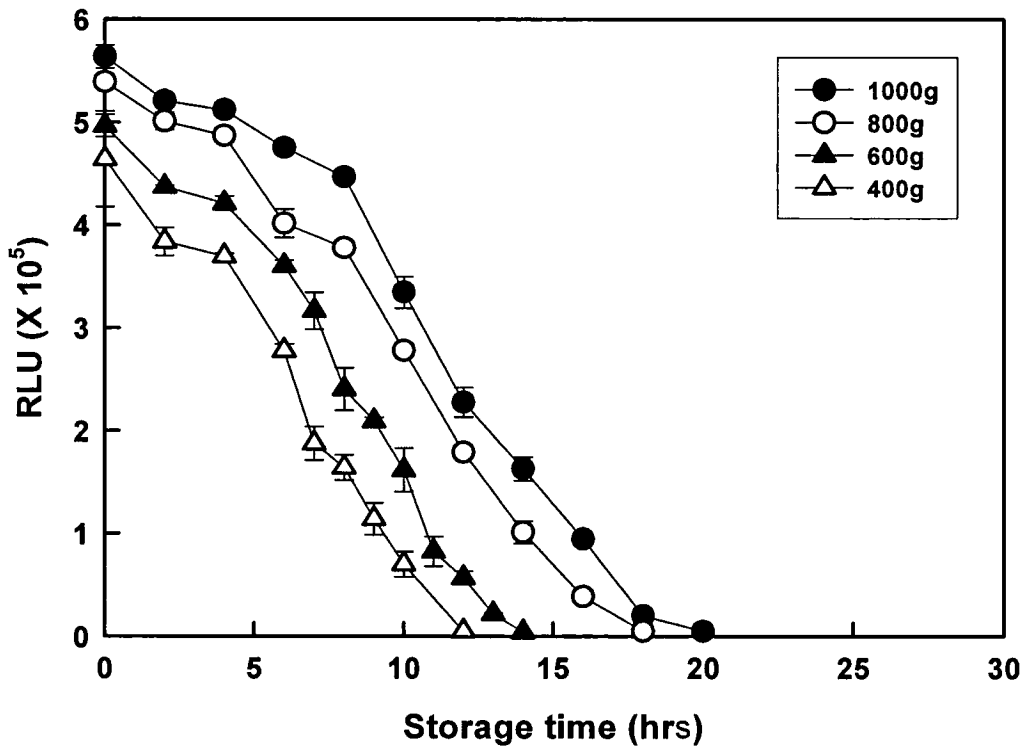


Fig. 3-2-13. Changes of RLU on the muscle in black rockfish during storage in ice.

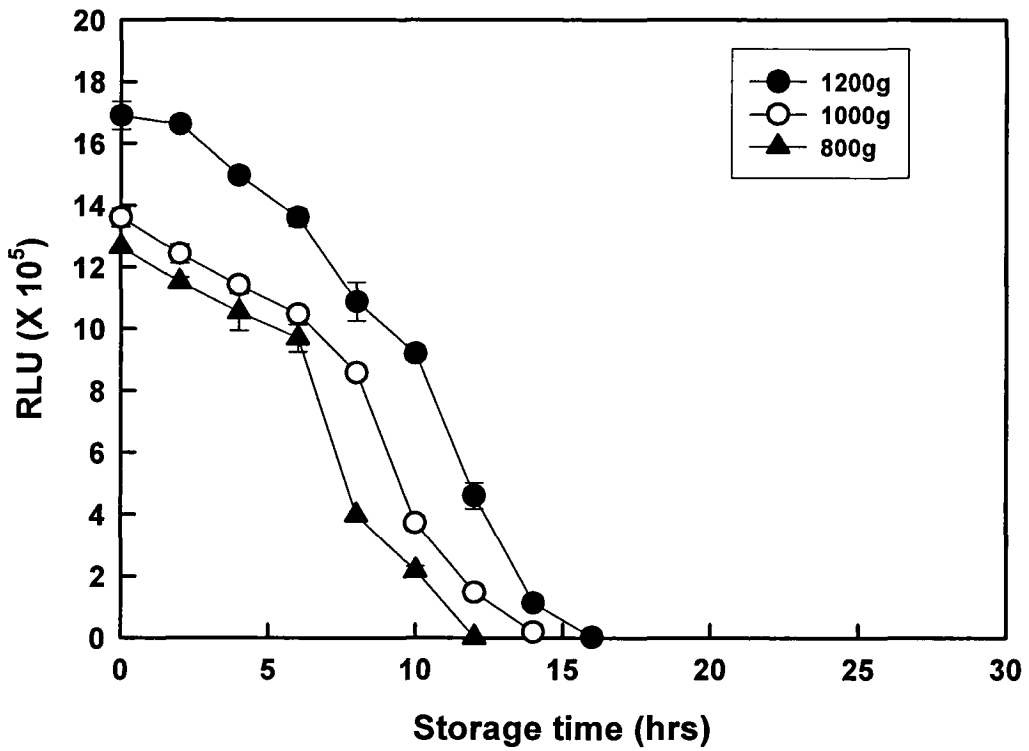


Fig. 3-2-14. Changes of RLU on the muscle in Red seabream during storage in ice.

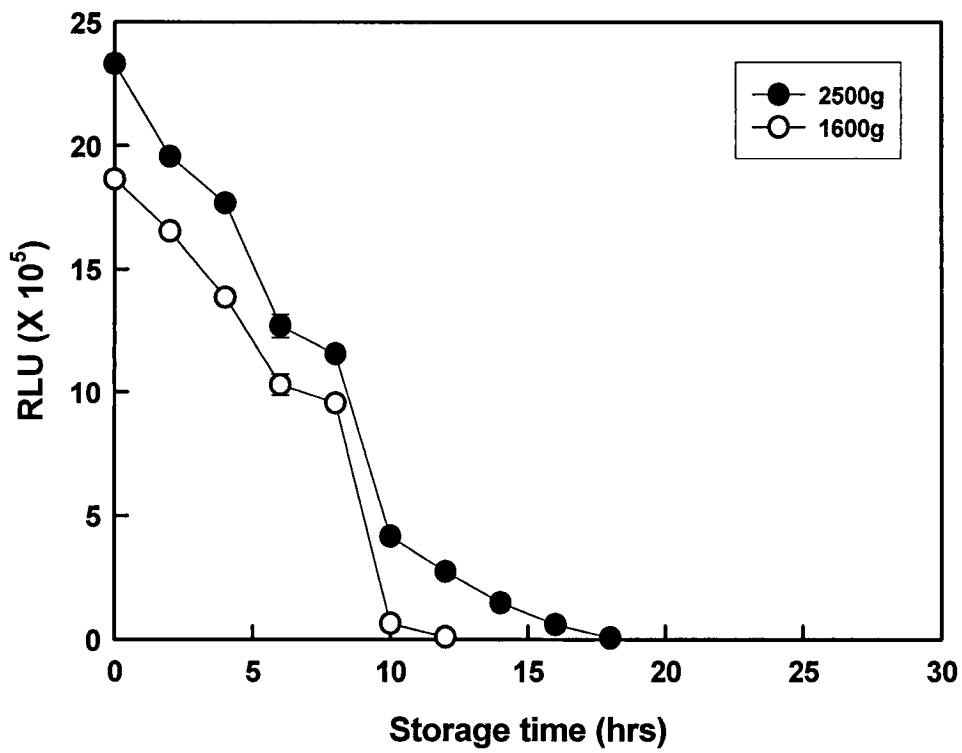


Fig. 3-2-15. Changes of RLU on the muscle in red drum during storage in ice

제 3절 현장에서 경도계에 의한 육질의 단단함의 측정방법 확립

1. 서론

조직감은 어류의 품질을 좌우하는 매우 중요한 요인으로써, 많은 어종이 강한 향을 가지지 못하므로 소비자들이 품질을 판정하는 요인 중에 하나이다. 이런 조직감은 본질적 그리고 부대적 요인에 의하여 영향을 받게 된다(Barroso et al., 1998; Sigurgisladottir et al., 1997; Mackie 1993; Love 1983). 어류의 조직감은 어종, 크기, 어류의 영양상태 등에 의하여 많은 영향을 받게 되며, 사후에는 glycosis, pH, 사후경직 등이 어류의 조직감에 매우 큰 영향을 주는 요인이다. 또한 근육의 수축은 근육 조직에 의해서 이루어지지만 부가적으로 저장온도, 조리 온도 그리고 NaCl의 존재유무에 의해서도 영향을 받게 된다(Johnston 1999; Dunajski 1979).

이와 같은 어류의 조직감을 측정하기 위해서 많은 방법들이 이용되었으며, 어류의 낮은 콜라겐 함량 때문에 어류에 적합한 방법을 찾아내는 것은 무엇보다 중요하다. 그러므로 일반적인 방법으로 shear strength, puncture, compression 등의 물성을 측정하는 방법이 이용되는데, 본 연구에서는 핏감용 활어를 싱싱회로 제조하여 빙장 시간에 따라 어육을 일정크기로 잘라 물성측정기를 이용하여 측정하였다.

그러나 현장에서 조직감을 측정하기 위해서는 고가의 장비와 숙련된 기술이 필요하므로, 쉽게 측정이 가능하고 저가의 장비를 이용할 수 있는 방법으로 과일 경도계를 이용한 물성측정방법에 대하여 고려하였다.

과일 경도계(Fruit hardness tester, FHM-1, Takemura, Japan)는 과일의 경도가 성숙해가면서 감소하고 수확기에 이르러 최저의 경도치를 나타낸다. 과일 경도계는 그 성숙의 정도를 확인하는데 사용되며 과일표면의 기계적 압력에 대한 저항력을 수치적으로 표시해 놓은 것이다. 이 장치의 특징은 휴대성이 우수하며, 측정이 간단하여 현장에서의 이용가능성이 있다.

그러므로 본 절에서는 휴대용 경도계를 이용하여 싱싱회의 경과시간에

따라 물성을 측정하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 원료어

싱싱회의 원료로 이용되고 있는 넙치, 조피볼락, 참돔의 활어를 부산시 민락동 소재의 계류장인 청수활어에서 구입하여 활어상태로 구입하여 실험실로 수송하였다.

운반된 활어는 즉살시키고 비가식 부분인 내장, 표피 및 뼈를 제거한 후, 가식부를 이용하여 싱싱회로 제조 및 빙장하여 실험 재료로 사용하였다.

나. 휴대용 경도계

Fig. 3-3-1에 나타난 바와 같이 휴대용 경도계 (FHM-1, Takemura, Japan)에 사용되는 원기둥과 반구의 plunger를 이용하여 싱싱회의 경과시간에 따라 육 표면에 일정한 힘을 가하여 눌러서 표시판에 나타나는 값을 파괴강도 값으로 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

휴대용 경도계를 이용하여 파괴강도 값을 측정하기 위해서 Fig. 3-3-1과 같이 원기둥 모양과 반구 모양의 plunger의 적합성 여부를 확인하고자 하였다. 넙치 싱싱회를 제조하여 육표면에 두 가지 모양의 도구를 이용하여 파괴강도 값을 측정한 결과(Fig. 3-3-2), 원기둥 모양을 사용한 파괴강도 값은 저장 10시간까지 약간 증가하였다가 감소하는 경향을 나타냈으나, 반구모양을 사용하여 측정한 파괴강도 값의 변화는 저장기간 동안 서서히 감소하는 경향을 나타내었다.

반구를 이용한 휴대용 경도계로 넙치육의 파괴강도값을 측정한 결과(Fig. 3-3-2(A)), 저장 6시간에는 0.68 ± 0.05 kg을 나타내었으며, 10시간에는 이보다 감소한 0.56 ± 0.07 kg으로 나타났으며, 그 이후에는 지속적으로

감소하였다. 원기등을 사용하는 휴대용 경도계로 넙치육의 파괴강도값을 측정된 결과(Fig. 3-3-2(B)), 반구를 사용했을때와는 달리 다소 높은 값을 나타내어, 저장 6시간에는 0.75 ± 0.03 kg, 저장 10시간에는 0.75 ± 0.04 kg으로 나타났다. 그리고 저장기간동안 파괴강도값은 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 그리고 레오메타를 이용한 파괴강도 값의 변화 유형과 비슷한 결과가 나타나는 원기등을 이용한 휴대용경도계로 기타 어종에 대한 파괴강도 값을 측정하여 보았다.

앞서 살핀바와 같이, 휴대용 경도계의 원기등 plunger를 이용하여 조피볼락 심성희의 파괴강도를 측정된 결과를 Fig. 3-3-3에 나타내었다. 저장 3시간에는 0.49 ± 0.05 kg의 파괴강도를 나타내었으며, 저장 10시간에는 0.50 ± 0.05 kg의 파괴강도를 나타내어 파괴강도의 값의 편차가 크지만 저장 10시간 이후보다는 다소 높은 값을 나타내었다. 저장 10시간까지는 평균 0.5 ± 0.1 kg을 나타내었으며, 그 이후에는 평균 0.4 kg의 파괴강도 값을 나타내었다.

참돔은 저장 기간 동안 서서히 감소하는 파괴강도 값을 나타내었으며, 저장 3시간에는 0.40 ± 0.01 kg이었으나, 저장 10시간에는 0.42 ± 0.04 kg의 파괴강도를 나타내었다. 그리고 10시간 이후에는 0.32~0.42 kg사이의 파괴강도 값을 나타내었다(Fig. 3-3-4).

이상의 결과에서 휴대용 경도계를 이용한 파괴강도값 측정은 레오메타를 이용한 경우와 마찬가지로 10시간까지는 파괴강도 값이 일정하게 유지되거나 다소 증가하였다가 10시간 이후에는 감소하는 경향을 나타내나, 실험값의 편차가 크며 실험자간의 누르는 힘의 차이 등에 의하여 고도로 숙련된 사용자에 의해서 실험이 행해져야 하는 문제점 등이 있다.

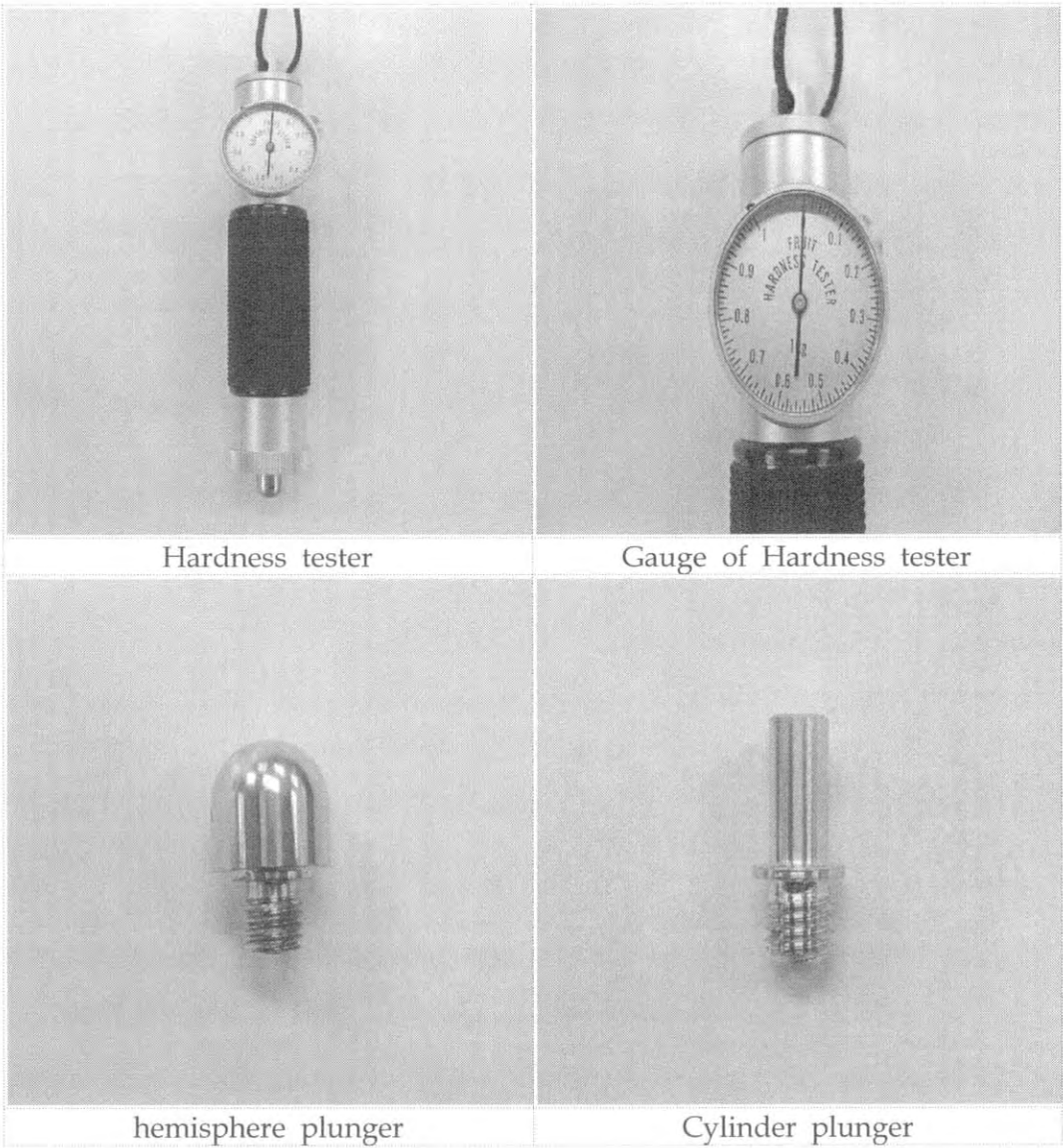
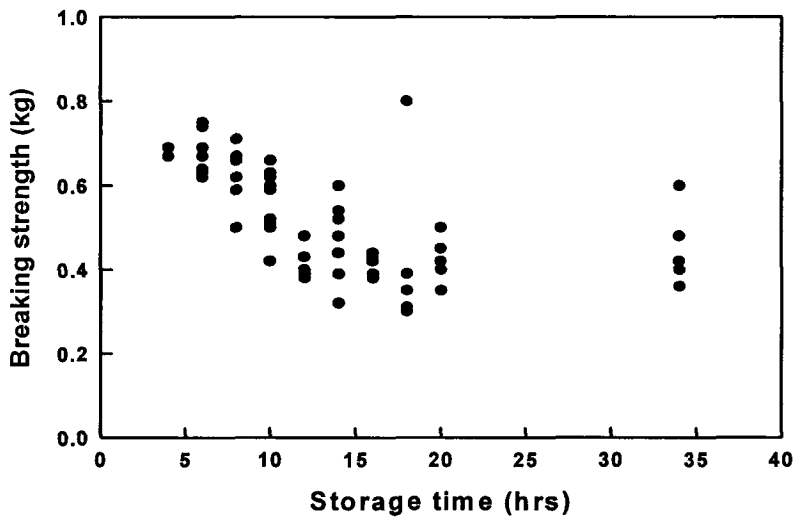
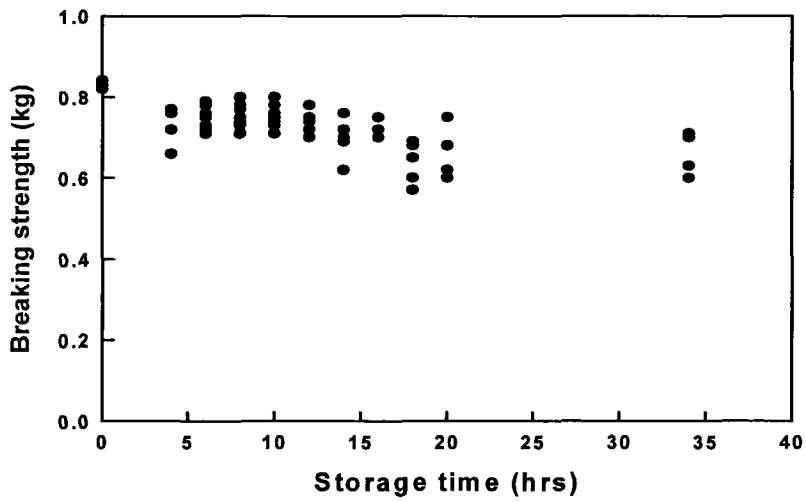


Fig. 3-3-1. Hardness tester.



(A) Using of hemisphere plunger



(B) Using of cylinder plunger

Fig. 3-3-2. Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in olive flounder during storage in ice.

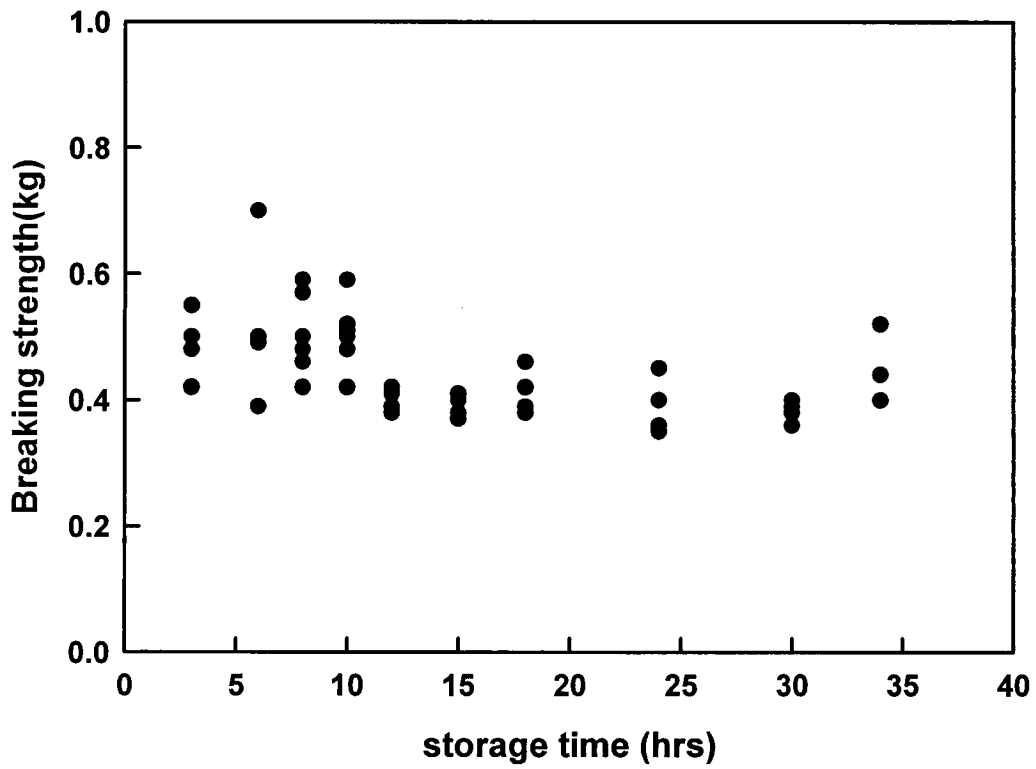


Fig. 3-3-3. Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in black rockfish during storage in ice.

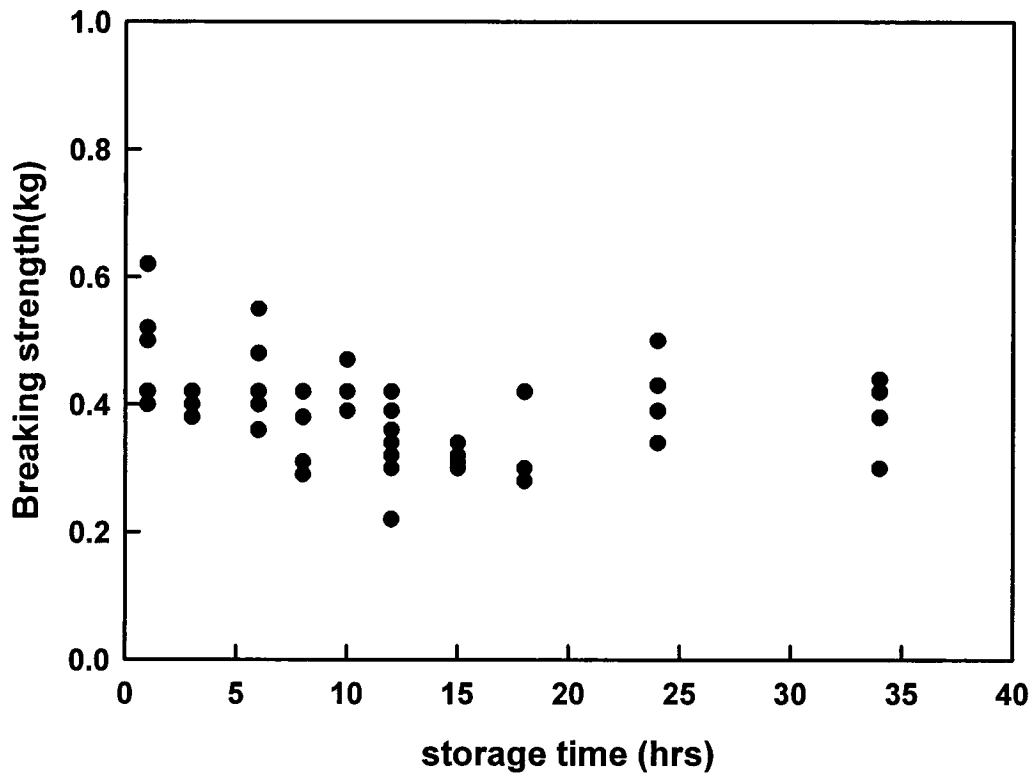


Fig. 3-3-4. Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in red seabream during storage in ice.

제 4절 싱싱회 경과시간에 따른 RLU값의 수치화

1. 서론

싱싱회는 과잉 생산되고 있는 국내산 활어의 소비촉진으로 수산업 활성화에 기여하기 위한 방법이므로 활어의 특성인 생선회의 쫄깃함이 유지되는 시간까지 소비자들에게 공급하도록 하는 산업이다. 육질의 단단함이 유지되는 시간은 어종마다 다르지만 보통 10시간까지이며, 이때는 우리 국민이 좋아하는 육질의 단단함과 함께 선어회의 장점인 감칠맛의 주성분인 이노신산(IMP)의 다량 생성으로 싱싱회는 활어회 대안으로 자리매김 하고 있다.

우리국민들은 육질이 퍼석한 일본의 선어회 보다, 육질이 단단함이 느껴지는 쫄깃쫄깃한 씹힘성이 좋은 활어회를 선호한다. 씹힘성이 좋은 활어회에 가까운 육질이 유지되고, 선어회의 감칠맛 성분이 다량 생성되는 위생적인 싱싱회를 공급해야 싱싱회 산업이 활성화 될 것이다. 그러나 싱싱회는 경과시간이 길어지면 육질이 퍼석해져서 씹힘성이 떨어지므로, 육질이 퍼석한 싱싱회를 먹어본 사람은 싱싱회에 대한 잘못된 편견을 가지게 되어 싱싱회 산업은 실패로 끝날 것이다. 따라서 싱싱회의 씹힘성이 유지되는 시간까지 소비자들에게 먹을 수 있도록 하는 유통시스템의 확립이 무엇보다 중요하다.

그러나 업계에서는 이런 싱싱회의 생명시간인 즉살 후 10시간까지는 유통이 어렵다는 이유로 과학적인 연구 결과를 무시한 채 유통시키고 있다. 그로인해 시판되고 있는 싱싱회는 즉살 후의 경과시간에 대한 아무런 표시가 없어서 쫄깃함이 유지되는 시간 확인이 불가능하고 생명시간이 지난 상품이 유통되고 있어 싱싱회 본 취지와는 무관하게 사업이 진행되고 있다. 생명시간이 지난 제품은 육의 단단함이 떨어져 퍼석한 상품이어서 오히려 소비자들로 하여금 싱싱회의 잘못된 편견을 가져오게 될 것이다.

싱싱회를 가공 처리하여 진공포장한 제품의 경과시간을 외관으로 판정하기는 불가능하며, 시료를 수거하여 실험실로 운반하는 도중에도 시간이 경과하므로 실험실에서 판정하는 방법도 문제점을 안고 있다. 따라서 현장에서 신속·정확하게 경과시간을 판정할 수 있는 방법의 개발이 시급히 필요하다. 육질의 단단함이 유지되는 싱싱회를 소비자들에게 공급하여, 맛이 좋으니까

다시 찾는 형태가 되어야만 싱싱회 산업이 활성화 될 수 있을 것이다.

그러므로 육질의 단단함의 정도를 현장에서 신속·정확하게 판정하여, 육질의 단단함이 떨어지는 제품은 퇴출 관리하는 시스템으로 운영되어야만, 싱싱회 산업이 활성화 될 수 있다. 시중에 유통되는 싱싱회의 경과시간을 소비자들이 보고 쉽게 알 수 있도록, 싱싱회 포장지에 즉살 시간을 명기하도록 의무화하여 언제 어디서라도 시료를 수거하여 경과시간을 확인 할 수 있도록 제도화 하여야 한다.

그러므로 본 연구는 잘못된 싱싱회 유통을 바로 잡기위한 대책의 하나로 싱싱회의 생명시간을 수치화 하는 연구로 현장에서 간편하게 측정하여 경과시간을 판정 할 수 있도록 하기 위하여, 본 절에서는 ATP 함량의 HPLC법의 결과와 루미노메타 결과의 상관성 및 파괴강도의 레오메타 결과와 경도계 결과의 상관성을 조사하고자 하였으며, 어종별, 크기별 싱싱회 경과시간에 따른 RLU값을 수치화하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 원료어

본 실험에 사용한 활어는 싱싱회로 주로 사용되고 있는 넙치, 농어, 방어, 송어, 조피볼락, 참돔, 홍민어 총 7종의 활어를 부산시 민락동 소재의 계류장인 청수활어에서 구입하여 원료어로 사용하였다. 사용된 활어 중 넙치, 조피볼락, 송어, 참돔, 농어는 양식산이며, 방어는 동해에서 어획된 자연산, 홍민어는 중국산으로 활어상태로 구입하여 실험실로 수송하였으며, 각 어종별로 50미씩을 구입하였다.

운반된 활어는 즉살시키고 비가식 부분인 내장, 표피 및 뼈를 제거한 후, 가식부를 이용하여 싱싱회로 제조 및 빙장하여 실험 재료로 사용하였다.

나. 실험방법

1) 파괴강도(breaking strength)의 측정

가) 레오메타(Rheometer)를 이용한 방법

Ando et al.(1991a)의 방법에 따라 넙치 등육을 Table 3-4-1과 같은 조건으로 측정하였다. 즉, 넙치를 밑면이 평행하게 필렛하여 20×20×10 mm³의 크기로 정사각형의 칼집을 위에서 찍은 후에, 칼집위로 돌출된 부분을 잘라내고 육의 두께를 10 mm로 균일하게 하여 측정시료로 사용하였다. 파괴강도 값은 직경 10 mm cylinder plunger를 사용하였으며, 속도 60 mm/min때의 최고값을 측정하였다. 실험결과는 4~8회 측정하여 평균±표준편차(mean±S.D.)로 나타내었다.

Table 3-4-1. The condition of measurement of breaking strength on raw sliced fish

Instrument	SUN RHEO Meter Compac-100, Japan
Sample thickness	10 mm ¹⁾
Cylindrical plunger	10 mm ²⁾ in diameter
Crosshead speed	1mm/sec
Load cell	10 kg
Chart speed	60 mm/m

1) ; simulated a sliced raw fish

2) ; simulated the molar tooth

나) 휴대용 경도계를 이용한 방법

휴대용 경도계(FHM-1, Takemura, Japan)의 원기둥 plunger를 이용하여, 제조된 싱싱회의 표면을 일정한 힘으로 눌러주어, 휴대용 경도계 표시되는 힘을 측정하였다.

2) ATP 관련물질(ATP related compound)의 측정

가) HPLC를 이용한 방법

Iwamoto et al.(1987)의 방법으로 ATP관련물질을 추출하여 추출액을 여과한 후 HPLC(waters 600, USA)로 분석하였다.

나) 루미노메타를 이용한 방법

소형균질기 유리셀에 어육 0.5 g, 0.5M phosphate buffer (pH 6.8) 10 mL를 취해 40초간 15,000 rpm으로 균질화시키고 filtering 하여 0.5 mL를 kit (Lucipack W, Swab test, Kikkoman, Japan)에 넣어 30초간 혼든 후 1분 방치하여 Lumitester(PD-10, Kikkoman, Japan)로 RLU값을 측정하였다.

3) 통계처리

통계 처리는 SAS 프로그램을 이용하여 싱싱회 경과시간에 따른 RLU값을 회귀분석을 통한 다중회귀방정식을 성립하였다.

3. 결과 및 고찰

가. ATP 함량의 HPLC법의 결과와 루미노메타(Lumitester) 결과의 상관성 분석

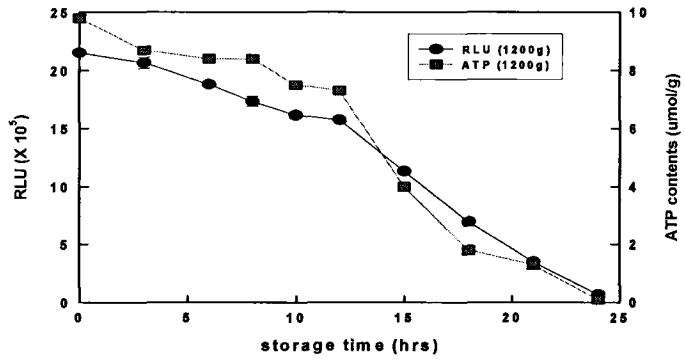
1,200 g, 800 g, 600 g 크기의 넙치를 싱싱회로 제작하여 HPLC와 루미노메타를 이용하여 어육 중의 ATP 함량을 측정하였다(Fig. 3-4-1). 앞서 살펴본 바와 같이 크기가 클수록 다소 높은 RLU값을 나타내었으며, HPLC로 분석한 어육 중의 ATP 함량과 루미노메타로 분석한 ATP 함량은 싱싱회 경과시간에 따라 거의 유사하게 감소된 것을 확인할 수 있었다. 그러나 Fig. 3-2-9에 나타낸 넙치의 크기별에 따른 RLU값의 변화와는 초기값이 다소 차이를 보였으나, 저장 10시간 경과 시에는 비슷한 RLU값을 나타내었다.

1,200g의 넙치의 초기 RLU값은 $2,154,360 \pm 5,335$ RLU를 나타내었으며, 이때 HPLC로 분석한 ATP 함량은 $9.81 \mu\text{mol/g}$ 이다. 10시간 경과시에는 각각 $1,616,368 \pm 2,817$ RLU, $7.53 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났으며, 18시간 경과시에는 $694,464 \pm 33,443$ RLU, $1.84 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났다. 800g에서는 초기 RLU값이 $1,872,930 \pm 21,867$ RLU이며, HPLC로 분석한 ATP 결과는 $8.13 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났다. 저장 10시간 경과시에는 $1,138,013 \pm 16,955$ RLU, $4.65 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났다. 600g에서는 초기 RLU값이 $1,594,359 \pm 15,903$ RLU로 나타났으며,

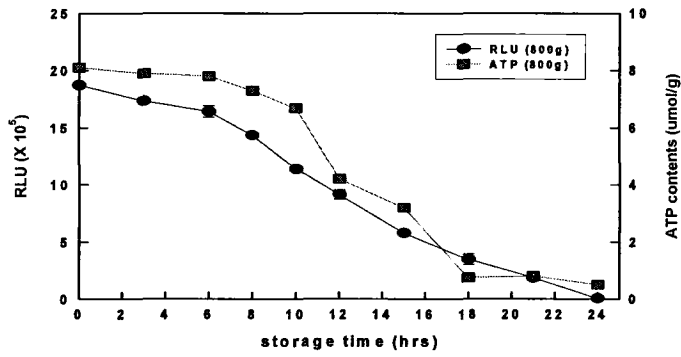
이때 HPLC로 분석한 ATP 결과는 $7.89 \mu\text{mol/g}$ 이었으며, 10시간 경과시에는 $922,900 \pm 13,161 \text{ RLU}$, $4.03 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났다.

Fig. 3-4-2는 어종별 싱싱회 경과시간에 대한 HPLC와 루미노메타를 이용한 어육 내의 ATP 함량을 측정한 결과로써, 두 값의 감소경향이 유사하였다.

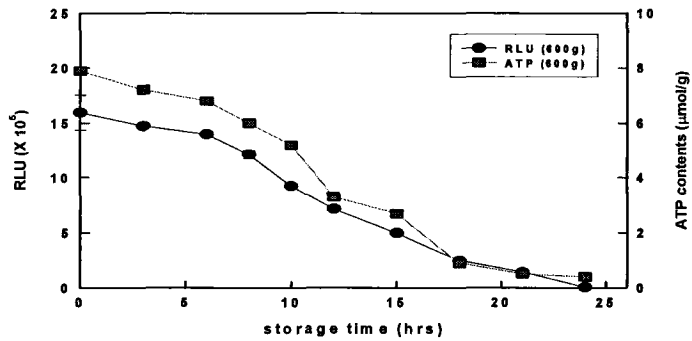
그러므로 싱싱회의 경과시간을 실험실에서 고가의 장비인 HPLC를 이용하여 분석하는 결과와 현장에서 소형균질기를 이용하여 어육에서 ATP를 추출한 후, 루미노메타를 이용하여 분석한 결과와의 상관성이 매우 높으므로, 루미노메타를 이용하여 현장에서 신속·정확하게 싱싱회의 경과시간을 판정할 수 있을 것으로 판단된다.



(A) 1,200g

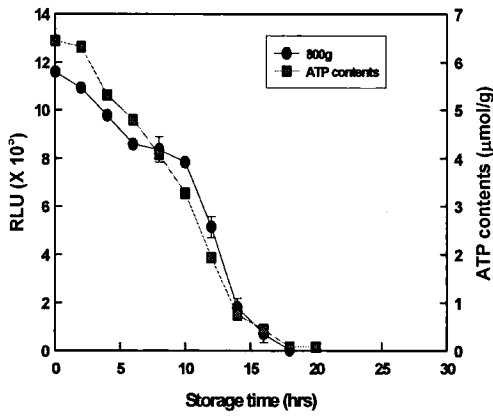


(B) 800g

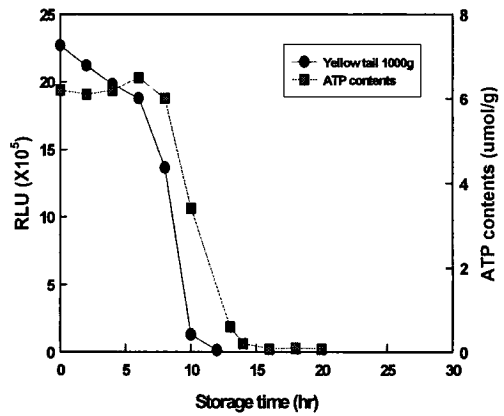


(C) 600g

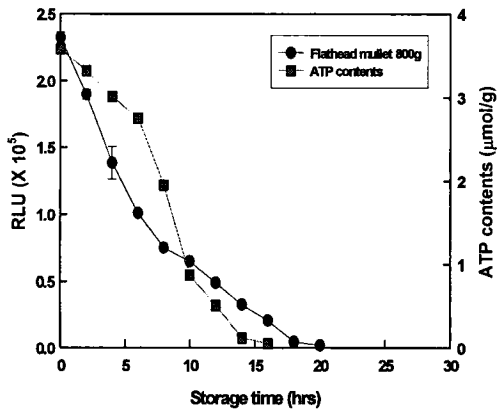
Fig. 3-4-1. Relationship between the ATP concentration that measuring with HPLC and Lumitester on the muscle in olive flounder.



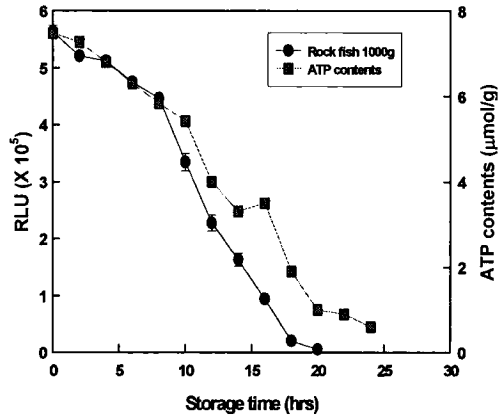
(A) Seabass



(B) Yellowtail



(C) Flathead mullet



(D) black rockfish

Fig. 3-4-2. Relationship between the ATP concentration that measuring with HPLC and Lumitester on the muscle in various fishes.

나. 파괴강도의 레오메타 결과와 경도계 결과의 상관성 분석

앞서 살펴본 바와 같이 휴대용경도계와 물성측정기를 이용하여 조사한 결과 값의 차이는 있으나 경향은 유사하게 나타나 현장에서의 신속·정확한 품질판정이 가능할 것으로 판정되나, 활어의 등육을 필렛을 뜨고, 틀을 이용하여 근육을 전처리하기에는 시간적인 부분이 많이 소요된다.

그러므로 일정형태의 틀을 사용하지 않고 넙치 싱싱회 육에 바로 측정하여 상관성을 조사한 결과, 일정크기의 틀을 이용한 결과와 비슷하게, 물성측정기에서 측정한 값에 1 kg 정도 낮게 나타났으며, 두 값의 상관성이 $r=0.69$ 로 측정되었다(Fig. 3-4-3). 그러나 앞서 밝힌 바와 같이 현장에서 휴대용 경도계를 이용하여 싱싱회의 육에 대한 파괴강도를 측정 시 실험자간의 누르는 힘이 다르며, 무엇보다 숙련된 기술을 요하게 된다.

이상의 결과로 살펴 볼 때, 싱싱회의 경과시간을 판정할 수 있는 판정지표는 육질의 단단함, 즉 파괴강도와 ATP 함량으로 선정하였다. 본 연구의 목적이 현장에서 신속·정확하게 싱싱회의 경과시간을 판정하기 위하여 파괴강도는 휴대용 경도계, ATP 함량은 루미노메타를 이용한 방법을 제시하여, 어종별 싱싱회 경과시간에 따른 각각의 값들을 조사하였다. 그러나 휴대용 경도계를 이용한 파괴강도의 측정은 실험자간의 누르는 힘과 숙련도가 다르며, 경과시간에 따른 각 값들의 편차가 매우 적어 싱싱회 경과시간을 판정하기에는 다소 어려움이 있을 것으로 판단된다.

그러므로 싱싱회의 경과시간의 판정은 앞서 제시한 최적의 방법으로 어육에서 ATP를 추출하여 루미노메타를 이용하여 측정된 ATP 함량으로 가능할 것이다.

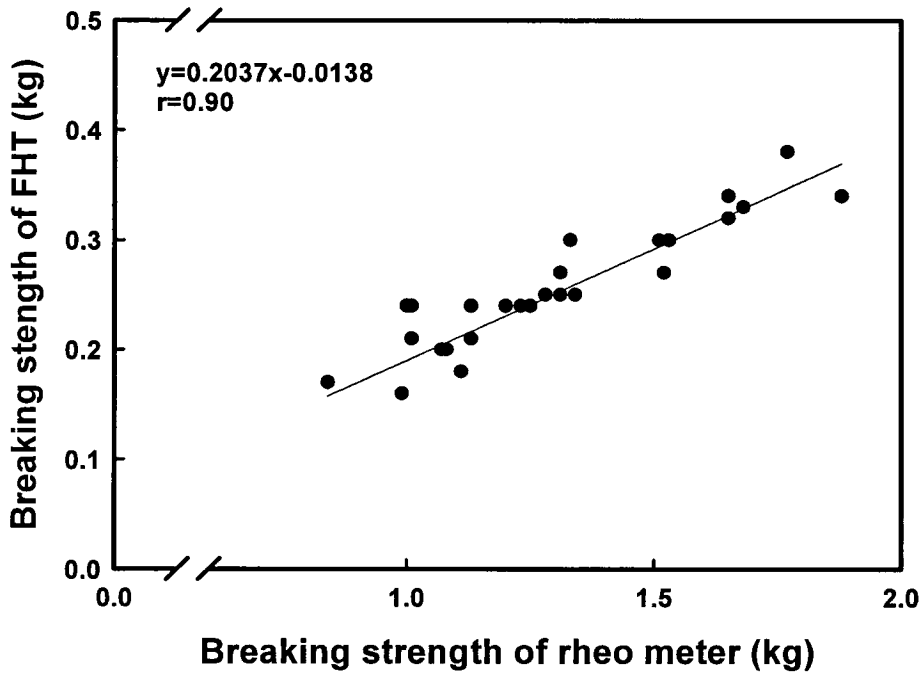


Fig. 3-4-3. Relationship between breaking strength that measuring with Rheometer and hardness tester on the muscle in various fishes.

다. 싱싱회 경과시간에 따른 어종별 RLU값의 수치화

루미노메타를 이용하여 측정된 ATP 함량에 대한 RLU값을 이용하여 싱싱회 경과시간을 판정하고자 하였다.

Fig. 3-4-4는 싱싱회로 가장 많이 제조되는 넙치, 농어, 송어, 조피볼락, 참돔의 크기에 따른 ATP관련물질의 함량 차이를 나타낸 것이다. 넙치의 경우, ATP 관련물질의 총 함량이 1.2 kg에서는 $12.04 \mu\text{mol/g}$ 이었으며, 800 g에서는 $11.47 \mu\text{mol/g}$, 600 g에서는 $10.58 \mu\text{mol/g}$ 을 나타내었으며, ATP 함량은 크기별로 $9.85 \mu\text{mol/g}$, $8.10 \mu\text{mol/g}$, $7.89 \mu\text{mol/g}$ 을 나타내어 크기가 클수록 ATP관련물질의 총 함량 및 ATP 함량이 다소 높은 것으로 확인되었다. 또한, 농어에서도 넙치와 비슷한 경향을 확인할 수 있었으며, 1 kg 농어의 ATP 관련물질의 총 함량은 $9.61 \mu\text{mol/g}$, ATP 함량은 $7.49 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났다. 그리고 800 g의 농어는 1 kg보다는 다소 낮은 $8.97 \mu\text{mol/g}$ 의 총 ATP 관련물질 함량을 나타내었으며, 이때 ATP 함량은 $6.44 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났다. 그러나 조피볼락에서는 넙치와 농어에서 나타난 결과와는 다소 차이가 있었으며, 800 g에서의 ATP 관련물질의 총 함량은 $10.00 \mu\text{mol/g}$, ATP 함량은 $6.85 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났으며, 600 g에서는 ATP 관련물질의 총 함량은 $7.46 \mu\text{mol/g}$, ATP 함량은 $3.52 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났다. 그리고 400 g에서는 600 g과 비슷한 ATP 관련물질의 총 함량($7.70 \mu\text{mol/g}$)을 나타내었으며, ATP 함량은 다소 높은 $5.51 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났다.

참돔은 조피볼락과 유사하게, 1.2 kg에서는 ATP 관련물질의 총 함량은 $8.55 \mu\text{mol/g}$, ATP 함량은 $6.36 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났으며, 1 kg에서는 1.2 kg보다는 낮은 $6.34 \mu\text{mol/g}$ 의 총 ATP 관련물질의 함량을 나타내었다. 그리고 800 g에서는 1 kg보다는 다소 높은 $6.57 \mu\text{mol/g}$ 의 총 ATP 관련물질의 함량과 $3.59 \mu\text{mol/g}$ 의 ATP 함량을 나타내었다.

이와 같이, 어종의 종류와 크기에 따라서 ATP 관련물질의 총 함량은 다소 차이가 있었으며, ATP 함량도 그 차이가 있었다. 이는 Fig. 3-1-2~Fig. 3-1-13 살펴본 어종별, 크기별에 따른 RLU값의 변화에서 알 수 있듯이, 싱싱회의 경과시간에 대한 범위를 하나의 범주로 국한시키기에는 매우

어려움이 있다.

그러므로 RLU값을 이용한 싱싱회 경과시간은 다음의 결과와 같이 어종별, 크기별로 나누어서 범례를 결정하여야 된다. 앞서 살핀, 넙치, 농어, 방어, 송어, 조피볼락, 참돔, 홍민어를 50미씩 싱싱회로 제작하여 빙장 중 ATP 함량을 조사하여 Table 3-4-2의 수식을 도출하였으며, 이 수식을 통하여 어종별로 싱싱회 경과시간, 5시간, 7.5시간, 10시간, 15시간, 24시간에 해당되는 RLU값의 범위를 정하였다(Table 3-4-2). 이때, 경과시간에 따라 계산된 값에 대한 5% 내외의 편차를 각 시간별에 따른 RLU값의 범위로 선정하였다.

그러므로 현장에서 어육으로부터 ATP를 추출 후, luciferin-luciferase 혼합물과 반응시켜 나타나는 RLU값을 Table 3-4-3과 비교하여 경과시간을 판정할 수 있을 것이다.

그러나 싱싱회는 표피와 내장 등 비가식부를 제거하고 생선회 상태로 포장되어 유통되고 있으므로 본 연구결과에서 제시한 바와 같이, 싱싱회의 크기별로 경과시간의 RLU값의 범위를 적용하는데 문제점이 있다. 이런 이유에서 본 연구결과에서 제시한 어종별, 크기별로 구입하여 싱싱회로 제조한 상태에서 체장과 체폭 등을 Table 3-4-4~Table 3-4-5와 같이 제시하였다.

넙치육은 등육과 배육으로 구분하여 싱싱회를 제조하며, 싱싱회로 제조시 수율이 대략 50%내외였으며, 등육과 배육의 fillet 상태에서 전체크기와 지느러미에 붙어 있는 날개살을 제외한 크기를 기준으로 하여 1.7 kg에서는 등육의 전체 크기 (B)가 8.5 ± 0.14 cm이며, 날개살을 제외한 크기(A)는 7.0 ± 0.27 cm로 나타났다. 배육의 전체크기 (D)가 9.0 ± 0.51 cm, 날개살을 제외한 크기(C)는 7.0 ± 0.25 cm로 나타났다. 1.0 kg에서는 등육의 전체 크기 (B)가 7.5 ± 0.53 cm이며, 날개살을 제외한 크기(A)는 6.3 ± 0.41 cm로 나타났다. 배육의 전체크기 (D)가 8.0 ± 0.20 cm, 날개살을 제외한 크기(C)는 6.7 ± 0.25 cm로 나타났다.

현재 싱싱회 가공공장에서는 상품성을 고려하여 1 kg 이상의 넙치를

사용하고 있으며, Table 3-4-4를 고려하여 싱싱회의 크기를 측정하여 RLU값의 범위를 적용하면 될 것으로 판단된다.

Table 3-4-5는 농어, 방어, 조피볼락, 참돔, 홍민어의 크기별에 따른 부위별 크기 범위를 나타내었다. 넙치와 달리 싱싱회로 가공시 수율은 대략 30~35%로 나타났으며, 전체 체장(B), 체폭(A), 체고(B)를 조사하여 각 어종별, 크기별로 제시하였다. 포장된 싱싱회는 생선회로 조리되어 절단되어 있으나 전체적인 체장은 다소 차이가 있을 수 있으나 체폭과 체고는 제시된 바와 같이 나타났다.

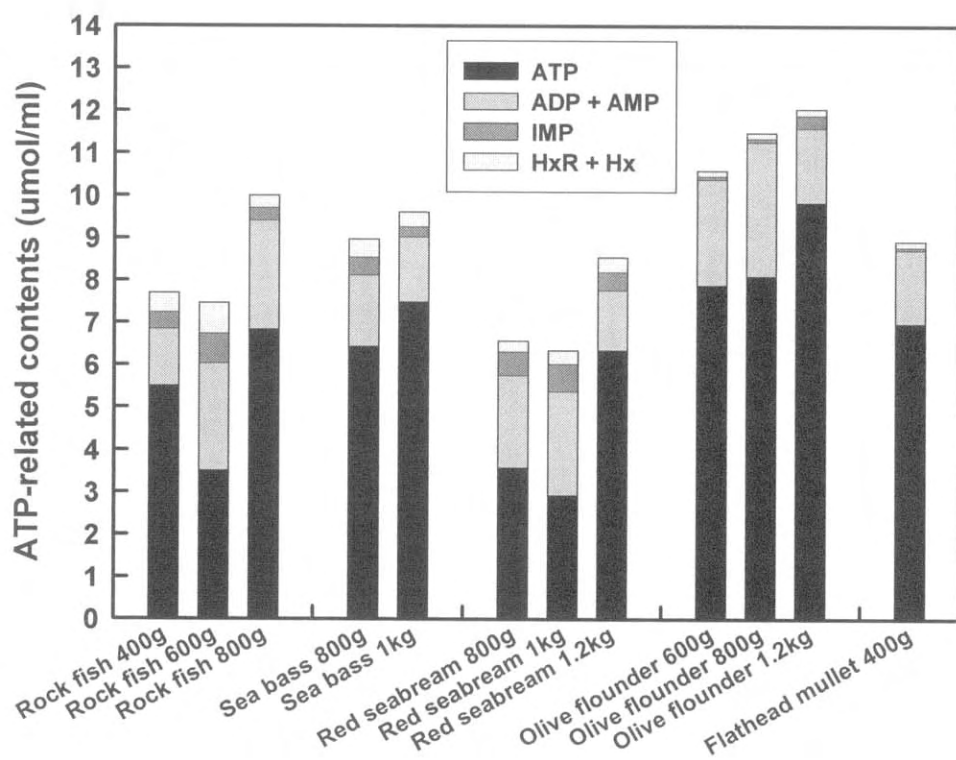


Fig. 3-4-4. Changes of the ATP concentration that measuring with HPLC on the muscle in various fishes by weight.

Table 3-4-2. Equation for the time elapsed of fresh sliced fish (Singsingheo)

Fish species	Equation
Olive flounder	
- 1,200 g	$Y=166.90X^3-8170.9X^2+16582.1X+2.11\times 10^6$ ($R^2=0.99$)
- 1,000 g	$Y=245.76X^3-9756.94X^2+11549.1X+1.98\times 10^6$ ($R^2=0.99$)
- 800 g	$Y=258.68X^3-9235.84X^2-2370.12X+1.86\times 10^6$ ($R^2=0.99$)
- 600 g	$Y=232.68X^3-8116.7X^2-2973.94X+1.58\times 10^6$ ($R^2=0.99$)
Sea bass	
- 1,200 g	$Y=257.97X^3-10283.8X^2+46322.4X+1.22\times 10^6$ ($R^2=0.99$)
- 1,000 g	$Y=200.33X^3-7754.17X^2+13289.5X+1.18\times 10^6$ ($R^2=0.98$)
- 800 g	$Y=118.63X^3-5536.74X^2-4693.37X+1.13\times 10^6$ ($R^2=0.97$)
Yellowtail	
- 1,000 g	$Y=1212.33X^3-40069.3X^2+112981X+2.19\times 10^6$ ($R^2=0.95$)
- 800 g	$Y=-2339.75X^3+5732.52X^2-42590.9X+2.08\times 10^6$ ($R^2=0.99$)
- 600 g	$Y=4698.11X^3-95552.4X^2+292180X+1.77\times 10^6$ ($R^2=0.92$)
Flathead mullet	
- 1,000 g	$Y=-18.17X^3+1182.43X^2-29830.1X+2.78\times 10^5$ ($R^2=0.97$)
- 800 g	$Y=-30.69X^3+1489.66X^2-29349.1X+2.35\times 10^5$ ($R^2=0.99$)
- 600 g	$Y=-63.31X^3+2269.32X^2-33234.9X+2.10\times 10^5$ ($R^2=0.99$)
- 400 g	$Y=-110.28X^3+2779.02X^2-28106.1X+1.52\times 10^5$ ($R^2=0.98$)
Black rockfish	
- 1000 g	$Y=138.35X^3-4756.25X^2+12443.1X+5.43\times 10^5$ ($R^2=0.99$)
- 800 g	$Y=137.75X^3-4296.73X^2+3255.17X+5.28\times 10^5$ ($R^2=0.98$)
- 600 g	$Y=240.10X^3-6313.57X^2+6430.68X+4.81\times 10^5$ ($R^2=0.99$)
- 400 g	$Y=259.96X^3-5510.05X^2-8968.32X+4.54\times 10^5$ ($R^2=0.99$)
Red seabream	
- 1,200 g	$Y=488.24X^3-16136.7X^2+25405.6X+1.67\times 10^6$ ($R^2=0.99$)
- 1,000 g	$Y=644.15X^3-18026.2X^2+30398.5X+1.32\times 10^6$ ($R^2=0.97$)
- 800 g	$Y=1125.34X^3-25886X^2+44747.5X+1.23\times 10^6$ ($R^2=0.96$)
Red drum	
- 2,500 g	$Y=614.44X^3-11641X^2-115196X+2.31\times 10^6$ ($R^2=0.99$)
- 1,600 g	$Y=566.47X^3-15470.9X^2-55032.4X+1.84\times 10^6$ ($R^2=0.96$)

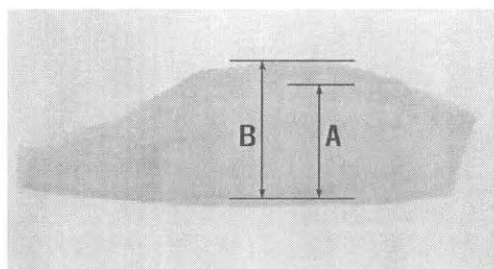
**Table 3-4-3. RLU range for the time elapsed of fresh sliced raw fish
(Shingshinghoe)**

Time	5hr	7.5hr	10hr	15hr	24hr
Species					
Olive flounder					
- 1,200 g	1,909,025~2,109,976	1,752,905~1,937,422	1,544,349~1,706,913	1,029,388~1,137,745	103,320~114,195
- 1,000 g	1,733,315~1,915,769	1,540,397~1,702,544	1,297,279~1,433,835	747,997~826,733	32,839~36,296
- 800 g	1,567,109~1,732,068	1,360,247~1,503,431	1,112,825~1,229,965	588,458~650,401	56,302~62,229
- 600 g	1,321,733~1,460,863	1,139,328~1,259,258	922,707~1,019,834	469,707~519,150	47,476~52,473
Sea bass					
- 1,200 g	1,165,425~1,288,101	1,042,896~1,152,675	867,173~958,455	448,048~495,211	-
- 1,000 g	1,023,753~1,131,516	881,613~974,414	700,918~774,698	295,230~326,306	-
- 800 g	933,796~1,032,091	791,735~875,075	615,621~680,423	203,499~224,920	-
Yellowtail					
- 1,000 g	1,809,478~1,999,949	1,230,166~1,359,657	498,950~551,471	-	-
- 800 g	1,631,995~1,803,784	1,041,143~1,150,737	-	-	-
- 600 g	1,357,886~1,500,821	540,116~596,970	-	-	-
Flathead mullet					
- 1,000 g	148,332~163,946	107,464~118,776	75,783~83,761	33,508~37,035	-
- 800 g	115,577~127,743	81,441~90,014	56,796~62,774	25,040~27,676	-
- 600 g	88,013~97,277	58,595~64,763	39,209~43,337	7,982~8,822	-
- 400 g	63,802~70,518	48,450~53,550	36,633~40,489	-	-
Black rockfish					
- 1,000 g	478,423~528,783	405,793~448,508	313,648~346,664	120,100~132,743	13,856~15,314
- 800 g	431,373~476,780	350,394~387,278	255,197~282,060	71,221~78,718	33,690~37,237
- 600 g	366,060~404,593	261,615~289,153	146,347~161,752	-	-
- 400 g	288,707~319,097	177,145~195,791	69,608~76,935	-	-
Red seabream					
- 1,200 g	1,381,908~1,527,373	1,100,887~1,216,770	758,695~838,557	64,730~71,543	-
- 1,000 g	1,046,763~1,156,949	765,477~846,054	442,239~488,791	-	-
- 800 g	899,892~994,618	555,058~613,485	203,504~224,926	-	-
Red drum					
- 2,500 g	1,443,810~1,595,790	997,919~1,102,963	577,961~638,799	34,742~38,399	-
- 1,600 g	1,186,431~1,311,318	756,198~835,798	293,603~324,509	-	-

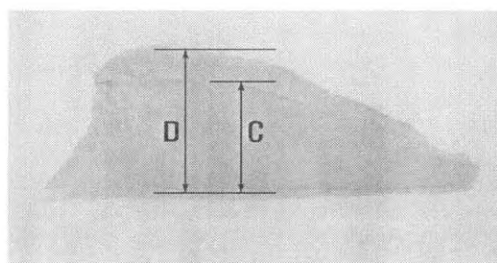
Table 3-4-4. The profile of the range of part in the muscle on olive flounder by various weight

	Weight	Dorsal muscle		Ventral muscle		Yield (%)
		A ¹⁾ (cm)	B (cm)	C (cm)	D (cm)	
Olive flounder	1.7kg	7.0 ± 0.27	8.5 ± 0.14	7.0 ± 0.25	9.0 ± 0.51	52.16
	1.2kg	6.5 ± 0.33	8.0 ± 0.42	6.8 ± 0.42	8.5 ± 0.28	51.54
	1.0kg	6.3 ± 0.41	7.5 ± 0.53	6.7 ± 0.25	8.0 ± 0.20	51.49
	800g	5.8 ± 0.39	7.0 ± 0.62	6.0 ± 0.24	7.8 ± 0.37	50.61
	600g	5.7 ± 0.21	6.7 ± 0.12	6.2 ± 0.35	7.5 ± 0.51	49.05

¹⁾ : Description of part name is as follow :



Dorsal muscle

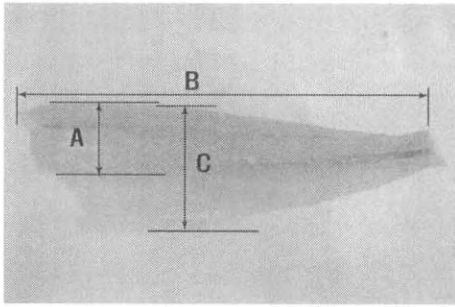


Ventral muscle

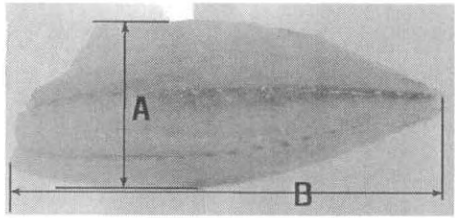
Table 3-4-5. The profile of the range of part in the muscle on fish species by various weight

Fish species	Weight	A ¹⁾ (cm)	B (cm)	C (cm)	Yield (%)
Seabass	1.2kg	5.0 ± 0.12	37.0 ± 0.36	9.7 ± 0.24	36.86
	1kg	4.7 ± 0.25	25.0 ± 0.30	9.5 ± 0.33	35.24
	800g	4.3 ± 0.27	27.0 ± 0.22	8.7 ± 0.17	34.20
Yellowtail	1.7kg~2kg	12.33 ± 0.91	19.23 ± 0.54		51.04
Black rockfish	800g	11.0 ± 0.87	21.0 ± 1.33	5.0 ± 0.78	35.32
	600g	9.5 ± 0.52	19.0 ± 1.42	4.3 ± 0.37	33.20
	400g	9.0 ± 0.38	15.5 ± 1.54	4.0 ± 0.48	31.98
	200g~300g	7.7 ± 0.50	14.0 ± 1.36	3.5 ± 0.24	28.04
Red seabream	1.2kg	14.0 ± 0.41	25.0 ± 0.50	6.5 ± 0.36	36.68
	1.0kg	12.5 ± 0.38	21.5 ± 0.37	5.6 ± 0.33	35.75
	800g	11.3 ± 0.23	21.0 ± 0.24	5.3 ± 0.15	32.22
Red drum	2.5 kg	17.0 ± 0.75	34.0 ± 1.24	5.5 ± 0.57	32.40
	1.6 kg	12.0 ± 0.68	33.0 ± 1.66	5.0 ± 0.43	29.55

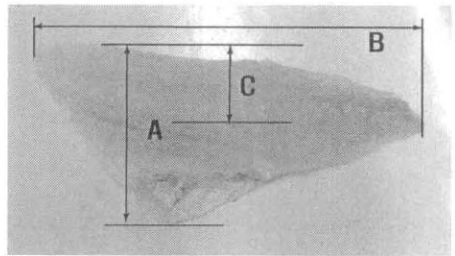
¹⁾ : Description of part name is as follow :



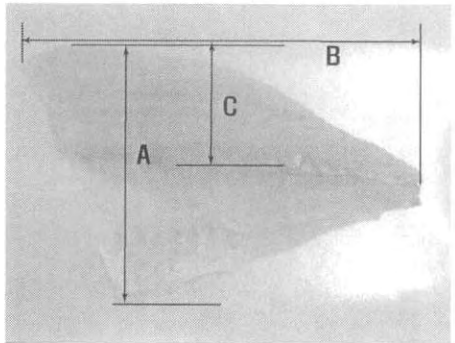
Seabass



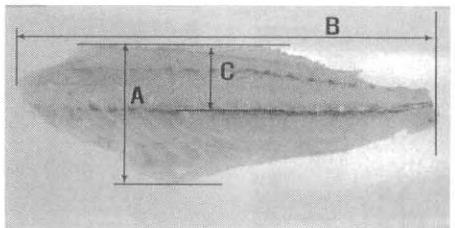
Yellowtail



Black rockfish



Red seabream



Red drum

제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 연구개발목표의 달성도

1. 싱싱회 경과시간 판정지표의 검색

넙치, 농어, 방어, 송어, 조피볼락, 참돔, 홍민어 총 7종의 활어를 싱싱회로 제조하여 빙장 중 파괴강도와 ATP 관련물질의 변화를 조사하여, 싱싱회 경과시간에 따른 파괴강도와 ATP 관련물질을 조사하였으며, 파괴강도와 ATP 함량과의 상관성을 비교하여 싱싱회 경과시간 판정지표로써 파괴강도 및 ATP 함량을 선정하였다.

2. 현장에서 루미노메타(Lumitester)에 의한 싱싱회

근육중의 ATP 함량 측정방법 확립 및 개발방향 제시

가. 최적 추출용매 선정

현장에서 루미노메타를 이용하여 어육에서 ATP 함량을 측정하기 위하여 어육으로부터 ATP를 추출하고 측정 kit와 반응유무를 확인하여 최적의 추출용매를 선정하고자 하였다. 검토된 추출용매는 glycine buffer, tris-HCl buffer, citrate buffer, tris-malate buffer, tricine buffer, phosphate buffer, borate buffer, water, perchloric acid (PCA), trichloroacetic acid (TCA)를 농도별, pH별로 제조하여, 이들 buffer에 8 μ mol의 ATP 표준물질과 어육추출액을 루미노메타로 측정하여 가장 높은 수치를 보이는 버퍼를 선정하고자 하였으며, tris-HCl (pH 6.8), tris-malate buffer, tricine, water, 20 % TCA, 10 % PCA에서는 ATP 표준물질과 반응 시 RLU가 나타나지 않았으며, glycine buffer (pH 6.8)는 362,732 RLU, citrate buffer (pH 6.8)와 phosphate buffer (pH 6.8)만이 반응을 보였다. 반응을 보인 추출용매를 pH, 농도별로 제조하여

ATP 표준물질과 어육추출물에서 반응을 살펴본 결과, 최적의 추출용매로 0.5M phosphate buffer (pH6.8)을 선정하였다.

나. 최적 추출방법 선정

선정된 최적 추출용매를 이용한 최적 추출방법을 선정하기 위하여 사용육의 양(0.5g, 1.0g, 1.5g)과 추출액의 양(5 mL, 10 mL, 15 mL) 및 추출시간(30초, 1분, 2분, 3분, 4분, 5분) 그리고 균질기, 유리기구, 막자사발, 비닐 등을 이용한 추출방법을 조사한 결과, 소형균질기를 이용하여 추출하는 것이 가장 실험자간의 오차 및 실험값의 편차를 줄일 수 있으므로 최적의 추출방법으로 선정하였다.

3. 현장에서 경도계에 의한 육질의 단단함의 측정방법 확립 및 개발방향 제시

어종별, 크기별, 저장온도 및 저장기간별에 따른 육질의 단단함의 변화를 휴대용 경도계로 측정하여 최적조건을 확립하였으나, 실험자간의 누르는 힘의 차이와 숙련된 기술을 요하므로 휴대용 경도계를 이용한 파괴강도 값의 측정은 싱싱회 경과시간을 판정하기에는 부적합한 것으로 확인되었다.

4. 싱싱회 경과시간에 따른 RLU값의 수치화

ATP 함량의 HPLC법의 결과와 루미노메타 결과의 상관성 분석을 통하여 싱싱회의 경과시간을 실험실에서 고가의 장비인 HPLC를 이용하여 분석하는 결과와 현장에서 소형균질기를 이용하여 어육에서 ATP를 추출한 후, 루미노메타를 이용하여 분석한 결과와의 상관성이 매우 높으므로, 루미노메타를 이용하여 현장에서 신속·정확하게 싱싱회의 경과시간을 판정할 수 있을 것으로 판단된다. 파괴강도의 레오메타 결과와 휴대용 경도계 결과의 상관성 분석은 일정형태의 틀을 사용하지 않고 넓치 싱싱회 육에 바로 측정하여 상관성을 조사한 결과, 일정크기의 틀을 이용한 결과와 비슷하게, 물성측정기에

서 측정된 값에 1kg 정도 낮게 나타났으며, 두 값의 상관성이 $r=0.69$ 로 측정되었다. 그러나 앞서 밝힌 바와 같이 현장에서 휴대용 경도계를 이용하여 싱싱회의 육에 대한 파괴강도를 측정 시 실험자간의 누르는 힘이 다르며, 무엇보다 숙련된 기술을 요하게 된다.

이상의 결과로 살펴 볼 때, 싱싱회의 경과시간을 판정할 수 있는 판정 지표로 육질의 단단함, 즉 파괴강도와 ATP 함량으로 선정하였다. 본 연구는 현장에서 쉽고, 신속·정확하게 싱싱회의 경과시간을 판정하는 것으로 파괴강도는 휴대용 경도계, ATP 함량은 루미노메타를 이용한 방법을 제시하여, 어종별 싱싱회 경과시간에 따른 각각의 값들을 조사하였다. 그러나 휴대용 경도계를 이용한 파괴강도의 측정은 실험자간의 누르는 힘과 숙련도가 다르며, 경과시간에 따른 측정된 파괴강도값의 차이가 매우 미미하여 싱싱회 경과시간을 판정하기에는 다소 어려움이 있을 것으로 판단된다.

싱싱회로 가장 많이 제조되는 넙치, 농어, 송어, 조피볼락, 참돔의 크기에 따른 ATP 관련물질의 함량 차이를 조사한 결과, 어종의 종류와 크기에 따라서 ATP 관련물질의 총 함량은 다소 차이가 있었으며, ATP 함량도 그 차이가 있었다. 그러므로 어종별로 싱싱회 경과시간에 따른 ATP 함량의 감소에 따른 수식을 도출하여, 싱싱회 경과시간에 따른 RLU값의 범위를 설정하였다.

제 2절 관련분야 기술 발전에의 기여도

일반적으로 생물학적 발광반응을 이용한 미생물 내에 존재하는 ATP 함량을 정량분석함으로써 미생물을 간접적으로 신속히 측정하는 방법으로 식품의 경우 sharp 등(1970)은 여러 가지 식품제조 시 생산품의 오염과 손실 및 품질을 관리하는 방법으로 이 방법의 이용가능성을 제시하였으며, Goldschmidt와 Fung(1978)에 이하면 식품에는 비세균성 ATP와 생물학적 발광반응을 방해하는 억제물질이 존재하기 때문에 세균 ATP를 측정하는데 어려움이 있다고 보고하였다. 이처럼 생물학적 발광반응을 이용한 ATP 함량 측정은 미생물을 간접적으로 측정하는 방법으로 연구되어져 왔다. 이와 같이, 생물학적 발광반응은 미생물을 대상으로 하여 주로 연구가 이루어져 있으나 어육 중의 ATP 함량 등에 대한 연구는 전무한 실정이다.

2004년에 보고된 「양식산 활어의 신속, 정확한 품질판정 기술개발에 관한 연구」에서 양식산 활어의 건강상태를 Adenyl Energy charge (AEC)로 확인이 가능하다고 보고한 바가 있다. 이는 활어가 스트레스를 받게 되면 근육 중의 ATP를 소모하여 ADP로 분해되면서 에너지를 얻게 되며 AEC가 감소하게 되며, 스트레스 정도에 따라 AEC와 ATP 함량과의 상관관계를 보고하고 있다. 이와 같이, 어육에서의 ATP 함량으로 간접적으로 활어의 건강상태를 확인할 수 있으므로 본 연구에서 도출된 최적의 추출용매와 방법으로, 어육으로부터 ATP를 추출하여 kit (Lucipac W, Swab test, kikkoman, Japan)와 반응 후, 루미노메타로 측정한다면 현장에서 활어의 건강도 등을 쉽게 측정할 수 있을 것이다. 그리고 AEC 값은 패류의 건강상태를 판정지표로 일반적으로 사용되고 있으므로, 환경 및 영양 등이 패류에 미치는 영향 등을 연구하는데 이용이 가능할 것이다.

그러므로 본 연구결과는 생물학적 발광반응을 이용한 응용과학에 기여 할 것으로 판단된다. 또한, 온도에 안정한 firefly luciferase와 기질로써 D-luciferin과 최적의 버퍼와 반응하여 ATP 함량을 측정하게 되며, 일본 등 외국기업에서 제조가 이루어지고 있다. 이런 ATP 함량 측정을 위한 kit는 현장에서 누구나 쉽게 미생물 수를 측정하여 위생 상태를 점검할 수 있어

사용량이 증가하고 있는 추세이다. 시판되고 있는 luciferase와 D-luciferin을 구입하여 0.5M phosphate buffer(pH 6.8)에 ATP 표준물질을 녹여 농도별로 반응하여 RLU값을 측정하였으며(Fig. 4-2-1), 그 결과 ATP 농도에 따른 RLU값이 증가하는 직선곡선이 나타났으나 luciferase와 D-luciferin 혼합물 이용한 반응에서 시간이 경과할수록 활성이 저하되는 결과를 얻게 되었다. 그러므로 효소와 기질 반응물의 안정화를 위한 물질과 시판 luciferase가 아닌 미생물 등에서 얻은 luciferase 효소를 이용한 kit 제작 및 심심회 경과시간을 판정 기계 제작 등에 본 연구결과가 활용되어, 다양한 분야에서 이용되는 luciferase와 D-luciferin 혼합물 이용한 ATP 함량 측정 기술 개발이 기여할 것이다.

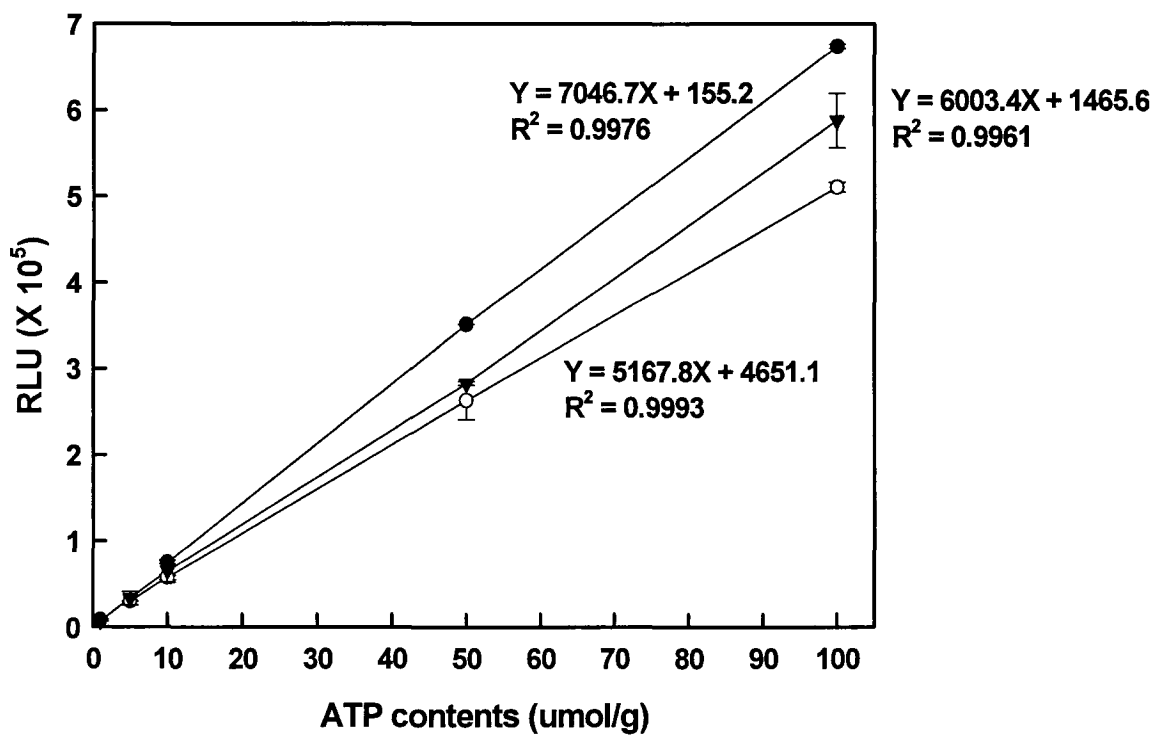


Fig. 4-2-1. Standard curve of the ATP concentration to determine with luciferin-luciferase method.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1절 연구개발결과의 활용계획

본 연구과제가 수행되어 싱싱회 경과시간 판정을 위하여 현장에 보급 되면, 싱싱회 유통질서가 확립될 뿐만 아니라, 맛이 좋고, 저렴하며, 위생적인 이미지인 싱싱회의 소비가 확대될 것이다. 그리고 생선회 식문화의 업그레이드는 물론이고, 생선회 관련 산업 및 수산업의 활성화에 기여할 것이다.

그러므로 개발된 현장에서 싱싱회의 경과시간 판정기술을 싱싱회 산업을 활성화시키기 위한 관리방법으로 활용하며, 싱싱회 가공공장 및 싱싱회 유통 및 판매 업소의 현장에서 사용할 수 있도록 활용한다. 그리고 싱싱회 품질관리의 신뢰성을 확보하는 홍보 및 싱싱회 식문화 발전과 국제화를 위한 저변기술 확보에 활용한다.

1. 기술적 측면

- 싱싱회 경과시간의 신속 정확한 현장에서의 판정기술이 개발되고, 현장에서 관리 감독할 수 있어야만 싱싱회 산업이 활성화 될 수 있다.
- 우리국민들이 선호하는 펄떡펄떡 튀는 활어회에 가까운 육질을 유지하는 싱싱회를 공급해야 싱싱회 산업이 활성화 된다.
- 본 연구결과를 바탕으로, luciferin-luciferase 혼합물의 kit 및 장치의 국내개발에 기초자료로 활용이 가능하다.

2. 경제·산업적 측면

- 싱싱회 문화의 정착으로 생선회 소비가 확대된다.
- 국제 경쟁력을 갖게 된다.
- 양식어가의 소득이 증대된다.

- 생선회 유통질서의 확립을 위해서도 필요하다.
- 소비자들에게 저가의 맛있는 생선회 공급이 가능하다.

3. 사회·문화적 측면

- 우리나라와 일본의 생선회 식문화의 차이점을 분석해야 한다.
- 우리국민의 식문화인 씹힘성이 좋은 싱싱회가 보급되어야 싱싱회 산업이 활성화 된다.
- 생선회 식문화가 한 단계 업그레이드될 수 있다.
- 싱싱회의 대중화로 우리 국민의 건강수명이 늘어날 수 있다.

제 2절 연구개발결과의 활용을 위한 정책제안

우리나라 연간 1인당 수산물 소비량이 1990년대 후반 30 kg대에서 2001년에 40 kg으로 증가하였으며, 2005년에는 48.1 kg으로 2001년에 비해 14.0% 증가한 것으로 나타났으며, 축산물은 2005년에 36.5 kg으로 2001년에 비해 4.5% 감소한 것으로 나타났다(박광서, 2007).

그리고 우리나라 전체 수산물 소비량은 2006년에 약 400만 톤이었는데, 이는 2001년에 비해 23% 증가한 것이며, 이는 씨푸드 패밀리 레스토랑, 퓨전해산물 주점, 초밥 전문점 등의 신규 외식업체가 수산물 소비증가를 주도하고 있다. 이런 신규 외식업체들이 국산 수산물보다는 주로 수입산을 사용하고 있으며, 이와 같이 국내수산물 소비량 중 수입량이 차지하는 비중은 2001년부터 30% 이상을 기록하고 있다. 국내 어업생산량이 증가함에 따라 수입의존도는 2005년부터 감소하였으나 여전히 내수소비량이 1/3이상을 수입산이 차지하고 있는 실정이다(박광서, 2007).

이와 같이 수산물의 소비가 증가하고 있고 내수소비에서 수입산이 차지하고 있는 비중이 늘어남에 따라 해양수산부에서는 국내 수산물의 소비촉진과 어업인들을 보호하기 위해 많은 정책들을 펼치고 있다.

그 중 하나인 싱싱회 사업은 국내 선어회 문화 정착과 과잉 생산되는 활어 및 저가로 공급되는 수입산 활어로 부터 국내 어업인들을 보호하고 수산물의 소비촉진을 위하여 2003년부터 보급 사업을 실시하고 있다.

싱싱회 가공공장은 2003년부터 건립과 정부로부터 지원을 받아 2005년부터 가동이 실시되어 2007년에는 1개 업소가 가동을 중단하고 5개소가 운영되고 있으며, 가동률은 10~20%대로 저조한 실정이다.

싱싱회 가공공장의 저조한 가동률은 가공업체에서 임의적으로 정한 유통시간으로 소비자들에게 맛있고 위생적인 싱싱회를 공급되기 보다는 일본식의 선어회가 소비자들에게 공급되면서, 한번 구매한 소비자들의 외면을 초래하게 된 것이다. 또한 이런 소비자들의 소비저조가 정책에 대한 제고 등이 고려되어 매스컴의 주목을 받고 있다.

싱싱회 보급 활성화를 위해 2006년부터 해양수산부에서는 싱싱회 판매장을 모집하여 15개소에 정부지원금을 지원하고 있으나 판매율은 저조하다.

싱싱회의 유통시간은 즉살직후의 육질의 단단함이 유지되는 10시간까지 유통이 되며, 유통시간 이후에는 초밥 등의 재료로 이용되거나 저렴한 가격으로 소비자들이 구입할 수 있도록 하는 것이 2002~2003년까지 수행한 해양수산부 연구용역과제에서 발표하였다.

본인이 제시한 바와 같이 싱싱회 유통시간의 연장은 싱싱회 사업의 발전을 저해하고 있으므로 이를 해결하기 위해서는 철저한 유통시간 관리가 필요하다. 그러므로 싱싱회 산업의 발전과 싱싱회 보급 활성화를 위해서는 본 연구결과가 다음과 같이 활용되어야 한다고 판단된다.

1. 싱싱회 제조시간 표시 의무화

소비자들의 소비수준 향상으로 국내산 수산물의 선호와 위생관리에 대한 관심고조 등으로 대형 할인마트에서 판매되는 즉석식품은 제조시간 등을 표시하여 소비자들이 위생적인 식품을 안심하고 섭취할 수 있다고 홍보하고 있다. 그러나 싱싱회는 유통기한만이 포장지에 표기되고 있어 소비자들이 정확한 제조시간을 확인할 수 없어 소비자들이 정확한 정보를 제공받고

자발적인 소비가 이루어지고 있지 않은 실정이다.

그러므로 싱싱회에 대한 소비자들의 신뢰를 회복하고 소비촉진을 위해서는 정부차원에서 싱싱회 제조시간의 의무화가 추진되어, 싱싱회 포장지에 제조시간이 표기되어야 할 것이다.

2. 싱싱회에 대한 대국민 홍보 제고

싱싱회 사업 초기에는 10시간 이내에 제조된 싱싱회를 수산물 박람회 등에서 시식회를 실시하거나 대중매체를 통하여 맛있고 위생적인 싱싱회가 소비자들의 손쉽게 구입할 수 있다고 홍보하였다. 그러나 싱싱회 사업의 부진으로 홍보 부진 및 소비자들의 재구매 의욕이 저하되고 있으므로, 싱싱회 표시 의무화와 유통시간에 대한 철저한 품질관리가 산업체에서 이루어지고 있다는 홍보를 통하여 싱싱회 맛에 대한 재신임 확보와 싱싱회 산업 활성화에 기여하게 될 것이다.

3. 효과적인 활용을 위한 기술사용료 감면 제고

해양과학기술 연구개발사업 운영기준에 따르면, 연구개발결과의 활용 등의 규정에서 주관연구기관의 장 또는 전문기관의 장은 연구개발결과가 널리 활용될 수 있도록 실시권자와 기술실시계약을 체결하는 등 연구개발결과를 활용하는 데 필요한 조치를 취하여야 한다고 규정하고 있다. 그리고 이에 따른 기술료를 징수하게 되어 있는데, 본 연구개발결과에 대한 기술실시 계약을 행하게 되면 중소기업이 연구개발의 성과를 제품 생산과정 등에 이용하는 경우 당해 연구개발비 중 정부출연금액의 80% 상당액의 감면(제41조 2항)을 볼 수 있다.

이에 따라 대략 계산을 하면, 100,000,000 원(연구개발비)×20%=20,000,000 원(기술유효기간 : 5년, 80% 기술료 감면시, 전액납부 또는 5년 동안 분납 가능)되며, 싱싱회 가공공장, 대형 할인마트 및 싱싱회 전문점 등에서 판매가 저조한 싱싱회의 경과시간에 대하여 기술료까지 부담하기에는 매우 힘든 실정이다.

그러므로 싱싱회 가공공장은 대부분 정부의 지원금을 이용하여 설비 및 유지되고 있고, 싱싱회 산업에 해당되는 일부분으로, 본 기술 보급을 위해서는 추가 감면혜택을 통하여 싱싱회의 품질관리가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

4. 유통시간에 대한 자발적인 품질관리

본 기술이 보급된다면 유통 10시간까지는 경과시간에 대한 품질관리는 문제시 되지 않을 것으로 생각되며, 싱싱회의 경과시간이 10시간 이후에 관리가 매우 중요하다고 판단되어진다. 앞서 밝힌 바와 같이, 싱싱회의 경과시간을 판정하기 위해 어육내에서 ATP를 추출하는 방법이 소형균질기를 이용하는 것이나 10시간 경과 후에는 소형균질기와 손으로 주물러서 추출하는 방법으로 ATP 함량 측정시 두 가지 방법에서 측정된 함량이 비슷하였다.

Table 5-2-1과 Table 5-2-2에서는 소형균질기와 손으로 주물러서 추출하는 방법으로 ATP 함량을 측정할 때 필요한 물품과 예상구매가격을 조사하여 보았다. 소형균질기를 이용하는 방법은 소형균질기의 예상구매 가격이 3백만으로 다소 높아 전체 금액이 5백만내외이며, 손으로 주물러서 추출하는 방법은 2백 5십만으로 조사되었으며, 1회 소모성 물품은 5천원내외이다.

조사된 바와 같이 적은 비용으로 싱싱회의 경과시간에 대한 품질관리가 이루어질 수 있으며, 업계에서는 본 연구기술결과를 이용하여 철저한 유통시간이 관리되어 유통시간이 경과한 싱싱회는 초밥이나 가격 저하 등의 판매전략으로 싱싱회에 대한 소비자들의 신뢰 확보가 무엇보다 필요할 것으로 판단된다.

5. 횃집용 싱싱회 보급을 통한 싱싱회 사업 활성화

싱싱회는 활어를 가공공장에서 생선회로 가공하여 유통판매되고 있는 것을 말하며, 수송비 등이 절약되어 저렴하고 맛있는 생선회를 소비자들이 구매할 수 있는 장점을 가지고 있었다. 그러나 현재의 싱싱회는 가공과 판매부진으로 활어회에 비해 가격의 차가 크지 않은 실정이다.

그러므로 싱싱회의 장점을 살리면서 효과적인 싱싱회 보급을 위해서

싱싱회 판매장에 싱싱회 뿐만 아니라, 양식장에서 활어의 피를 뽑은 죽은 상태로 스티로폼 상자에 얼음과 같이 넣고 횡집으로 수송하여 10시간까지 생선회로 조리해 먹는 횡집용 싱싱회를 공급하는 것이다.

횡집용 싱싱회는 싱싱회의 맛과 경제성을 그대로 유지되고 있으면서 싱싱회 판매장뿐만 아니라 일반 횡집, 일식집에 공급이 가능하며, 횡집용 싱싱회를 공급받은 업소에서는 생선회로 조리하여 판매가 가능하게 된다.

업소는 활어상태가 아니라 횡집용 싱싱회를 공급받으므로 효율적인 주방공간관리가 가능하며, 활어회보다 저렴하고 맛이 좋은 생선회를 소비자들에게 공급할 수 있을 것이다.

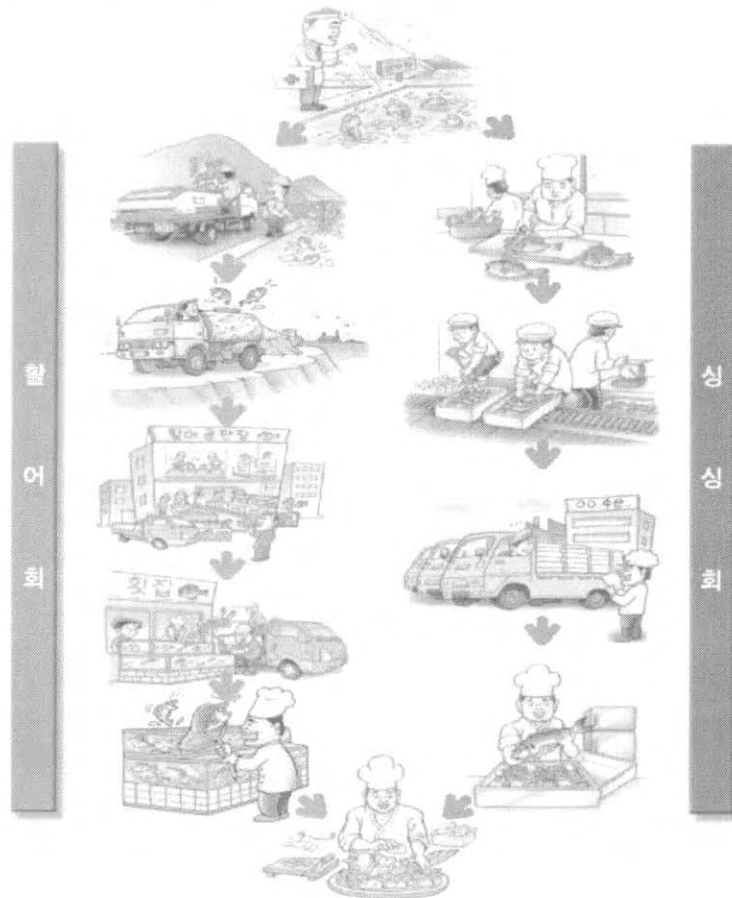


Table 5-2-1. Estimated price to measure for the content of ATP in the muscle on fishes with homogenizer

Description	Price (Won)	Type
Homogenizer	2,750,000	Nissei, JAPAN, AM-2
Lumitester	2,420,000	PD-10, Kikkoman
Balance	121,495	Kern, 85×130×25 mm
Beaker	1,100	50 mL
Funnel	1,500	small
Knife, Ruler, Forceps	1,100	
KIT	3,190	LuciPac W, Kikkoman
Disposal syringe	100	5 mL
Disposal pipet	360	10 mL
Disposal pipet	220	1 mL
Syringe filter	1,540	0.45 μm
Filter paper	40	No.2, 110 mm
Total Price	5,300,645	

Table 5-2-2. Estimated price to measure for the content of ATP in the muscle on fishes with zipper bag

	Price (won)	Type
Lumitester	2,420,000	PD-10, Kikkoman
Balance	121,495	Kern, 85×130×25 mm
Beaker	1,100	50 mL
Funnel	1,500	small
Knife, Ruler, Forceps	1,100	
Zipper bag	80	small
KIT	3,190	LuciPac W, Kikkoman
Disposal syringe	100	5 mL
Disposal pipet	360	10 mL
Disposal pipet	220	1 mL
Syringe filter	1,540	0.45 μm
Filter paper	40	No.2, 110 mm
Total price	2,550,725	

제 6 장 참고문헌

Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1991a. Post-mortem tenderization of fish muscle proceeds independently of resolution of rigor mortis. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1165-1169.

Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1991b. Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure. *J. Sci. Food Agric.*, 55, 589-597.

Ando, M., H. Toyohara and M. Sakaguchi. 1992. Three-dimensional structure of collagen fibrillar network of pericellular connective tissue in association with firmness of fish muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1361-1364.

Ando, M., H. Toyohara and M. Sakaguchi. 1992. Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by the disintegration of collagen fibers in the pericellular connective tissue. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 567-570.

Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1993. Post-mortem tenderization of fish muscle due to weakening of pericellular connective tissue. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1073-1076.

Baily, A. J., G. B. Shellswell and V. C. Duance. 1979. Identification and changes of collagen types in differentiating myoblasts and developing chicken muscle. *Nature*, 278, 67-69.

Barroso, M., M. Careche and A.J. Borderias. 1998. Quality control of frozen fish using rheological techniques. *Trends in Food Sci. and Technol*, 9, 223-229.

Bate-Smith, E.C. 1948. The physiology and chemistry of rigor mortis, with special reference to the aging of beef. *Adv. Food Res.* 1:1.

Bito, M., K. Yamada, Y. Mikumo and K. Amano. 1983. Studies on the rigor mortis of fish: 1. Difference in mode of rigor mortis among some varieties of fish by modified cutting's method. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 109, 89.

Boyd, N. S., N. D. Willson, A. R. Jerrett and B. I. Hall. 1984. Effects of brain destruction on post harvest muscle metabolism in the fish kahawai(*Arripis trutta*). *J. Food Sci.*, 49, 177~179.

Chiba, A., M. Hamaguchi, M. Kosaka, T. Kokuno, T. Asai and S. Chichibu. 1991. Quality evaluation of fish meat by phosphorus-nuclear magnetic resonance. *J. Food Sci.*, 56, 660-664.

Chunyan, Y., L. Zhiping, S. Sen and W. Yingxu. 1995. A study on the amount of inosinic acid in the muscle of Songqujiang river carps and the meat keeping time. *Fish. Sci. Taiwan*, 14, 15-17.

Duance, V. C., D. J. Restall, H. Beard, F. J. Bourne and A. J. Baily. 1977. The location of three collagen types in skeletal muscle. *FEBS Lett.*, 79, 248-252.

Dunajski, E. 1979. Texture of fish muscle. *J. texture studies*, 10, 301-318.

Ebashi, S. and M. Endo. 1968. Calcium ion and muscle contraction. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 18, 123-128.

Endo, M. 1977. Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. *Physiological review*, 57, 71-108.

Fiske, C. K. and Y. Subbarow. 1925. The colorimetric determination of phosphorous. *J. Biol. Chem.*, 66, 375-400.

Fleming, J. R., T. Crockford, J. D. Altringham and I. A. Johnstone. 1990. Effect of temperature acclimation on muscle relaxation in the carp: A mechanical, biochemical, and ultrastructural study. *J. Exp. Zool.*, 255, 286-290.

Flores, M., V. J. Moya, M. C. Aristory and F. Toldra. 2000. Nitrogen compounds as potential biochemical markers of pork meat quality. *Food Chem.*, 69, 371-377.

Gill, T.A. 1992. Biochemical and chemical indices of seafood quality. In: Huss, H.H., Jakobsen, M and Liston, J. C.(eds.), *Quality assurance in the fish industry*. 1992. Elsevier Science Publishers B.W., Amsterdam. P. 377-388.

Goldschmidt, M.C. and D. Y. C. Fung. 1978, New methods for microbial analysis of food. *J. Food Protect*, 41, 201.

Hashimoto, A. and K. Arai. 1984. Temperature dependence of Mg-ATPase activity and its Ca-sensitivity of fish myofibrils. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50, 853-864.

Hatae, K., F. Yoshimatsu and J. Matsumoto. 1984. Discriminative characterization of different texture profiles of various cooked fish muscles. *J. Food Sci.*, 49, 721-726.

Hatae, K., F. Yoshimatsu and J. Matsumoto. 1988. An integrated quantitative correlation of textural profiles of fish. *J. Food Sci.*, 53, 679-683.

Hatae, K., M. Matsumoto, A. Shimada, H. Yamanaka, S. Watabe and K. Hashimoto. 1990. Effects of the preparation conditions on the texture of Arai made of carp muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1521-1525.

Hirai, S. I. and T. Hirabayashi. 1986. Development of myofibrils in the gizzard of chicken embryos: Intracellular distribution of structural proteins and development of contractility. *Cell Tissue Res.*, 243, 487-493.

Hiroyasu O., K. Ohno and J. Ninomiya. 1990. Changes in texture during cold storage of cultured yellowtail meat prepared by different killing methods. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1673 -1678.

Haruhiko T. and Y. Shimizu. 1988. Relation of the rigor mortis of fish body and the texture of muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1795-1798.

Ho, C Y., M. H. Stromer, G. Rouse and R. M. Robson. 1997. Effects of electrical stimulation and postmortem storage on changes in titin, nebulin, desmin, troponin-T and muscle ultrastructure in bos indicus crossbred cattle. *J. Anim. Sci.*, 75, 366-376.

Hwang, G. C., H. Ushio, S. Watabe, M. Iwamoto and K. Hashimoto. 1991. The effect of thermal acclimation on rigor mortis progress of carp stored at different temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 541-548.

Iwamoto, M., H. Ioka, M. Saito, and H. Yamanaka. 1985. Relation between rigor mortis of sea bream and storage temperature. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 51, 443-446.

Iwamoto, M., H. Yamanaka, H. Abe, H. Ushio, S. Watabe and K. Hashimoto. 1988. ATP and creatine phosphate breakdown in spiked plaice muscle during storage, and activities of some enzyme involved. *J. Food Sci.*, 53, 1162-1165.

Iwamoto, M., H. Yamanaka, S. Watabe and K. Hashimoto. 1987. Effects of storage temperature on rigor-mortis and ATP degradation in plaice *Paralichthys olivaceus* muscle. *J. Food Sci.*, 52, 1514-1517.

Johnstone, I. A. 1999. Muscle development and growth : potential implications for flesh quality in fish. *Aquaculture*, 177, 99-115.

Johnstone, I. A. and T. W. Moon. 1980. Exercise training in skeletal muscle of brook trout. *J. Exp. Biol.*, 87, 177-194.

Jurgen, H., N. Sati, M. Martin, F. Sidney and S. hansgeorg. 1994. Phosphorylation modulates the function of the calcium release channel of sarcoplasmic reticulum from skeletal muscle. *Biophysical J.*, 67, 1823-1833.

Kennish, J. M. and D. E. Kramer. 1987. A review of high-pressure liquid chromatographic methods for measuring nucleotide degradation in fish muscle. In : Kramer, D. E. and J. C. Liston. *Seafood quality determination*. Elsevier Science Publisher B. V. Netherlands. P. 209-220.

Korhonen, R. W., T. C. Lanier and F. Giesbrecht. 1990. An evaluation of simple methods for following rigor development in fish. *J. Food Sci.*, 55, 346-348, 368.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.

Lawrie, R. A. 1966. *Meat science*, 1st ed. Pergamon press. New York.

Love, R. M. 1983. Texture and the fragility of fish muscle cells. Research at the Torry Research Station. Review paper. *J. Texture Studies*, 14, 323-352.

Mackie, I. M. 1993. The effects of freezing on flesh proteins. *Food Rev. Intern.*, 9, 575-610.

Misima, T., J. Fujii, K. Tachibana and M. Tsuchimoto. 1995. Influence of contracture on breaking strength in carp muscle. *Fisheries Science*, 61, 209-213.

Mochizuki, S., Y. Ueno, K. Satoh and N. Hida. 1999. Effect of storage temperature on post-mortem changes in the muscle of chub mackerel. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 65, 495-500.

Murata, M. and M. Sakaguchi. 1986. The effects of phosphatase treatment of yellowtail muscle extracts and subsequent addition of IMP on flavor intensity. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55, 1599-1603.

Nakayama T., E. Goto and A. Ooi. 1996. Observation of characteristic muscle structure related to delay in red sea-bream rigor mortis by spinal cord destruction. *Fish., Sci.*, 62, 977-984.

Nguyen, A. L., J.H.T. Luong and C. Masson. 1990. Determination of nucleotides in fish tissues using capillary electrophoresis. *Anal. Chem.*, 62, 2490-2493.

Niesen, J. 1995. Sensory changes. In huss, H.H. (ed.) Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper. No. 348. Rome, FAO. P. 35-39

Oka, H., K. Ohno and J. Ninomiya. 1990. Changes in texture during cold storage of cultured yellowtail meat prepared by different killing method. Nippon Suisan Gakkaishi, 56, 1673-1678.

Okitani, A., S. Kodama, S. Shigemori, T. Ito, T. Nishimura, T. Fukazawa and H. Kato. 1983. The relationship between an optimal condition for cooking of carp "Arai" (Fresh muscle stiffened by dipping in water) and heat contracture. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 49(6), 907-911.

Perry, S. V. and T. C. Grey. 1956. A study of the effects of substrate concentration and certain relaxing factors on the magnesium-activated myofibrillar adenosine triphosphatase. Biochem. J. 64, 184-192.

Robert D. Hamilton, Osmund Holm-Hansen. 1967. Adenosine Triphosphate Content of Marine Bacteria. Limnology and Oceanography, 12, 319-324.

Robert, L. B., V. B. Willis, H. J. William and F. W. Barry. 1982. Extracellular matrix synthesis by the skeletal muscle in culture: Proteins and effect of enzyme degradation. J. Biol. Chem., 257, 11437-11442.

Saito, T., K. Arai and M. Matsuyoshi. 1959. A new method for estimating the freshness of fish. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 24, 749-750.

Sato, K., R. Yoshinaka, M. Sato and S. Ikeda. 1986. A simplified method for determining collagen in fish muscle. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 52, 889-893.

Sato, K., R. Yoshinaka, M. Sato and Y. Shimizu. 1986. Collagen content in the muscle of fishes in association with their swimming movement and meat texture. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 52, 1595-1600.

Seki, N. and H. Tsuthiya. 1991. Extensive changes during storage in carp myofibrillar proteins in relation to fragmentation. Nippon Suisan Gakkaishi, 57, 927-933.

Sharp, A. N., M. W. Woodrow and A. K. Jackson. 1970. Adenosine triphosphate(ATP) levels in foods contaminated by bacteria. J. Appl. Bacteriol., 33, 758-767.

Shota, T., H. Takashi and S. Morihiko. 1999. The change in content of ATP and its related compounds in freshwater fish muscle during ice storage. Nippon Suisan Gakkaishi. 65, 97-102.

Sigurgisladottir, S., O. Torrissen, Ø. Lie, M. Thomassen and H. Hafsteinsson. 1997. Salmon quality : Methods to determine the quality parameters. Rev. Fish. Sci. 5. 223-252.

Suzuki, A., A. Shimakura, T. Miki, M. Shimizu, G. Koyama, M. Saito and Y. Ikeuchi. 1990. Tenderization of culled chicken meat with antemortem injection of proteolytic enzyme. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 37, 104-110.

Tachibana K., T. Misima and M. Tsuchimoto. 1993. Changes of ultrastructure and cytochemical Mg^{2+} -ATPase activity in ordinary muscle of cultured and wild red seabream during storage in ice. Nippon suisan Gakkaishi, 721-727.

Tachibana, K., T. Doi, M. Tsuchimoto, T. Misima, M. Ogura, K. Matsukiyo and M. Yasuda. 1988. The effect of swimming exercise on flesh texture of cultured red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi.*, 54, 677-681.

Takahashi, K., T. Fukazawa and T. Yasui. 1967. Formation of myofibrillar fragments and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle. *J. Food Sci.*, 409-413.

Tapani H. 1997. Adenosine triphosphate breakdown products as a freshness indicator of some fish species and fish products. Espoo, Technical Research Centre of Finland,. VTT Publications 297. p. 21.

Thebault, M. T., J. P. Raffin, A. M. Picado, E. Mendonca, E. F. Skorkowski and Y. L. Gal. 2000. Coordinated changes of adenylate energy charge and ATP/ADP: Use in ecotoxicological studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46, 23-28.

Ushio, H. and S. Watabe. 1994. Carp sarcoplasmic reticulum changes due to heat treatment. *J. Food Sci.*, 59, 80-84.

Watabe, S., G. C. Hwang, H. Ushio, H. Yamanaka, K. Hatae and K. Hashimoto. 1991. Short thermal treatment effect on carp myofibril and sarcoplasmic reticulum: Possible mechanisms in rigor mortis acceleration by arai treatment. *J. Food Sci.*, 56, 653-656.

Watabe, S., H. Ushio, M. Iwamoto, H. Yamanaka and K. Hashimoto. 1989. Temperature-dependency of rigor mortis of fish muscle: Myofibrillar

Mg²⁺-ATPase activity and Ca²⁺ uptake by sarcoplasmic reticulum. J. Food Sci., 54, 1107-1110, 1115.

김육용·조영제. 1992. 넙치육의 사후조기 변화: 1. 사후 조기변화와 온도의 존성의 관계. 한국수산학회지, 25, 189-196.

김재현·이남걸·김육용·이근우·조영제. 1993. 넙치육의 사후조기 변화: 3. 치사방법이 ATP관련물질과 유산함량의 변화에 미치는 영향. 한국수산학회지, 26, 403-408.

박광서, 2007. 해양수산동향. 한국해양수산개발원.

옥영수, 2007. 넙치 양식업의 실태분석과 향후 발전방향. 월간해양수산, 271, 44-60.

이남걸·양무희·조영제. 1995. 전기자극이 넙치육의 사후조기의 물리화학적 및 물성적 변화에 미치는 영향. 한수지, 28, 23-30.

이남수. 2007. 양식 조피볼락의 수급불균형과 소비구조 변화. 월간해양수산. 271. 6-23.

조영제·김육용. 1993. 넙치육의 사후조기 변화: 2. 물리화학적 및 물성적 특성의 온도의존성. 한국수산학회지, 26, 1-7.

조영제·이남걸·김육용·김재현·이근우·김근배·최영준. 1994a. 넙치육의 사후조기 변화: 6. 치사방법이 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향. 한국수산학회지, 27, 327-334.

조영제·이근우. 1994b. 넙치육의 사후조기 변화: 5. 저장온도가 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향. 한국수산학회지, 27, 114-120.

조영제, 조민성, 김상무, 최영준. 1997. 마취사 및 무방혈이 넙치육의 사후조기의 물리·화학적 변화에 미치는 영향, 한국수산학회지, 30, 589-594.

조영제, 2002. 생선회 100배 즐기기, 한글그라픽스.

조영제. 2004. 생선회가 웰빙이다, 한글그라픽스.

조영제. 2006. 생선회감 바로 알기, 한글그라픽스.

조영제 등, 2003. 횡감용 선어류의 소비촉진을 위한 안전성 확보기술 개발에 관한 연구. 해양수산부

조영제 등, 2004. 양식산 활어의 신속, 정확한 품질판정 기술개발에 관한 연구, 해양수산부