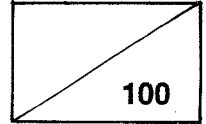


664.94
L2937
V.3

G1228-0889



19804599

최 종
연구보고서

젓갈의 저염화 및 위생 포장 기술 개발

Technology Development on Low-salted & Fermented Seafoods and Hygienic Packaging

KW 10-

이권리아: 농림수산부

See p.5

연구기관
한국식품개발연구원

농 립 부

제 출 문

농 립 부 장관 귀하

본 보고서를 “젓갈의 저염화 및 위생포장 기술 개발” 과제의
최종 보고서로 제출합니다.

1997. 12. 30

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원

총괄연구책임자 : 김 영 명

연 구 원 : 오 세 욱

연 구 원 : 조 진 호

연 구 원 : 김 은 미

연 구 원 : 김 동 수

연 구 원 : 김 영 동

연 구 원 : 김 성 수

연 구 조 원 : 남 은 정

여 백

요 약 문

I. 제목

젓갈의 저염화 및 위생포장 기술 개발

Technology Development on Low-salted & Fermented Seafoods and Hygienic Packaging

II. 연구개발의 목적 및 중요성

가. 연구개발의 목적

수분활성 조절 및 염류대체 등의 방법에 의하여 저염 멸치젓, 저염 새우젓 및 저염 바지락젓 등을 개발하며 재조립 발효 어란 및 무열 살균 기술을 개발한다. 또한 젓갈류위생포장 기술 개발의 일환으로 젓갈 전용 포장재 선정 및 품질유지 특성이 우수한 포장 방법을 확립한다.

나. 연구개발의 중요성

젓갈류 식품은 선어나 일반 가공원료로서 상품가치가 낮은 소형어패류 및 그 가공 부산물을 원료로 하여 제조되기 때문에 경제성이 낮은 수산자원의 유효 이용수단으로 활용되고 있으며 실제로 연안 어촌 지역의 가장 기초적인 부가가치 생산수단의 하나로 활용되고 있다.

젓갈류는 특성이나 용도에 따라 일반젓갈, 조미(양념)젓갈, 액젓, 식해류 등으로 대별되며 이중 액젓과 조미젓갈의 상품화 수요가 많다.

젓갈류를 포함한 각종 장유식품은 米食을 주로하는 지역에서 필수 아미노산, 각종 무기질 등 중요한 영양보충적 식품과 입맛을 돋우는 식

품으로서의 특성을 갖고 있다. 또한 우리민족 고유의 중요한 전통식품인 김치의 영양과 풍미 향상을 위해 필요 불가결한 식품의 위치를 점하고 있기도 하다.

젓갈류 식품은 다종 다양한 원료를 이용할 수 있고 전통식품으로서 국내외의 안정적 소비수요를 갖고 있을 뿐 아니라 해안인근 농어촌지역에서 중, 소 규모 지역 특산품화 품목으로 적합하여 우수한 품질의 제품 생산만 이루어 질 수 있다면 UR 대응 및 수출상품화 품목으로 매우 유망한 수산 가공품이라 할 수 있다.

이와같은 특성외에도 액상젓갈에 해당하는 어장유(액젓, fish sauce)는 콩간장과 유사한 용도를 갖는 중요 조미소재로서 이미 국제상품화 되어 있으나 아직까지 이에 관한 국내 산업 및 학계의 관심과 연구 개발 부족으로 내수 및 수출용 가공 식품으로서 기술적 기초가 극히 빈약한 실정으로 이들 식품의 과학화를 통한 내수산업 발전 및 국제식품화를 위해 체계적이고 과학적인 국가수준의 연구개발이 절실한 실정이다.

한국산 젓갈은 대체적으로 식염만을 침장원으로 하여 단순 염장후 일정기간 숙성 발효 시켜 제품화 하기 때문에 과학적 숙성발효의 조건이 설정되어 있지 못하며 또한 장기간의 숙성 발효중 부패변질을 방지하기 위해 과량의 소금을 첨가함으로써 제품의 염 함량이 지나치게 높다.(어류젓의 경우 25% 전후, 새우젓의 경우 30-40% 전후)

따라서 본 과제 “젓갈의 저염화 및 위생포장 기술 개발”은 현대인의 식기호에 부합할 수 있는 저염 젓갈의 생산기술 확립, 국내 젓갈류의 우수성 발굴 및 고부가가치 제품 개발 등 수산 발효식품 생산 기술의 현대화 등에 기여할 수 있으며 전통 젓갈류의 명산품화, 국제 식품화를 유도하기 위한 위생포장기술의 개발로 일정한 품질의 제품 생산 및 기업규모

생산에 적합한 공정기술과 품질관리 기술확립에 중요한 과학적 기초 자료로서 중요한 의미를 갖는다고 할 수 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

| 구분 | 연구개발목표 | 연구개발 내용 및 범위 |
|----------------|---|---|
| 1차년도 (1994) | <ul style="list-style-type: none"> ○ 저염 멸치젓 개발 ○ 조미발효 멸치젓 개발 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 염도 15% 전후의 저염 멸치젓 개발 ○ 염도 10%-15% 수준의 고품위조미발효 젓갈 개발 |
| 2차년도 (1995) | <ul style="list-style-type: none"> ○ 저염 새우젓 개발 ○ 새우젓 소스제품 개발 ○ 젓갈용 위생포장재 개발 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 염도 20-25% 수준의 저염 발효 제품 개발 ○ 염도 10% 수준의 소스 제품 개발 ○ 상온 및 저온 유통용 위생포장재 개발 |
| 3차년도 (1996) | <ul style="list-style-type: none"> ○ 재조립 발효어란제품 개발 ○ 저염 조개젓 개발 ○ 액젓의 무열살균기술 개발 ○ 젓갈 포장기술 개발 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 청어란, 명태란을 원료로한 재조립 발효 어란 개발 및 시제품 제조 ○ 염도 5-10% 수준의 고품위 조개젓 개발 및 시제품 제조 ○ 고유 풍미를 유지할 수 있는 액젓의 무열살균 기술 개발 ○ 상품성 향상을 위한 위생 포장기술 개발 |

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 저염 멸치젓 생산조건 검토

저염 멸치젓은 포화식염수에 12시간 brining(액염지, 液鹽漬)하여 염침투를 시킨 후 1% glucose와 소량의 알콜을 첨가하여 10℃에서 6주간 숙성발효 시킴으로서 염농도 15%의 풍미가 우수한 저염멸치젓 생산공정을 확립하였다.

가. 저염 멸치젓 생산을 위한 최적 염지 방법으로 brining이 가장 우수한 것으로 나타났으며 따라서 brining 과정중 이화학적 변화를 정밀 검토하였다. Brining 방법으로 초기 효소 안정화를 유도함으로써 저염 멸치젓의 안정적인 숙성이 진행될 수 있었다.

Table 1. Optimum conditions of brining process

| Parameter | Condition |
|--------------------------|-------------------------|
| Brining temperature | Tap water(15℃) |
| Brine salt concentration | Saturated NaCl solution |
| Brining time | 12 hours |

나. Brining은 포화식염수에서 12시간 정도 염지하였을 때 안정적인 발효가 가능한 염도에 도달할 수 있었으며 이 때의 가용성 단백질 손실량도 미미하여 적정 염지 시간으로 판단되었다.

다. Glucose를 첨가하여 부분적인 젖산 발효를 유도함으로 생산된 젖산에 의해 안정적인 발효가 진행될 수 있었으며 alcohol 첨가에 의해 방부효과 및 육조직의 과도한 분해 억제로 조직감이 우수한 제품 생산이 가능하였다.

라. 생산된 저염 멸치젓은 올리브 오일, 고추씨 기름 등을 이용하여 포장하였을 때 과도한 육분해를 억제할 수 있었으며 공기에 의한 산화도 방지할 수 있었다.

마. 저염 멸치젓의 경우 10℃에서 3개월 정도 품질이 유지되었다.

2. 기호성 높은 조미발효 멸치젓 개발

멸치를 포화식염수에 brining하여 염농도를 10%로 조정한 후 10℃ 조건에서 2주간 1차숙성(孰成) 시킨 후 유리수를 제거하고 부재료를 혼합하여 10℃에서 2~3주간 발효 시킴으로서 풍미와 외관이 우수한 조미발효 멸치젓을 개발할 수 있었다.

가. Brining 방법으로 멸치육의 염농도를 10%로 조정한 후 1차숙성을 시키고 유리수를 제거한 후 고춧가루, 생강, 마늘 등을 첨가하여 풍미가 우수한 조미발효 멸치젓 생산공정을 확립하였다.

나. 부분적인 젖산발효를 보다 효과적으로 유도하기 위하여 carbon source로 glucose를 첨가하여 발효과정의 안정화 및 저장성 연장효과를 얻을 수 있었다.

다. 개발된 조미발효 멸치젓은 10℃에서 3~4 주까지 품질이 유지되었다.

3. 저염 새우젓 개발

염지방법 개선에 의한 초기발효 안정화를 유도하기 위하여 brining 방법과 건염첨가에 의해 염농도를 조정한 후 숙성 특성을 정밀 검토하였으며 그 결과 brining 방법을 이용하여 염도 15~20% 수준의 저염 새우젓을 개발하였다. 저염 새우젓의 숙성은 10℃ 이하의 조건에서 숙성 발효 시킴으로 이상발효를 억제할 수 있었다.

가. 최적 염지 방법은 포화식염수를 이용하여 10℃ 조건에서 10시간 brining하는 것으로 새우육질 내부로의 신속한 염침투가 진행되어 내장내의 효소작용을 억제할 수 있었으며 어체의 염농도가 균일하게 조정되므로 발효초기 안정화를 유도할 수 있었다.

나. Brining에 의해 염농도를 15%로 조정한 저염 새우젓은 저염이기 때문에 고온에서의 발효양상이 불안정하였으므로 10℃ 이하의 숙성온도 조건이 요구되었다. 10℃에서 숙성시 60~90일에 숙성 적기에 다달았으며 이때의 유리아미노산, 유기산 및 핵산관련 물질의 함량 등의 품질특성이 기존의 새우젓에 비하여 손색이 없었다.

4. 새우젓 소스제품 개발

새우젓의 육류분해 특성을 이용하여 소스제품을 개발하고자 새우젓내의 단백질 분해 효소를 정제하여 특성을 파악하였다. 이러한 단백질 분해 효소의 특성을 이용하여 육류와 함께 섭취할 수 있는 dipping 소스제품 및 육류연화용 조미소스 제품을 개발하였다.

가. 새우젓을 탈염하여 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 이용하여 salting out 하였으며 이를 ion-exchange, gel filtration을 이용하여 단일 단백질로 정제할 수 있

었다. 정제된 단백질 분해효소는 중온성 및 알카리성 효소 특성을 가지고 있었으며 기질 특이성 및 inhibitor를 이용한 실험 결과 trypsin 유사 효소로 판정되었다.

나. 정제된 단백질 분해효소는 단시간 내에 우육, 돈육, 계육을 분해하는 특성이 있어 예로부터 육류 섭취시 필수적으로 새우젓을 섭취하였던 우리나라 고유식습관의 과학적인 재조명이 가능하였다.

다. 새우젓의 단백질 분해 특성을 이용하여 소스 제품을 개발하였다. 단백질 분해활성을 극대화 하기 위하여 단백질 분해력이 있다고 보고되는 파인애플, 배 등의 즙을 첨가하였으며 xanthan gum, 천연 향신료 등을 첨가하여 적정 물성 및 조미배합비를 가질 수 있도록 하였다. 육류 연화용 조미소스 제품을 이용하여 돼지고기 및 소고기를 양념하였을 때 30분 정도 경과시 최적 연화정도를 나타내었다.

5. 저염 조개젓 개발

Brining 방법에 의해 수분활성도를 낮추어 숙성 안정화를 유도하여 저염 조개젓을 개발할 목적으로 조개육의 최적 brining 조건을 검토하였으며 숙성조건을 정밀 검토하여 염농도 10% 전후의 저염 조개젓을 개발하였다.

가. 포화식염수를 사용하여 brining 하였을 경우 0.75 이하의 수분활성도를 나타내므로 초기 효소 안정화에 의한 저염 조개젓 생산이 가능하였다.

나. 포화 식염수에 brining 하여 염농도를 10%로 조정된 저염 조개젓은 4℃의 저온에서 숙성시 숙성 90일 경에 숙성적기에 도달했으나 건염을 10% 첨가하여 제조한 처리구의 경우 숙성 60일 경부터 이상발효가

진행되었다.

6. 재조립 어란 및 발효어란 제품 개발

부가가치가 낮은 파란 상태의 명란, 청어란을 이용하여 재조립 어란 제품 및 발효어란 제품을 개발하였다.

가. 파란 상태의 명란, 청어란을 투습성이 있는 edible collagen casing에 넣어 식염수에 침지하여 숙성발효 시킴으로서 발효풍미 및 물성이 우수한 재조립 어란 제품을 개발할 수 있었다.

나. 명란, 청어란을 이용하여 발효소시지 기법을 도입하여 젓산의 생성에 의한 pH 저하 및 수분활성 저하를 유도하여 독특한 식감과 저장성이 있는 발효어란 제품을 개발하였다. 개발된 제품은 0.80 정도의 수분활성도를 가지고 있었으며 수분함량으로 판단할 때 salami sausage와 유사한 품질 특성을 나타내었다.

7. 액젓의 무열살균 기술 개발

액젓류의 위생포장 기술 개발의 일환으로 미생물을 살균 또는 억제할 수 있는 기술을 개발하고자 하였다. Cartridge filter를 이용한 제균기술, UV 조사에 의한 살균 기술에 대해 정밀 검토하였다.

가. Cartridge filter를 이용하여 액젓에 존재하는 미생물의 제균(除菌)은 0.20, 0.45 μ m의 pore size를 가지고 있는 filter를 이용하였을 경우 액젓에 존재하는 미생물을 완전히 제균할 수 있어 매우 효과적인 방법임을 알 수 있었다.

나. UV 살균기를 이용하여 액젓에 존재하는 미생물을 살균하였을 경

우 액젓 자체의 고유 색택 및 미세한 입자 등에 의해 살균효과가 상쇄되어 액젓류의 살균 방법으로 효율적이지 못하였다.

8. 국제규격에 부합할 수 있는 용기재질 및 위생포장 기술 개발

국제규격에 부합할 수 있는 젓갈 전용 위생포장재를 선별하고자 하였으며 고품 젓갈류 및 액젓류의 위생포장 기술에 대하여 정밀 검토하였다.

가. Plastic film 3종(PE, Nylon/PE, PET/Al/PE), 유리용기, plastic 용기, 금속용기에 대하여 포화식염수를 이용한 model system 내에서 중금속 유리 특성을 고찰하였다. 대부분의 식품 포장재는 중금속이 유리되지 않았으나 금속용기를 사용하였을 경우 Cd가 흔적량 검출되어 젓갈 포장시 금속용기에 바로 포장하는 것은 비위생적임을 알 수 있었다.

나. 명란젓, 오징어젓, 조개젓, 새우젓 등의 고품 젓갈류를 이용하여 660mmHg 정도의 진공도로 포장하여 품질유지 특성을 정밀 검토하였다. 진공포장한 젓갈류의 경우 pH의 저하 및 상승이 완만하게 진행되었으며 아미노태 질소 함량도 대조구에 비하여 낮게 나타나 저장성 연장 효과가 있는 것으로 생각되었으며 조개젓, 새우젓의 경우 약 7일 정도(일반 포장 대비 20~25% 연장 효과)의 저장성 연장 효과가 있는 것으로 판단되었다.

다. 액젓류의 위생포장 기술을 개발하기 위하여 투명, 불투명 용기를 이용하여 액젓류의 품질 특성을 분석하였다. 불투명 용기를 사용하였을 경우 투명용기에 포장한 처리구 보다 pH 상승속도가 느리게 나타나 저장 안정성이 있는 것으로 나타났으나 아미노태 질소 함량으로 판단하여 볼 때 커다란 유의차는 없는 것으로 나타났다.

9. 활용에 대한 건의

본 연구의 연구개발 목표가 기존 비위생적이고 지나치게 고염이라 소비기호성이 낮은 젓갈의 소비 저해문제를 획기적으로 해결할 수 있는 실용화 지향적 기술로서 다음과 같은 활용방안이 기대된다.

- 전통 식품 및 지역 특산식품 정책지원업체에 대한 기술 이전 및 상품화 기술 지원 자료로 활용

- 해양수산부, 수협 등 식품산업계 등에 대한 개발 기술의 이전, 지도 및 보완연구 등을 실시하여 전통식품의 수출 상품화를 위한 핵심기술 자료로 활용

- 식품위생법, 수산업법 및 가공식품 표준화법 등의 젓갈 관련 식품 규격의 제정, 개정 및 보완자료로 활용함으로써 국내 젓갈식품의 품질 향상을 위한 여건을 조성하고 저급 수입제품에 대한 품질 경쟁력 제고를 위한 정책자료로 활용

- 기초 학술적 내용은 학술 발표를 통하여 젓갈류 관련 과학기술 발전에 일조(3편을 식품과학회지에 투고하였으며 향후 2편 정도를 투고할 예정)

SUMMARY

I. Title

Technology Development on Low-salted & Fermented Seafoods and Hygienic Packaging

II. Objective and significances

Fermented seafoods has played one of most important roles both as food materials and also economic utilization of under utilized marine resources like small fishes, shellfishes or by-products of fish processing.

It is generally recognized that a series of processing technologies, i.e. reduction of salt content as low as possible, establishment of objective quality standards, improvement on packaging and quality stabilization during distribution, etc. were required to meet the consumer's need.

In this connection, technology developments on low-salt fermentation process of plain salted and seasoned anchovy were conducted to increase commercial value of traditionally fermented seafoods in Korea as 1st phase study. And technology development on low-salted shrimp was intensively studied in 2nd phase. In last phase(3rd phase), value-added process development was conducted by

disrupted alaska pollack roe, herring roe. To satisfy international standardization of seafoods packing, technology developed in sanitary packing materials and packing method.

III. Content and Scopes

In the present study, fermentation characteristics of whole anchovy were experimentally investigated by conventional salting and fermentation process at various salt concentrations & temperatures.

In addition, possibility of partial replacement of sodium chloride to potassium chloride, feasibility of reducing salt concentration by applying brining in place of dry salting, application of carbon sources to promote lactic fermentation to obtain light acidic fermentation condition

In 2nd phase, low-salted and fermented shrimp was developed. Optimum salting method was identified as brining. Shrimp was adjusted to 15% NaCl content and fermented under 10°C condition. 60~90 days were required for its optimum ripening stage. To develop the sauces by using protease existed in fermented shrimp, protease was purified by several purification steps and characteristics were identified.

In last phase(3rd phase), low-salted and fermented short-necked clam was developed. For value added product development, alaska pollack roe, herring roe was used and aggregative and fermented roe was developed. For sanitary packing, various packing materials were

used for packing of salted and fermented seafoods and quality changes were analyzed. Fish sauce was cold-sterilized by filtration and UV irradiation. And vacuum packing(660mmHg) and non-transparent packing materials were used for sanitary packing.

IV. Conclusion and Recommendation

As a result of experiments, followings were concluded.

1. It was possible to prepare low-salt fermented anchovy(NaCl 15%) by fermentation of brine salted whole anchovy at 10°C for 6 weeks, and optimum conditions for brining was identified as 12 hours in saturated NaCl solution at 15°C. Approximately 30% of NaCl could be replaced to potassium chloride without specific adverse effects on sensory quality.

2. It was possible to prepare low-salt seasoned and fermented anchovy(NaCl 10%) by seasoning brine salted anchovy with pepper(4.5%), ginger(0.5%), garlic(2.5%), glucose(1%), sorbitol(4%) and alcohol(0.15%). It was recommendable to store experimentally prepared products at chilled temperature(10°C) to maintain good quality and their shelflife was estimated as 3 month(plain salted & fermented product) and 4 weeks(salted, seasoned and fermented product), respectively.

3. Low-salted and fermented shrimp(NaCl 15~20%) could be made by brining using saturated brine. Low temperature(below 10°C) was required for stable fermentation. After 4 month, good quality salted and fermented shrimp was produced.

4. Protease was purified to identify the enzymatic properties of protease from *Saewoo-jeot* (salted and fermented shrimp), Korean traditional food. The optimal pH and temperature for the enzyme activity were 8.0 and 40°C, respectively. The enzyme was significantly activated by manganese ions, while inhibited by STI, TLCK, metals(K⁺, Li⁺, Na⁺, Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, Co⁺⁺, Cu⁺⁺, Hg⁺⁺, Zn⁺⁺, Fe⁺⁺⁺). The Km value of the enzyme was 5.1×10^{-7} M to hammersten casein. The enzyme activity was decreased with increasing the concentration of NaCl. It was suggested that purified protease from *Saewoo-jeot* seemed to be trypsin-like enzyme.

5. The proteolytic activities of crude protease on muscle proteins of beef, pork, chicken were also analyzed by SDS-PAGE. Crude enzyme easily degraded both heat-denatured and native meat proteins. Protein degradation was rapidly occurred and most of myofibrillar protein was disappeared within 5 min. Heat-denatured chicken meat(100%) was most easily degraded than heat-denatured pork meat(47%) and beef meat(31%).

6. Dipping sauce and meat tenderizing sauce was developed by using

the proteolytic properties of salted and fermented shrimp. Pineapple and pear juice were co-used to elevate the protease activity. Developed product showed strong protein degradation properties.

7. As for developments on value-added product, disrupted alaska pollack roe and herring roe were developed as aggregated & fermented fish roe and salami-type fermented roe. Aggregated & fermented fish roe was made by brining in edible collagen or cellulose casing. It has good order of fermentation and rheological properties.

8. To obtain sanitary packing method of fish sauces, cold sterilization processes, ie. high-pulse technique, filtration and UV irradiation, were conducted and changes on microbial roads after treatment were analyzed. High-pulse technique was not applicable because of overheat generated. Filtration using cartridge filter(0.2, 0.5 μ m) was well applicable than other methods, and microbial cell count was not detected.

9. Common food packing material(PE, Nylon/PE, PET/AL/PE, glass, plastic) was identified as sanitary in packing of fermented seafoods. But metal can was somewhat dangerous because heavy metal ions librated in model system(saturated NaCl solution).

10. Fish sauce was packed in transparency and nontransparency

plastic bottle. Fish sauce packed in nontransparency plastic bottle showed quality maintenance properties because of UV protecting. In packing solid state fermented seafoods, vacuum packing(660mmHg) was recommended because of its shelflife extending properties(about 25%).

CONTENTS

| | |
|---|----|
| I. Introduction | 33 |
| II. Materials and Method | 48 |
| 1. Raw materials | 48 |
| 1) Anchovy | 48 |
| 2) Shrimp | 49 |
| 3) Alaska pollack roe, herring roe | 49 |
| 2. Experimental methods | 51 |
| 1) Treatments and preparations | 51 |
| 2) Brining method | 51 |
| 3) Seasoned and fermented anchovy | 52 |
| 4) Brining conditions for shrimp | 53 |
| 5) Sample treatment for shrimp fermentation | 53 |
| 6) Salami-type fermented roe | 54 |
| 3. Chemical analysis | 55 |
| III. Result and Discussion | 67 |
| (1) Low-salted anchovy and seasoned & fermented anchovy | 67 |
| 1. Fermentation properties and environmental parameters | 67 |
| 1) pH | 67 |
| 2) $\text{NH}_2\text{-N}$ | 67 |
| 3) VBN | 70 |
| 4) Sensory test | 70 |
| 2. Changes in quality parameters during salting process | 76 |
| 1) Salt penetration properties | 77 |
| 2) VBN | 79 |
| 3) Water activity | 79 |

| | |
|--|-----|
| 4) SDS-PAGE pattern | 79 |
| 5) Water content | 82 |
| 6) Weight change | 85 |
| 7) Fermentation properties | 85 |
| 8) Salt replacement by KCl | 89 |
| 3. Seasoned and fermented anchovy | 91 |
| 1) Carbon source | 91 |
| 2) Process for preparation | 95 |
| 3) Recipe | 96 |
| 4. Quality characteristics and shelflife..... | 96 |
| 1) Low-salted anchovy and quality characteristics | 96 |
| ① pH | 96 |
| ② NH ₂ -N | 99 |
| ③ VBN | 99 |
| ④ Fermentation characteristics | 99 |
| 2) Quality characteristics of low-salted anchovy | 104 |
| ① Free amino acid | 104 |
| ② Organic acid | 108 |
| ③ Nucleotide | 109 |
| 3) Quality characteristics of seasoned and fermented anchovy ... | 112 |
| ① pH | 112 |
| ② NH ₂ -N | 114 |
| ③ VBN | 114 |
| ④ Titrable acidity | 114 |
| ⑤ Fermentation characteristics by fermentation factors | 118 |
| 4) Quality characteristics of seasoned and fermented anchovy ... | 118 |
| ① Free amino acid | 118 |
| ② Organic acid | 120 |
| ③ Nucleotide | 121 |

| | |
|--|-----|
| 5. Shelflife test | 122 |
| 1) Low-salted anchovy | 122 |
| 2) Seasoned and fermented anchovy | 123 |
| (2) Low-salted shrimp and shrimp sauce | 124 |
| 1. Salting method for low-salted shrimp fermentation | 124 |
| 2. Fermentation properties | 124 |
| 3. Fermentation properties by shrimp species | 129 |
| 4. Quality characteristics | 132 |
| 1) pH | 132 |
| 2) NH ₂ -N | 133 |
| 3) Free amino acid | 134 |
| (3) Shrimp sauce | 136 |
| 1. Purification of protease | 136 |
| 1) Chemical analysis of salted and fermented shrimp | 136 |
| 2) Desalting | 137 |
| 3) Protease purification | 137 |
| 3) Electrophoresis | 141 |
| 2. Properties of purified protease | 145 |
| 1) Optimum pH and pH stability | 145 |
| 2) Optimum temperature and thermal stability | 149 |
| 3) Substrate specificity | 152 |
| 4) Km value | 153 |
| 5) Metal ion | 153 |
| 6) Inhibitor | 156 |
| 3. Effect om meat protein | 157 |
| 1) Degradation properties | 157 |
| 2) Time course of degradation | 159 |
| 4. Development of shrimp sauce | 161 |
| 1) Dipping sauce | 161 |
| 2) Seasoning and tenderizing sauce | 163 |

| | |
|---|-----|
| 5. Shelflife properties | 164 |
| 1) Dipping sauce | 165 |
| ① pH | 165 |
| ② Acidity | 165 |
| ③ Microbial count | 165 |
| ④ Sensory evaluation | 166 |
| 2) Development on seasoning and tenderizing sauce | 166 |
| ① pH | 166 |
| ② Protease activity | 167 |
| ③ Microbial count | 169 |
| ④ Sensory evaluation | 169 |
| 3) Shelflife and Quality | 170 |
| (4) Aggregated fermentation of fish roe | 171 |
| 1. Aggregated fermentation of fish roe | 171 |
| 1) Strategy | 171 |
| 2) Process | 171 |
| 3) Sensory evaluation | 172 |
| 4) Free amino acid | 173 |
| 5) Rheological properties | 175 |
| 2. Salami-type fermented roe | 176 |
| 1) pH | 176 |
| 2) Water activity | 178 |
| 3) Lactic acid bacteria | 178 |
| 4) E. coli | 181 |
| 5) Color value | 181 |
| 6) Water content and shrinkage | 184 |
| (5) Low-salted short necked clam | 184 |
| 1. Brining | 184 |
| 2. Fermentation properties | 188 |
| 1) pH | 188 |

| | |
|--|------------|
| 2) NH ₂ -N | 188 |
| 3) pH by fermentation temperature | 191 |
| 4) NH ₂ -N content by fermentation temperature | 191 |
| (6) Cold sterilization of fish sauce | 191 |
| 1. High-pulse treatment | 191 |
| 2. Filtration | 196 |
| 1) Principle of filtration | 196 |
| 2) Filtration equipment | 196 |
| 3) Microbial count | 196 |
| 3. UV irradiation | 197 |
| 1) Principle | 197 |
| 2) Microbial count | 198 |
| (7) Selection of packing materials and sanitary packing method | 199 |
| 1. Selection of packing materials | 199 |
| 1) pH | 199 |
| 2) NH ₂ -N | 200 |
| 3) Heavy metal libration | 201 |
| 2. Sanitary packing of fermented seafoods | 202 |
| 1) Sanitary packing of fermented fishes | 202 |
| ① pH | 203 |
| ② NH ₂ -N | 207 |
| 2) Sanitary packing of fish sauces | 212 |
| ① pH | 212 |
| ② NH ₂ -N | 212 |
| Reference | 217 |

여 백

목 차

| | |
|--|----|
| 제 1 장 서 론 | 33 |
| 제 1 절. 저염멸치젓 개발 | 34 |
| 제 2 절. 저염새우젓 개발 | 36 |
| 1. 새우젓 생산기술 정보 수집 | 38 |
| 가. 현지생산 특성 | 38 |
| 나. 선상에서의 새우젓 제조 방법 | 39 |
| 다. 시판품의 수거 및 성분특성 분석 | 40 |
| 제 3 절. 재조립어란 및 발효어란 제품의 개발 | 41 |
| 제 4 절. 젓갈전용 위생포장재의 선정 및 위생 포장방법 개발 | 43 |
| 가. 식품포장의 주의 사항 | 43 |
| 나. 젓갈 포장의 조건 | 44 |
| 제 2 장 실험재료 및 방법 | 48 |
| 제 1 절. 실험재료 | 48 |
| 1. 시료어 | 48 |
| 가. 멸치 | 48 |
| 나. 새우 | 49 |
| 다. 명란, 청어란 | 49 |

| | |
|--|-----------|
| 2. 부재료 | 50 |
| 제 2 절. 실험방법 | 51 |
| 1. 발효환경 요인 분석을 위한 실험 처리구의 설정 | 51 |
| 2. Brining 방법 | 52 |
| 3. 조미발효 멸치젓 제조 | 52 |
| 4. 새우의 저염발효용 최적 염지 조건 분석 실험구 설정 | 53 |
| 5 새우의 발효환경 요인 분석을 위한 실험 처리구의 설정 | 53 |
| 6 어란을 이용한 발효소시지의 제조 | 54 |
| 제 3 절. 이화학적 분석방법 | 55 |
| 제 3 장. 결과 및 고찰 | 67 |
| 제 1 절. 저염 멸치젓 개발 | 67 |
| 1. 온도와 염도에 따른 멸치젓의 발효 특성 및 발효 환경요인 검토 | 67 |
| 가. pH의 변화 | 67 |
| 나. 아미노태 질소의 변화 | 67 |
| 다. 휘발성 염기 질소(VBN) 함량의 변화 | 70 |
| 라. 관능검사 | 70 |
| 2. 염지방법 개선 및 염류대체에 의한 저염발효 기술 개발 | 76 |
| 가. 염침투 특성 | 77 |
| 나. VBN 함량의 변화 | 79 |
| 다. 수분활성도의 변화 | 79 |
| 라. SDS-PAGE pattern | 79 |
| 마. 염지육의 수분 함량의 변화 | 82 |
| 바. 멸치육의 무게 변화 | 85 |

| | |
|--|-----|
| 사. 수분활성이 조절된 멀치육의 숙성 검토 | 85 |
| 아. 염류대체에 의한 저염화 가능성 검토 | 89 |
| 3. 조미발효 제품 개발 시험 | 91 |
| 가. Carbon source 첨가에 의한 발효 특성 검토 | 91 |
| 나. 조미 발효 멀치젓의 실험실적 제조 및 제조공정도 | 95 |
| 다. 조미 발효 멀치젓의 제조시 부재료 배합비..... | 96 |
| 4. 시제품의 제조 및 품질 특성 분석 | 96 |
| 가. 저염 발효제품의 제조 및 발효 특성 | 96 |
| (1) pH의 변화 | 96 |
| (2) 아미노태 질소 함량의 변화 | 99 |
| (3) 휘발성염기질소의 변화 | 99 |
| (4) 숙성조건에 따른 발효 양상 고찰 | 99 |
| 나. 저염 발효제품의 품질 특성 | 104 |
| (1) 유리아미노산 함량 | 104 |
| (2) 비휘발성 유기산 함량의 변화 | 108 |
| (3) 핵산관련 물질 함량의 변화 | 109 |
| 다. 조미 발효제품의 제조 및 품질 특성 구명 | 112 |
| (1) pH의 변화 | 112 |
| (2) 아미노태 질소 함량의 변화 | 114 |
| (3) 휘발성 염기 질소 함량의 변화 | 114 |
| (4) 산도의 변화 | 114 |
| (5) 숙성조건에 따른 발효 양상 고찰 | 118 |
| 라. 조미발효 제품의 품질 특성 | 118 |
| (1) 유리아미노산 함량의 변화 | 118 |
| (2) 비휘발성 유기산 함량의 변화 | 120 |
| (3) 핵산 관련 물질 함량의 변화 | 121 |

| | |
|--|-----|
| 5. 시제품의 저장성 시험 | 122 |
| 가. 저염 멸치젓 제품의 저장성 시험 | 122 |
| 나. 조미발효 멸치젓 제품의 저장성 시험 | 123 |
| | |
| 제 2 절. 저염 새우젓 개발 및 새우젓 소스제품 개발 | 124 |
| 1. 저염 발효를 위한 최적 염지 조건 | |
| 2. 온도 및 염도에 따른 새우젓의 발효 특성 | 124 |
| 3. 새우 어종에 따른 발효 특성 | 129 |
| 4. 육젓용 젓새우를 이용한 저염 새우젓 제조 | 132 |
| 가. pH의 변화 | 132 |
| 나. AN 함량의 변화 | 133 |
| 다. 유리아미노산 함량의 변화 | 134 |
| | |
| 제 3 절. 저식염 새우젓 소스 제품 개발 | 136 |
| 1. 새우젓에 존재하는 protease의 정제 | 136 |
| 가. 새우젓의 일반성분 분석 | 136 |
| 나. Protease activity 정제를 위한 새우젓의 탈염..... | 137 |
| 다. 새우젓으로부터 protease의 정제 | 137 |
| 라. 정제효소의 전기영동 | 141 |
| 2. 정제 효소의 특성 | 145 |
| 가. 최적 pH 및 pH 안정성 | 145 |
| 나. 최적 온도 및 온도 안정성 | 149 |
| 다. 기질특이성 | 152 |
| 라. Km 값 | 153 |
| 마. 금속 이온의 영향 | 153 |
| 바. 저해제의 영향 | 156 |

| | |
|--|-----|
| 3. 정제효소의 육류 단백질 분해 특성 | 157 |
| 가. 우육, 돈육, 계육 단백질의 분해 특성 | 157 |
| 나. 우육, 돈육, 계육 단백질의 경시적 단백질 분해 패턴 | 159 |
| 4. 새우젓을 이용한 소스제품 개발 | 161 |
| 가. Dipping 소스제품 개발 | 161 |
| 나. 육류 연화용 조미소스 제품 개발 | 163 |
| 5. 개발 제품의 품질 특성 및 저장 특성 | 164 |
| 가. Dipping sauce의 저장 특성 구명 | 165 |
| (1) pH의 변화 | 165 |
| (2) 산도 변화 | 165 |
| (3) 총균수의 변화 | 165 |
| (4) 관능적 기호도의 변화 | 166 |
| 나. 육류연화용 조미소스의 저장 특성 구명 | 166 |
| (1) pH의 변화 | 166 |
| (2) Protease activity의 변화 | 167 |
| (3) 총균수의 변화 | 169 |
| (4) 관능적 기호도의 변화 | 169 |
| 다. 개발제품의 품질 특성 및 저장 특성 | 170 |
| | |
| 제 4 절. 재조립 어란 및 발효어란 제품 개발 | 171 |
| 1. 명란, 청어란을 원료로한 재조립 어란 개발 | 171 |
| 가. 재조립 어란 제품 개발 전략 | 171 |
| 나. 재조립 어란 제품 개발 공정도 | 171 |
| 다. 개발제품의 관능적 기호도 | 172 |
| 라. 개발제품의 유리 아미노산 함량의 변화 | 173 |
| 마. 개발제품의 물성적 특성 | 175 |

| | |
|---|------|
| 2. 발효어란 제품 개발 | 176 |
| 가. pH의 변화 | 176 |
| 나. Aw의 변화 | 178 |
| 다. 젖산균의 변화 | 178 |
| 라. 대장균의 변화 | 181 |
| 마. 색도의 변화 | 181 |
| 바. 수분 함량 및 weight loss(shrinkage)의 변화 | 184 |
| | |
| 제 5 절. 저염 조개젓 개발 | 184 |
| 1. 수분활성 조절 방법 및 brining 중 이화학적 변화 양상 | 184 |
| 2. 수분활성이 조절된 조개젓의 숙성 특성 | 188* |
| 가. pH의 변화 | 188 |
| 나. 아미노태 질소 함량의 변화 | 188 |
| 다. 조개육의 숙성온도에 따른 pH의 변화 | 191 |
| 라. 조개육의 숙성온도에 따른 아미노태 질소 함량의 변화 | 191 |
| | |
| 제 6 절. 액젓의 무열 살균 기술 개발 | 191 |
| 1. High-pulse를 이용한 무열 살균 | 191 |
| 2. Filtration | 196 |
| 가. Filtration 원리 | 196 |
| 나. Filtration 장치 구성도 | 196 |
| 다. 미생물수의 변화 | 196 |
| 3. UV 조사(照射) 효과 | 197 |
| 가. UV 조사의 미생물 살균 원리 | 197 |
| 나. 미생물수의 변화 | 198 |

| | |
|---|-----|
| 제 7 절. 국제 규격에 부합한 용기재질 및 위생포장 기술 개발 | 199 |
| 1. 국제 규격에 부합한 용기재질의 선택 | 199 |
| 가. pH의 변화 | 199 |
| 나. 아미노태 질소 함량의 변화 | 200 |
| 다. 기존 젓갈 포장재료의 유해 중금속 유리 특성..... | 201 |
| 2. 젓갈류 위생포장 기술 개발 | 202 |
| 가. 고품젓갈류 포장 기술 | 202 |
| (1) pH의 변화 | 203 |
| (2) 아미노태 질소 함량의 변화 | 207 |
| 나. 액젓류의 위생포장 방법 | 212 |
| (1) pH의 변화 | 212 |
| (2) 아미노태 질소 함량의 변화 | 212 |
| | |
| 참고문헌 | 217 |

여 백

제 1 장. 서 론

젓갈(salted and fermented seafoods)은 어패류의 육, 내장, 생식소 등에 식염을 가하여 부패를 억제하면서 어체내에 존재하는 단백질 분해 효소에 의한 단백질, 펩타이드 등의 분해와 숙성 중 관여하는 미생물에 의한 풍미 생성 등에 의해 제조되는 우리나라 전통수산물 발효 식품이다. 젓갈류 식품은 선어나 일반 가공원료로서 상품가치가 낮은 소형어패류 및 그 가공 부산물을 원료로 하여 제조되기 때문에 매우 경제성이 높은 수산자원의 이용수단으로 활용되고 있으며 실제로 연안 어촌 지역의 가장 기초적인 부가가치 생산수단의 하나로 활용되고 있다. 또한 젓갈류 식품은 한국인의 식미기호에 맞아 전통적으로 식용되어 왔으며 필수아미노산, 각종 무기질 등이 풍부할 뿐 만 아니라 입맛을 돋우는 식품으로서 특성을 가지고 있으며 우리 민족 고유의 중요한 전통식품인 김치의 영양과 풍미 향상을 위해 필요 불가결한 식품의 위치를 점하고 있기도 하다. 그러나 젓갈은 제조시 어패육의 부패를 방지하기 위해 과량의 소금을 첨가하므로 지나치게 고염이라 염을 기피하는 현대인의 식기호에 부합한 저염젓갈 개발에 대한 관심이 높아지고 있다.

젓갈의 저염화에 대한 연구로는 미생물을 이용한 저식염 멸치젓 숙성 발효에 관한 연구, koji를 이용한 저염 멸치젓 숙성 제조에 관한 연구, lactic acid, sorbitol, ethanol 등의 첨가물을 이용한 저염 정어리젓 제조에 관한 연구, 유산균을 이용한 저식염 자리젓 제조에 관한 연구 등이 있으나 이들 연구는 주로 젓갈 숙성의 조절, 첨가물에 의한 저염화 쪽에 치우쳐 있는 실정이다.

제 1 절. 저염멸치젓 개발

멸치는 일반 타 어종과 달리 생선(生鮮) 상태의 소비량이 적은 반면, 거의 전량이 자건품과 젓갈의 원료로 이용된다. '88년의 멸치를 원료로한 가공품 생산량은 자건품이 17,296톤, 젓갈제품이 5,507톤으로 밝혀진 바 있으나 이중 자건품의 생산 및 판매는 권현망조합 또는 수협이 공동위판 체계를 따르기 때문에 생산량 통계의 신뢰도가 높은편이나 젓갈제품의 경우 어가 규모의 무허가 제품생산 비율이 높아 정확한 생산량 파악이 지난한 실정이다. 따라서 멸치젓갈의 실제 생산량은 멸치 총 어획량중 선어 및 자건품 원료 이용량을 제외한 나머지가 모두 젓갈의 원료로 이용된다고 보았을 때 실제의 생산량은 통계량보다 훨씬 많을 것으로 추정된다. 멸치는 선도가 저하되기 쉬운 대표적 소형 적색육 어류로서 혈합육 비율이 높고 지방의 함량도 비교적 높을뿐 아니라 표피가 연약하여 취급과정중 복부가 파열되기 쉽다. 근육중에는 수많은 뼈가 있으며 산란기인 3~7월 기간중에 피하지방 및 체지방 함량이 점차 증가하여 육질의 맛도 좋으나 하절기의 기온상승으로 선도의 유지 자체가 지난하다. 멸치의 가식부중 일반성분 조성중 타어종에 비하여 지방과 회분의 함량이 높은데 이중 지방의 함량은 계절에 따른 변동폭이 크다. 회분의 함량이 높은 만큼 칼슘의 함량도 높고 비타민의 경우 A 및 B 복합체가 고루 함유되어 있다. 멸치젓 제조시 식염을 가하여 염지하는 방법은 지방, 제품의 용도 등에 따라 다소 차이가 난다. 즉, 멸치젓의 용도가 육질의 형태를 유지한채 직접 식용 또는 김치재료용으로서 양적인 증대보다는 농후한 맛과 육질을 필요로 하는 경우에는 1차 염지(鹽漬)→유리수 제거→본 염지의 과정을 거치고 육질의 형태를 유지할 필요가 없는 경우에는 일반적인 살염법(또는 마른간법)으로 염지하는 방법을 택하는데 어느 방법이나 단시간에 어체에 식염이 고루 침투하도록 하는 것이 요령이다. 가염량은

상은발효시 원료 중량기준 30~40%, 저온 중량기준 25~30%가 일반적으로 채용되는 조건인데, 원료 어체의 지방함량이 많을수록, 숙성 발효온도가 높을수록 원료의 선도가 나쁠수록 가염량을 높혀야 제품의 품질을 유지할 수 있다. 가염량을 20% 이하로 낮추면 발효온도를 15℃ 이하로 낮추더라도 부패취가 나는등 이상발효의 가능성이 높아 식염량 25~30%가 우리나라의 여름철 기후조건에 적당한 것으로 알려져 있다.

멸치젓의 숙성발효는 타 발효식품에서와 같은 엄밀한 발효공학적 공정조건을 요하지는 않는다. 특정 미생물이나 효소를 첨가 사용하지 않기 때문에 숙성발효의 진행은 전적으로 원료의 상태, 가염방법 및 가염량, 숙성발효와 온습도 조건의 영향을 받기 마련이다. 상업적으로 제조되는 멸치젓은 용량이 큰(1~5톤) 반지하식 콘크리트 발효조나 비닐을 내장한 철제 드럼통, 플라스틱 드럼통 등의 용기에 염장한 멸치를 담아 노지, 지하, 토굴, 저온 숙성고 등에서 2~3개월 이상 발효시켜 상품으로 출하하며 어가나 일반가정 등에서의 소규모 발효시에는 항아리, 플라스틱제 용기 등에 담아 실온 또는 땅속에 묻어 발효시킨다.

일반적으로 식품의 수분활성도를 저하시키면 관여미생물의 성장이 억제되어 보존성이 향상된다는 것은 주지의 사실이나 아직까지 수분활성 조절 기법에 의한 저염젓갈 제조 가능성에 대한 연구는 찾아보기 어려운 실정이다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 주요 젓갈의 하나인 멸치젓, 새우젓, 조개젓의 품질향상을 목적으로 수분활성 조절에 의한 저염 젓갈류 생산 가능성을 타진하기 위하여 brining 기법을 도입하였으며 그 과정에서 염침투 특성, 단백질 분해 양상, 수분량의 변화 등을 측정하였으며 숙성중 품질변화 양상을 정밀 측정하여 저염 젓갈류 생산 공정 개발을 위한 일련의 실험을 진행하여 그 결과를 이에 보고한다.

제 2 절. 저염새우젓 개발

새우는 수산물중에서도 기호성이 뛰어나 날것이나 튀김으로 혹은 건조식품으로 애용되기도 하며 특히 젓갈로서의 가치가 높다. 새우젓은 그 독특한 풍미 때문에 국내에서는 물론 이거니와 동남아 일대에서도 널리 이용되고 있다. 1995년 현재 우리나라의 젓갈류의 생산량은 16,613톤으로 이 중 새우젓이 4,958톤으로 약 30%를 차지하고 있어 대표적인 젓갈중 한가지임을 알 수 있다.

새우젓은 담그는 시기에 따라 다양한 명칭으로 불리워지고 있다. 새우젓의 주품종이라 할 수 있는 오젓 및 육젓의 원료로는 주로 첫새우과의 첫새우(*Sergestidae Acetes japonicus*) 및 중국 첫새우(*Sergestidae Acetes chinensis*)가 이용되고 춘젓, 자젓, 추젓의 원료로는 첫새우외에도 돛대기 새우(*Leptochela gracilis*)라는 작은 새우류가 원료로 이용된다고 하지만 확실하지는 않은 실정이다. 이처럼 새우젓의 종류에 따른 원료의 생물학적 품종이 정확히 구분되어 있지는 않으나 품종별로 주 서식지와 형태에 있어서 다소 차이가 나기 때문에 어느정도 구분은 가능하다.

Table 2. 새우의 어획시기 및 원료 품종에 따른 새우젓 종류

| 종류 | 음력 | 원료의 품종 | 주서식지 |
|--------|-------|--|--------------|
| 동백하젓 | 1-2월 | <i>Acetes japonicus</i> <i>Acetes chinensis</i> | 남해서부 황해연안 |
| 봄젓(춘젓) | 3-4월 | <i>Leptochela gracilis</i> | 상 동 |
| 오 젓 | 5월 | <i>Acetes japonicus</i> <i>Acetes chinensis</i> | 상 동 상 동 |
| 육 젓 | 6월 | 상 동 | 상 동 |
| 자 젓 | 7-8월 | <i>Leptochela gracilis</i> | 상 동 |
| 추 젓 | 9-10월 | 상 동 | 상 동 |
| 잡 젓 | 연 중 | 혼 합 품 종 | 상 동 |

젓새우 및 중국 젓새우는 우리나라 연안에서는 서해중부 이남에서 남해 서부에 이르는 해역의 연안에 주로 분포하며, 지방별로는 전남, 충남, 경기도의 어획량이 많다. 이와 같은 젓새우는 주로 부산 안강망, 해선망, 낭장망 등 중. 소형의 연안 안강망 어업에 의해 어획되는데 실제 조업에 있어서는 약 2개월간 계속되는 1어기 동안 계속해서 해상에 채류하면서 간. 만조기 30분 전에 각각 2회씩 양망하는 어업방식이 채용되고 있으며, 어획된 새우는 선상에서 염장된 후 2-3일 간격으로 운반선에 의해 양육된다.

젓새우는 시기에 따라 개체의 성숙도가 각기 다르고, 성숙한 개체라도 육질은 껍질에 싸여 소금의 육질 침투를 어렵게 한다. 새우내장에는 강력한 단백질 분해 효소가 들어 있기 때문에 소금의 침투가 더디게 일어남으로서 육질이 분해내지는 부패가 발생할 수 있다. 육질이 연약한 어린 새우나 수온이 높은 지역에서 어획된 새우의 경우 부패변질의 속도가 특히 빠르다. 또한 원료 새우의 선도가 나쁘거나 첨가한 염함량이 적을 경우 새우젓의 향미와 색택이 불량해지기 때문에 새우젓은 어획직후 선상에서 제조되는 특성이 있다. 소금의 첨가량은 보통 새우육 무게에 30-40%에 상당하는 식염을 첨가하여 제조하는데 가장 새우젓의 수요가 큰 김장철에서 제조시기가 멀수록 많은 양의 소금을 첨가하여 제조한다. 따라서 자젓이나 추젓의 경우 염함량은 25% 정도에 상당한다.

숙성된 새우젓은 김치조미소재, 나물, 국물, 찜류(달걀찜) 등 반찬류의 조미용으로 사용되며 특히 삶은 돼지고기 섭취시 거의 필수적으로 먹어왔던 식품이며 미반 또는 편육등의 육류 단백질 섭취시 직접 식용하거나 한국의 대표적인 발효식품인 김치 제조시 풍미를 향상시키기 위하여 주로 첨가하기도 한다.

새우젓은 예로부터 유아용죽에 간을 하거나 감이나 육류를 먹고 체

했을때 소화제로 이용될 만큼 민간요법으로도 사용되기도 하였다. 특히 삶은 돼지고기 섭취시 거의 필수적으로 먹어왔던 식품으로 이는 새우젓의 풍미가 돼지고기와 어울리며 새우젓내의 단백질분해효소, 지방분해효소 등이 존재하여 소화에 도움을 주기 때문이라고 생각된다.

1. 새우젓 생산기술 정보 수집

실제 새우조업선에 승선하여 원료 젓새우의 어획, 전처리, 염장, 운반에 걸친 제반 공정을 정밀 검토하였으며 실험용 젓새우를 확보하여 기초 염장 실험을 실시하였다.

가. 현지생산 특성

소형 무동력선(속칭:멍텅구리배)에 의해 동일어장에서 주로 어업되고 선상에서 염장처리 되었던 새우젓은 현재 15톤 전후의 근해 유자망 또는 근해 안강망, 근해자망어업용 동력선을 사용하여 망목 5mm 전후, 그물폭 7m 전후, 그물길이 총 150-200M(길이 12m전후의 단위그물을 연결하여 사용하며 그물의 한쪽 끝에 닻을 설치하여 해저에 닿도록 설치)의 그물, 소위 닻자망을 사용하는 어업이 이루어 지고 있으며 어획된 새우는 어선상에서 곧 바로 염장하거나 공동 작업선에 취합하여 선상 염장하는 방법을 택하고 있는 특성이 있었다.

나. 선상에서의 새우젓 제조 방법

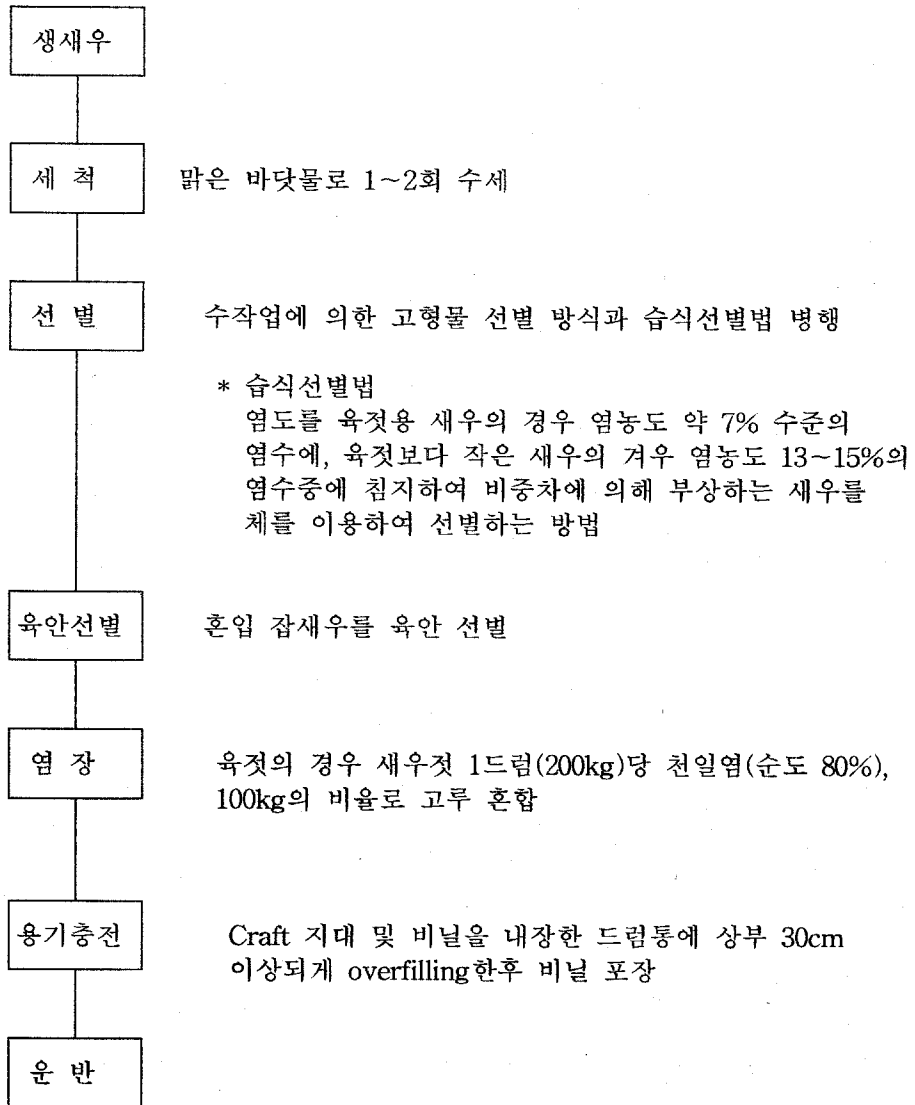


Fig. 1. 선상에서의 새우젓 제조 공정도

다. 시판품의 수거 및 성분특성 분석

저염 새우젓 개발을 위한 기초 자료를 확보하고자 시판 새우젓 11종을 수거하였으며 이에 대한 염도 및 일반성분 분석을 실시한 결과는 다음과 같다.

Table 3. 시판 새우젓의 일반성분 분석 결과

| 제품 | 염도 (%) | 수분 (%) | 조단백 (%) | 회분 (%) | 조지방 (%) | AN (%) | VBN (mg%) | pH |
|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|--------------|------|
| 1. 오젓 | 27.8 | 56.14 | 12.99 | 29.36 | 0.52 | 0.364 | 61.9 | 8.23 |
| 2. 서해수산 | 29.3 | 56.12 | 11.97 | 31.18 | 0.94 | 0.392 | 26.5 | 8.24 |
| 3. 대운식품 | 28.0 | 55.53 | 11.37 | 30.97 | 0.61 | 0.263 | 53.0 | 8.16 |
| 4. 보령수산 | 25.3 | 55.35 | 13.27 | 27.35 | 0.27 | 0.336 | 26.5 | 8.19 |
| 5. 육젓 | 27.1 | 59.03 | 12.81 | 29.77 | 0.52 | 0.269 | 62.4 | 8.02 |
| 6. 선미젓갈 | 27.6 | 56.40 | 12.63 | 29.74 | 0.45 | 0.207 | 55.5 | 8.36 |
| 7. 오양(추젓) | 26.9 | 54.76 | 7.39 | 29.41 | 0.84 | 0.174 | 27.7 | 7.91 |
| 8. 한성 | 26.3 | 51.48 | 7.69 | 28.37 | 0.68 | 0.190 | 26.3 | 7.98 |
| 9. 선미젓갈 | 25.7 | 54.98 | 12.09 | 27.70 | 0.40 | 0.258 | 158.9 | 8.26 |
| 10. 동해젓갈 | 25.5 | 52.01 | 10.73 | 27.97 | 0.81 | 0.296 | 141.1 | 8.46 |
| 11. 가락동 | 26.4 | 55.58 | 8.28 | 28.07 | 1.44 | 0.224 | 44.2 | 8.64 |

시판품의 전체 염도는 25.3~29.3% 까지 나타나 고염이므로 저염 젓갈 개발 필요성이 존재하였다. 수분은 51.5~59.0%로 나타났으며 조단백은 7.39%~13.29%로 각 제품마다 차이가 있었다. 이는 어획되는 시기에 따라 새우 어종이 다를 수 있으며 어체의 생리적 상태가 변화하기 때문으로 생각되었다. 회분 함량은 식염량을 포함하여 27.4~31.2%로 비교적 높게 측정되었다. pH는 7.91~8.64 까지 존재하였으며 숙성지표로 볼수

있는 아미노태질소 함량은 174~392mg%로 나타났으며 휘발성염기태질소(VBN) 함량은 26.5~158.9% 까지 다양하게 나타나 숙성단계가 일정하지 않은 상태에서 유통되고 있음을 알 수 있었다. 추젓 제품이 비교적 낮은 염도를 가지고 있었으며 그 다음이 육젓 제품이었으며 오젓 제품이 가장 높은 염도를 가지고 있어 어획시기에 따라 새우젓 제조시 식염 첨가량을 달리 함을 알 수 있었다.

기존의 새우젓에 관한 연구로는 새우젓의 amine 함량, 무기질, 비타민 B₁, B₂, B₁₂, 질소화합물, 정미성분, 저식염새우젓 제조 및 풍미성분, 새우젓의 종류별 성분 및 품질평가, 새우젓의 향기성분, 젓새우의 합질소 엑스성분, 시판 새우젓의 합질소 엑스성분, 새우젓을 첨가한 우육, 돈육 젓갈 발효에 대한 단백질 분해 효소의 영향에 대한 연구, 새우젓 숙성중의 단백질 특성변화에 관한 연구 등으로 젓갈중의 단백질 분해 효소에 의한 육류 단백질 분해 및 이에대한 전기영동 분해패턴 연구는 미비한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 우리나라 대표적 전통수산물발효식품인 새우젓에 존재하는 단백질분해효소의 육류 단백질 분해 특성 등을 조사하여 전통식품의 과학적 재조명 및 새우젓 숙성 메카니즘 등을 파악하기 위한 기초실험을 실시하였으며 brining 기법을 도입하여 저염 새우젓 생산 공정을 개발하고자 하였으며 이를 이용한 새우젓 소스제품을 개발하고자 하였다.

제 3 절. 발효어란의 개발

명태의 수명은 약 10세로 추정되며 3년이상 성장하면 성숙한 개체로서 산란한다. 난의 크기는 직경 1.2~1.7mm로서 비교적 입자가 큰 편이며 포란수는 개체간의 차이가 크다. 또한 어획시기에 따른 난의 성숙도

도 각기 다르게 된다. 이와 같이 명란은 얇은 난막에 쌓인채 1쌍씩 들어 있는데 개체의 크기와 시기에 따라 알주머니의 크기가 다를뿐 아니라 난 입자의 직경, 경도, 색깔, 투명도, 조직감 등도 각기 다르게 된다. 명란의 일반성분은 저수분, 고단백, 고지방, 고회분의 특성을 갖는다. 이와같은 명란은 원양상 명태와 연근해산 명태에서 채취되는데 원양산 명란의 경우 냉동연육 등 선상 가공품이나 건제품, 필레제품 등 육상 가공품 제조 시 부산물 형태로 발생하기 때문에 냉동과 해동과정을 거치면서 품질이 저하되기 쉬운 특성이 있는 반면, 연안산 명란은 주로 건제품 제조시 선 어상태의 명태에서 채취되어 냉장상태로 공급되기 때문에 비교적 품질이 우수하다.

명란젓 제조시 염지방법은 원료명란의 알주머니를 염지용 용기에 조심스럽게 겹겹히 쌓아가면서 15~20% 상당의 정제염을 가하여 살염지방법으로 골고루 염장하는데 이때 알주머니가 훼손되지 않도록 조심한다. 염지 소요시간은 식염의 사용량 및 원료란의 성숙도에 따라 달라지는데 보통 10℃, 15~20%의 가염조건에서는 7~8일 정도가 소요된다. 염지가 끝나면 명란의 알주머니는 염의 침투에 강인해지고 상당량의 수분이 유출되는데 대나무발 등에 담아 알주머니 표면의 물기를 충분히 제거한다.

한편, 일본에서는 옛날부터 나카사키의 특산물로 알려진 어란은 송어의 난소를 염장하여 양건한 것으로 karasumi라고 하였으며 대만에서도 송어알을 가공하여 그 모양이 장타원형의 납작한 모양의 송어알 건제품이 있다고 한다. 국내의 경우 영암어란이 유명하여 옛날에 진상품으로 사용되기도 하였다. 영암어란의 일반적 제조방법은 암송어를 골라서 배같이 하여 알집이 터지지 않도록 꺼내서 소금물로 씻으면서 표피의 혈색소와 이물질을 제거한 다음 간장을 2배 정도 희석하여 24시간 정도 침지하여 어란의 내부까지 식염이 완전히 침투하면 건조판상에서 눌러서 정형하고

통풍이 잘되는 곳에서 때때로 참기름을 바르면서 약 20일 음건하여 완성한다. 그러나 영암어란도 기능보유자에 따라 제조공정과 조건이 조금씩 상이하므로 품질이 불균일하여 과학적인 제조공정과 조건의 확립이 필요로 되며 생산량이 제한된 송어알을 대체할 수 있는 명란, 청어란을 이용한 어란의 제조공정 확립이 필요한 실정이다. 본 연구에서는 부가가치가 낮은 파란 상태의 명란과 청어란을 이용하여 숙성공정을 도입하여 부가가치가 높은 발효어란 제품을 개발하고자 하였다. 명란과 청어란을 이용하여 새로운 타입의 발효어란제품을 개발하였으며 개발제품의 품질 특성 및 물성특성을 정밀 검토하였으며 기존 salami 제조 공정을 도입하여 명란, 청어란을 이용한 발효어란 제품을 개발하였으며 그 제조 과정 중 수분의 이동, 젖산균의 성장 및 위생안정성을 검토하여 이에 그 결과를 보고한다.

제 4 절. 젓갈전용 위생포장재의 선정 및 포장방법 개선

1. 젓갈 포장의 특성

가. 식품포장의 주의 사항

식품을 포장하는 목적은 내용식품의 보호성, 작업성, 위생성, 간편성, 상품성을 향상 시키는데 있다. 가공식품의 경우 포장재료의 선택, 포장조건, 포장후의 취급은 그 식품의 내용물 함량, 성분조성 및 농도, 식품의 상태, 살균의 유무등에 따라 각각 달라지게 된다. 따라서 어떤 포장 방법을 따를 것인가는 먼저 포장되는 식품의 특성을 분석하여야 한다. 포장재료와 포장방법이 다양하므로 상당히 주의하여 선택하여야 한다. 포장 재료를 선택하는데 있어 식품포장에서 주의하여야 할 일반적인 조건들을 요약하면 다음과 같다.

- ① 식품위생법에 저촉되지 않을 것
- ② 관능적인 아름다움을 해치지 말 것
- ③ 화학적으로 안정할 것
- ④ 光투과성이 적을 것
- ⑤ 물리적으로 안정할 것
- ⑥ 기체와 습기의 차단성이 있을 것
- ⑦ 물리적 강도가 있을 것
- ⑧ 가공적성이 좋을 것
- ⑨ 외관이 좋을 것
- ⑩ 사용하기 편리할 것
- ⑪ 사용하기 편리할 것

나. 젓갈 포장의 조건

젓갈은 발효식품으로서 여러 가지 특성을 갖고 있다. 따라서 젓갈을 포장할 때는 이러한 특성을 고려해야 하며 이에 따른 식품으로서의 젓갈 포장이 갖추어야 할 조건을 보면 다음과 같다.

- ① 일반적으로 젓갈은 양념 젓갈의 경우 10% 이내의 염도를 가지며 일반 젓갈의 경우 20% 이상의 고염도 특성이 있으므로 耐鹽性이 있어야 한다.
- ② 젓갈은 살아있는 식품으로 유통과정중 계속적으로 발효하면서 산을 발생하므로 耐酸性이 있어야 한다.
- ③ 유통과정중 햇빛에 노출되면 지방 산패등이 촉진 될 수 있으므로 지질이 많은 젓갈의 경우 光遮斷性이 있어야 한다.
- ④ 산소와 접촉하여 산화에 의한 변질이 있을 수 있으므로 酸素遮斷性

이 있어야 한다.

⑤ 발효를 계속하면서 가스를 형성하여 부피가 팽창할 수 있으므로 耐壓性이 있어야 한다.

이상의 젓갈 포장의 조건에 부합하는 포장재의 특성을 확대하여 일반적 식품포장재료로서 필요한 성질에 적용시켜 보면

① 위생성 : 인체에 해를 끼치는 포장을 해서는 안된다. 현재 젓갈의 대형 포장에 널리 이용되고 있는 페드럼통이나 재사용캔 등은 원칙적으로는 사용해서는 안된다.

② 보호성 : 젓갈은 액젓류를 제외하고는 근본적인 살균 방법이 없으므로 유통과정중 젓갈의 숙성에 관여된 미생물에 의한 지속적인 발효가 일어나게 되며 여러 가지 환경적 요인에 의하여 변패되기 쉬운 특성이 있으므로 외부요인에 대한 안정성이 있어야 하며 물리적으로도 안정해야 한다.

③ 작업성 : 젓갈 생산이 소규모 가내 생산을 탈피하여 산업화 및 자동화 되려면 포장작업성과 기계적성이 우수한 포장재료가 필수적이다.

④ 간편성 : 포장 젓갈을 개봉하여 먹기에 편하며 보관하기도 편하게 포장이 되어야 한다.

⑤ 상품성 : 소비자의 구매 의욕을 유발할 수 있는 포장 디자인이 되어야 상품의 판매 촉진에도 도움을 줄 수 있다.

⑥ 경제성 : 상품가격 결정에 포장비가 차지하고 있는 비중이 크므로 가능하면 포장비를 절감시킬 수 있는 포장을 해야 한다.

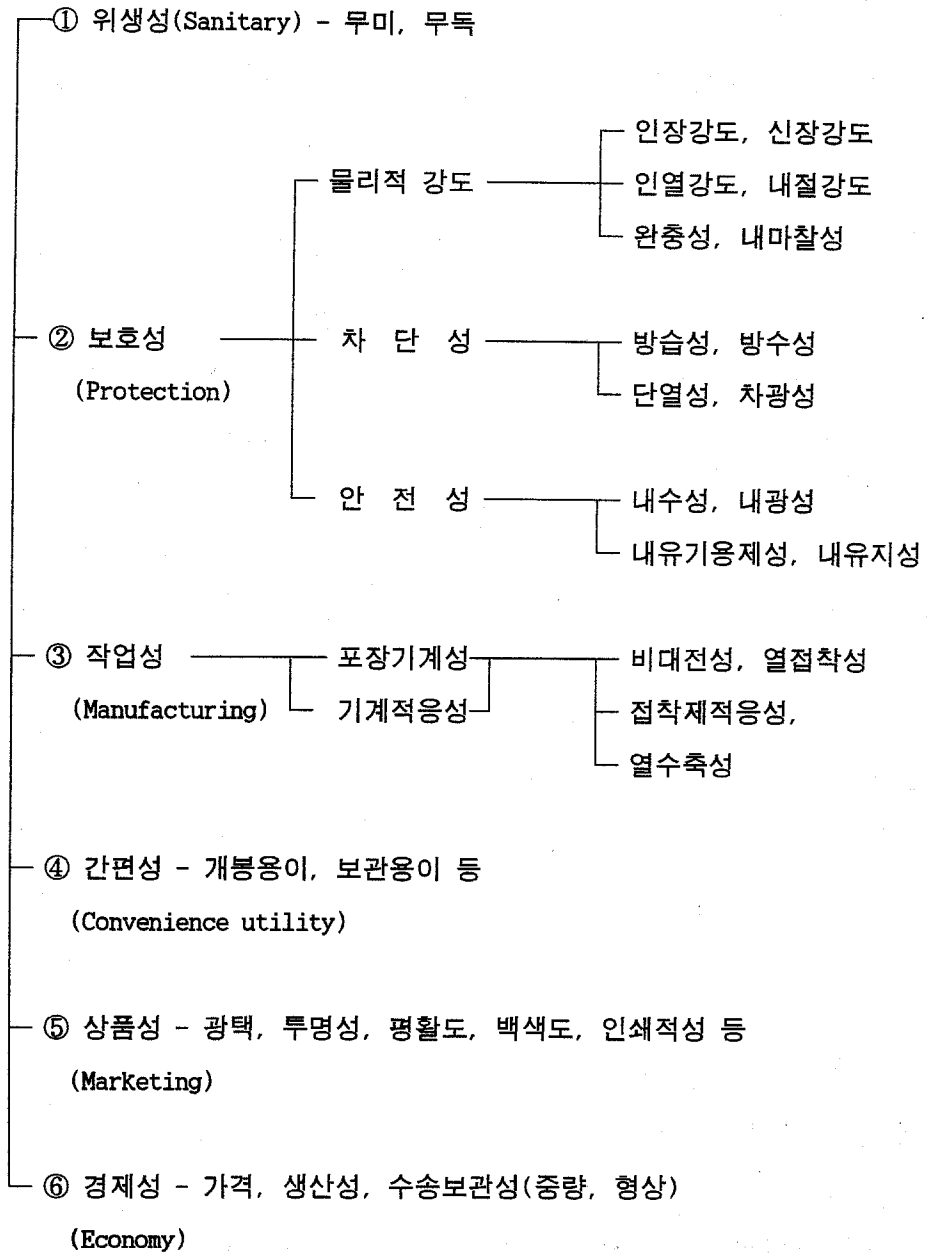


Fig. 2. 식품포장 재료로서의 구비요건

본 연구에서는 국제규격에 부합할 수 있는 젓갈용 위생 포장재 선정 실험을 실시하여 식품 포장 재질 중 젓갈 전용 포장에 적합한 포장 재질을 선별하는 실험을 실시하였으며 포장재에 따른 젓갈의 품질 변화 특성 및 고염 조건하에서 중금속 유리 특성을 측정하여 포장재 안전성 실험을 실시하였다. 젓갈류의 위생포장 기술 개발의 일환으로 액젓의 경우 filtration, UV irradiation 방법에 의한 무열 살균 기술에 대해 정밀 검토하였으며 젓갈의 상품성 향상을 위한 위생포장 방법으로 고형젓갈의 경우 660mmHg의 진공포장을 실시하여 저장중 품질변화를 측정하였으며 액젓의 경우 자외선 투과 방지에 의한 품질변화 정도를 측정하여 위생포장 기술을 확립하였다.

제 2 장. 실험재료 및 방법

제 1 절. 실험재료

1. 시료어

가. 멸치

멸치, *Engraulis japonica*(체장: 9~12 cm)는 경남 마산 근해산을 현지 구입하여 dry ice를 이용하여 급속동결하고 실험실까지 운반한 후 20 kg 단위 box별로 이중 비닐 포장하여 -30℃에서 저장하였다. 저장시료는 10℃ 조건에서 자연해동하여 실험에 공시하였다.

시료 멸치의 일반성분 분석 결과는 Table 4에 나타내었다. 조단백질 함량이 16% 정도이었고 VBN(volatile basic nitrogen, 휘발성염기 질소) 함량은 13.4mg%로 나타났으며 AN(Formol nitrogen, NH₂-N) 함량은 0.14%로 나타나 선도는 양호한 편이었다.

Table 4. Chemical analysis¹⁾ of anchovy used in this study

| | |
|-------------------|---------|
| pH | 6.54 |
| Moisture | 74.5% |
| Crude protein | 16.2% |
| Crude fat | 5.3% |
| Crude ash | 2.3% |
| VBN ²⁾ | 13.4mg% |
| AN ³⁾ | 0.14% |

1) Analyzed by A.O.A.C

2) Volatile basic nitrogen

3) Aminoino-nitrogen(NH₂-N)

나. 새우

실험에 사용한 주원료인 새우는 새우젓 주생산지인 전남 신안, 경기 소래 등에서 젓새우의 어획시기에 맞추어 구입하였으며 사후 쉽게 부패하는 새우의 특성상 양륙직후나 어획직후 선상에서 바로 염수에 담구어 처리하였으며 곧 바로 실험실로 운반하여 정온 incubator에 보관하면서 실험용 재료로 사용하였다(Table 5)

Table 5. Results of chemical analysis of shrimp used in this study

| Components | Sorae | Sinan |
|-------------------|-------|-------|
| Moisture(%) | 71.24 | 69.83 |
| Crude protein(%) | 12.6 | 13.8 |
| Crude fat(%) | 2.0 | 1.8 |
| VBN(mg%) | 18.75 | 18.77 |
| Amino nitrogen(%) | 0.14 | 0.12 |

다. 명란, 청어란

제조립 발효어란 개발에 사용된 명란은 10kg block 형태의 냉동명란을 구입하여 실험에 사용하였다. 명란의 경우 조단백질이 26.68%로 비교적 높았으며 염도는 1.75% 이었다. 청어란의 경우 포화식염수에 염지된 상태의 원료를 구입하여 실험에 사용하였다. 수분이 60.18%로 측정되었으며 염도는 24.55%로 높았다. 명란, 청어란의 일반성분 분석 결과는

Table 6와 같다.

Table 6. Results of chemical analysis of fish roes used in this study

| Components | Alaskapollack roe | Herring roe |
|-------------------|-------------------|-------------|
| Moisture(%) | 71.84 | 60.18 |
| Crude protein(%) | 26.68 | 14.43 |
| Crude fat(%) | 0.95 | 0.43 |
| Salt | 1.75 | 24.55 |
| VBN(mg%) | 83.4 | 9.0 |
| Amino nitrogen(%) | 0.22 | 0.04 |

2. 부재료

본 실험에 사용한 소금은 NaCl 95%의 정제염이었으며 dipping sauce 제조를 위한 부재료로는 간장, 설탕, 물엿, 고추장 등의 조미료와 배즙, 파인애플즙 등의 천연 식물성 재료를 사용하였다. 간장 등의 조미료는 분당에 위치한 대형 슈퍼마켓에서 구매하였으며 배, 파인애플, 고춧가루, 마늘 등은 가락동 농수산물 시장에서 구매하여 사용하였다.

사용균주

Starter culture는 CHR. HANSEN Co.,으로 부터 구입한

SL(*Staphylococcus carnosus* + *Lactobacillus pentosus*)를 본 실험에 사용하였고 사용된 starter culture는 -5℃로 냉동보관하면서 소시지 10⁷ cells/g의 균 농도가 되도록 증류수에 현탁시켜 원료의 혼합시 첨가하였다.

제 2 절. 실험방법

1. 발효환경 요인 분석을 위한 실험 처리구의 설정

원료어를 3%의 식염수로 수세하고 10℃ 내외의 저온에서 30분간 물 빼기를 한 다음 Table 7과 같은 실험 처리구를 설정하여 염장하였으며 10L 용량의 플라스틱 용기에 넣은 후 밀봉을 하여 각 온도로 조정된 incubator에 넣은 후 숙성 발효 실험에 공시하였다.

Table 7. Sample treatment of anchovy fermentation

| Material | Temperature(℃) | NaCl content(%) |
|----------|--------------------------------|-----------------|
| Anchovy | A.T ¹⁾ , 20, 30, 40 | 15 |
| | A.T ¹⁾ , 20, 30, 40 | 20 |
| | A.T ¹⁾ , 20, 30, 40 | 25 |
| | A.T ¹⁾ , 20, 30, 40 | 30 |

1) Ambient temperature

2. Brining 방법

염농도 10%(w/v), 15%, 20%의 식염수, 포화식염수를 사용하였다. 멸치는 해동후 여러 가지 농도로 조정된 염용액에 침지하였으며 멸치, 새우, 조개육의 무게에 대하여 약 10배(v/w)량에 상당하는 염용액을 사용하였다. 침지액의 온도는 상업적으로 적용하기 쉬운 15°C로 고정하여 염침투특성 등을 파악하였다.

3. 조미발효 멸치젓 제조

멸치를 3% 식염수로 깨끗이 수세한 후 염지를 행하였다. 염지 과정은 brining(액염지, 液鹽漬)이나 건염을 첨가하여 행하였으며 충분히 물을 제거한 후 부재료를 첨가하여 숙성발효 시켰다. 조미발효 멸치젓 제조시 사용된 부재료는 Table 8과 같다. 이는 양념젓갈의 기본 배합비로 가장 우수하다고 예상되는 배합비를 이용하였으며 인위적인 젖산발효를 유도하기 위하여 glucose 등 carbon source를 1% 첨가하여 조미젓갈을 제조하여 그 발효특성을 검토하였다.

Table 8. Recipe of seasoned and fermented anchovy

| Ingredients | Ratio |
|-----------------------|-------|
| Red pepper(powder) | 5 |
| Ginger(fresh crushed) | 3 |
| Garlic(fresh crushed) | 3 |
| Carbon source | 1 |

4. 새우의 저염발효용 최적 염지 조건 분석 실험구 설정

염농도를 5%, 10%, 20%의 식염수와 포화식염수를 사용하여 염지 실험을 행하였으며 온도는 산업적으로 적용하기 쉬운 온도인 15℃에서 brining 하였다(Table 9).

Table 9. Sample treatment of shrimp brining

| Material | Brine | Temperature(℃) |
|----------|--------------------|----------------|
| Shrimp | 5% solution | 15 |
| | 10% solution | |
| | 20% solution | |
| | saturated solution | |

5. 새우의 발효환경 요인 분석을 위한 실험 처리구의 설정

포화식염수를 이용하여 생새우를 brining 처리하여 새우어체의 염농도를 10

%, 15% 및 포화식염수로 조정 한 후 -20, 0, 10, 20℃ 및 상온조건에서 숙성 시키면서 온도 및 염농도에 따른 새우젓의 숙성 특성을 분석하였다 (Table 10).

Table 10. Sample treatment of shrimp fermentation

| Material | Temperature(°C) | NaCl content(%) |
|----------|--------------------------------|-----------------|
| Anchovy | A.T ¹⁾ , 20, 30, 40 | 15 |
| | A.T ¹⁾ , 20, 30, 40 | 20 |
| | A.T ¹⁾ , 20, 30, 40 | 25 |
| | A.T ¹⁾ , 20, 30, 40 | 30 |

6. 어란을 이용한 발효소시지의 제조

어란을 이용한 발효소시지의 제조 공정은 다음과 같다. 즉, Ham부위의 돼지고기와 돼지 등지방을 각각 5×3×3 cm로 절단한 후 -20°C에서 1주일 이상 동결시켰다가 가공직전 세질이 용이하도록 -5°C 전후로 온도를 조절하여 silent cutter에서 신속히 분쇄하여 Table 11에서의 비율에 따라 소금, 향신료 등을 넣고 1차 혼합한 후 이어서 지방알갱이를 넣어 2차 혼합하여 발효소시지를 제조하였고 이를 cellulose casing(Securex, 25mm)에 충전시킨 후 숙성 및 건조를 실시하였고 숙성 조건은 Table 12와 같다.

Table 11. Formula used for the production of fermented sausage with roe

| Material | Sausage group | | |
|-------------------------|---------------|------|------|
| | A | B | C |
| Herring roe(%) | 25 | . | . |
| Pollack roe(%) | . | 25 | 25 |
| Surimi(%) ¹⁾ | 25 | 25 | 65 |
| Lean pork(%) | 40 | 40 | . |
| Pork back fat(%) | 10 | 10 | 10 |
| Salt(%) | 2.8 | 2.8 | 2.8 |
| Glucose(%) | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| NaNO ₂ (%) | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| White pepper(%) | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| Coriander(%) | 0.05 | 0.05 | 0.05 |

1) S.A grade prepared from allaska pollack

Table 12. Ripening conditions of fermented sausage

| Time(days) | Temperature(°C) | Relative humidity(%) |
|------------|-----------------|----------------------|
| 1 | 22~24 | 94~96 |
| 2 | 21~22 | 90~92 |
| 3 | 18~20 | 85~88 |
| 4~20 | 12~15 | 75~80 |

제 3 절. 이화학적 분석방법

pH 및 총질소등 일반성분

일반성분은 A.O.A.C의 표준방법에 따라 측정하였다. pH는 glass 전극을 이용한 pH meter로, 총질소(total nitrogen, TN)은 Kjeldahl법, 조지방

은 ethyl ether를 용매로 하는 Soxhlet법, 회분은 건식회화법, 염도는 Mohr법으로 측정하였다.

산도의 측정

여과액 10mL을 취하여 발효중 생성된 산을 0.1N NaOH로 적정하여 lactic acid 함량%로 산출하였으며 lactic acid 함량(%)의 산출식은 다음과 같다.

$$\text{Lactic acid(\%)} = \frac{\text{mL 0.1N NaOH} \times 0.009}{\text{Weight of sample}} \times 100$$

아미노태 질소(NH₂-N)의 함량

Formol 적정법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉, 시료용액 20mL에 증류수 80mL을 가한 다음 0.1N NaOH를 가하여 pH를 8.4로 조정 한 후 중성 포르마린 용액 20mL을 가하고 다시 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.4가 될 때 까지 적정하여 소비된 0.1N NaOH mL수(A)를 아래식에 대입하여 아미노태 질소 함량을 측정하였다. 이때 상수 1.4는 0.1N NaOH 1mL에 상당하는 Formol태 질소의 mg을 나타낸다.

$$\text{NH}_2\text{-N(mg\%)} = \frac{(\text{대조시험의 A} - \text{시료시험의 A}) \times 1.4 \times F}{\text{Weight of sample(g)}} \times 100$$

휘발성 염기태질소(VBN) 함량

Conway unit를 이용한 micro diffusion method로 측정하였다. 즉, 시료 5g을 정평하여 4% trichloroacetic acid 20mL와 혼합하여 30분간 방치한 다음 단백질을 침전시키고 여과하여 1mL를 conway unit 외실에 첨가하고 내실에 N/150-HCl 1mL와 포화 K₂CO₃ 1mL를 첨가한 후 37°C에서 90분간 방치한 다음 N/70 Ba(OH)₂로 적정하여 VBN양을 측정하였다.

Water activity 측정

멸치육 및 염지육의 수분활성은 thermoconstanter(Novasina RA/KA, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 시료를 잘게 잘라 조밀하게 채우고 수분활성이 일정한 수치로 유지될 때 까지 5분 간격으로 관찰하여 평형에 도달하였을 때의 값을 수분활성치로 하였다.

SDS-PAGE

마쇄한 시료 0.4 g을 정확히 측정하여 7.5 mL의 8M urea-2% mercaptoethanol-2% SDS-20mM Tris-HCl(pH 8.0)의 용액을 첨가하여 100°C에서 2분간 가열한 후 실온에서 20시간 교반하면서 가용화 시켰다. 가용화 시킨 용액은 Biuret법에 의하여 단백질을 정량하였으며 전기영동에 공시할 때는 각각 일정량 20 μ l를 취하여 행하였다. 전기영동은 Laemili법⁽⁹⁾에 의한 10% poly acrylamide gel을 이용하여 행하고 Coomassie brilliant blue R-250로 염색하였으며 탈색은 50% methanol, 7% acetic acid로 30분간 탈색 후 7% acetic acid로 gel의 배경이 투명화 될 때까지 탈색을 행하였다.

멸치육의 무게 변화

Brining 중 멸치육의 무게 변화는 다음과 같은 식에 의해 산출하였다.

$$\Delta \text{weight} = \frac{W_p - W_i}{W_i} \times 100$$

(무게차이, %) W_i

W_i = weight of sample before brining(water free)

W_p = weight of sample after brining(water, salt free)

조효소액 및 기질의 조제

본 실험에 사용한 새우젓은 전라남도 신안군 일대에서 어획되어 선상에서 제조된 새우젓으로서 15℃ 항온조에서 저장하면서 숙성적기에 도달한 새우젓을 homogenizer로 균질화 시켜 6,000×g에서 원심분리한 후 상층액을 전기투석기(selemion electro dialyzer, TYPE DS-0, Asahi Glass Company)를 이용하여 염도가 2% 이하가 되도록 탈염시킨 것을 조효소액으로 하여 실험에 사용하였다.

사용된 육류단백질 기질로는 가능한한 도살직후의 우육, 돈육, 계육 등으로 지방과 결체조직을 가능한한 제거하였으며 가열변성기질은 100℃의 끓는 물에서 20분간 처리하였다.

효소의 정제 방법

새우젓을 먼저 homogenizer에 넣고 균질화시켜 6,000×g에서 30분간 원심분리한 후 상층액을 전기투석기(Selemon electro dialyzer, TYPE DS-0, Asahi Glass Company)를 이용해 탈염 과정을 거쳐 NaCl 농도가

2% 이하가 되도록 한 후 80% 포화농도의 ammonium sulfate 용액을 가해 단백질을 침전시켰다. 이 침전물을 투석한 후 Sephadex G-100 column(2.5×100 cm)상에 loading한 후 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)로 fraction volume 5 mL, elution 속도는 8 mL/hr로 유출시켰다. Fraction 중 단백질 분해 활성부분을 DEAE-cellulose column(2.5×30 cm)상에 주입하여 상기 사용한 buffer로 용출시켜 분획하였으며 전체 정제 과정은 Fig. 3과 같다.

단백질 정량

Column 용출액의 단백질은 280nm에서 자외선 흡광도법으로 측정하였으며, 그외에는 Biuret법에 의하여 Bovine serum albumin을 표준 단백질로 사용하여 단백질 함량을 측정하였다.

효소 활성 측정

새우젓으로부터 분리한 protease의 활성은 Anson의 방법과 萩原의 방법을 변형 하여 측정하였다. 즉, 효소반응액은 0.1 M phosphate buffer 1 mL, 1.5% hammersten casein 1 mL, 효소액 1 mL를 넣고 37°C에서 30분간 shaking water bath에서 반응시키고 5% TCA 2.5 mL을 넣어 효소반응을 정지시켰다. 효소활성의 측정은 12,000×G에서 10분간 원심 분리한 후 상층액 1 mL에 0.55 M Na₂CO₃ 2.5mL, 증류수로 3배 희석한 Folin-ciocalteu 시약 0.5 mL을 섞어 37°C에서 30분 방치한 후 660nm에서의 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 반응액 및 대조구의 흡광도 차이를 표준 곡선에서 tyrosine 함량 ($\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{min}$)으로 환산하여 표시하였다. 활성단위는 효소액 1 mL이 1분간 1 μg 에 해당하는 tyrosine을 생성하는 양을 1 unit로 정의하였다.

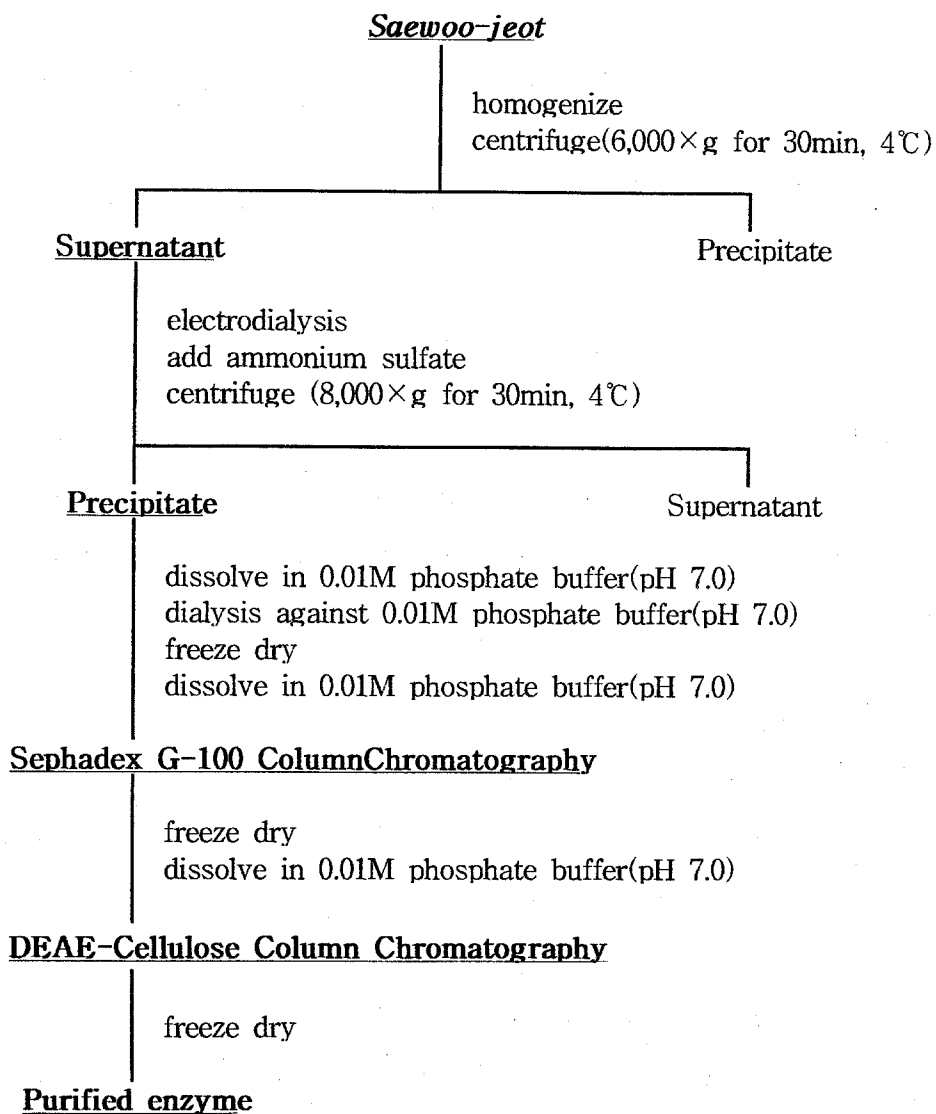


Fig. 3. Procedures of purification of protease from *Saewoo-jeot*

분자량 측정 및 순도 검증

정제 효소의 분자량은 Laemmli 방법에 따라 SDS-PAGE로 측정하였으며 전기영동 시킨 후 Rm(relative mobility) 값에 따라 표준곡선을 작성하고 정제된 효소의 Rm값을 대응시켜 산정하였다. 이때 표준품으로는 bovine serum albumin(MW:66,000), egg albumin(MW:45,000), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(MW:36,000), carbonic anhydrase(MW:29,000), trypsinogen(MW:24,000), soybean trypsin inhibitor(MW:20,100), α -lactalbumine(MW:14,200) 등을 사용하였다.

pH의 영향 및 안정성

pH 2.5~11의 범위가 되도록 만든 pH 완충용액(pH 2.5~5.5 :0.1 M citrate buffer, pH 6.0~8.0 :0.1 M phosphate buffer, pH 8.5~9.0 :0.1 M tris-HCl buffer, pH 10.0~11.0 :0.1 M sodium carbonate buffer)에 효소액 1 mL, 기질 용액 1 mL씩 가하여 효소활성을 측정 비교하였다. pH 안정성은 각종 pH 완충용액으로 pH를 조절한 효소액을 4°C에서 24시간 방치한 후 37°C에서 효소활성을 측정하여 잔존 효소활성을 비교하였다.

온도의 영향 및 안정성

작용 최적 온도는 0.1 M phosphate buffer 1 mL, 효소액 1 mL, 기질 1 mL을 10~50°C에서 30분간 반응시켜 효소활성을 측정하였고 온도 안정성은 여러 온도에서 방치된 효소액의 시간별 단백질 분해 활성을 측정하여 잔존 효소 활성을 비교하였다.

기질특이성

합성기질에 대한 반응성을 보기위해 사용된 기질은 trypsin의 기질인 N-benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide(BAPNA), p-tosyl-L-arginine methyl ester(TAME), chymotrypsin의 기질인 N-acetyl-L-tyrosine ethyl ester(ATEE), carboxypeptidase의 기질인 hippuryl-L-phenyl alanine(HPA)을 사용하였으며 BAPNA는 Erlanger 등의 방법, TAME는 Walsh의 방법, ATEE와 HPA는 Bergmeyer 등의 방법에 의해 기질특이성을 측정하였다.

Km 값

기질의 농도에 따르는 효소의 반응 속도를 측정하기 위하여 여러 가지 농도(10~100 μ g/mL)로 조정된 hammersten casein 용액에 정제 효소를 반응시켜 반응 속도를 측정한 후 1 / S에 대한 1 / V의 Lineweaver-Burk법으로 plot하여 얻은 직선으로부터 Km 값을 구하였다.

금속이온의 영향

금속 이온중의 LiCl, KCl, NaCl, CaCl₂, CoCl₂, CuCl₂, MnCl₂, MgCl₂, BaCl₂, HgCl₂, ZnCl₂, FeCl₃을 1 mM이 되도록 첨가한 효소액 1 mL를 37°C에서 60분간 반응시킨 후에 기질로 1.5% hammersten casein 1 mL를 가하여 casein 분해력을 측정, 비교하였다.

저해제의 영향

저해제의 영향은 각 저해제를 농도별로 하여 효소액과 미리 반응을 시킨 후에 기질과 반응시켜 효소활성을 측정하였다. 사용된 저해

제로는 metallopeptidases의 저해제인 ethylene diamine tetra acetic acid(EDTA), thiol-protease의 저해제인 iodo acetic acid(IAA), serine protease(trypsin-like enzyme)의 저해제인 soybean trypsin inhibitor(STI)과 histidine 잔기와 반응하는 N- α -tosyl-L-lysyl chloromethyl ketone(TLCK), chymotrypsin의 저해제인 N-tosyl-L-phenylalanyl chloromethyl ketone(TPCK)을 사용하였다.

미생물수의 측정

측정 대상물을 10g 취하여 멸균 peptone water(1%) 90mL을 가하여 무균적으로 마쇄한 후 10분간 shaking incubator에서 진탕하여 균질화한 다음 10진 희석하였으며 이 희석액을 plate count agar나 기타 계수용 배지에 도말하여 37°C에서 48시간 배양하였다. 장내세균은 희석액을 VRBG agar(Difco) 15mL와 혼합하여 균힌 후, 그 위에 다시 VRBG agar 10mL를 넣어 고화시켜 35°C에서 24시간 배양한 후 나타난 colony를 계수하였다. 미생물수는 3회 계측 평균치를 나타내었다.

색도 측정

세절한 시료를 colour difference meter(Yasuda Seiki Seisakusho, LTD)를 이용하여 L, a, b 값을 측정하였다. 이때 표준색은 L=89.2, a=0.921, b=0.783이었다.

유리아미노산 함량

시료중의 아미노산 분석은 phenylisothiocyanate(PITC) 유도체를 만들어 HPLC로 분석하는 Pico-Tag 아미노산 분석방법에 의해 행하였다. 즉, 총아미노산은 시료 일정량을 6N HCl로 가수분해하여, 유리아미노산은

시료 20mL를 95% ethanol 80mL와 혼합하여 균질화한 다음 다시 25%의 TCA 용액을 가하여 단백질을 침전시킨 후 3,000 x g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상층액을 Amberlite IR-120 column(100~200 mesh, 2 cm x 20 cm)에 1~2 mL/min의 속도로 흘려 아미노산을 흡착시킨 후 이를 2N NH₄OH 용액에서 용출시켜 감압농축 한 다음 일정량을 취해 각각 PITC 유도체를 만든 후 pH 2.2의 citric acid bufer를 가하여 5 Mmol의 농도가 되도록 희석한 후 0.2 μ m의 membrane filter로 여과하여 분석용 시료로 하였으며 HPLC의 작동조건은 다음 Table 13과 같다.

Table 13. Operating conditions for the analysis of amino acid by HPLC

| | |
|-------------|---|
| Instrument: | HP 1090 HPLC(Waters Associates Inc. USA) |
| Column | : Aminoquant Φ 2.1 x 200 mm (Waters) |
| Solvent | : Channel A: 200 μ M Sodium acetate buffer containing 0.018% TEA+0.3% tetra-hydrofuran, pH 7.2 Channel B: 20% 100mM sodium acetate buffer, pH 7.2 |
| Detector | : HP 1046 UV detector at 254nm |

핵산관련 물질

시료 5g을 0.6N HClO₄ 용액 50mL와 혼합하여 균질화한 다음 여과하여 시험관에 여과액 5 mL와 인산완충용액(pH 7.6) 5 mL을 혼합하고 상등액을 취하여 membrane filter(0.2 μ m)한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 핵산관련 표준물질(5-ATP, 5-ADP, 5-AMP, 5-IMP, 5-GMP,

Inosine, Hypoxanthine)은 sigma chemical co.의 표준시약을 구입하여 사용하였으며 정량은 표준품과 시료의 retention time을 비교하여 각 시료 용량의 peak 면적으로 환산하였다. HPLC 분석조건은 Table 14와 같다.

Table 14. Operating conditions for the analysis of nucleotides and its related compounds by HPLC

| | |
|---------------|---|
| Instrument | : Waters Associates HPLC system |
| Column | : μ -bondapack C18(3.9 mm x 30 cm) |
| Mobile phase: | 1% triethylamine, phosphoric acid(pH 6.5) |
| Flow rate | : 2.0 mL/min |
| Chart speed | : 0.25 cm/min |
| Detector | : UV detector at 254nm |

비휘발성 유기산

시료 20mL에 75% ethylalcohol 80mL을 가하여 균질화한 다음 원심분리(3,000×g, 20 min)하여 상등액을 분리하고 잔사에 다시 75% ethylalcohol 50mL을 가하여 동일조건으로 원심분리한 후 상등액을 분리하여 감압농축하였다. 이것을 일정량의 물로서 녹인다음 Byrant, Resnick 등의 방법에 따라 이온교환수지 처리를 하였다. 즉, 회석된 시료 40~50mL를 amberlite IRA-410 column(100~200 mesh)에 1~2mL/min의 속도로 흘린다음 수세하고 1.5N (NH₄)₂CO₃ 100mL을 1~2 mL/min의 속도로 흘려 흡착되어 있는 유기산을 용출시켜 용출액을

rotary evaporator로서 암모니아 냄새가 없어질때까지 농축하였다. 다음 이것을 소량의 물로서 희석하여 amberlite IR-120 column (100~200 mesh)에 흘리고 수세하여 그 추출액을 농축하여 건조하였다. 건조한 시료에 14% BF₃-methylalcohol 2mL을 가하고 환류냉각기를 이용하여 65°C에서 10분간 가온후 실온에 20분간 방치하여 ester화 하였다. 이것을 시험관에 옮겨 포화 (NH₄)₂SO₄ 4mL 및 CH₂Cl₂ 2 mL을 가하여 진탕하고 방치한 후 CH₂Cl₂층을 취하여 무수 Na₂SO₄로서 탈수 처리하였다. 여기에 내부표준물질인 methylaurate의 표준용액 1mL을 가한 후 감압농축하여 분석시료로 하였으며 분석조건은 다음과 같다.

Table 15. Operating conditions for the analysis of nonvolatile organic acids by GLC

| | |
|-------------|--|
| Instrument | : Hewletpackard GC Model 5890 |
| Column | : Supercowax 10, 0.33 mm x 30 m |
| Oven temp. | : 70°C(hold, 1 min), 5°C/min, 210°C(hold, 5 min) |
| Carrier gas | : Hydrogen, 12 psi |
| Make-up gas | : Nitrogen |
| Detector | : FID |

제 3 장 결과 및 고찰

제 1 절. 저염 멀치젓 개발

1. 온도와 염도에 따른 멀치젓의 발효특성 및 발효 환경요인 검토 가. pH의 변화

발효가 진행됨에 따라 발효시 pH 변화를 측정된 결과는 Fig. 4와 5에 나타내었다. pH는 대체적으로 숙성 3주 이내에 급격히 저하하여 pH 6.22~5.22의 최저 수준에 이른후 염농도에 따라 다시 증가하거나 낮은 수준에서 안정되는 경향을 나타내었다. 염농도 15% 조건에서 발효시킨 시료의 경우 발효온도에 따라 pH는 최저 6.16~6.22의 범위까지 저하한 후 다시 pH 6.75~7.08 수준까지 증가하였으며 숙성온도가 높을수록 pH 값의 저하 및 증가속도가 빠른 경향을 나타내었다. 염농도 20% 처리구의 경우 대체적으로 염농도 15% 처리구와 유사한 경향이었으나 최저 pH 값이 5.54~5.82로 다소 높았으며 pH 재상승값도 5.67~6.43 수준으로 나타나 발효기간중 pH의 변화폭이 상대적으로 낮았다.

염농도 25% 처리구의 경우 pH는 계속 저하하여 발효온도에 따라 5.52~5.63의 수준까지 저하하였는데 숙성 3주 이후부터 pH의 저하속도가 극히 완만한 경향을 보였다.

염농도 15% 및 20% 발효 시료의 경우 pH 값의 변화폭이 상대적으로 크게 나타나 부패나 이상발효 등 불안정한 발효가 진행될 수 있는 가능성이 있음을 알 수 있었다.

나. 아미노태 질소의 변화

아미노태 질소의 함량은 원료육의 가수분해 정도의 지표가 될 뿐 아니라 향미와도 밀접한 관련이 있기 때문에 멀치젓의 중요한 숙성지표

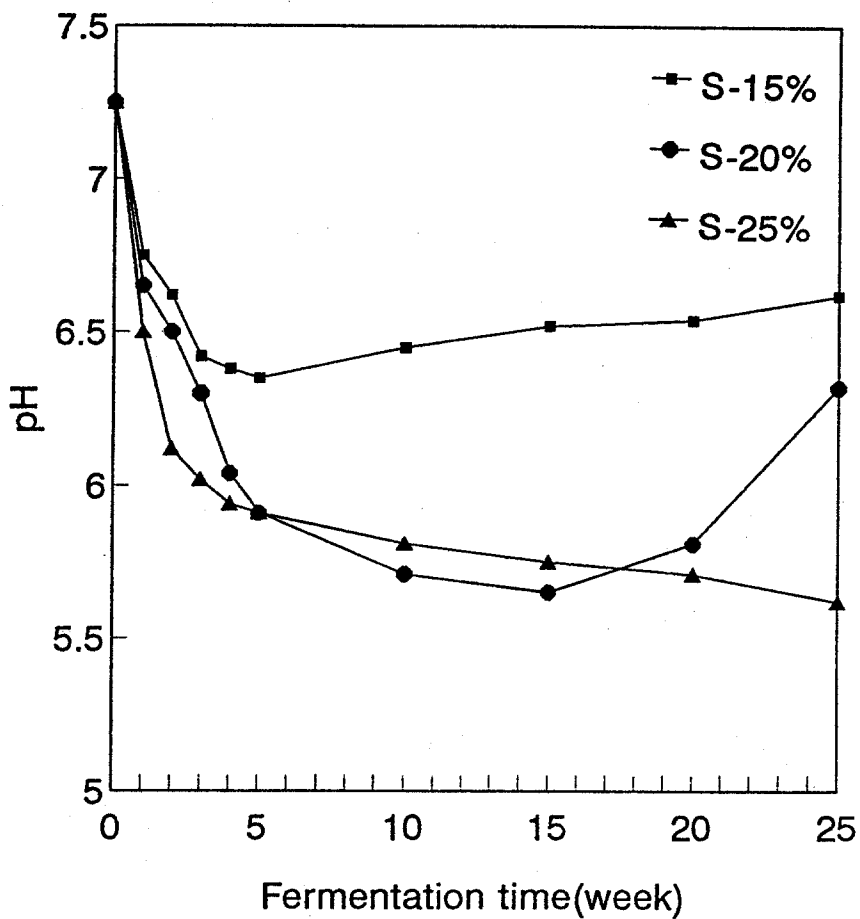


Fig. 4. Changes in pH of whole anchovy during fermentation with different NaCl concentration at ambient temperature

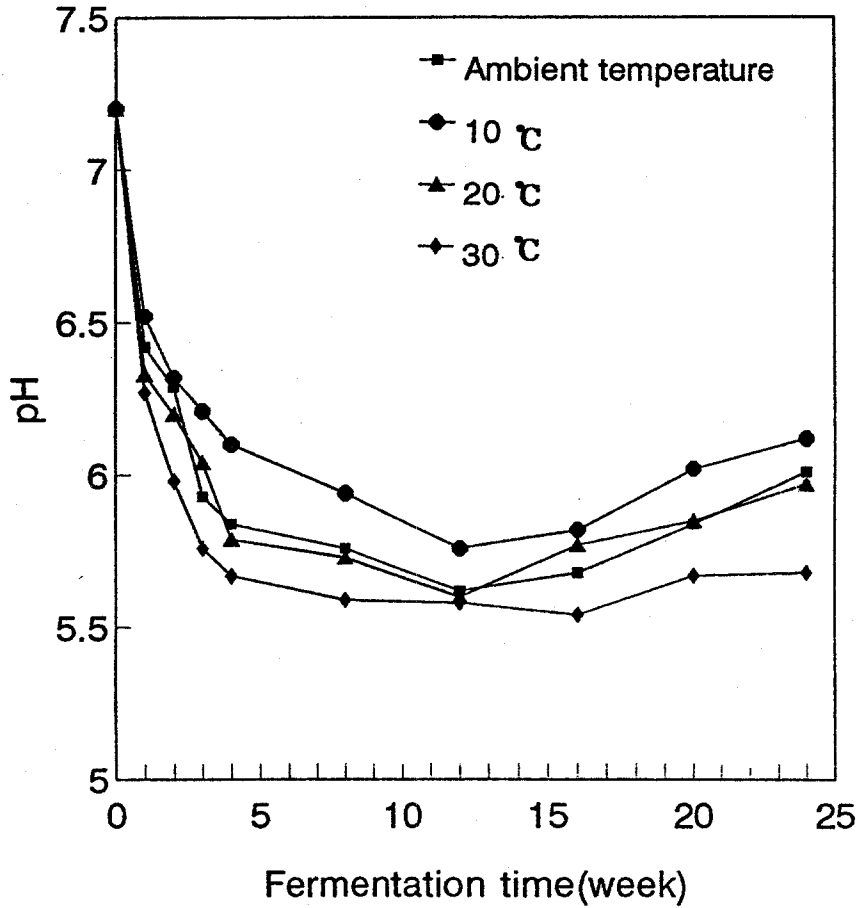


Fig. 5. Changes in pH of whole anchovy during fermentation with different temperatures at 20% NaCl concentration

및 품질 지표로 활용될 수 있다. 발효가 진행되면서 전 시험 처리구에서 아미노태 질소 함량은 발효 3~4 주까지 급격히 증가한 후 완만한 속도로 계속 증가하는 경향을 나타내었는데 발효 조건의 경우 저염이면서 고온일수록 아미노태 질소함량이 높은 경향을 나타내었다(Fig. 6, 7)

다. 휘발성 염기 질소(VBN) 함량의 변화

휘발성염기질소는 향미와 깊은 관련이 있을 뿐 아니라 부패 등 이상발효의 보조적 판단 자료로 활용할 수 있기 때문에 객관적인 품질지표는 아니지만 발효실험에 지표성분으로 자주 이용되어 왔다. 염농도 및 온도조건에 따른 발효시 VBN 함량의 경시적인 함량변화는 Fig. 8과 9에 나타내었다. 발효액 중 VBN 함량은 전 시험구간에서 숙성 3~4주까지 급격히 증가하다가 염농도에 따라 15% 및 20%의 경우 계속 증가하는 반면 염농도 25% 및 30%의 경우 완만한 속도로 계속 증가하는 경향을 나타내었다.

염농도에 따른 숙성중 VBN 함량은 염농도 15%의 경우 숙성온도에 따라 249.4~319.7mg% 까지, 염농도 20%의 경우 170.1~264.8mg% 까지, 염농도 25%의 경우 138.9~210.2mg% 까지 증가하여 염농도 및 발효온도에 따른 VBN 함량 차이가 매우 크게 나타났으며 염농도중 20% 이하의 발효시료는 VBN 함량이 지나치게 높을 뿐 아니라 관능적 향미도 좋지 않아 이상발효의 가능성이 높을 것으로 판단되었다.

라. 관능검사

염농도를 달리하여 제조한 멸치젓과 숙성 온도를 달리하여 제조한 멸치젓에 대하여 관능검사를 실시하여 그 결과를 Table 16과 Table 17

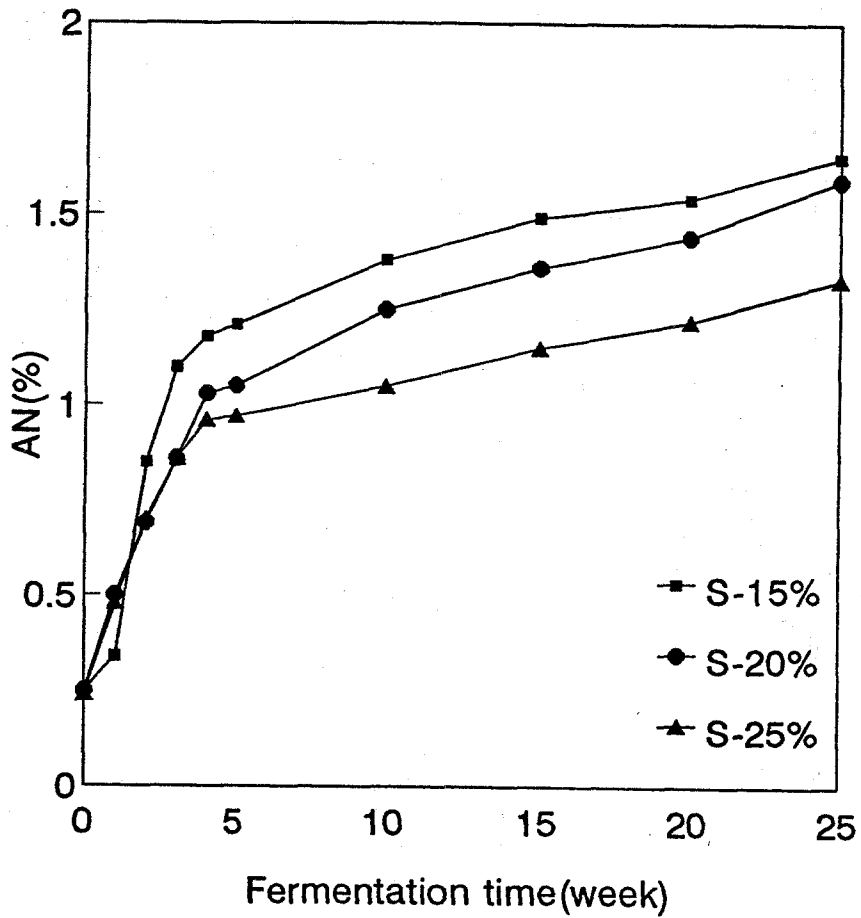


Fig. 6. Changes in amino nitrogen(AN) of whole anchovy during fermentation with different NaCl concentration at ambient temperature

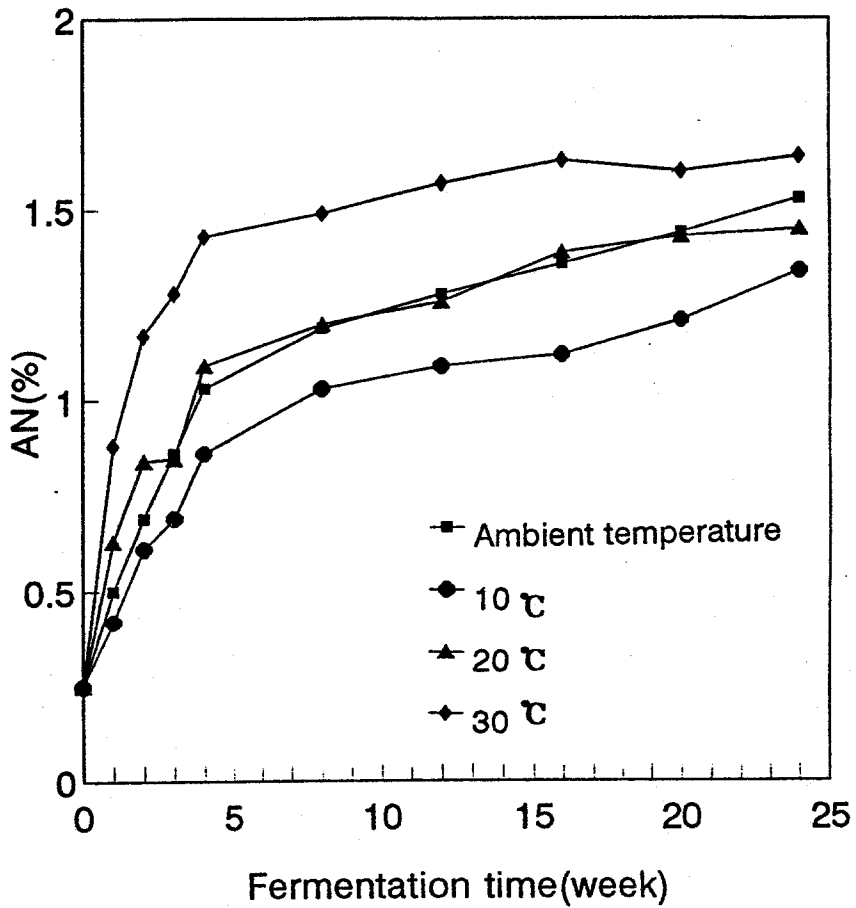


Fig. 7. Changes in amino nitrogen(AN) of whole anchovy during fermentation with different temperatures at 20% NaCl concentration

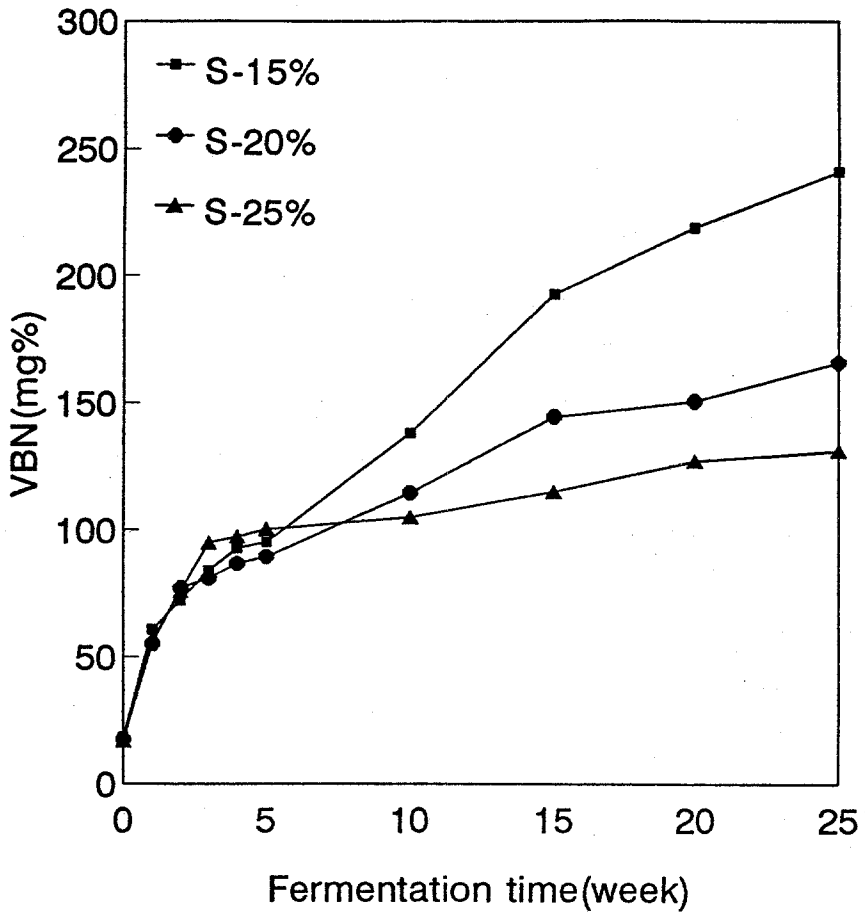


Fig. 8. Changes in volatile basic nitrogen(VBN) of whole anchovy during fermentation with different NaCl concentration at ambient temperature.

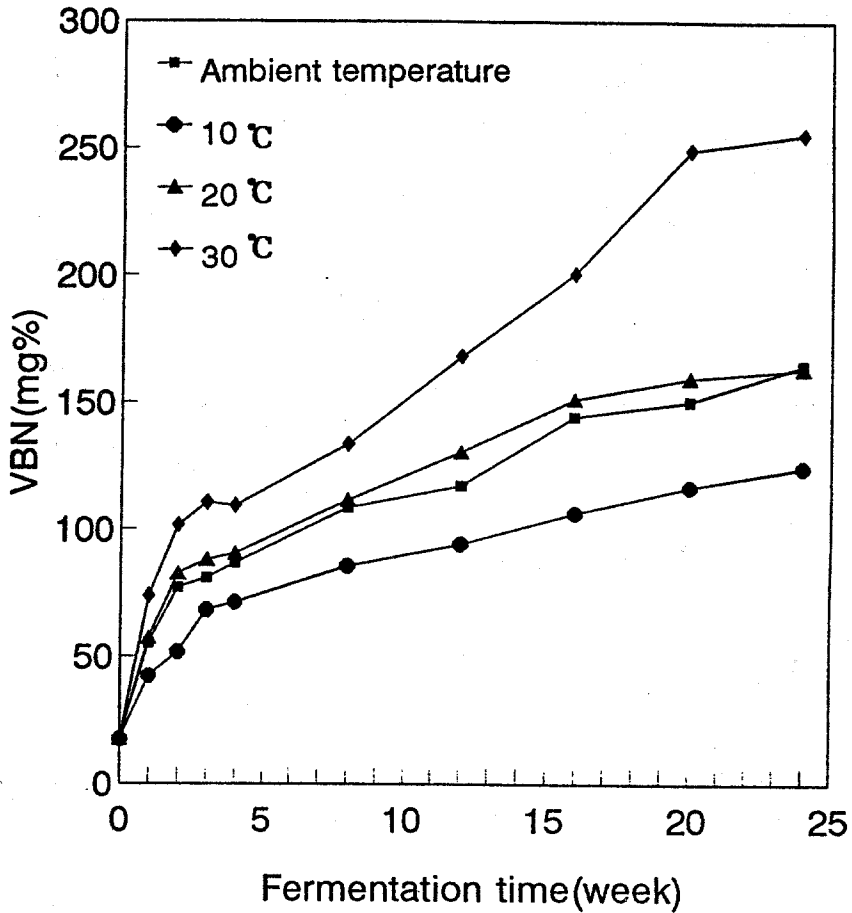


Fig. 9. Changes in volatile basic nitrogen(VBN) of whole anchovy during fermentation with different temperature at 20% NaCl concentration

에 나타내었다. 염농도를 달리하여 제조한 멸치젓의 경우 염농도가 증가할수록 기호도가 높게 나타났으며 숙성 온도는 저온일수록 높은 관능평점을 나타내어 기존 염장 발효 방법에 의한 멸치젓의 숙성은 25% 정도의 고염 조건하에서 저온 숙성하는 것이 관능적으로 우수한 것을 알 수 있었다.

Table 16. Sensory evaluation¹⁾ of anchovy fermented with different NaCl concentrations at 20°C for 10 weeks

| NaCl conc. | Flavor | Color | Overall quality |
|-------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|
| 10% | 2.14 ^{c, 2)} | 3.35 ^a | 2.15 ^c |
| 15% | 2.95 ^b | 3.13 ^a | 2.98 ^b |
| 20% | 3.98 ^a | 3.24 ^a | 3.24 ^b |
| 25% | 4.15 ^a | 3.57 ^a | 3.97 ^a |
| LSD ³⁾ | 0.43 | 0.42 | 0.44 |

1) Evaluated by 10 trained panels on fermented anchovy on 5 point hedonic scale where 1=least acceptable, 5=most acceptable

2) Mean value of 10 sensory scores followed by different alphabet in same row means significantly different at $p > 0.05$

3) Least significant difference

Table 17. Sensory evaluation of anchovy fermented with 20% NaCl concentrations at different temperature for 10 weeks

| Temperature | Flavor | Color | Overall quality |
|------------------|-------------------|----------------------|----------------------|
| AT ¹⁾ | 3.21 ^b | 2.96 ^b | 3.14 ^b |
| 10°C | 3.65 ^a | 3.54 ^a | 3.54 ^a |
| 20°C | 3.26 ^b | 3.28 ^{a, b} | 3.26 ^{a, b} |
| 30°C | 3.18 ^b | 2.56 ^c | 2.83 ^c |
| LSD | 0.34 | 0.38 | 0.26 |

1) Ambient temperature

이상의 pH, 아미노태질소 함량, 휘발성염기질소의 결과 및 통계처리 결과로 볼 때 기존의 방식인 단순 가염에 의해 멸치를 발효시키고자 할 때 염농도는 최소 23% 이상은 되어야 이상발효의 가능성이 없음을 알 수 있었다.

2. 염지방법 개선 및 염류대체에 의한 저염발효 기술 개발

멸치육의 신속한 수분활성 조절을 위하여 액염지(brining) 방법을 도입하였다. Brining 방법은 dry salting을 하였을 때보다 염침투 속도가 빠르고 침투량이 많아 단시간내에 수분활성 조절이 용이한 장점이 있으며 원료육에 대한 균일한 염침투 효과를 기대할 수 있어 염농도 불균형

에 의한 이상발효 가능성이 낮으며 예비실험 결과 dry salting 보다 숙성초기의 효소 안정화에 의한 정상발효 가능성이 높게 나타나 저염 멸치젓 제품 개발을 위한 원료 멸치의 수분활성 조절 수단으로서 brining 조건을 정밀 검토하였다.

가. 염침투 특성

염농도 10%, 15%, 20% 및 포화식염수를 사용하여 15°C의 항온조에서 행한 원료멸치에 대한 염지 실험 결과를 Fig. 10에 나타내었다. 모든 염농도 용액에서 원료 멸치육의 염농도는 급속하게 증가하는 경향을 나타내었으며 24시간 이후에는 거의 평형에 도달하였다. 포화식염수에 침지한 멸치의 경우 근육내의 염농도는 약 12시간 후에 최대로 16%에 달하는 것으로 나타났으며 10% 염용액으로 침지한 경우 약 7% 수준이 유지되는 것으로 나타났다.

염지액의 염농도가 높을 수록 염침투 속도 및 침투량도 급격히 증가하는 것으로 나타났으며 초기의 염침투 곡선은 first order kinetics의 특성을 나타내었으므로 최대 염침투농도(C, 48hr 평형)에서 특정한 brining time(t)에서의 염농도(X)와의 차이를 logarithmic plot 하였을 때 $X=C(1-e^{-kt})$ 식에 적용할 수 있었으며 이때의 rate constant(min^{-1})인 k 값은 10% 염용액을 사용하였을 경우 0.018이었으며 15% 염용액을 사용하였을 경우 0.030, 20% 염용액을 사용하였을 경우 0.039을 나타내었으며 포화식염수를 사용하여 brining 하였을 경우 0.051을 나타내어 염용액의 염농도가 증가할수록 초기의 염침투 속도는 급격히 증가하는 것으로 나타났다.

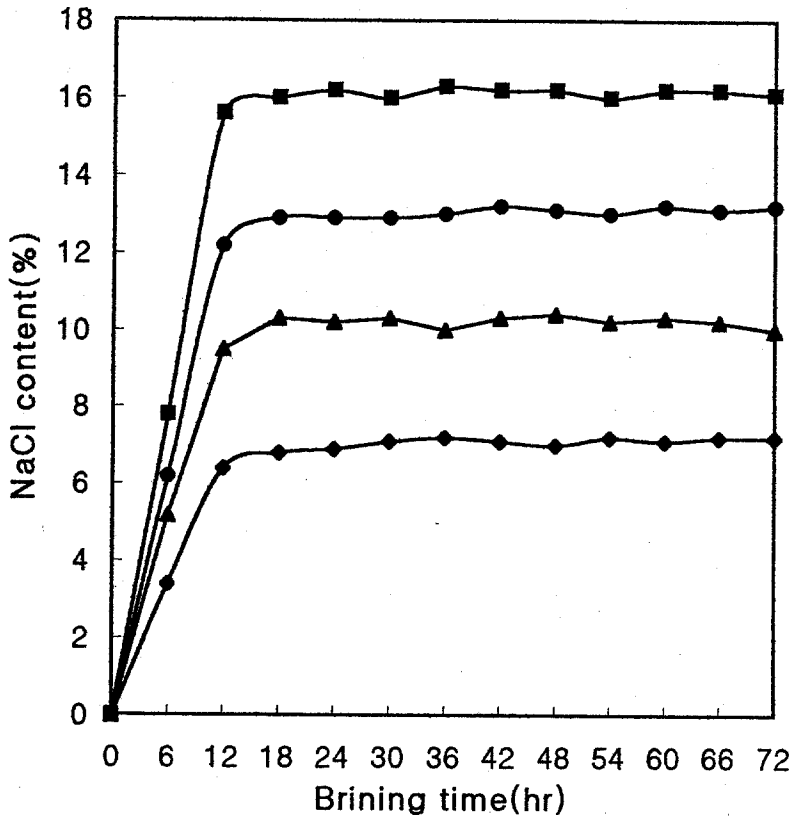


Fig. 10. Changes in NaCl concentration of anchovy muscle during brining. Anchovy muscle was immersed in brine adjusted to various salt concentration and salt content was analysed by Mohr method. The brine was 10% NaCl solution(◆-◆), 15%(▲-▲), 20%(●-●) and saturated solution(■-■)

나. VBN 함량의 변화

10% 염용액에서 염지한 처리구가 가장 높은 함량을 나타내어 72시간 후에는 약 25mg%의 함량을 나타내었지만 20% 이상의 염용액에서 침지하였을 경우에는 급격한 증가를 나타내지 않았으며 20mg% 이하의 휘발성염기질소 함량을 나타내어 염지 기간 중 단백질의 분해나 기타 성분의 분해, 생성이 매우 완만하게 진행됨을 알 수 있었다(Fig. 11).

다. 수분활성도의 변화

멸치육의 brining 과정중 수분활성도의 변화를 측정된 결과를 Fig. 12에 나타내었다. Brining 시간이 경과함에 따라 수분활성도가 감소하는 경향을 나타내었다. 10% 염용액에서 침지하였을 경우 초기에 약간 증가하는 경향을 나타내었으며 그 후 다시 완만히 감소하여 평형에 도달하여 Aw 0.9 이상의 수분활성도를 나타내었다. 20% 염용액을 사용하였을 경우 초기의 수분활성도가 급격히 감소하였으며 12 시간 이후 평형에 도달하여 Aw 0.83 정도의 수분활성도를 나타내었다. 포화식염수를 사용하였을 경우 20% 염용액을 사용하였을 때 보다 더욱 더 빠른 속도로 수분활성도가 감소하였으며 그 이후 평형에 도달하여 0.8 이하의 수분활성도를 나타내었다. 따라서 포화식염수를 사용하여 brining 하였을 경우 *Halobacterium*, *Halococcus* 등의 호염성 미생물을 제외하고 대부분의 미생물 생육 억제 조건이 되어 brining 및 그 이후 젓갈 숙성중 미생물에 의한 이상발효 가능성이 적음을 알 수 있었다.

라. SDS-PAGE pattern

멸치육의 염지기간 중 단백질 분해 양상을 파악하기 위하여 10% 염용

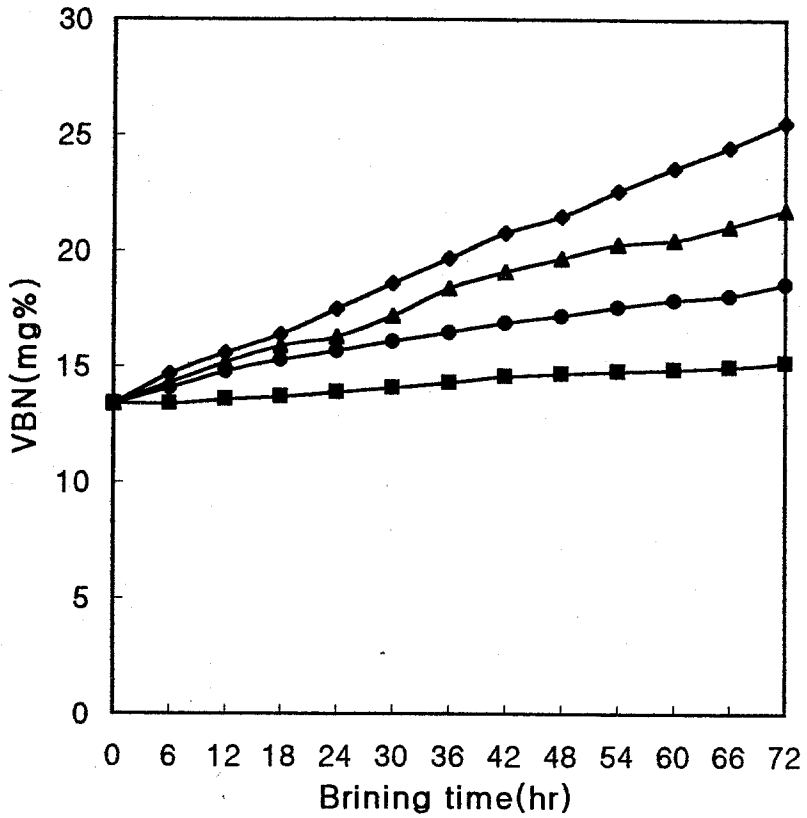


Fig. 11. Changes in volatile basic nitrogen(VBN) content of anchovy muscle during brining. Conditions and symbols are the same in Fig. 10.

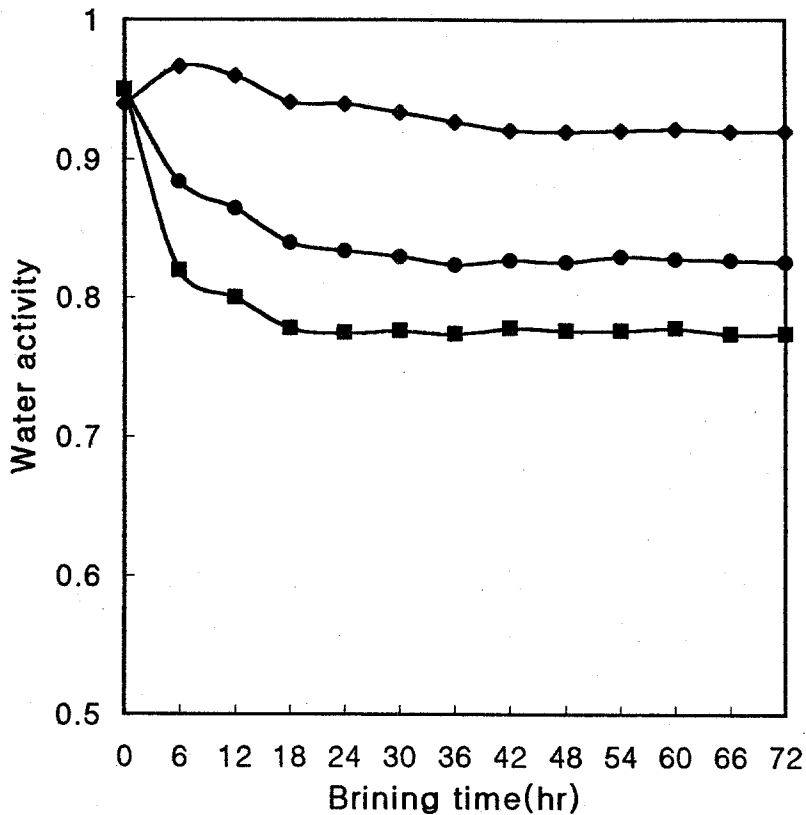
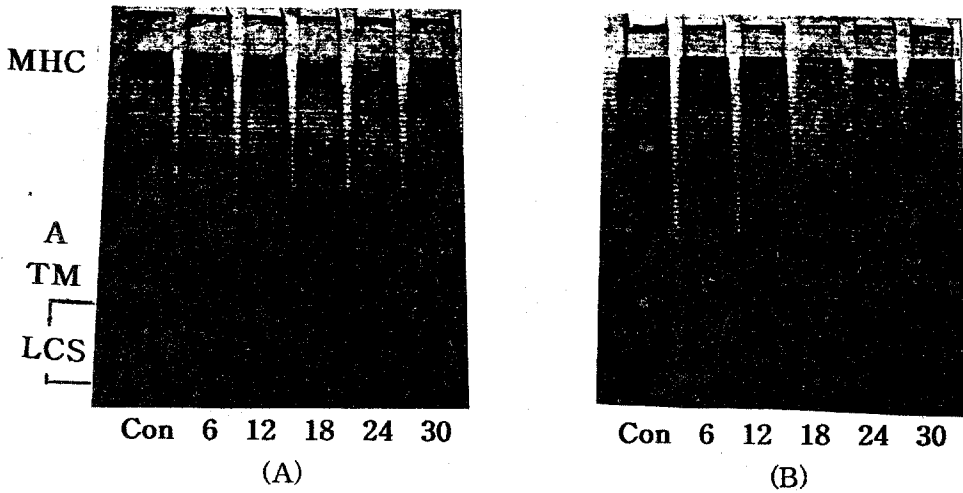


Fig. 12. Changes in water activity of anchovy muscle during brining. Anchovy muscle was immersed in brine adjusted to various salt concentration and water activity was analysed by Thermoconstanter. The brine was 10% NaCl solution(♦-♦), 20%(●-●) and saturated solution(■-■)

액 및 포화식염수에서 염지한 멸치육을 이용하여 전기영동에 공시하여 Fig. 13에 나타내었다. 10% 염용액을 사용하여 brining 하였을 때 시간이 경과함에 따라 myosin heavy chain이 비교적 빠르게 분해되어 brining 12시간 이후에 대부분 소실되었으나 actin은 비교적 안정하여 약간 분해된 결과가 나타났다. 포화식염수를 사용하였을 경우 비교적 완만하게 단백질 분해가 진행되어 30시간 이후에도 myosin heavy chain이 다량 존재하는 것으로 나타나 염농도가 증가할수록 단백질 분해가 저해되는 양상이었다.

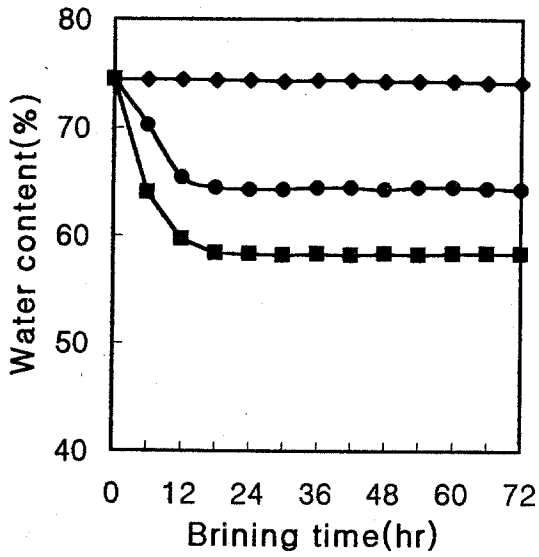
마. 염지육의 수분 함량의 변화

염지과정중 멸치육의 수분함량의 변화를 측정하여 Fig. 14의 A)에 나타내었다. 멸치육의 수분함량의 변화는 10% 식염수를 사용하였을 경우 원료의 수분함량인 74%가 염지중 일정하게 유지되는 경향을 나타내었으며 20% 식염수에서 염지하였을 경우 65%의 수분함량이 염지기간 동안 일정하게 유지되었으며 포화식염수로 염지하였을 경우 58%의 수분함량을 나타내어 식염농도가 증가할수록 수분함량이 낮아짐을 알 수 있었다. 이는 염에 의한 멸치근육의 탈수 현상이 진행되었기 때문으로 사료되었다. 멸치육의 수분함량을 염이 함유되지 않은 조건으로 계산하여 water transfer를 구하여 Fig. 14의 B)에 나타내었다. 10% 식염수를 사용하여 brining 하였을 때에는 시간이 경과함에 따라 수분함량이 증가하는 경향을 나타내었으며 20% 식염수 및 포화식염수로 염지한 경우 시간이 경과함에 따라 초기에는 급격하게 수분량이 감소한 후 그 이후에는 평형에 도달하였지만 수분량은 초기상태에 비해 감소한 상태로 유지되었다.

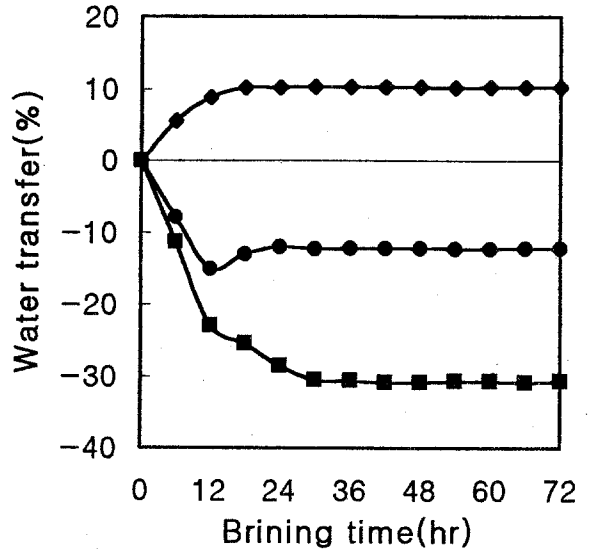


Brining time(hours)

Fig. 13. SDS-PAGE patterns of solubilized protein from brined anchovy at 15°C (Time course) A) 10% NaCl solution, B) saturated NaCl solution, Concontrol. The position of myosin heavy chain, actin, tropomyosin and myosin light chain are indicated as MHC, A and LCS.



A)



B)

Fig. 14. Changes in water content of anchovy muscle during brining. Conditions and symbols are the same in Fig. 12. A) salted anchovy, B) salt free basis

바. 멸치육의 무게 변화

멸치육의 brining 과정중 멸치육의 무게변화를 측정하여 Fig. 15에 나타내었다. 10% 식염수를 사용하여 염지하였을 때 멸치육의 무게는 완만히 증가하여 72시간 후에 약 10% 정도 증가하는 경향을 나타내었으며 20% 식염수 및 포화식염수를 사용하였을 경우 완만히 감소하여 72시간 염지후 11%와 18% 정도 중량이 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 멸치육의 염지과정 중 염의 침투, 수분의 이동에 의해 수분의 증감이 일어나게 되며 이에 따라 염용성 단백질 및 수용성 단백질의 용출이 일어나기 때문으로 추정되었다. 포화식염수를 사용하여 15℃에서 염지하였을 때 고형분의 용출 정도를 측정한 결과 염지초기에 급격하게 고형분 용출이 진행되다가 36시간 이후에 평형상태에 도달하여 최종적으로 약 30% 감량 수준에서 유지되는 경향이였다(Fig. 16).

사. 수분활성이 조절된 멸치육의 숙성 특성

멸치육을 brining하여 염도를 15%로 조정된 처리구와 건염을 첨가하여 같은 염농도로 조정된 처리구 및 brinig 및 건염을 동시에 처리하여 염농도를 동일하게 조정된 처리구의 숙성 특성 중 휘발성 염기 질소의 함량을 측정하여 Fig. 17에 나타내었다. Dry salting한 처리구가 가장 빠르게 숙성이 진행되었으며 숙성 3주 이후부터 이상발효가 일어나는 것으로 나타났으나 brining 한 처리구는 비교적 안정적인 숙성양상을 나타내어 숙성 4주경에 숙성 적기에 다달은 것으로 나타났다. 그러나 숙성적기가 유지되는 기간이 비교적 짧아 수분활성조절 첨가물의 사용 및 포장 방법에 대한 검토가 요구되었다.

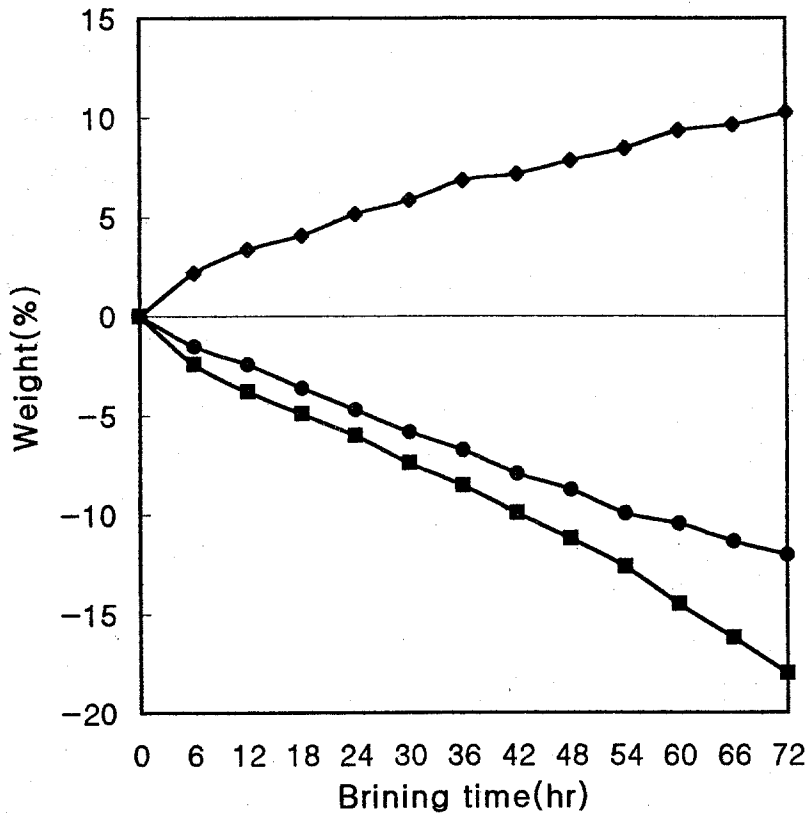


Fig. 15. Changes in weight of anchovy muscle during brining (salted). Conditions and symbols are the same in Fig. 12.

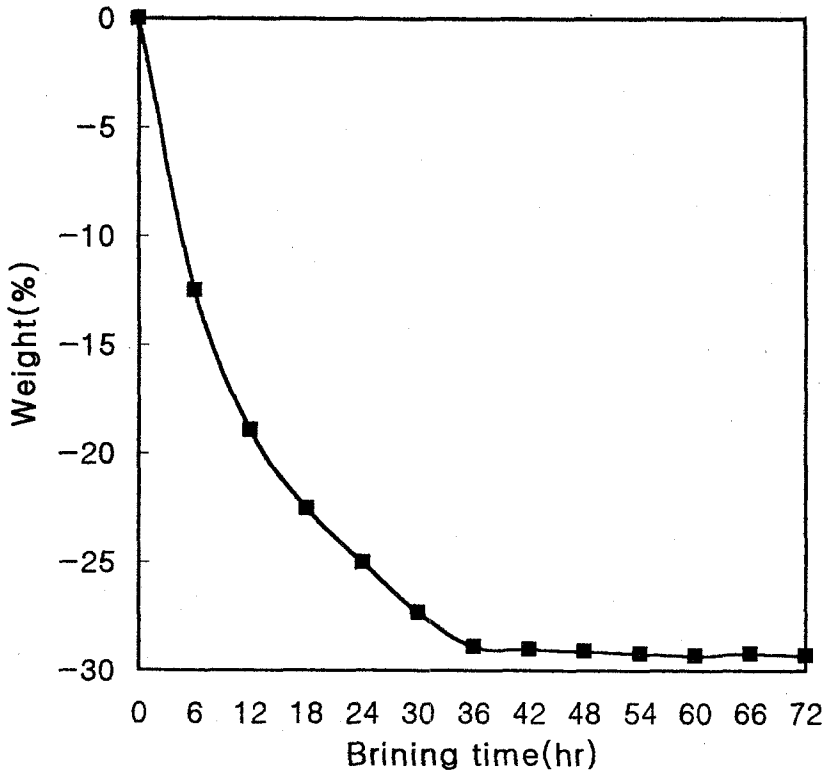


Fig. 16. Changes in weight decrease of anchovy muscle during brining(salt free basis). Anchovy muscle was immersed in saturated NaCl solution and weight was measured in salt free condition.

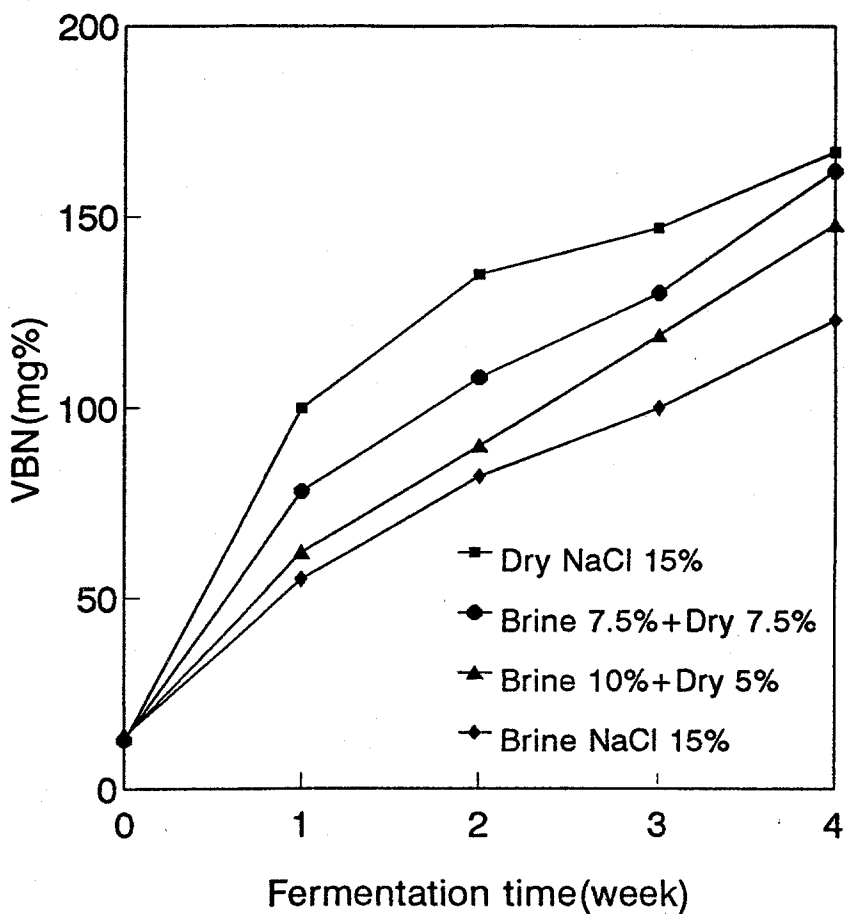


Fig. 17. Changes in volatile basic nitrogen(VBN) content of anchovy during fermentation with or without brining

아. 염류대체에 의한 저염화 가능성 검토

고염식품을 기피하는 현대인의 식생활패턴의 변화에 따라 젓갈에 첨가원으로 사용하는 NaCl을 대체할 목적으로 KCl로 대체 첨가하여 전체 염농도를 20%로 조정하고 상온에서 4주 발효후 관능검사에 의한 품질 특성을 살펴보았다. NaCl과 KCl을 멸치육에 혼합하여 전체 염농도를 20%로 조정하였을 때 NaCl의 경우 3.42M의 농도를 가지며 KCl의 경우 2.68M의 농도를 나타내게 되므로 전체적으로 0.74M의 염이 적게 사용되는 것으로 생각될 수 있으며 과잉섭취로 문제가 되는 Na의 양도 줄일 수 있겠지만 KCl이 가지는 특유의 고미(쓴맛) 때문에 전체를 대체하는 것은 불가능하였으므로 NaCl과 KCl의 함량비를 1:1, 2:1, 3:1, 4:1로 대체하여 처리구를 조제하였다. 숙성기간 중 VBN 함량의 변화를 측정하였을 때 NaCl: KCl의 1:1 처리구가 가장 빠르게 증가하는 경향을 나타내었으며 KCl이 가장 적게 들어간 4:1 처리구가 느리게 증가하는 경향으로 대조구로 설정된 NaCl 20% 처리구와 비교하여 그 차이가 거의 인정되지 않았다. 이는 Table 18에 나타낸 바와 같이 전체 염농도 20%의 경우 NaCl 만을 첨가한 처리구가 3.42M의 몰농도를 가지는 반면 1:1 처리구의 경우 NaCl이 1.71M을 KCl이 1.34M을 가져 전체 염농도는 3.05M로 NaCl을 단독 처리 했을 때에 비해 89.2%에 해당하는 염농도를 가져 저염이므로 빠르게 숙성이 진행되었을 것이라고 사료되었다.

Table 18. Molar concentrations at various ratio of NaCl and KCl

| | 1:1 | 2:1 | 3:1 | 4:1 | only NaCl |
|-----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------|
| 15% | 1.28+1.01M 2.29M(89.7%) | 1.71+0.67M 2.38M(92.6%) | 1.92+0.50M 2.42M(94.2%) | 2.05+0.40M 2.45M(95.3%) | 2.57M (100%) |
| 20% | 1.71+1.34M 3.05M(89.2%) | 2.28+0.89M 3.17M(92.7) | 2.57+0.67M 3.24M(94.7%) | 2.74+0.54M 3.28M(95.95) | 3.42M (100%) |

숙성 4주후 각 처리구에 대한 flavor, bitter taste에 대한 관능검사를 행하였으며 그 결과를 Table 19에 나타내었다. Flavor는 KCl 대체 처리구간에 최소유의차내에 모든 처리구가 위치하는 것처럼 유의차는 나타나지 않았으나 KCl을 적게 첨가한 처리구가 비교적 좋은 관능점수를 나타내었다. 그러나 bitter taste의 경우 KCl을 많이 첨가한 처리구일수록 높은 점수를 나타내었으며 전체적 기호도에서도 KCl을 많이 첨가한 처리구가 낮은 기호성을 나타내었는데 적어도 NaCl과 KCl의 비율이 3:1 이상이 되어야 관능적으로 쓴맛을 느끼지 않을 것으로 판단되어 염농도 조정이란 측면에서는 KCl에 의한 염류 대체는 커다란 의미는 없음을 알 수 있었다.

Table 19. Sensory evaluation of anchovy fermented with different NaCl:KCl concentrations at ambient temperature for 4 weeks

| NaCl:KCl | Flavor | Bitter taste | Overall quality |
|----------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 1:1 | 3.52 ^a | 3.32 ^a | 2.53 ^c |
| 2:1 | 3.74 ^a | 2.92 ^a | 2.96 ^c |
| 3:1 | 3.84 ^a | 2.26 ^b | 3.42 ^b |
| 4:1 | 3.92 ^a | 1.13 ^c | 3.82 ^a |
| LSD | 0.44 | 0.60 | 0.37 |

3. 조미발효 제품 개발 시험

가. Carbon source 첨가에 의한 발효 특성 검토

Carbon source를 첨가하여 멸치를 숙성시켰을 경우 젖산균 성장 유도 및 대사과정 변화에 의한 인위적인 젖산발효가 가능하다. 그 결과 발효산물로 생성되는 유기산 등에 의해 pH가 저하되면서 저장성을 증대시키며 산성 조건하에서 단백질 응고를 유도하여 멸치조직의 연화를 방지할 수 있을 것이라 생각하였으며 적정 당류를 검토하기 위한 실험을 실시하였다.

조미발효 멸치젓 제조시 당류의 첨가에 따른 발효 특성을 검토하기 위하여 다른 부재료는 첨가하지 않고 glucose, lactose, maltose를 각

각 멸치중량에 대하여 1%(w/w) 첨가하여 상온에서 숙성시키면서 숙성 과정중 일어나는 이화학적 변화를 측정하였다. Fig. 18은 pH의 변화를 측정하여 나타낸 결과이다. Glucose를 첨가한 처리구가 가장 빠르게 pH가 떨어졌으며 그 다음이 maltose이었으며 lactoser가 가장 느리게 저하되는 경향을 나타내 미생물의 성장에 단당류가 이당류 보다 쉽게 이용됨을 알 수 있었다. Fig. 19는 총산도를 나타낸 결과로서 pH에서와 비슷한 결과를 얻었는데 즉, glucose가 가장 빠르게 증가하는 경향이였다.

Table 20은 숙성기간중 젖산균 수의 변화를 측정한 결과로서 glucose를 첨가한 처리구가 비교적 빠르게 젖산균이 증가하였으나 각 처리구간에 유의한 차이는 발견되지 않았다.

Table 20. Changes in the number of lactobacillus spp. strains during fermentation

| Time | Carbon source | | |
|--------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Glucose | Maltose | Lactose |
| 0 day | 2.1×10^4 | 1.5×10^4 | 4.3×10^4 |
| 3 day | 5.3×10^6 | 3.9×10^6 | 3.8×10^6 |
| 6 day | 3.6×10^8 | 8.3×10^8 | 4.0×10^8 |
| 2 week | 7.9×10^8 | 6.3×10^9 | 5.9×10^8 |
| 3 week | 5.8×10^9 | 7.9×10^8 | 1.8×10^9 |

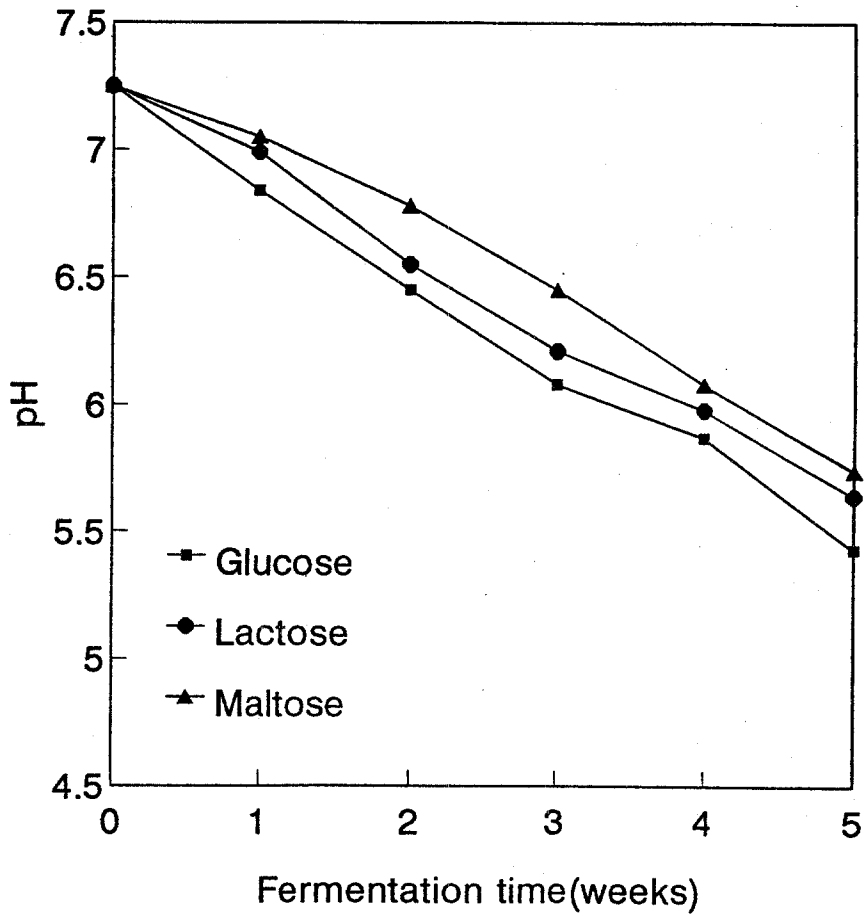


Fig. 18. Changes in pH of anchovy with carbon source during fermentation at ambient temperature

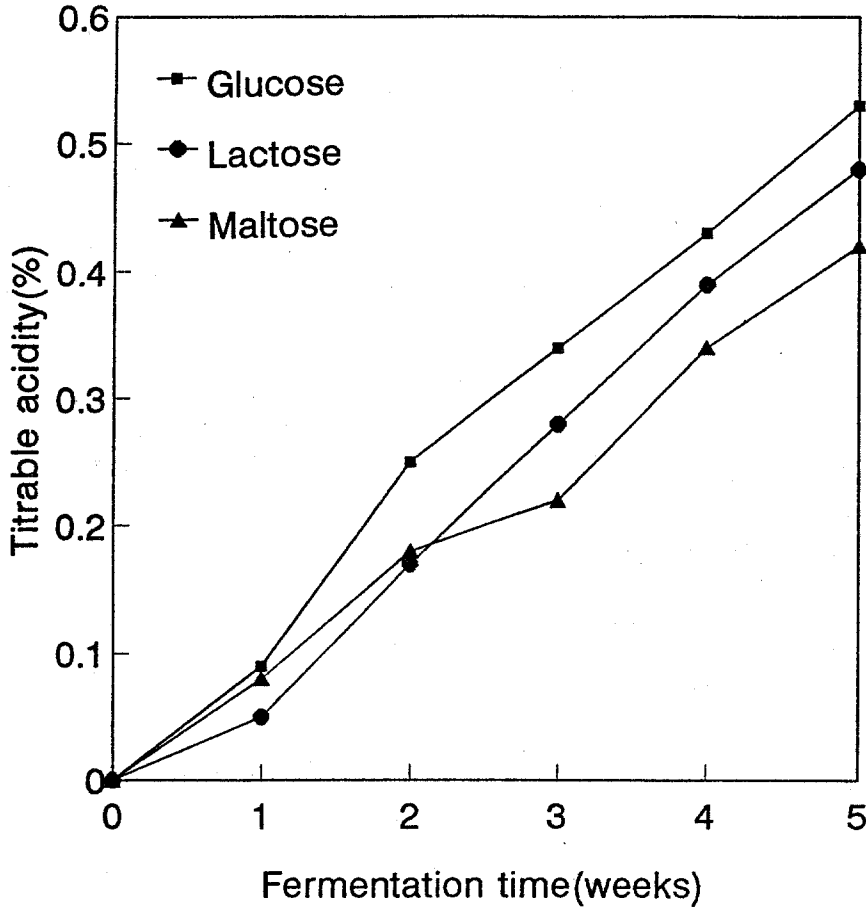
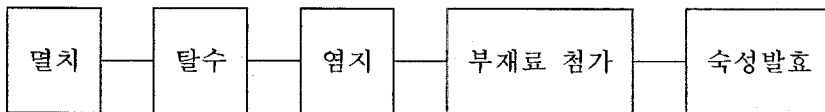


Fig. 19. Changes in titrable acidity of anchovy with carbon source during fermentation at ambient temperature

그러나 당질을 다량 첨가하여 멸치를 발효 시켰을 경우 젖산발효가 과도하게 일어나 식해와 비슷한 향미를 가질 가능성이 있다. 본 실험에서 목적으로 하는 제품은 부분적인 젖산발효에 의해 저장성이 증진되는 제품 및 젖갈 고유의 풍미를 가지는 제품이므로 당류의 종류와 첨가량을 신중히 검토할 필요성이 있었으며 따라서 위 실험에서 적정 당류로 선정된 glucose의 첨가량을 달리하면서 양념류와 혼합하여 숙성 발효 시키면서 숙성 특성을 검토하였다. 첨가되는 glucose의 농도가 증가함에 따라 산도의 증가 및 pH의 저하가 빠르게 나타났으며 3% 이상 첨가 처리구의 경우 가자미 식해나 오징어 식해 수준으로 발효가 진행되는 양상을 나타내었으므로 본 실험에 적합한 부분적인 젖산발효를 유도할 수 있는 glucose의 농도는 1%가 적합한 것으로 판단되었다.

나. 조미 발효 멸치젓의 실험실적 제조 및 제조공정도

조미 발효 멸치젓의 기존 제조 공정도는 다음과 같다. 멸치를 3% 식염수로 깨끗이 수세하였고 포화식염수에 염지하여 염함량이 10% 전후로 되게 조정한 후 이를 수분이 완전히 제거 될 때 까지 다공질 용기를 이용하여 탈수하였으며 이물질이 제거된 후 부재료를 첨가하고 온도조건에 따라 숙성발효 시켰다.



다. 조미 발효 멸치젓의 제조시 부재료 배합비

조미 발효 멸치젓 제조시 사용된 기본 부재료는 양념 젓갈의 기본 배합비 및 부재료를 사용하였으며 carbon source로는 glucose를 사용하여 부분적인 젓산발효가 가능하도록 조절하였다.

4. 시제품의 제조 및 품질 특성 분석

가. 저염 발효제품의 제조 및 발효 특성

Brining 방법으로 수분활성을 조절한 멸치육에 부분적인 젓산발효를 유도하기 위하여 glucose를 1% 첨가하였다. Glucose의 첨가는 glucose oxidase에 의해 산화될 경우 2분자의 glucose가 1분자의 O₂를 소비하는 역할을 하므로 젓갈 발효시 혐기상태를 유지하는데 도움을 줄 수 있다. 또한 멸치육의 탄력성 유지 및 이상부패를 방지하기 위하여 alcohol 농도 0.15%에 상당하는 주정을 첨가하여 10℃나 상온에서 숙성시키면서 발효 특성을 조사하였다

(1) pH의 변화

실험 방법에 나타낸 조성에 따라 처리구를 조제하여 10℃에서 숙성 발효 시키는 동안 pH의 변화를 Fig. 20에 나타내었다. Glucose 만을 첨가한 처리구가 가장 낮은 pH를 나타내었으나 각 처리구간에 커다란 차이는 나타나지 않았다. 6주가 경과한 시점에서 4가지 처리구 모두 pH 6.0이상으로 나타났다. Fig. 21은 상온발효시의 pH의 변화를 측정된 결과로서 10℃에서와 같은 경향을 나타내었으나 pH 하락폭이 더욱 크게 나타나 좀 더 많은 분해가 진행되었음을 알 수 있었다. Glucose를 첨가한 처리구는 약간의 젓산발효에 의한 산생성 결과로서 가장 낮은 pH를

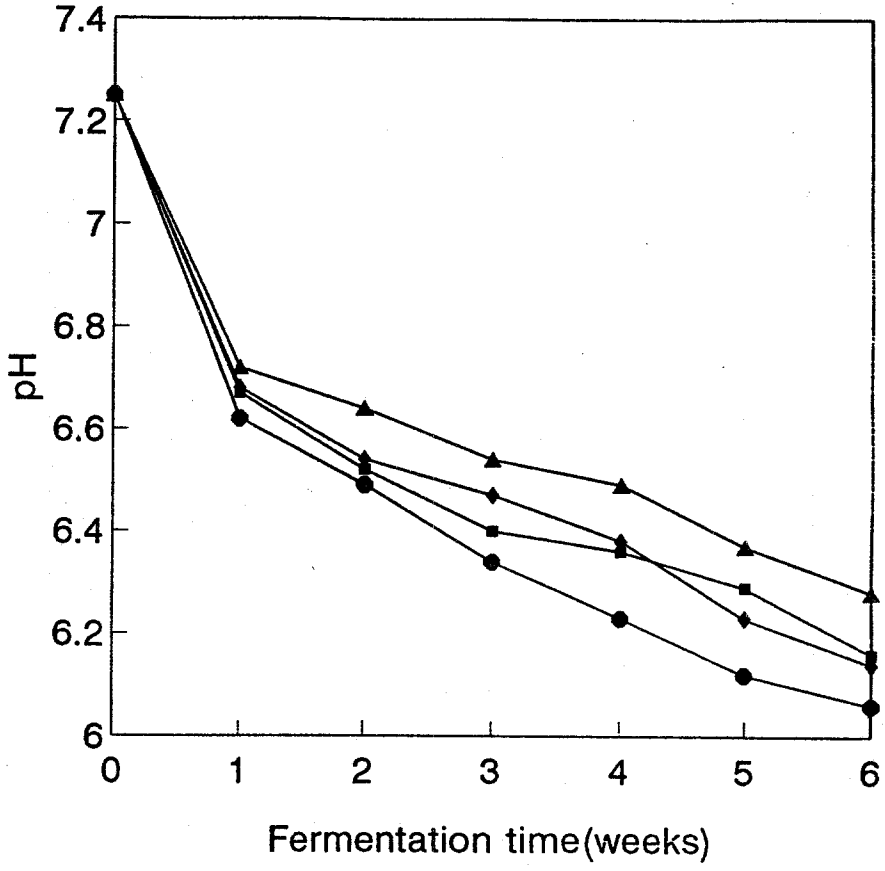


Fig. 20. Changes in pH during fermentation of low salted anchovy with different recipes at 10°C.

■-■: glucose+alcohol ●-●: glucose
 ▲-▲: alcohol ◆-◆: control

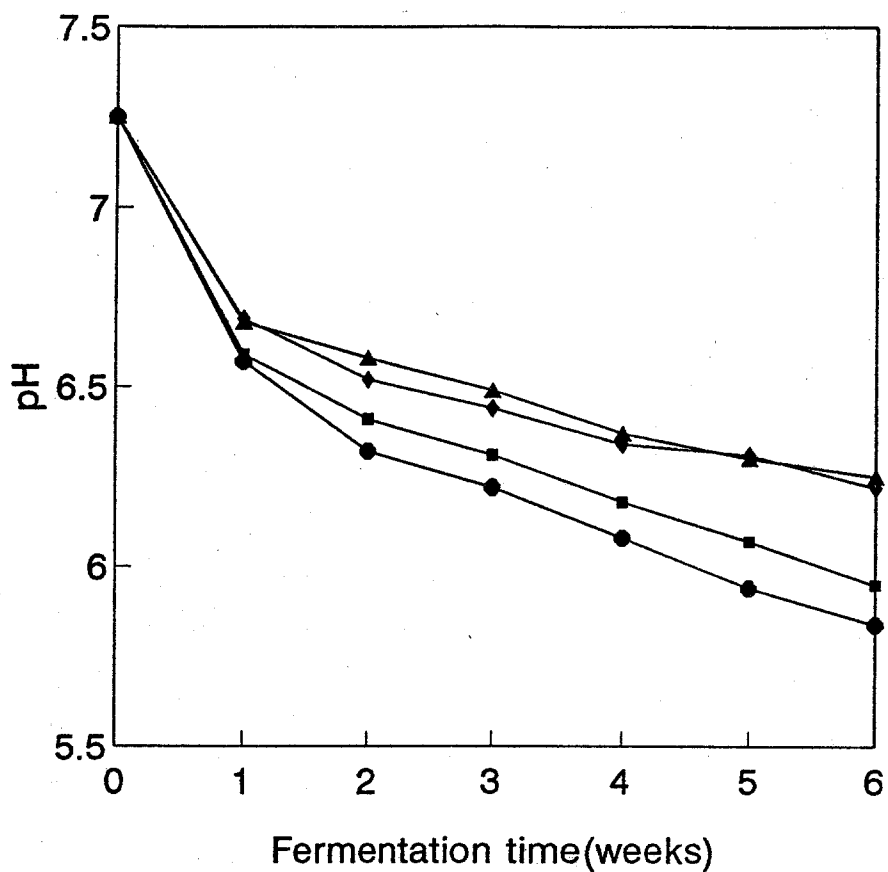


Fig. 21. Changes in pH during fermentation of low salted anchovy with different recipes at ambient temperature.

■-■: glucose+alcohol ●-●: glucose
 ▲-▲: alcohol ◆-◆: control

가지고 있을 것이라고 사료되었으며 alcohol 첨가 처리구는 항미생물 작용과 단백질 분해 억제작용에 의해 가장 소폭으로 pH가 하락하는 경향을 나타낸 것이라고 생각되었다.

(2) 아미노태 질소 함량의 변화

Fig. 22와 Fig. 23은 숙성기간 동안 아미노태질소 함량의 변화를 측정한 결과이다. Glucose를 첨가한 처리구와 alcohol을 첨가한 처리구의 아미노태 질소 함량 상승폭이 가장 작게 나타나 과도한 육분해가 약간은 저해되는 경향을 나타내었으며 대조구로 사용된 무첨가 처리구가 가장 높은 아미노태 질소 함량을 가지고 있었다. 10℃ 저온 발효 보다는 상온 발효가 높은 아미노태질소 함량을 나타내어 역시 온도가 숙성에 커다란 영향을 미침을 알 수 있었다.

(3) 휘발성염기질소의 변화

휘발성염기질소 함량을 측정하여 Fig. 24과 Fig. 25에 나타내었다. 역시 Fig. 25에 나타낸 상온 숙성 처리구가 높은 휘발성염기질소 함량을 나타내었다. Alcohol이나 glucose를 첨가하지 않은 처리구가 가장 높은 휘발성염기질소 함량을 나타내었으며 10℃와 상온에서의 발효 양상은 비슷하였으나 그 증가 속도는 온도가 높을수록 빠르게 나타났다.

(4) 숙성조건에 따른 발효 양상 고찰

온도의 영향을 살펴보면 상온발효 처리구의 경우 4~5주 후에 숙성 적기에 다달았으나 10℃ 처리구의 경우는 숙성기간이 이보다 길어지는 양상을 나타내었다. 이는 단백질 분해에 관여하는 효소의 활성이 10℃의

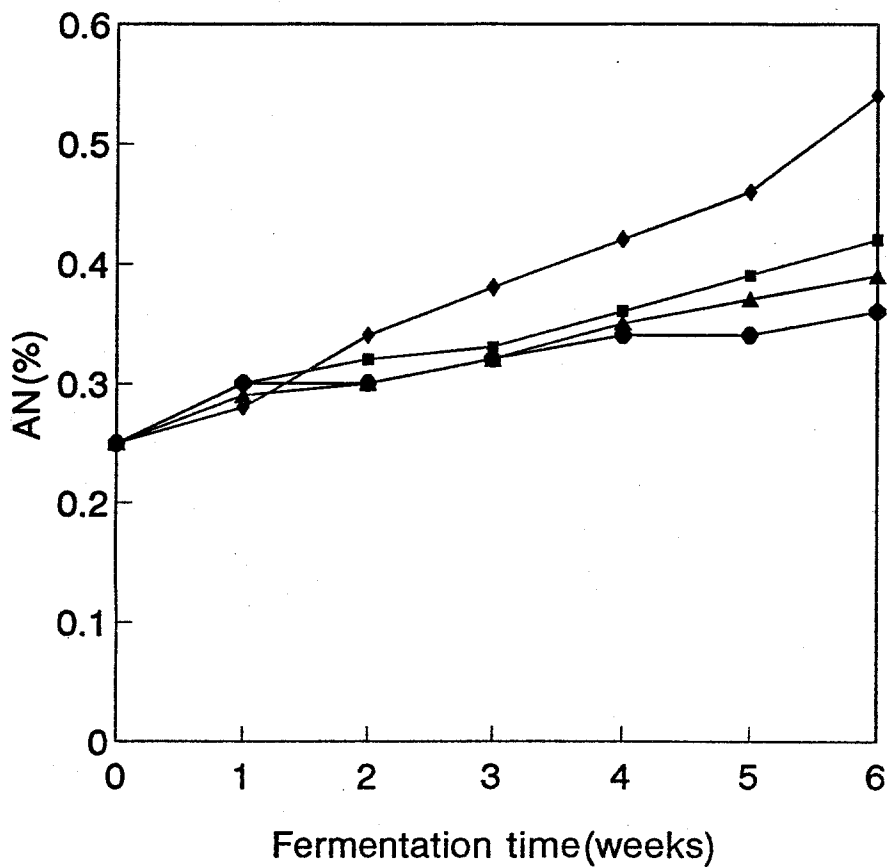


Fig. 22. Changes in amino nitrogen(AN) during fermentation of low salted anchovy with different recipes at 10°C.

■-■: glucose+alcohol ●-●: glucose
 ▲-▲: alcohol ◆-◆: control

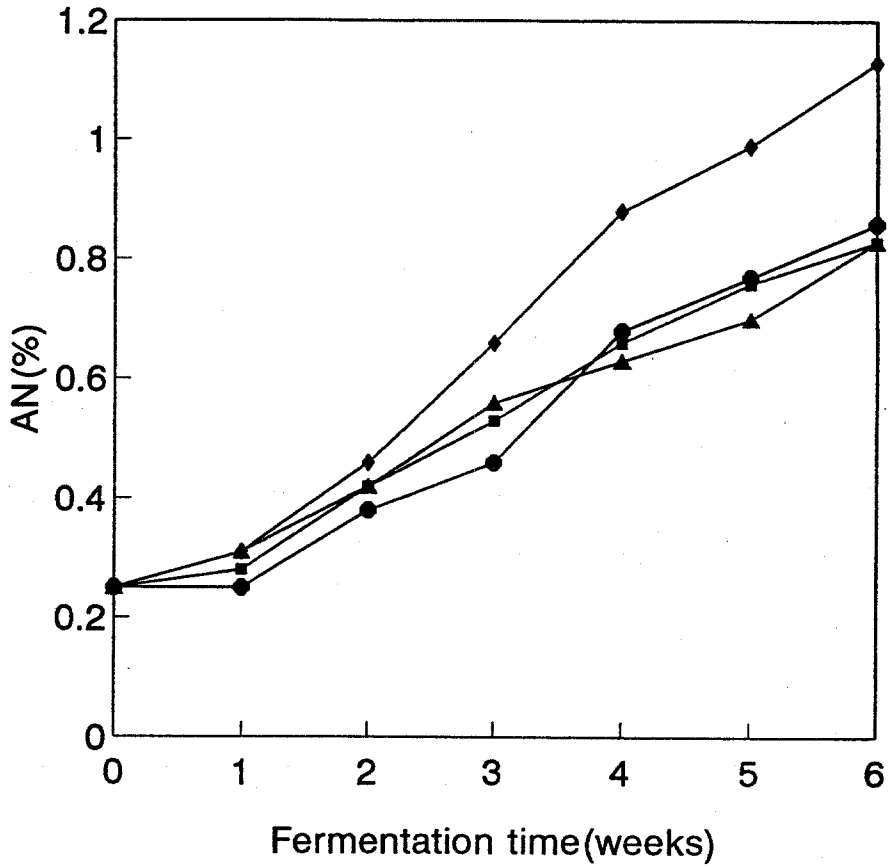


Fig. 23. Changes in amino nitrogen(AN) during fermentation of low salted anchovy with different recipes at ambient temperature.

■-■: glucose+alcohol ●-●: glucose
 ▲-▲: alcohol ◆-◆: control

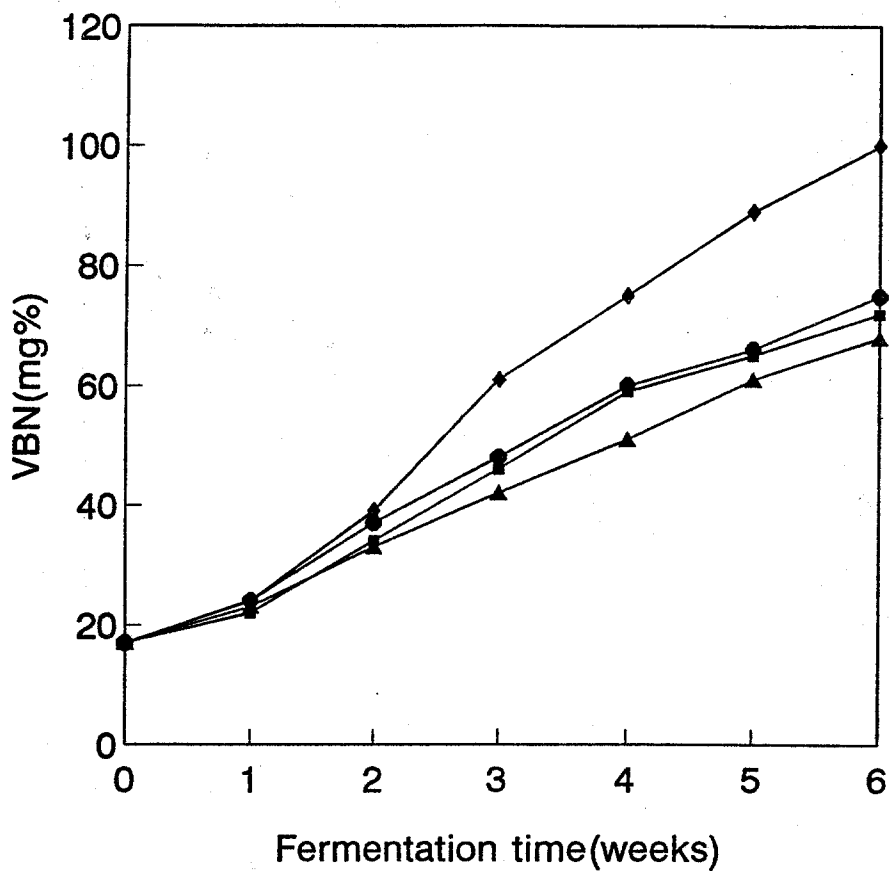


Fig. 24. Changes in volatile basic nitrogen(VBN) content during fermentation of low salted anchovy with different recipes at 10°C.

■-■: glucose+alcohol ●-●: glucose
 ▲-▲: alcohol ◆-◆: control

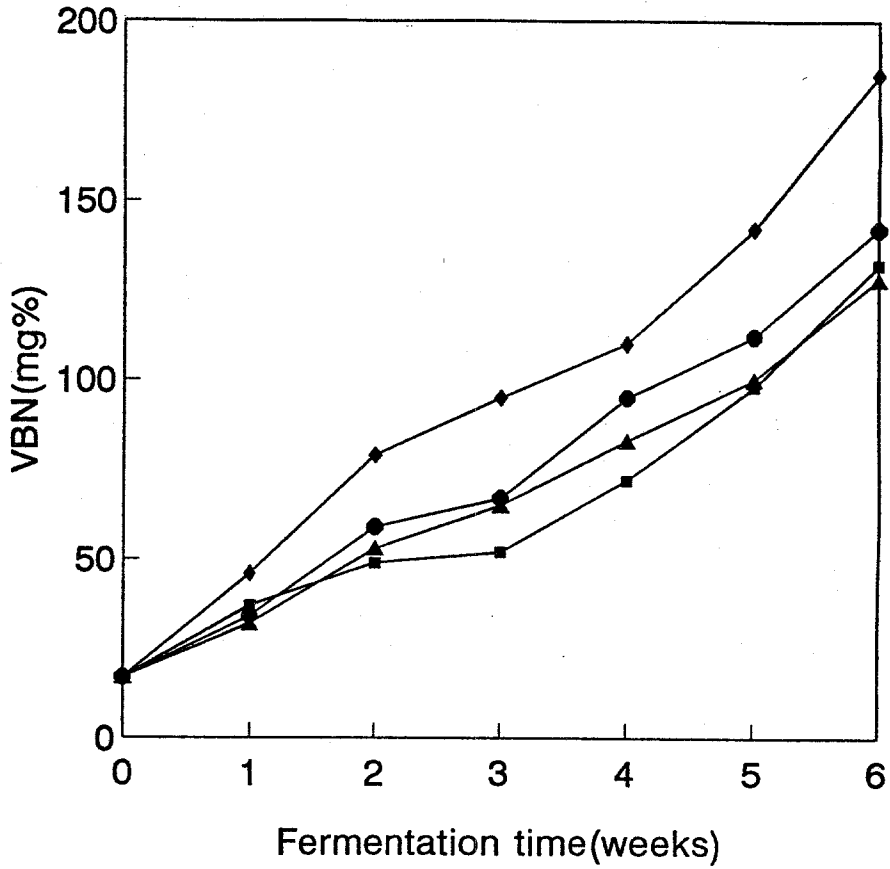


Fig. 25. Changes in volatile basic nitrogen(VBN) content during fermentation of low salted anchovy with different recipes at ambient temperature.

■-■: glucose+alcohol ●-●: glucose
 ▲-▲: alcohol ◆-◆: control

저온보다는 상온에서 높은 활성을 가지기 때문이라고 생각되었다. 상온 발효구의 경우 멸치육의 분해가 비교적 빠르게 진행되어 단기간내에 제품 생산이 가능하였지만 멸치 지방질의 산화도 역시 빠르게 진행되어 표면 산화등에 의한 품질 저하 요인이 될 수 있어 상온에서 숙성하는 것보다는 저온에서 숙성 발효 시키는 것이 안정적인 발효가 진행되는 것으로 생각되었다.

Alcohol을 처리한 처리구의 경우 육질 탄력성이 증진되는 것으로 나타났다으며 또한 숙성기간이 다소 지연되는 경향을 나타내었는데 이는 alcohol의 항균력에 의한 미생물 성장 억제 및 멸치조직의 경도 변화에 의한 단백질 분해효소의 작용억제로 육조직 분해 지연 효과가 있는 것으로 사료되었다. Alcohol은 자연 숙성 과정중에도 소량 생산되어 저장성 등에 영향을 미치는 것으로 보고되는 바 여기에 사용한 alcohol(주정)은 식품 위생적 차원에서 전혀 문제가 되지 않을 것으로 사료되었다.

Glucose를 첨가한 처리구는 부분적인 젖산발효에 의해 pH가 약간 저하되는 경향을 나타내었으나 가자미식해나 오징어식해에서 처럼 급격한 저하는 관찰되지 않았으며 육조직은 저하된 pH에 의해 응고되어 우수한 조직감을 가지는 것으로 판단되었다.

나. 저염 발효제품의 품질 특성

(1) 유리아미노산 함량

멸치젓에 함유된 각종 성분중에서 아미노산은 젓갈 특유의 풍미를 결정하고 젓갈의 식품학적 품질, 즉 영양가와도 관계되기 때문에 매우 중요하다고 할 수 있다. 멸치젓도 타 젓갈과 같이 숙성 발효 과정을 거치면서 육단백질이 분해되는 과정을 거치기 때문에 유리아미노산 함량이

증가되게 된다. 숙성조건에 따라 유리아미노산의 생성패턴은 달라질 수 있으나 2~3개월 숙성한 멸치젓의 총 유리아미노산은 원료 멸치보다 대략 2~2.3배 정도 증가한다. 숙성된 멸치젓의 주요 유리아미노산으로는 leucine, isoleucine, phenylalanine, tyrosine, glutamic acid, alanine 등으로 풍미 성분 또는 필수아미노산으로서의 가치가 높은 아미노산들의 함량이 높아 멸치젓의 식품학적 가치를 높혀준다고 한다.

각 처리구별로 조제된 저염 젓갈을 숙성발효 시켜 숙성 적기에 다달았을때의 유리아미노산 함량을 측정하여 Table 21에 나타내었다. 모든 처리구에서 발효가 진행되었기 때문에 원료보다 많은 양의 아미노산이 검출되었다. 한편, 시판품을 수거하여 분석한 처리구의 경우 유리 아미노산 함량이 원료나 본 실험 처리구에 비해 월등하게 높은 수치를 나타내어 숙성이 과도하게 진행되었음을 알 수 있었으며 육안으로 관찰하였을 때에도 육질이 거의 분해된 상태였다. 여러 가지 아미노산 중 발효물의 맛과 관련이 있을 것이라고 생각되는 glutamic acid는 본 실험 처리구의 경우 800~1,000mg%의 범위에서 검출되어 원료의 278mg% 보다 3배 이상 생성되었으나 histidine은 오히려 감소하는 경향을 보였는데 이는 숙성관련 미생물의 성장에 의한 histidinedecarboxylase 분비로 histidine이 유리 histidine 등으로 분해되었을 가능성이 추정되었다.

Table 21. Changes in free amino acid composition of the low salted anchovy at optimum ripening point at 10°C
(unit : mg%)

| Amino acid | Raw material | A | B | C | D | M ¹⁾ |
|------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-----------------|
| Asp | 212.6 | 700.3 | 687.0 | 638.7 | 623.6 | 263.7 |
| Glu | 278.7 | 939.1 | 865.7 | 872.9 | 819.8 | 1748.9 |
| Ser | 111.0 | 407.7 | 380.1 | 380.9 | 327.3 | 672.7 |
| Gly | 185.9 | 299.1 | 264.6 | 293.1 | 248.9 | 640.7 |
| His | 1636.2 | 638.4 | 590.9 | 604.0 | 498.3 | 1056.5 |
| Arg | 165.9 | 475.4 | 539.9 | 524.4 | 429.4 | 947.4 |
| Thr | 142.9 | 428.9 | 419.0 | 396.9 | 355.8 | 959.4 |
| Ala | 342.3 | 808.7 | 740.8 | 702.8 | 731.3 | 1255.7 |
| Pro | 108.1 | 153.7 | 131.8 | 138.7 | 133.9 | 318.9 |
| Tyr | 171.0 | 429.2 | 424.7 | 461.1 | 356.6 | 498.4 |
| Val | 167.7 | 547.7 | 513.4 | 489.6 | 484.7 | 1018.3 |
| Met | 115.1 | 481.8 | 392.5 | 295.7 | 382.2 | 543.3 |
| Cys | 16.0 | 27.4 | 52.3 | 52.3 | 40.3 | 36.2 |
| Ile | 34.6 | 412.8 | 366.9 | 343.4 | 353.3 | 982.3 |
| Leu | 219.2 | 929.5 | 833.5 | 784.5 | 777.2 | 1700.8 |
| Phe | 94.7 | 426.3 | 377.6 | 344.4 | 343.3 | 713.6 |
| Lys | 195.3 | 245.9 | 212.5 | 193.9 | 202.8 | 286.8 |

1) Market product

A: Glucose+Alcohol

B: Glucose

C: Alcohol

D: No addition

Table 22. Changes in free amino acid composition of the low salted anchovy at optimum ripening point at ambient temperature. (unit : mg%)

| Amino acid | Raw material | A | B | C | D | Market |
|------------|--------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Asp | 212.6 | 1933.7 | 1420.9 | 1461.3 | 1081.1 | 263.7 |
| Glu | 278.7 | 2803.0 | 2180.7 | 2146.7 | 2334.0 | 1748.9 |
| Ser | 111.0 | 1037.4 | 782.2 | 777.2 | 407.5 | 672.7 |
| Gly | 185.9 | 791.4 | 564.2 | 616.7 | 670.5 | 640.7 |
| His | 1636.2 | 1110.2 | 856.5 | 894.7 | 817.9 | 1056.5 |
| Arg | 165.9 | 574.7 | 584.9 | 397.2 | 361.9 | 947.4 |
| Thr | 142.9 | 1117.0 | 834.0 | 845.6 | 544.4 | 959.4 |
| Ala | 342.3 | 1915.7 | 1400.9 | 1482.7 | 2099.6 | 1255.7 |
| Pro | 108.1 | 381.5 | 285.6 | 297.3 | 323.6 | 318.9 |
| Tyr | 171.0 | 904.6 | 678.9 | 707.4 | 725.5 | 498.4 |
| Val | 167.7 | 1311.7 | 962.7 | 1006.5 | 526.4 | 1018.3 |
| Met | 115.1 | 819.7 | 575.4 | 626.6 | 844.8 | 543.3 |
| Cys | 16.0 | 76.1 | 81.9 | 50.8 | 41.9 | 36.2 |
| Ile | 34.6 | 1151.3 | 812.5 | 893.2 | 1004.5 | 982.3 |
| Leu | 219.2 | 2241.5 | 1678.2 | 1738.9 | 1918.7 | 1700.8 |
| Phe | 94.7 | 893.0 | 620.5 | 680.2 | 717.8 | 713.6 |
| Lys | 195.3 | 363.7 | 276.9 | 322.7 | 536.9 | 286.8 |

A: Glucose+Alcohol

B: Glucose

C: Alcohol

D: No addition

Table 22은 상온 발효 처리구의 유리아미노산 함량을 측정한 결과로서 10℃의 경우보다 일반적으로 그 함량이 증가하였음을 알 수 있었으며 이는 단백질 분해가 더욱 더 진행되어 더 많은 아미노산으로 분해되었기 때문이라고 생각되었다.

(2) 비휘발성 유기산 함량의 변화

Table 23은 처리구를 10℃에서 숙성 발효시켜 숙성 적기에 다달았을 때 비휘발성 유기산 함량을 분석한 결과이다. Glucose를 첨가한 처리구가 lactic acid 함량이 가장 높게 나타났으며 glucose와 alcohol을 첨가한 처리구도 그 함량이 높게 나타나 첨가한 glucose에 의한 부분적인 젖산 발효가 일어났음을 알 수 있었다.

Table 23. Changes in non-volatile organic acid contents during fermentation of anchovy at 10℃ (unit : mg%)

| Organic acid | Raw | A | B | C | D | Market |
|-----------------------------|------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Lactic acid | 78.5 | 159.4 | 178.5 | 102.6 | 112.7 | 128.1 |
| Pyroglutamic acid | 4.9 | 4.5 | 1.6 | 1.5 | 5.6 | 5.8 |
| α -ketoglutaric acid | 8.9 | 3.3 | 1.9 | 2.1 | 5.7 | 4.2 |

A: Glucose+Alcohol

B: Glucose

C: Alcohol

D: No addition

Table 24는 상온에서 숙성 발효시켜 숙성적기에 다달은 저염 멸치 젓의 유기산 함량을 분석한 결과이다. 10℃에서 숙성 발효시킨 처리구와 역시 비슷한 양상을 나타내었으나 검출되는 유기산 함량이 높게 나타나 숙성이 더욱 더 진행되었음을 알 수 있었다. Alcohol 만을 첨가한 처리구의 경우 137.1 mg%의 lactic acid 함량을, 4.6 mg%의 pyroglutamic acid 함량을 나타내었으며 glucose 만을 첨가한 처리구의 경우 212.5 mg%의 lactic acid 함량을, 3.7 mg%의 pyroglutamic acid 함량을 나타내어 glucose는 숙성 촉진을, alcohol은 숙성저해를 하는 것으로 생각되었다.

Table 24. Changes in non-volatile organic acid contents during fermentation of anchovy at ambient temperature. (unit : mg%)

| Organic acid | Raw | A | B | C | D | Market |
|-----------------------------|------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Lactic acid | 78.5 | 186.2 | 212.5 | 137.1 | 162.3 | 128.1 |
| Pyroglutamic acid | 4.9 | 7.2 | 3.7 | 4.6 | 4.4 | 5.8 |
| α -ketoglutaric acid | 8.9 | 5.3 | 3.3 | 3.9 | 5.3 | 4.2 |

A: Glucose+Alcohol

B: Glucose

C: Alcohol

D: No addition

(3) 핵산관련 물질 함량의 변화

젓갈류의 맛과 관련된 성분으로서 유리아미노산, 유기산 등과 함께

정미성 핵산 관련 물질은 주요한 성분으로 인식되고 있다. 일반적으로 멸치젓의 정미성분에 관한 연구로는 원료 멸치중에 다량으로 함유되어 있는 정미성 inosine monophosphate(IMP)가 2개월간 숙성한 멸치젓에는 원료의 1/10 수준으로 감소하였으며 ATP는 거의 소실되었으나 hypoxanthine은 다량 축적된다는 보고도 있다.

10℃와 상온에서 숙성 발효시킨 처리구의 핵산관련 물질 함량을 측정하여 Table 25에 나타내었다. 원료 멸치의 경우 inosine, hypoxanthine, IMP 등을 함유하고 있었으며 AMP도 검출되었으나 ADP, ATP는 검출되지 않아 원료 멸치의 선도가 극히 우수하지 않음을 추정할 수 있었다. 10℃에서 발효시켰을 경우나 상온(Table 26)에서 숙성발효 시켰을 경우 모두 inosine 만 검출되어 핵산 관련 물질의 분해가 상당히 진행되었음을 알 수 있었다.

Table 25. Changes in nucleotide and their related compounds during fermentation of anchovy at 10℃. (unit : mg%)

| Nucleotide | Raw | A | B | C | D | Market |
|--------------|------|------|------|------|------|--------|
| Inosine | 19.4 | 24.6 | 18.7 | 17.2 | 21.3 | 24.7 |
| Hypoxanthine | 44.4 | - | - | - | - | - |
| IMP | 70.0 | - | - | - | - | - |
| AMP | 37.3 | - | - | - | - | - |

A: Glucose+Alcohol

B: Glucose

C: Alcohol

D: No addition

Table 26. Changes in nucleotide and their related compounds during fermentation of anchovy at ambient temperature. (unit : mg%)

| Nucleotide | Raw | A | B | C | D | Market |
|--------------|------|------|------|------|------|--------|
| Inosine | 19.4 | 43.2 | 34.3 | 30.3 | 25.4 | 24.7 |
| Hypoxanthine | 44.4 | - | - | - | - | - |
| IMP | 70.0 | - | - | - | - | - |
| AMP | 37.3 | - | - | - | - | - |

Table 27은 10℃에서 숙성발효 시켜 숙성적기에 달한 처리구의 관능 검사 결과이다. Glucose와 alcohol을 첨가하여 제조한 처리구가 향미나 색택 및 전체적 기호도에서 가장 높은 평점을 나타내었을 뿐 아니라 발효기간 동안 안정된 발효특성을 나타내었으며 숙성후에도 우수한 풍미를 나타내어 최적 발효 조건으로 선정되었다.

Table 27. Sensory evaluation of low-salted anchovy fermented with 15% NaCl concentrations at 10°C

| Treatment | Flavor | Color | Overall quality |
|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| A | 4.04 ^a | 4.13 ^a | 4.09 ^a |
| B | 3.95 ^a | 4.18 ^a | 4.00 ^a |
| C | 3.84 ^a | 4.06 ^{a,b} | 3.95 ^a |
| D | 3.43 ^b | 3.87 ^b | 3.64 ^b |
| LSD ¹⁾ | 0.28 | 0.31 | 0.29 |

1) Least significant difference

A: Glucose+Alcohol

B: Glucose

C: Alcohol

D: No addition

다. 조미 발효제품의 제조 및 품질 특성 구명

적정 염지 방법 확립 및 고춧가루 등 부재료의 적정 혼합시기를 결정하기 위하여 Table 9에 나타낸 바와 같이 처리구를 조제한 후 pH, 아미노태질소 함량 등의 이화학적 분석 실험을 실시하였다.

(1) pH의 변화

조미 발효젓갈을 제조하여 10°C에서 숙성시키면서 pH 변화를 측정하여 Fig. 26에 나타내었다. 처음부터 부재료를 혼합하여 제조한 조미젓

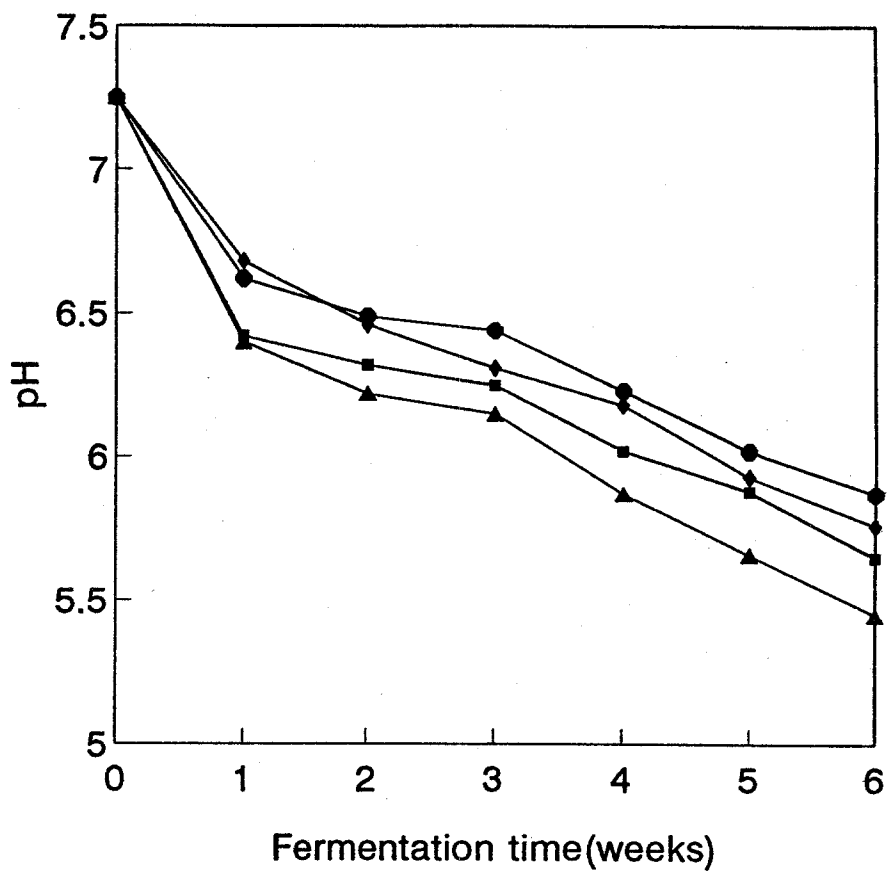


Fig. 26. Changes in pH during fermentation of seasoned and fermented anchovy at 10°C.

- : seasoned and fermented after brining
- : seasoned and fermented 2 weeks after brining
- ▲-▲: seasoned and fermented after dry salting
- ◆-◆: seasoned and fermented after dry salting

같은 pH 하락이 가속성후 부재료를 첨가하여 제조한 조미젓갈 보다 빠르게 일어나 숙성초기부터 첨가된 부재료에 존재하는 당류에 의한 부분적인 젓산 발효가 진행되었음을 알 수 있었다. 또한 건염처리구보다는 brining한 처리구의 pH 저하 속도가 느리게 나타나 안정된 발효가 진행됨을 알 수 있었다.

(2) 아미노태 질소 함량의 변화

실험방법에 제시된 방법에 따라 제조된 조미발효젓갈을 10℃에서 숙성 발효시키면서 아미노태 질소 함량을 측정하여 Fig. 27에 나타내었다. 4가지 처리구 모두 비슷하게 아미노태 질소 함량이 증가하는 경향을 나타내었으며 각 처리구간의 유의한 차이는 나타나지 않았다.

(3) 휘발성 염기 질소 함량의 변화

각각의 방법에 따라 제조된 조미 젓갈을 10℃ 정온 조건에서 숙성 발효시키면서 휘발성 염기 질소 함량을 측정하여 Fig. 28에 나타내었다. 아미노태 질소 함량과 비슷하게 서로간의 커다란 차이는 발견되지 않았는데 이는 아마도 부재료 첨가량이 동일하므로 비슷한 기작으로 숙성 발효가 진행되었기 때문이라고 사료되었다.

(4) 산도의 변화

Fig. 29는 조미발효 젓갈을 10℃에서 숙성 발효시키면서 산도의 변화를 측정한 결과이다. 4가지 처리구 모두 6주 경과후에 0.4~0.5% 수준으로 산도가 증가하였으므로 부분적인 젓산 발효가 일어남을 알 수 있었다. 여기에 측정된 산도는 Table 24에 제시한 유기산 분석중 lactic acid

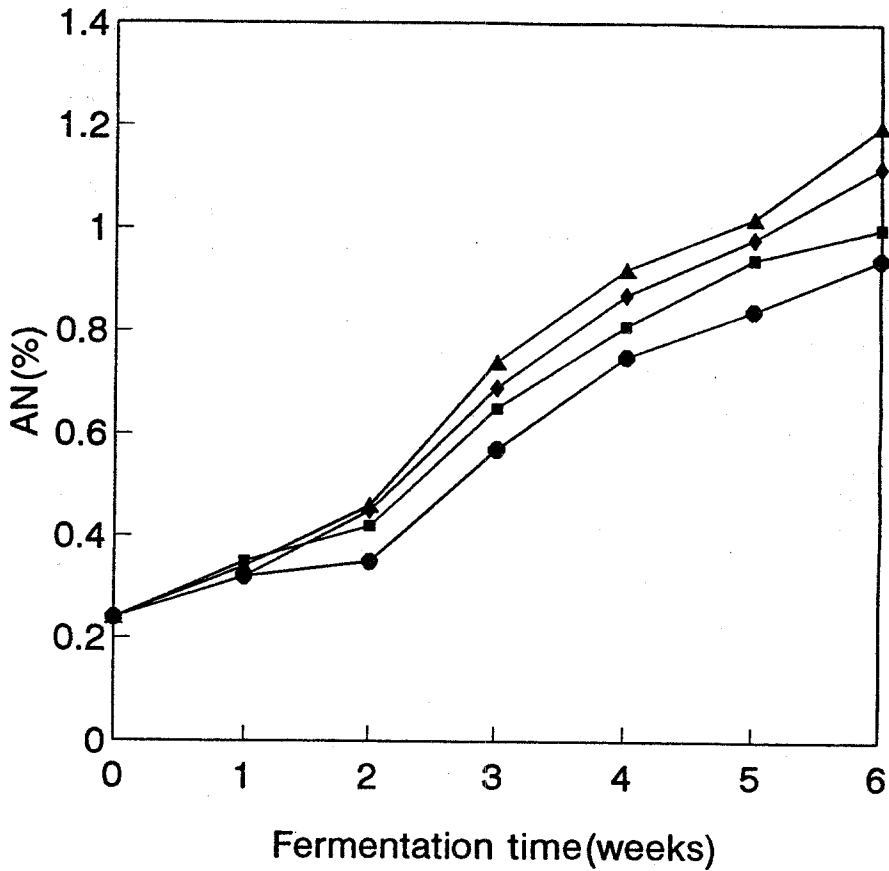


Fig. 27. Changes in amino nitrogen(AN) during fermentation of seasoned and fermented anchovy at 10°C.

- : seasoned and fermented after brining
- : seasoned and fermented 2 weeks after brining
- ▲-▲: seasoned and fermented after dry salting
- ◆-◆: seasoned and fermented after dry salting

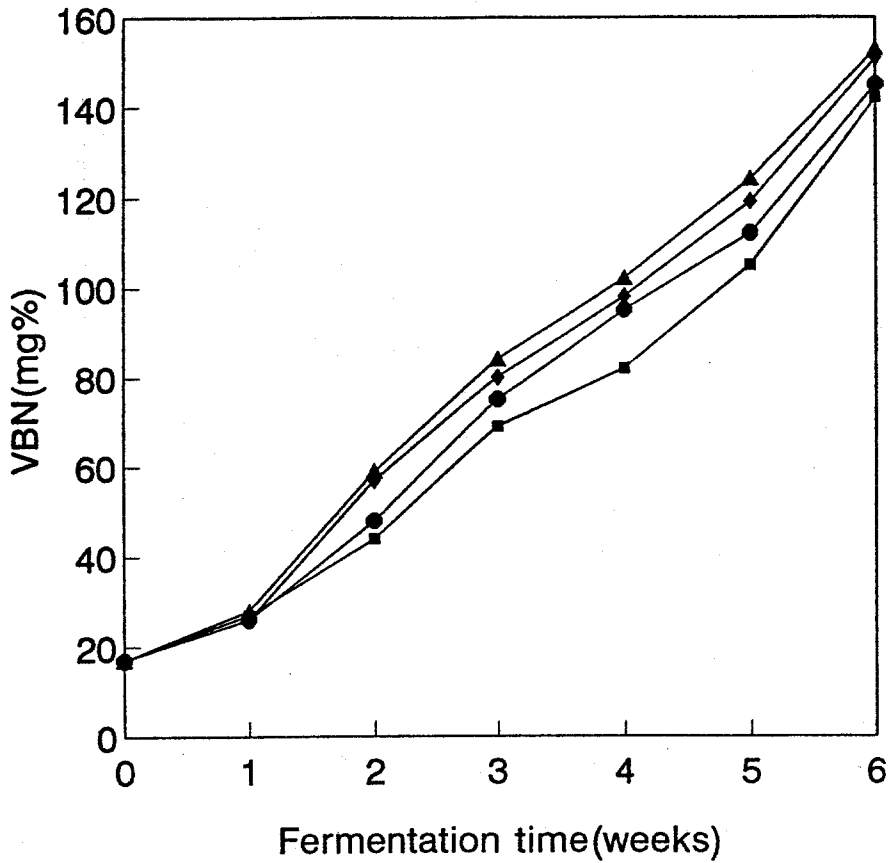


Fig. 28. Changes in volatile basic nitrogen(VBN) content during fermentation of seasoned and fermented anchovy at 10°C.

- : seasoned and fermented after brining
- : seasoned and fermented 2 weeks after brining
- ▲-▲: seasoned and fermented after dry salting
- ◆-◆: seasoned and fermented after dry salting

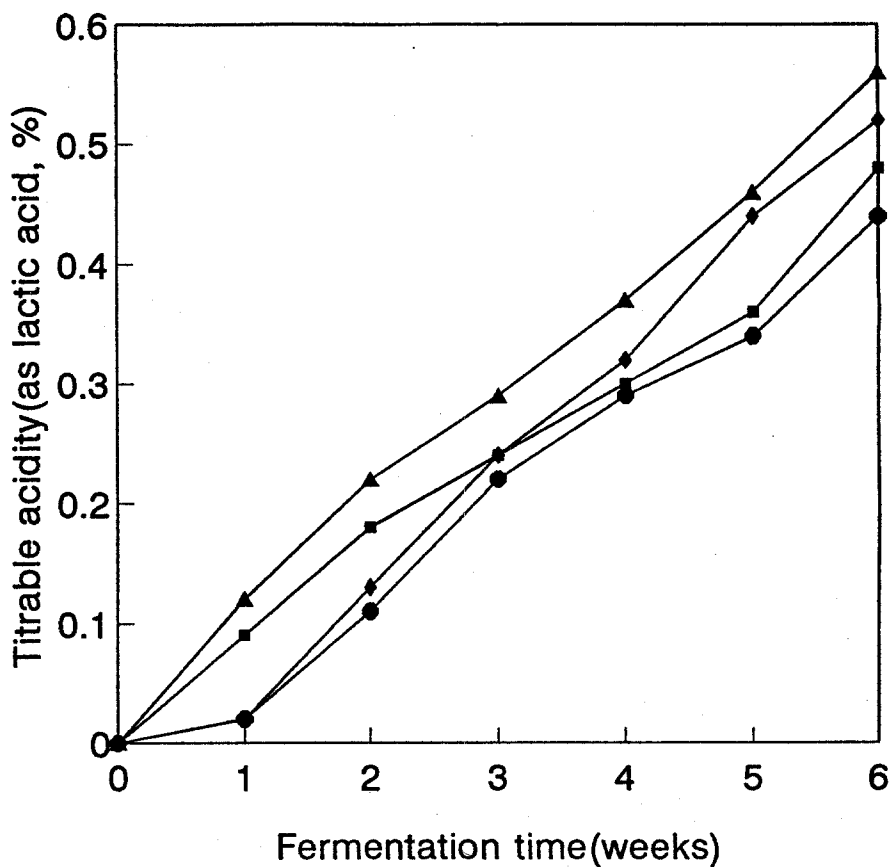


Fig. 29. Changes in titrable acidity during fermentation of seasoned and fermented anchovy at 10°C.

- : seasoned and fermented after brining
- : seasoned and fermented 2 weeks after brining
- ▲-▲: seasoned and fermented after dry salting
- ◆-◆: seasoned and fermented after dry salting

가 0.2~0.3% 정도 존재하는 것으로 나타나 산도에 비하여 낮은 값을 나타냈지만 산도는 lactic acid 이외에도 여러 유기산이나 공존하는 산성물질들의 작용결과이기 때문에 유기산 함량보다 높게 검출된 것으로 생각되었다.

(5) 숙성조건에 따른 발효 양상 고찰

Brining한 처리구가 건염을 처리한 처리구 보다 느린 pH 하강 속도와 산도 증가 속도를 보여 brining이 조미젓갈 발효를 약간 지연하는 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 부재료의 첨가 시기에 따라 초기에 부재료를 첨가한 처리구의 경우 고춧가루 변색이 가속성 후 부재료를 첨가하여 조제한 처리구보다 심하게 진행되는 것으로 나타났다. 따라서 가속성이나 완전숙성후 부재료를 혼합하는 것이 관능적으로 우수하며 고춧가루 변색의 진행속도도 매우 완만하게 진행되어 외관도 좋았으며 color value도 이와같은 결과를 나타내었다.

라. 조미발효 제품의 품질 특성

(1) 유리아미노산 함량의 변화

Table 28은 조미발효 젓갈을 제조하여 10℃에서 숙성발효 시켜 숙성 적기인 4주가 경과된 후 아미노산 함량을 측정된 결과이다. 모든 처리구의 아미노산 함량이 저염 젓갈에 비해 높게 나타나 보다 많은 단백질 분해가 이루어 졌음을 알 수 있었다. 젓갈의 맛 성분에서 중요한 역할을 담당하고 있는 glutamic acid의 경우 1,500mg% 정도 검출되어 많은 양이 생성되었음을 알 수 있었으며 시판품의 경우 3,196mg% 정도 검출되어 MSG를 첨가하여 제조하였음을 알 수 있었다.

Table 28. Changes in free amino acid composition of seasoned and fermented anchovy at optimum ripening point at 10°C
(unit : mg%)

| Amino acid | Raw material | A | B | C | D | Market |
|------------|--------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Asp | 212.6 | 1336.9 | 1420.9 | 760.3 | 1234.5 | 597.7 |
| Glu | 278.7 | 1590.6 | 2180.7 | 1458.7 | 1582.8 | 3196.0 |
| Ser | 111.0 | 606.8 | 782.2 | 347.7 | 619.9 | 345.4 |
| Gly | 185.9 | 580.9 | 564.2 | 277.8 | 436.7 | 935.5 |
| His | 1636.2 | 953.4 | 856.5 | 500.5 | 705.3 | 147.9 |
| Arg | 165.9 | 930.4 | 584.9 | 476.7 | 493.2 | 242.9 |
| Thr | 142.9 | 696.5 | 834.0 | 360.4 | 666.5 | 1369.1 |
| Ala | 342.3 | 1183.7 | 1400.9 | 755.5 | 1222.8 | 3030.9 |
| Pro | 108.1 | 352.3 | 285.6 | 311.9 | 382.4 | 713.1 |
| Tyr | 171.0 | 443.0 | 678.9 | 377.8 | 531.1 | 1129.4 |
| Val | 167.7 | 868.0 | 962.7 | 488.3 | 521.5 | 1537.9 |
| Met | 115.1 | 520.3 | 575.4 | 281.8 | 493.5 | 769.1 |
| Cys | 16.0 | 38.3 | 81.9 | 48.3 | 55.1 | 95.1 |
| Ile | 34.6 | 692.4 | 812.5 | 393.5 | 706.5 | 1576.0 |
| Leu | 219.2 | 2241.5 | 1383.4 | 733.8 | 1357.9 | 2446.7 |
| Phe | 94.7 | 893.0 | 610.9 | 364.7 | 561.7 | 1013.3 |
| Lys | 195.3 | 363.7 | 260.0 | 229.8 | 253.6 | 1175.0 |

A: seasoned and fermented after brining

B: seasoned and fermented 2 weeks after brining

C: seasoned and fermented after dry salting

D: seasoned and fermented 2 weeks after brining

(2) 비휘발성 유기산 함량의 변화

Table 29는 조미발효 젓갈을 제조하여 10℃에서 4주간 숙성 발효 시킨 후 비휘발성 유기산 함량을 측정한 결과이다. 4가지 처리구 모두 lactic acid 함량이 200mg% 이상으로 나타나 부분적인 젓산발효가 일어났음을 알 수 있었다. 시판 젓갈의 경우 lactic acid 함량이 낮게 나타나 조미발효 젓갈 이라기 보다는 발효가 불충분한 단순 조미젓갈 특성이 상대적으로 강함을 알 수 있었다.

Table 29. Changes in non-volatile organic acid contents during fermentation of seasoned and fermented anchovy at 10℃

(unit : mg%)

| Organic acid | Raw | A | B | C | D | Market |
|-----------------------------|------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Lactic acid | 78.5 | 244.8 | 281.9 | 263.7 | 203.7 | 112.3 |
| Pyroglutamic acid | 4.9 | 4.3 | 4.5 | 6.0 | 7.3 | 5.8 |
| α -ketoglutaric acid | 8.9 | 3.1 | 1.7 | 4.2 | 3.0 | 4.2 |

A: seasoned and fermented after brining

B: seasoned and fermented 2 weeks after brining

C: seasoned and fermented after dry salting

D: seasoned and fermented 2 weeks after brining

(3) 핵산 관련 물질 함량의 변화

Table 30은 조미 발효 젓갈을 4주간 숙성한 후 핵산 관련 물질 함량을 측정된 결과이다. 4가지 처리구 모두 inosine만 검출되는 정도로 많은 분해가 진행되었음을 알 수 있었다. 검출되는 inosine 함량도 저염젓갈에 비해 낮게 나타나 저염젓갈 보다는 더욱 더 숙성이 많이 진행된 것으로 사료되었는데 이는 조미발효 젓갈의 경우 염농도가 10%로 염도가 낮고 부재료 혼합으로 숙성이 촉진된 결과로 생각되었다.

Table 30. Changes in nucleotide and their related compound contents during fermentation of anchovy at 10°C. (unit : mg%)

| Nucleotide | Raw | A | B | C | D | Market |
|--------------|------|------|-----|------|------|--------|
| Inosine | 19.4 | 11.0 | 7.3 | 12.9 | 11.4 | 17.3 |
| Hypoxanthine | 44.4 | - | - | - | - | 1.2 |
| IMP | 70.0 | - | - | - | - | - |
| AMP | 37.3 | - | - | - | - | - |

A: seasoned and fermented after brining

B: seasoned and fermented 2 weeks after brining

C: seasoned and fermented after dry salting

D: seasoned and fermented 2 weeks after brining

5. 시제품의 저장성 시험

가. 저염 멸치젓 제품의 저장성 시험

숙성 적기에 다달은 저염 멸치젓을 다시 손질하여 이물을 제거한 후 액젓, 올리브유, 고추씨 기름에 침지, 포장하여 저장 특성을 살펴보았다. 액을 완전히 분리하여 포장한 처리구의 경우 산소와의 접촉에 의한 지질 산화가 일어나 약간의 변색이 발생하였으나 3개월 이상 비교적 안정한 성상을 유지하였다. 액젓에 담구어둔 처리구의 경우 지질 산화에 의한 변색이 발생하지 않았으며 우수한 풍미를 간직하였으나 계속적인 육조직의 분해가 일어나 조직 연화현상이 관찰되었다. 올리브유나 고추씨 기름에 침지하여 저장한 처리구의 경우 육조직의 과도한 분해가 억제되어 우수한 외관을 가졌으며 풍미도 장기간 유지되는 특성을 나타내었다. 결론적으로 기름에 침지하여 보관한 처리구가 가장 안정한 저장성을 나타내었다(Table 31).

Table 31. Sensory evaluation of seasoned and fermented anchovy during storage for 3 months at 4°C

| Packing media | Flavor | Color | Overall quality |
|---------------|--------|-------|-----------------|
| Control | 4.21* | 3.54 | 3.74 |
| Vegetable oil | 3.89 | 4.15 | 4.08 |

* Mean value of sensory score

나. 조미발효 멸치젓 제품의 저장성 시험

조미발효 멸치젓은 부재료 기본 배합비에 저장성을 연장할 목적으로 sorbitol을 4% 첨가하여 제조하였다. 숙성 적기에 다달은 처리구를 손질, 소분하여 저장성 시험 처리구로 설정하였다. 조미 발효 멸치젓은 저염젓갈에 비해 비교적 저장성이 짧게 나타나 숙성적기 이후 10℃ 이하 온도에서의 보관이 요구되었으며 그 온도 조건에서 3~4주 정도의 저장성을 나타내었으며 그 이후는 다량 생성된 젖산에 의해 식해와 비슷한 향미를 나타내었다(Table 32). 이는 저염 젓갈에 비해 낮은 염도를 가지고 있으며 고춧가루, 마늘, 생강 등의 부재료에 있는 당이 젖산균에 의해 이용되어 젖산발효가 계속적으로 진행되고 있음을 알 수 있었다.

Table 32. Sensory evaluation of seasoned and fermented anchovy during storage for 4 week at ℃

| Storage time (week) | Flavor | Color | Overall quality |
|------------------------|--------|-------|-----------------|
| 1 | 4.35* | 4.15 | 4.26 |
| 2 | 4.11 | 3.84 | 3.97 |
| 3 | 3.68 | 3.12 | 3.46 |
| 4 | 3.24 | 2.55 | 2.89 |
| 5 | 2.47 | 2.36 | 2.38 |

* Mean value of sensory score

제 2 절. 저염 새우젓 개발 및 새우젓 소스제품 개발

1. 저염 발효를 위한 최적 염지 조건 확립 시험

염농도 5%(w/v), 10%, 20%의 식염수와 포화식염수를 사용하는 액염지법(brining)과 건염지(dry salting)법을 이용하여 산업적으로 적용하기 쉬운 온도인 15°C 조건에서 적정 염지 조건 설정 시험을 실시하였다 (Fig. 30). 식염수의 농도가 증가할수록 새우육에 소금이 침투하는 속도가 빠르게 나타났으며 침투량도 증가하였다. 포화식염수의 경우 염지 10시간 후에 15% 염도를 나타내었으며 그 이후로도 염농도가 서서히 증가하였다. 20% 염수는 최대로 13% 까지 염농도가 증가하였으며 dry salting의 경우 10% 정도의 염도를 나타내었다. Dry salting에 비하여 포화식염수를 이용하여 염지할 때 빠르게 염이 침투하므로 새우내장에 존재하는 강력한 단백질 분해 효소의 불활성화를 위해서는 brining 하는 것이 효과적임을 알 수 있었다. 따라서 저염 새우젓 생산을 위한 적정 염지 방법은 포화식염수에서 10시간 정도 brining하여 수분활성을 조절하는 것이 이상발효 억제 등의 측면에서 우수함을 알 수 있었다.

2. 온도 및 염도에 따른 새우젓의 발효 특성

포화식염수를 이용하여 생새우를 brining 처리하여 새우어체의 염농도를 10%, 15%, 포화농도로 조정한 후 -20, 0, 10, 20°C 및 상온조건에서 숙성 시키면서 온도 및 염농도에 따른 새우젓의 숙성 특성을 분석하였다 (Table 33).

상온 및 20°C 처리구는 염농도에 관계 없이 모두 약 80일 경에 부패에 도달하였으며 10°C 처리구는 150일이 경과한 후에 부패에 달하였다. 0°C 처리구는 염도 10% 처리구의 경우 발효 110일 후에 부패에 달하였

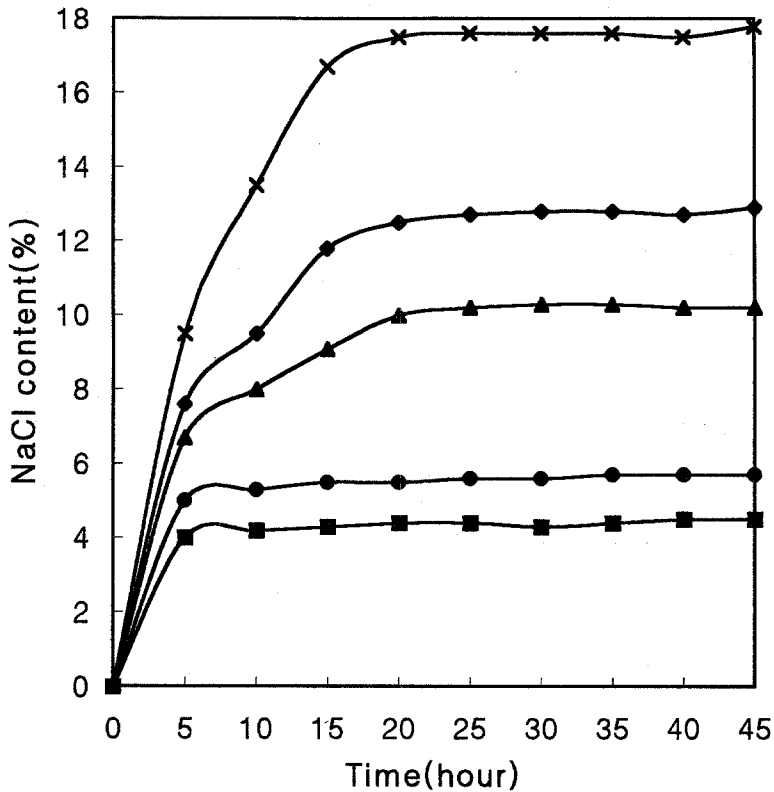


Fig. 30. Changes in NaCl concentration of shrimp muscle during brining. Shrimp muscle was immersed in brine adjusted to various salt concentration and salt content was analysed by Mohr method. The brine was 5% NaCl solution(■-■), 10%(●-●), 20%(▲-▲), saturated solution(◆-◆) and dry salting(×-×)

으며 염도 15% 처리구는 150일 후에 이상 발효 현상이 발생하였으나 포화농도로 염지한 처리구는 150일 후에도 이상발효가 발생하지 않았다. -20℃ 처리구의 경우 완만하게 발효가 진행되어 숙성 155일 후에 아미노태 질소의 함량은 초기의 106~173 mg% 인 것이 336~369 mg%로 증가하였다.

이상의 결과 염도를 15%로 조정한 처리구의 경우 0℃에서 숙성시 120일 경에 숙성적기에 다달았으며 10℃에서 숙성시 60~90일에 숙성 적기에 다달음을 알 수 있었다. 포화농도(새우어체 염농도, 18%)로 조정한 처리구의 경우 0℃에서는 150일, 10℃에서는 90일, 20℃에서는 60일 경에 숙성 적기에 다달음을 알 수 있었다. 염농도 15% 이하의 처리구는 발효양상이 매우 불안정하였다.

Table 33. Changes in pH, TN and AN content during fermentation of shrimp at differed temperatures and NaCl concentrations

(30 day)

| Temp. | Salt content | pH | TN(%) | AN(mg%) |
|-------|--------------|------|-------|---------|
| -20°C | 10% | 7.45 | 1.3 | 173 |
| | 15% | 7.51 | 1.2 | 145 |
| | saturated | 7.55 | 1.1 | 106 |
| 0°C | 10% | 7.61 | 1.3 | 226 |
| | 15% | 7.64 | 1.1 | 207 |
| | sat | 7.79 | 1.04 | 134 |
| 10°C | 10% | 7.98 | 1.2 | 369 |
| | 15% | 8.04 | 1.08 | 352 |
| | sat | 8.12 | 1.0 | 252 |
| AT | 10% | 8.05 | 1.2 | 422 |
| | 15% | 8.14 | 1.18 | 347 |
| | sat | 8.16 | 1.07 | 271 |
| 20°C | 10% | 8.23 | 1.34 | 592 |
| | 15% | 8.27 | 1.20 | 480 |
| | sat | 8.32 | 1.11 | 354 |

(60 day)

| Temp. | Salt content | pH | TN(%) | AN(mg%) |
|-------|--------------|------|-------|---------|
| -20℃ | 10% | 7.79 | 1.38 | 364 |
| | 15% | 7.85 | 1.28 | 224 |
| | sat | 7.97 | 0.99 | 151 |
| 0℃ | 10% | 8.23 | 1.45 | 342 |
| | 15% | 8.24 | 1.17 | 319 |
| | sat | 8.32 | 1.08 | 218 |
| 10℃ | 10% | 8.31 | 1.48 | 492 |
| | 15% | 8.37 | 1.19 | 352 |
| | sat | 8.43 | 1.04 | 246 |
| AT | 10% | 8.30 | 1.45 | 425 |
| | 15% | 8.32 | 1.28 | 476 |
| | sat | 8.37 | 1.03 | 380 |
| 20℃ | 10% | 8.35 | 1.22 | 799 |
| | 15% | 8.40 | 1.06 | 636 |
| | sat | 8.42 | 1.04 | 616 |

(90 day)

| Temp. | Salt content | pH | TN(%) | AN(mg%) |
|-------|--------------|------|-------|---------|
| -20℃ | 10% | 8.23 | 1.26 | 251 |
| | 15% | 8.52 | 1.19 | 140 |
| | sat | 8.58 | 0.97 | 84 |
| 0℃ | 10% | 8.45 | 1.21 | 364 |
| | 15% | 8.39 | 1.22 | 325 |
| | sat | 8.44 | 0.96 | 285 |
| 10℃ | 10% | 8.35 | 1.18 | 507 |
| | 15% | 8.46 | 1.32 | 558 |
| | sat | 8.49 | 1.07 | 507 |

(120 day)

| Temp. | Salt content | pH | TN(%) | AN(mg%) |
|-------|--------------|------|-------|---------|
| -20℃ | 10% | 8.64 | 1.35 | 278 |
| | 15% | 8.63 | 1.39 | 184 |
| | sat | 8.62 | 1.06 | 102 |
| 0℃ | 15% | 8.57 | 1.19 | 421 |
| | sat | 8.55 | 1.02 | 312 |
| 10℃ | 15% | 8.51 | 1.51 | 824 |
| | sat | 8.51 | 0.95 | 642 |

(150 day)

| Temp. | salt content | pH | TN(%) | AN(mg%) |
|-------|--------------|------|-------|---------|
| -20℃ | 10% | 8.66 | 1.35 | 369 |
| | 15% | 8.70 | 1.37 | 352 |
| | sat | 8.60 | 1.06 | 336 |
| 0℃ | 15% | | | |
| | sat | 8.65 | 0.95 | 392 |

3. 새우 어종에 따른 발효 특성

원료 새우의 품종을 달리하여 brining 방법에 의해 염농도 15%의 저염 새우젓을 제조하여 10℃ 조건에서 발효 양상을 살펴 보았다. 젓새우로 제조한 처리구가 가장 느리게 숙성되는 경향을 나타내었으며 돛대기 새우를 이용하여 제조한 처리구가 가장 빠르게 숙성에 다달았다. 이는

어종 차이에 의해 외피가 얇은 젓새우의 경우 육으로의 식염 침투가 용이하여 내장 내에 존재하는 단백질 분해 효소의 활성을 저해한 결과로 생각된다. 돛대기 새우, 북새우의 경우 외피가 단단하여 식염 침투가 더디게 일어나 육분해가 빠르게 일어난 것으로 생각되었다. 유리아미노산 함량은 젓새우를 이용하여 제조한 처리구가 비교적 낮은 함량을 가지고 있었으며 돛대기 새우가 가장 높은 함량을 나타내었고 북새우가 그 다음이었다. 이는 돛대기 새우, 북새우의 숙성이 젓새우에 비하여 비교적 빠르게 진행된 결과로 생각된다.

Table 34. Influence of species on the changes in pH, color, TN and AN content during fermentation of shrimp at 10°C with 15% NaCl concentration

(15 day)

| Species | pH | Color value | | | | TN(%) | AN(mg%) |
|---------|------|-------------|------|------|------|-------|---------|
| | | L | a | b | ΔE | | |
| 젓새우A | 8.12 | 49.2 | 7.51 | 15.1 | 42.9 | 1.20 | 221 |
| B | 8.23 | 49.8 | 5.85 | 12.1 | 41.3 | 1.27 | 230 |
| 돛대기새우 | 8.21 | 47.5 | 5.47 | 13.9 | 43.9 | 1.28 | 284 |
| 북새우 | 8.14 | 34.6 | 9.87 | 12.2 | 56.7 | 1.42 | 260 |

(30 day)

| Species | pH | Color value | | | | TN(%) | AN(mg%) |
|---------|------|-------------|------|------|------------|-------|---------|
| | | L | a | b | ΔE | | |
| 젖새우A | 7.95 | 51.2 | 6.23 | 8.91 | 39.2 | 1.42 | 234 |
| B | 7.87 | 49.0 | 6.31 | 13.1 | 42.3 | 1.39 | 263 |
| 돛대기새우 | 7.78 | 47.8 | 3.91 | 13.7 | 43.4 | 1.38 | 424 |
| 북새우 | 7.76 | 35.3 | 7.88 | 11.6 | 55.4 | 1.52 | 374 |

(45 day)

| Species | pH | Color value | | | | TN(%) | AN(mg%) |
|---------|------|-------------|------|------|------------|-------|---------|
| | | L | a | b | ΔE | | |
| 젖새우A | 7.66 | 50.9 | 5.72 | 8.75 | 39.3 | 1.46 | 320 |
| 젖새우B | 7.70 | 47.5 | 7.74 | 13.0 | 43.9 | 1.41 | 410 |
| 돛대기새우 | 7.59 | 47.5 | 5.47 | 13.9 | 43.9 | 1.44 | 594 |
| 북새우 | 7.68 | 34.6 | 11.8 | 12.2 | 56.7 | 1.76 | 472 |

(60 day)

| Species | pH | Color value | | | | TN(%) | AN(mg%) |
|---------|------|-------------|------|------|------------|-------|---------|
| | | L | a | b | ΔE | | |
| 젖새우A | 7.34 | 50.9 | 6.66 | 9.45 | 39.6 | 1.45 | 523 |
| B | 7.33 | 48.4 | 6.17 | 12.6 | 42.7 | 1.52 | 560 |
| 돛대기새우 | 7.43 | 38.7 | 9.08 | 12.5 | 52.4 | 1.41 | 674 |
| 북새우 | 7.24 | 35.8 | 12.1 | 12.7 | 55.8 | 1.85 | 662 |

(90 day)

| Species | pH | Color value | | | | TN(%) | AN(mg%) |
|---------|------|-------------|------|------|------|-------|---------|
| | | L | a | b | ΔE | | |
| 젓새우A | 8.53 | 48.0 | 6.10 | 7.11 | 41.9 | 1.47 | 592 |
| B | 8.62 | 51.4 | 4.83 | 14.2 | 40.2 | 1.56 | 614 |
| 돛대기새우 | 8.65 | 44.6 | 8.45 | 12.2 | 46.6 | 1.49 | 794 |
| 북새우 | 8.60 | 37.0 | 11.9 | 14.2 | 54.9 | 1.86 | 793 |

4. 육젓용 새우를 이용한 저염 새우젓 실증 시험

새우젓(육젓) 최대 생산지인 전남 신안에서 수집한 육젓용 젓새우를 원료로 하여 수분활성도를 저하 시킬 목적으로 brining 방법에 의해 염 농도를 15%로 조정하여 다양한 숙성온도 조건에서 저염 새우젓의 실증 제조시험을 실시하였다. 원료는 육젓용 새우지만 어획되는 지역에 약간의 차이가 있으므로 A와 B로 구분하여 처리구를 설정하였다.

가. pH의 변화

새우젓의 숙성 온도에 따른 pH 변화를 측정하여 Table 35에 나타내었다. 초기의 pH는 A 처리구의 경우 7.87이었으며 B 처리구의 경우 7.71로 나타났다. 온도가 높을수록 pH 저하폭이 크게 나타났으며 10℃ 처리구의 경우 60일 경과후 A 처리구의 pH가 7.46이었으며 B 처리구의 경우가 7.32로 나타났으며 120일 경과후에는 A 처리구가 7.43으로 나타났으며 B 처리구의 경우 7.36으로 나타나 60일 경과할 시점까지는 pH가 감소하고 그 이후로는 완만히 증가함을 알 수 있었다. -10℃, 0℃의 저온 처리구의 경우 계속적으로 pH가 감소하는 경향을 나타내어 숙성적기

에 아직 다달이지 않은 것으로 나타났다.

Table 35. changes in pH during fermentation at different temperatures

| Treatment | Initial | Fermentation period(days) | | | | |
|-----------|---------|---------------------------|------|------|------|------|
| | | 30 | 60 | 90 | 120 | |
| -10°C | A | 7.87 | 7.76 | 7.70 | 7.61 | 7.56 |
| | B | 7.71 | 7.65 | 7.62 | 7.53 | 7.46 |
| 0°C | A | 7.87 | 7.75 | 7.31 | 7.13 | 7.11 |
| | B | 7.71 | 7.68 | 7.41 | 7.28 | 7.18 |
| 10°C | A | 7.87 | 7.57 | 7.16 | 7.29 | 7.43 |
| | B | 7.71 | 7.59 | 6.82 | 7.13 | 7.36 |

나. AN 함량의 변화

초기의 아미노태질소의 함량은 224mg%로 나타났으며 모든 처리구에서 계속적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 10°C 처리구의 경우 숙성 30일 경에는 A 처리구가 332mg%를, B 처리구가 396mg%를 나타내었다. 숙성 120 경에는 A 처리구가 870mg%, B 처리구의 경우 788mg%의 함량을 나타내므로 숙성이 원활히 진행되었음을 알 수 있었으며 약간의 어획지역이 다른더라도 육젓용 새우의 숙성중 품질 측면에서 유의차는 없는 것으로 나타났다(Table 36).

Table 36. Changes in AN content during fermentation by different temperature. (unit : mg%)

| Treatment | Initial | Fermentation period(days) | | | | |
|-----------|---------|---------------------------|-----|-----|-----|-----|
| | | 30 | 60 | 90 | 120 | |
| -10°C | A | 224 | 265 | 304 | 326 | 348 |
| | B | 224 | 264 | 295 | 332 | 362 |
| 0°C | A | 224 | 287 | 325 | 378 | 476 |
| | B | 224 | 302 | 336 | 426 | 518 |
| 10°C | A | 224 | 332 | 484 | 692 | 870 |
| | B | 224 | 396 | 537 | 610 | 788 |

다. 유리아미노산 함량의 변화

유리 아미노산은 젓갈류의 향미에 가장 중요한 영향을 미치는 단백질의 분해산물로서 발효시 중요한 품질지표로 활용되고 있다.

발효 90일 경에 각 온도별로 시료를 취하여 유리아미노산 함량을 측정하여 Table 37에 나타내었다. 모든 처리구에서 glutamic acid 함량이 가장 풍부하게 나타났으며 leucine, aspartic acid, alanine, phenylalanine, lysine의 함량이 많은 것으로 나타났다. 전체의 유리아미노산의 함량은 20°C에서 숙성 시킨 처리구가 가장 높은 함량을 나타내었으며 그 다음이 0°C이었으며 -10°C 처리구가 가장 낮은 유리아미노산 함량을 나타내었지만 그 차이는 크지 않았다. 10°C에서 숙성 시킨 처리

구의 경우 총유리아미노산 함량은 1,036mg%이었는데 이는 멸치젓의 경우의 5,000mg% 정도에 비하여 20% 정도에 상당하는 양이었다.

Table 37. Amino acid contents of low-salted anchovy fermented at different temperatures for 90days (unit : mg%)

| | -20℃ | 2℃ | 10℃ |
|-------|-------|-------|-------|
| Asp | 52.1 | 69.9 | 50.5 |
| Glu | 160.8 | 166.9 | 153.8 |
| Ser | 54.8 | 50.3 | 46.9 |
| Gly | 57.0 | 50.9 | 51.1 |
| His | 27.6 | 22.4 | 20.3 |
| Arg | 81.0 | 76.7 | 40.9 |
| Thr | 49.8 | 46.8 | 43.2 |
| Ala | 67.1 | 57.0 | 55.1 |
| Pro | 50.8 | 46.8 | 44.8 |
| Tyr | 39.5 | 52.3 | 33.6 |
| Val | 33.8 | 40.8 | 40.3 |
| Met | 36.8 | 34.6 | 32.5 |
| Cys | 11.1 | 10.7 | 12.2 |
| Ile | 28.8 | 37.5 | 36.7 |
| Leu | 85.4 | 85.1 | 81.0 |
| Phe | 48.7 | 53.6 | 52.3 |
| Lys | 90.4 | 91.3 | 90.0 |
| Total | 926 | 974 | 1,036 |

제 3 절. 저식염 새우젓 소스 제품 개발

1. 새우젓에 존재하는 protease의 정제

가. 새우젓의 일반성분 분석

본 실험에 사용한 새우젓의 일반성분은 Table 38와 같다. 즉, 수분이 60.1%, 조단백질 10.6%, 조지방 0.1%, 조회분 26.2%, 염도가 25.5%로 비교적 높은 것은 새우가 쉽게 변질되는 특성으로 식염을 충분히 첨가하여 제조하였음을 알 수 있었고 젓갈의 숙성지표인 AN/TN의 비율은 64.4%로 나타나 본 실험에서 사용한 재료는 숙성적기의 새우젓이라 판단되었다.

Table 38. Proximate composition of *Saewoo-jeot* used in this study

| Component | Composition(%) |
|---------------|----------------|
| Moisture | 60.1 |
| Ash | 26.2 |
| Crude protein | 10.6 |
| Crude fat | 0.1 |
| Salt | 25.5 |
| AN/TN* | 64.4 |

*AN: Amino-nitrogen(NH₂-N)

TN: Total nitrogen

나. Protease activity 정제를 위한 새우젓의 탈염

새우젓의 염을 제거하여 정제 실험에 공시하기 위해 본 실험에서 전기투석법을 사용하였으며 전기투석 과정 중 이화학적 성분을 측정 한 결과는 Fig. 31에 나타내었다. 염농도가 2% 이하가 되기까지 7시간이 소요되었고 새우젓의 총질소(TN), 아미노태 질소(NH₂-N), 암모니아태 질소(NH₃-N) 함량 및 protease activity는 탈염시간이 증가됨에 따라 증가하였으며 NH₃-N의 함량은 감소하는 경향을 나타내었다.

다. 새우젓으로부터 protease의 정제

이와 같은 방법으로 탈염하여 얻은 조추출물을 ammonium sulfate 분획한 결과는 Table 39와 같이 수율이 71%, 비활성역가는 3 unit/mg으로 약 3.3배 정제되었다. 여기서 얻은 활성획분을 투석, 동결건조하여 Sephadex-G 100 column chromatography한 결과는 Fig. 32에서와 같이 peak가 2개 나타났으며 이 peak중 효소 활성이 현저히 강한 A peak를 취하여 동결건조 하였다. 이 활성획분은 수율이 48%, 비활성역가가 5.19 unit/mg으로 조효소액 보다 약 6배 증가하였다(Table 39). 이 활성획분을 보다 더 정제하기 위해 DEAE-cellulose column chromatography에 공시한 결과는 Fig. 33과 같이 peak가 2개 나타났으며 이 peak중 효소활성이 강한 B peak를 취하여 동결건조하여 정제 효소로 하였다. 여기서 얻어진 정제 효소는 수율이 14%, 비활성역가는 8.42 unit/mg으로 증가하였으며 조추출물에 비하여 정제 배수는 9.8배 증가하였다(Table 39).

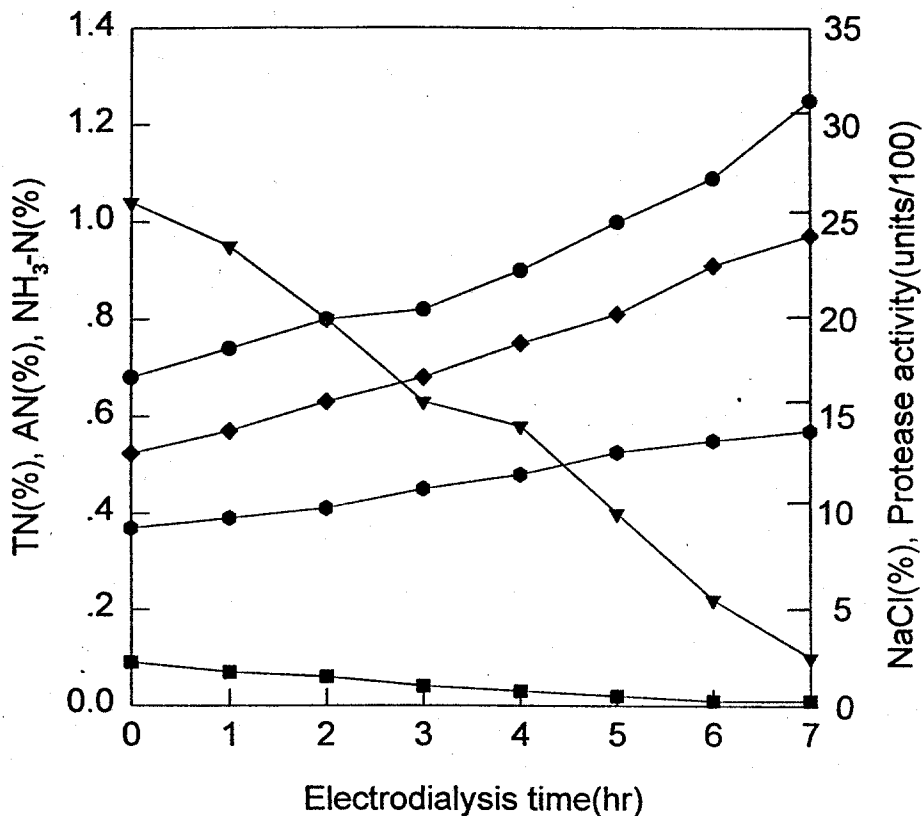


Fig. 31. Changes in chemical index of *Saewoo-jeot* during electro dialysis. Saewoo-jeot was homogenized and centrifuged at 6,000g, The supernatant was used as a desalting sample. electro dialysis was conducted at floe rate 150 mL/hr under 7A condition. ◆-◆: total nitrogen, ▲-▲: amino nitrogen, ■-■: ammonia nitrogen, ▼-▼: NaCl, ●-●: protease activity

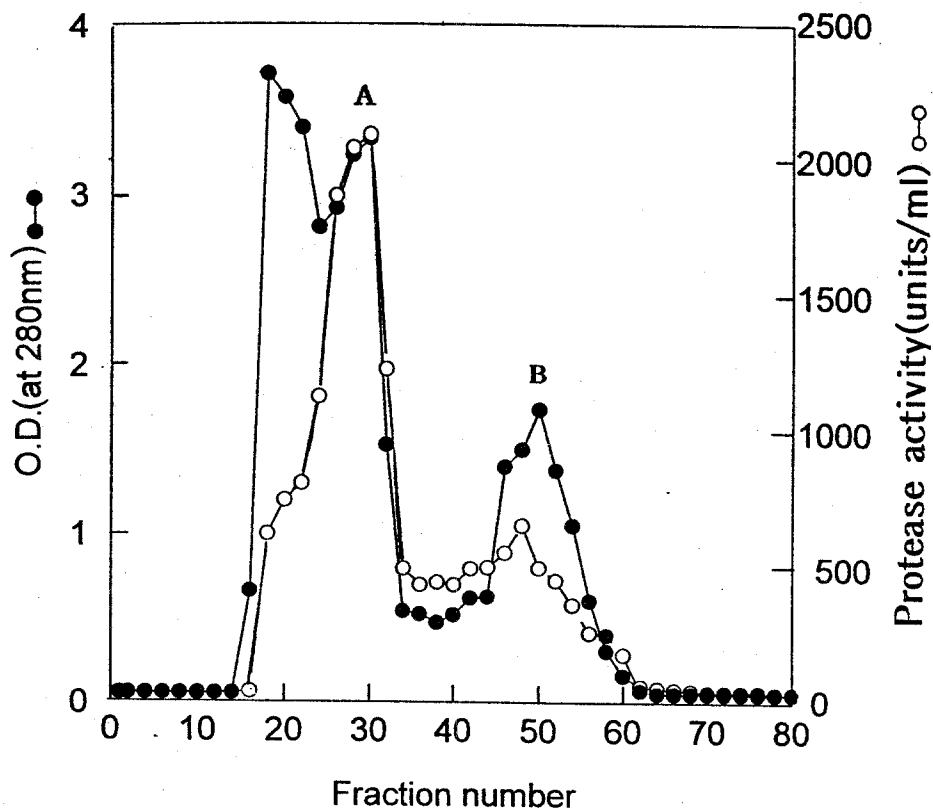


Fig. 32. Gel filtration chromatogram of protease from *Saewoo-jeot*. The column(2.5×30cm) was equilibrated with 0.01M-sodium phosphate buffer(pH 7.0) and eluted with the same buffer. The flow rate was 8ml/hr and 5ml fractions were gathered.

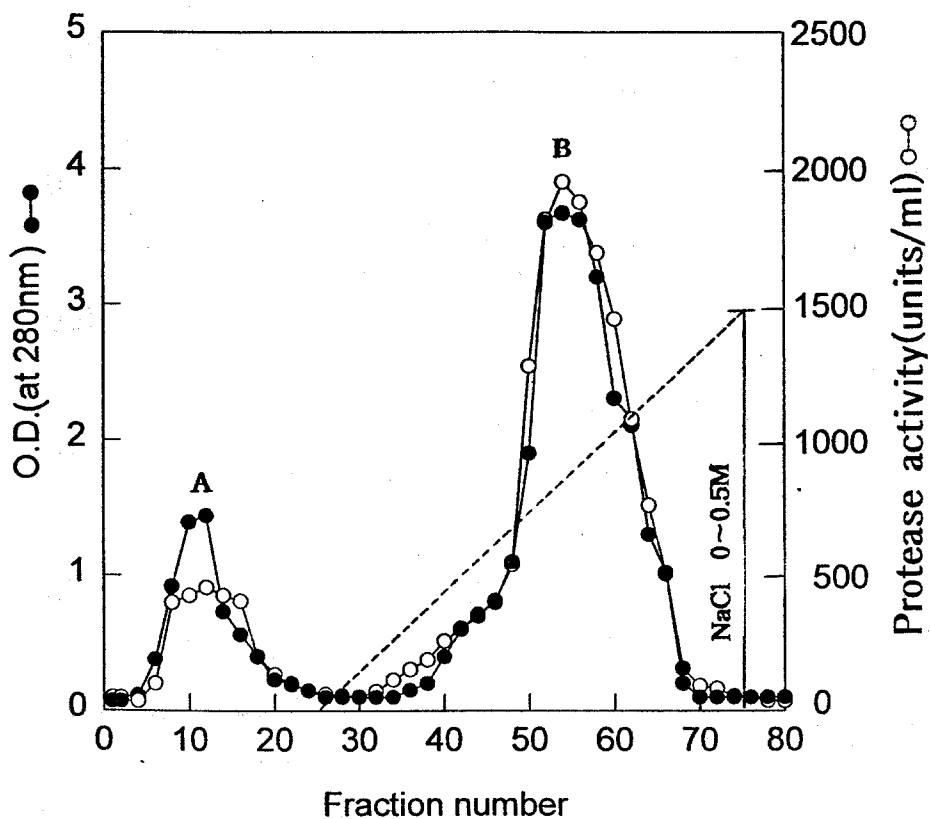


Fig. 33. Chromatogram of protease from *Saewoo-jeot* by DEAE-cellulose. The column(2.5×30cm) was equilibrated with 0.01M-sodium phosphate buffer(pH 7.0) and eluted with the same buffer. The flow rate was 20ml/hr and 7ml fractions were collected.

Table 39. Summary of purification steps of protease from saewoo-jeot

| Purification step | Total protein (mg) | Total activity (unit) | Specific activity (unit/mg) | Yield (%) | Purification (fold) |
|-------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------|---------------------|
| Crude extract | 3540 | 3033 | 0.86 | 100 | 1 |
| Ammonium-sulfate | 756 | 2177 | 2.88 | 71 | 3.3 |
| Sephadex G-100 | 285 | 1478 | 5.19 | 48 | 6.0 |
| DEAE-Cellulose | 50 | 421 | 8.42 | 14 | 9.8 |

Hammerstein casein 1.5% was used as substrate.

Hjelmeland 등은 빙어로 부터 trypsin 정제 과정에서 ammonium sulfate fractionation, Sepharose 4B, Sephadex G-100 column, DEAE-Sephadex A 25 column chromatography로 분리, 정제하였을 때 비활성역가는 87.1배로, 수율은 6.9% 라고 보고하였으며 멸치젓으로부터 protease 정제시 ammonium sulfate fractionation, DEAE-cellulose column, Sephadex G-100 column chromatography하여 분리, 정제하였을때 비활성역가는 10.55배, 수율은 1.1%로 보고하였다.

라. 정제효소의 전기영동

새우젓에서 추출한 protease의 순도 및 분자량을 알기 위해 정제된 효소를 SDS-PAGE한 결과 Fig. 34의 A)와 같이 단일 band로 나타나

여 백



A)



B)

Fig. 34. Polyacrylamide gel electrophoresis of protease from *Saewoo-jeot*.: A) 10% polyacrylamide gel electrophoresis pattern of purified protease stained with Coomassie brilliant blue R-250 ; B) active staining pattern in skim milk plate.

여 백

이 정제효소는 단일단백질로 구성되었음을 확인하였으며 여기서 얻은 R_m 값에 따라 분자량을 측정 한 결과는 Fig. 35와 같이 trypsinogen과 거의 같은 위치에 있어 24kDa에 해당되는 분자량을 가지는 효소로 추정되었다. 또한 이 정제효소를 polyacrylamide gel electrophoresis 한 후 전기영동 band 상의 효소활성 위치를 알기위해 실시한 active staining 결과는 Fig. 34의 B)와 같으며 여기서 단일 단백질과 같은 부위에 활성이 나타났으므로 정제효소는 단백질 분해 효소임을 알 수 있었다.

2. 정제 효소의 특성

가. 최적 pH 및 pH 안정성

정제효소의 최적 pH와 pH에 대한 안정성을 측정 한 결과를 Fig. 36 및 37에 나타내었다. pH 8.0에서 활성이 가장 높게 나타났으며 pH 7.0~10.0에서 안정하였다. 이는 정제효소가 알칼리 범위에서 안정하며 최적 활성을 나타내어 alkaline protease임을 알 수 있었다.

보고에 의하면 새우 근육중의 protease, milkfish protease, 굴중의 protease, poikilotherm로부터 분리한 3종의 trypsin은 최적 pH가 8.0이었으며 grass shrimp의 소화기관으로 부터 분리한 3종의 protease의 경우 2종은 pH 8.0에서, 나머지 1종은 pH 7.0에서 최적 활성을 나타내었고 병어에서 부터 분리한 2종의 trypsin과 유사한 효소는 pH 8~9, 새우의 간장 및 체장에서 분리한 2종의 trypsin과 유사한 효소는 pH 6.5~11로 광범위한 범위를 나타내었고 대구의 유문수 조직에서 분리한 protease는 pH 9.0~9.6의 범위, 고등어의 유문수 조직에서 분

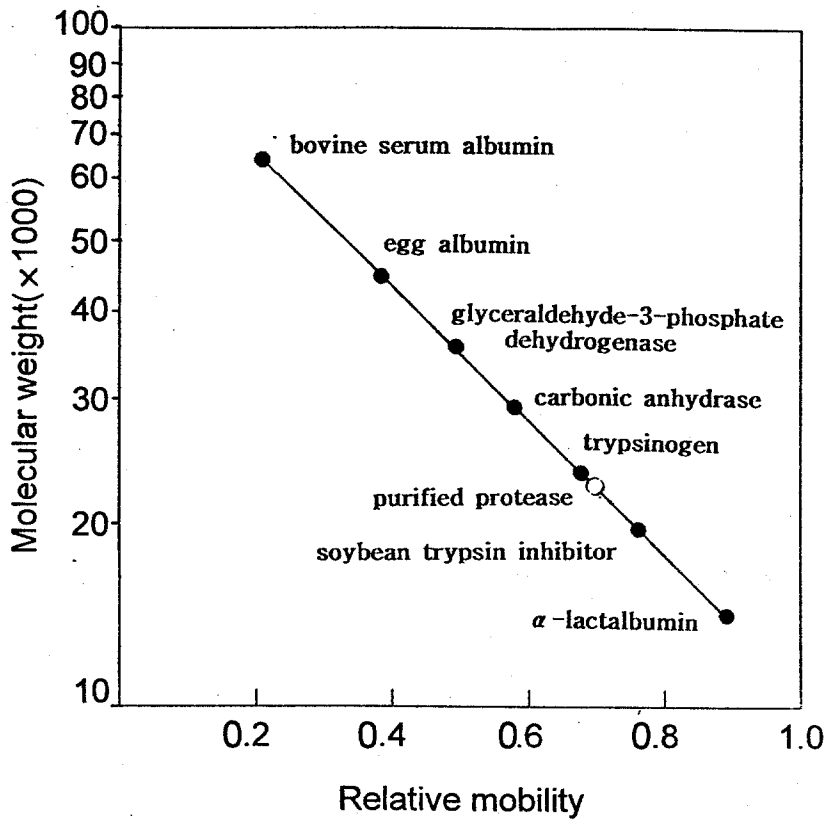


Fig. 35. The calibration curve for the determination of molecular weight of protease from *Saewoo-jeot* by SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis

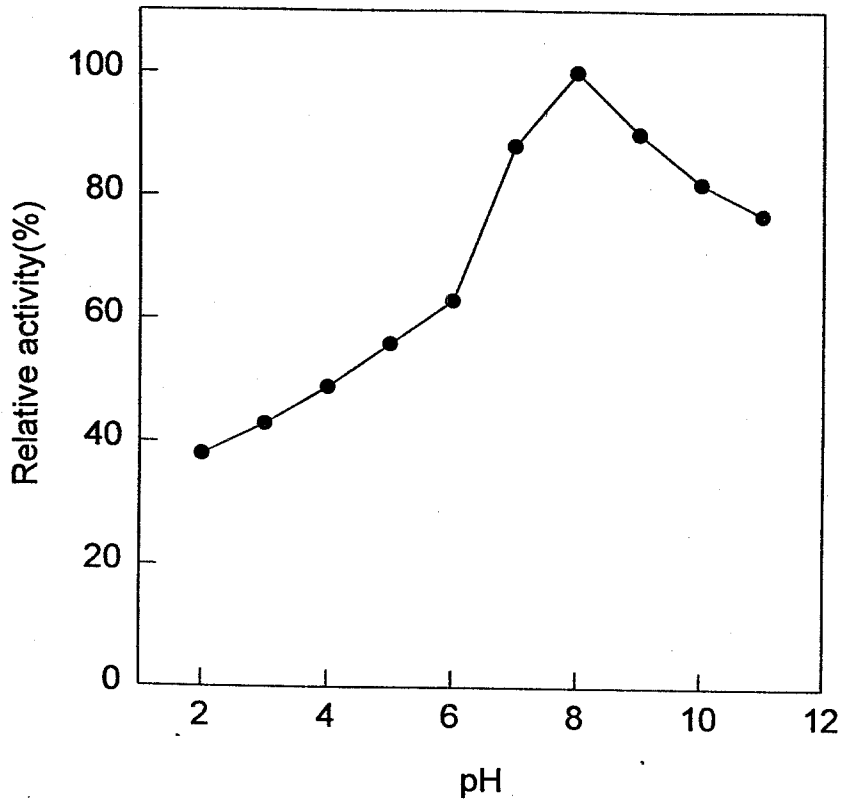


Fig. 36. Effect of pH on the activity of pretease from *Saewoo-jeot*. The enzyme activity was measured at various pH adjusted buffers.

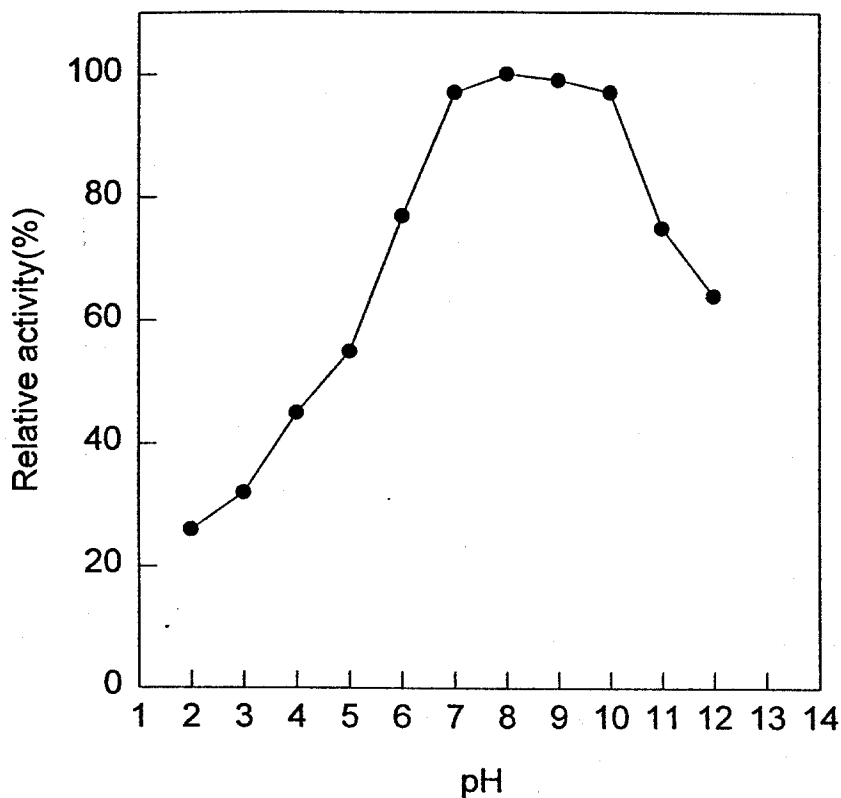


Fig. 37. Effect of pH on the stability of protease from *Saewoo-jeot*. The enzyme was incubated at 4°C for 24 hrs on each pH and the remaining activity was measured at pH 8.0.

리한 protease는 pH 9.4에서 최적 활성을 나타내어 어체로부터 유래된 trypsin과 유사한 효소는 최적 pH가 알칼리성 이었음을 알 수 있었고 본 실험 결과도 이와 유사하였다.

또한 pH에 대한 효소의 안정성에 관한 보고도 새우의 간장 및 췌장에서 분리한 2종의 protease는 pH 안정성이 pH 6~12, 대구의 유문수 조직에서 분리한 protease는 pH 8.8~9.6에서 안정하다고 하였으며 poikilotherm와 병어에서 분리한 효소의 경우 낮은 pH에서 불안정하다고 하여 본 실험 결과와 유사한 경향이였다.

나. 최적 온도 및 온도 안정성

정제효소의 최적 온도 및 안정성에 미치는 온도의 영향을 검토한 결과를 Fig. 38 및 39에 나타내었다. 본 실험에서 정제한 효소의 최적 온도는 40°C이었으며 온도 안정성은 30~50°C의 범위에서 1시간 경과시에도 90% 이상의 잔존 활성을 나타내어 상당히 안정한 것으로 사료되었다.

효소활성 최적 온도와 온도에 대한 안정성에 대한 보고에 의하면 병어의 trypsin-like enzyme은 42°C, 새우의 간장 및 췌장에서 분리한 trypsin 유사 효소는 45°C, 고등어 유문수 조직에서 분리한 protease는 45~50°C, 대구의 유문수 조직에서 분리한 protease는 46~48°C, 새우 근육에서 분리한 protease는 60°C, grass shrimp의 소화기관으로부터 분리한 4종의 protease 중 3종은 65°C, 나머지 1종은 55°C가 최적 온도이었다고 하였다. 이들의 결과에서 볼 때 어체로부터 유래된 protease는 대체로 중온성임을 알 수 있었고 본 실험에서 정제된 효소도 중온성의 protease로서 비슷한 결과를 나타내었다.

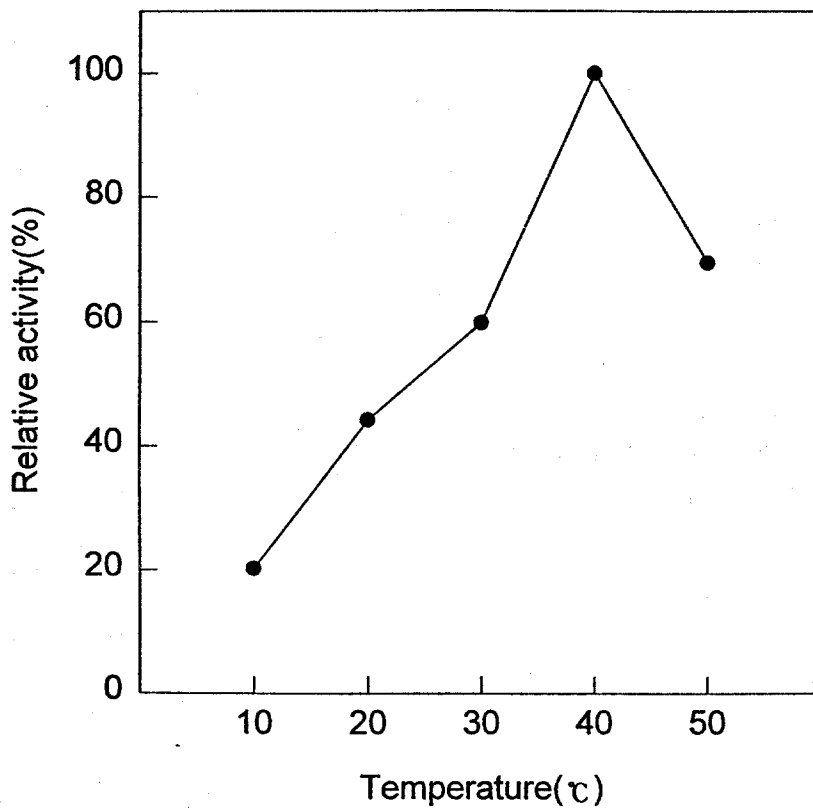


Fig. 38. Effect of temperature on the activity of protease from *Saewoo-jeot*. The enzyme was measured at various temperatures.

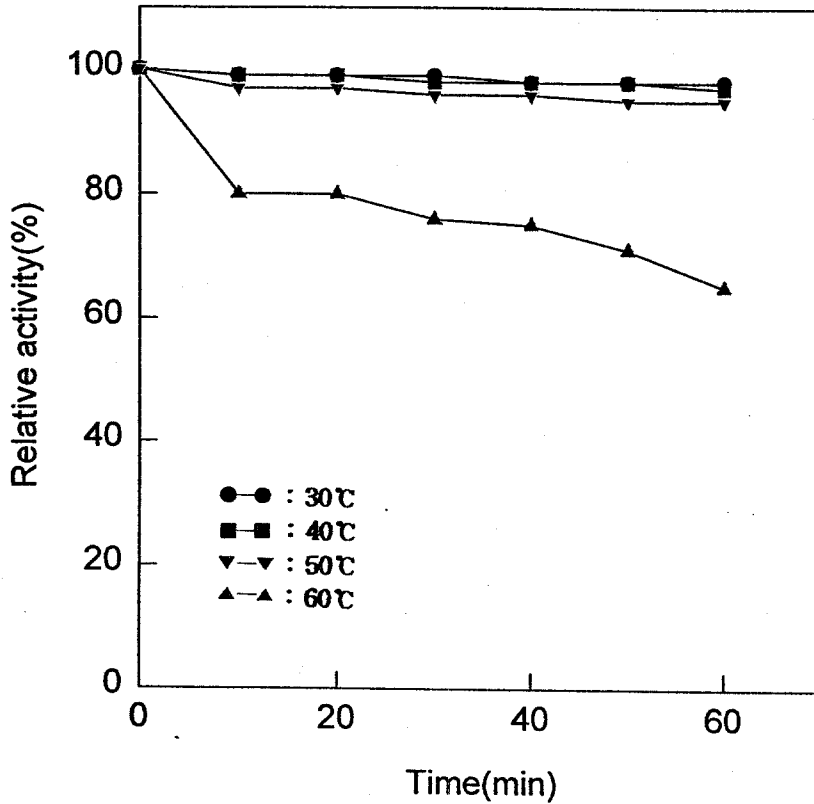


Fig. 39. Effect of temperature on the stability of protease from *Saewoo-jeot*. The enzyme was incubated at various temperature and the remaining activity was measured at 40°C.

다. 기질특이성

여러가지 합성기질에 대한 본 정제효소의 활성을 측정한 결과는 Table 40과 같이 Trypsin의 합성기질인 BAPNA와 TAME에 대한 specific activity는 각각 7.28 units/mg, 8.52 units/mg으로 나타나 강한 활성을 나타내었지만 chymotrypsin의 합성기질인 ATEE, carboxypeptidase의 합성기질인 HPA에는 활성이 전혀 나타나지 않았다. 합성기질에 대한 반응성에 대한 보고로는 grass shrimp의 소화기관에서 분리된 4종의 protease 중 3종과 milk fish의 근육에서 분리한 protease 중 1종은 각각 TAME에 활성을 나타내어 trypsin과 유사한 효소로 보고했고 혈합육어 중 멸치, 고등어, 황다랭이, 날개다랭이의 trypsin도 BAPNA, TAME에 현저한 활성을 보였다.

Table 40. Substrate specificity of protease from *Saewoo-jeot*

| Substrate* | Specific activity(units/mg) |
|------------|-----------------------------|
| BAPNA | 7.28 |
| TAME | 8.52 |
| ATEE | 0 |
| HPA | 0 |

* BAPNA: N_α-benzoyl-DL-arginine-*p*-nitroanilide

TAME: *p*-tosyl-L-arginine methyl ester

ATEE: N-acetyl-L-tyrosine ethyl ester

HPA: hippuryl-L-phenylalanine

라. Km 값

본 효소의 기질에 대한 친화력을 살펴보기 위해 Lineweaver-Burk plot로 Km값을 측정한 결과는 Fig. 40과 같이 정제효소의 Km값은 5.1×10^{-7} M로 새우젓 protease의 Km값 1.6×10^{-6} M, 멸치젓갈 protease의 Km값 2.67×10^{-4} M보다 더 낮게 나타나 본 실험의 정제 효소는 정제도가 높거나 또는 기질과의 친화력이 높은 효소로 사료되었다.

마. 금속 이온의 영향

금속 이온의 첨가가 단백질 분해 효소활성에 미치는 영향은 Table 41과 같이 Mn^{++} 는 60% 정도 효소 활성을 증가시켰으나 K^+ , Li^+ , Na^+ , Mg^{++} , Ca^{++} , Co^{++} , Cu^{++} , Hg^{++} , Zn^{++} , Fe^{+++} 등은 효소 활성을 저해하였다.

본 실험에서는 Mn^{++} 에 의해 효소 활성이 현저히 증가하는 특성을 보였는데 이는 Mn^{++} 에 강한 저해를 나타낸다고 보고한 Doke 등의 새우 근육에서 분리한 protease, Jiang 등의 milk fish의 근육에서 분리한 trypsin 유사 효소, Honjo 등의 새우의 간장 및 췌장에서 분리된 2종의 trypsin 유사 효소와는 상반된 결과를 나타내었으며 조 등의 Mn^{++} 에 의해 활성이 증가한 고등어와 황다랭이 trypsin과는 일치된 결과를 보였다.

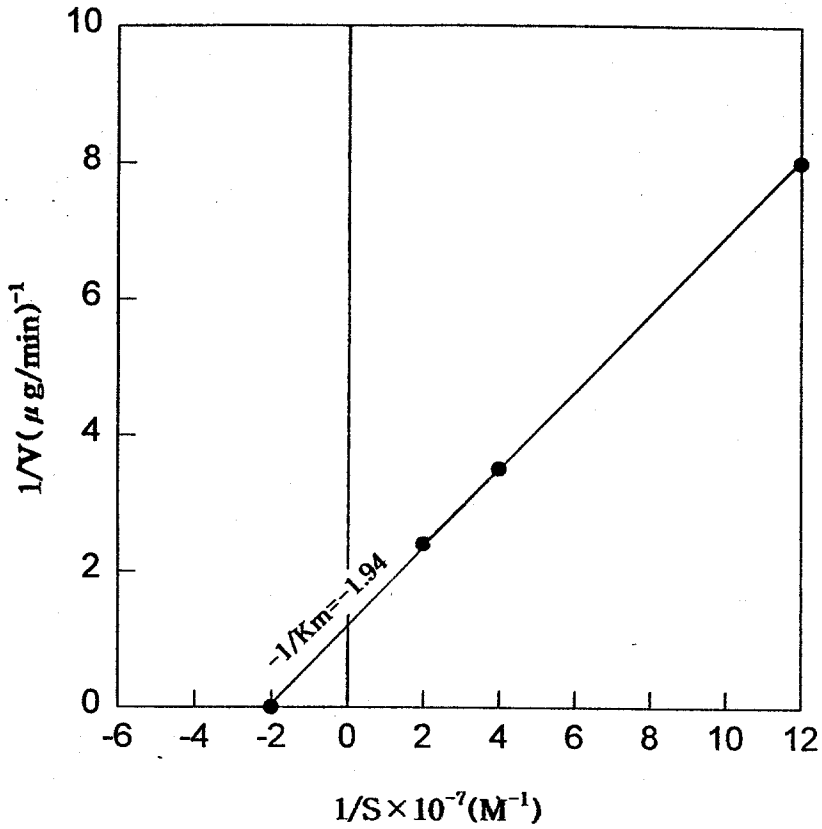


Fig. 40. Lineweaver-Burk plot for hydrolysis of hammersten casein by purified protease from *Saewoo-jeot*

Table 41. Effect of metal ions on activity of protease from *Saewoo-jeot*

| Metal ion(1mM) | Relative activity(%) |
|-------------------|----------------------|
| Control | 100 |
| Li ⁺ | 52 |
| K ⁺ | 47 |
| Na ⁺ | 64 |
| Ca ⁺⁺ | 51 |
| Co ⁺⁺ | 51 |
| Cu ⁺⁺ | 65 |
| Mn ⁺⁺ | 160 |
| Mg ⁺⁺ | 48 |
| Ba ⁺⁺ | 49 |
| Hg ⁺⁺ | 45 |
| Zn ⁺⁺ | 48 |
| Fe ⁺⁺⁺ | 78 |

The mixture containing 1ml of protease solution dissolved in 0.1M phosphate buffer(pH8.0) and metal ion solutions were preincubated at 37°C for 60min and the enzyme activity was determined.

마. 저해제의 영향

정제 효소에 대한 저해제의 영향을 측정한 결과는 Table 42와 같이 정제된 효소는 IAA(inhibitor of thiol-protease), TPCK(inhibitor of chymotrypsin)에 의해서는 영향을 받지 않았고 STI와 TLCK (inhibitor of serine protease, trypsin-like enzyme)에 의해 각각 88%, 75%로 저해되어 현저하게 불활성화 되었으며 EDTA(inhibitor of metallopeptidase)에 의해 61%로 저해되었다. 따라서 본 정제 효소는 trypsin과 비슷한 binding site를 갖는 serine계의 trypsin-like enzyme 으로 사료되었다.

Table 42. Effect of some inhibitors on activity of protease from *Saewoo-jeot*

| Some inhibitor*(1mM) | Relative activity(%) |
|----------------------|----------------------|
| Control | 100 |
| TPCK | 100 |
| TLCK | 25 |
| IAA | 81 |
| STI | 12 |
| EDTA | 39 |

* TPCK: N_α-tosyl-L-phenylalanyl-chloromethyl ketone

TLCK: N_α-tosyl-L-lysyl chloromethyl ketone

IAA: Iodoacetic acid

STI: soybean trypsin inhibitor

EDTA: ethylene diamine tetraacetic acid

The mixture containing 1ml of protease solution dissolved in 0.1M phosphate buffer(pH8.0) and inhibitor solution was preincubated at 37°C for 60min and the enzyme activity was determined.

3. 정제효소의 육류 단백질 분해 특성

가. 우육, 돈육, 계육 단백질에 대한 분해 특성

새우젓으로 조제한 조효소액에 우육, 돈육, 계육을 기질로 하여 37°C에서 1시간 반응시켜 SDS-PAGE에 공시한 결과를 Fig. 41에 나타내었다. 가열변성한 처리구(lane 2)의 경우 대조구로 사용된 원료육(lane 1)에 비하여 myosin heavy chain (MHC), actin(A), tropomyosin(TM), 150K, 100K 등이 약간 분해되는 경향을 나타내었다. 조효소액 대신에 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨(lane 3, 4) 처리구의 경우 원료육이나 가열변성육에 비하여 각 단백질의 subunit 조성이 거의 비슷한 양상으로 나타나 단백질분해가 거의 이루어지지 않은 것으로 판단되었다. 기질 종류에 따른 단백질 분해 양상을 살펴보면 (A)에 나타난 우육의 경우 비교적 가열변성이 완만히 일어나 MHC의 소량 분해만 일어났으나 actin의 함량은 변화가 없었다. 조효소액에 1시간 반응시켰을 때 가열변성하지 않은 기질(lane 5)의 경우 MHC가 완전히 분해되었으며 actin도 상당량 분해된 결과였으며 가열변성한 기질(lane 6)의 경우도 비슷한 양상을 나타내었으나 actin의 분해가 더욱 더 진행된 것으로 나타났다. 돈육(B)을 기질로 사용하였을 경우 우육에 비하여 가열변성시 MHC의 분해 및 actin의 분해가 약간 더 진행되는 것으로 나타났으며 새우젓 조효소액에 반응하였을 때 가열변성하지 않은 돈육(lane 5)의 경우 actin에 상당하는 band가 약간 존재할 뿐 다른 근원섬유 단백질 band는 보이지 않고 있다. 가열 변성한 기질을 사용하였을 경우 actin에 상당하는 band 까지도 거의 완전히 분해 되었다. 계육(C)을 기질로 사용하였을 경우 가열변성 특성은 돈육과 유사하였으나 조효소액에 반응하였을 때 가열변성한 계육(lane 6)의 경우 actin을 비롯한 거의 모든 단백질이 거의 완전히 분해되

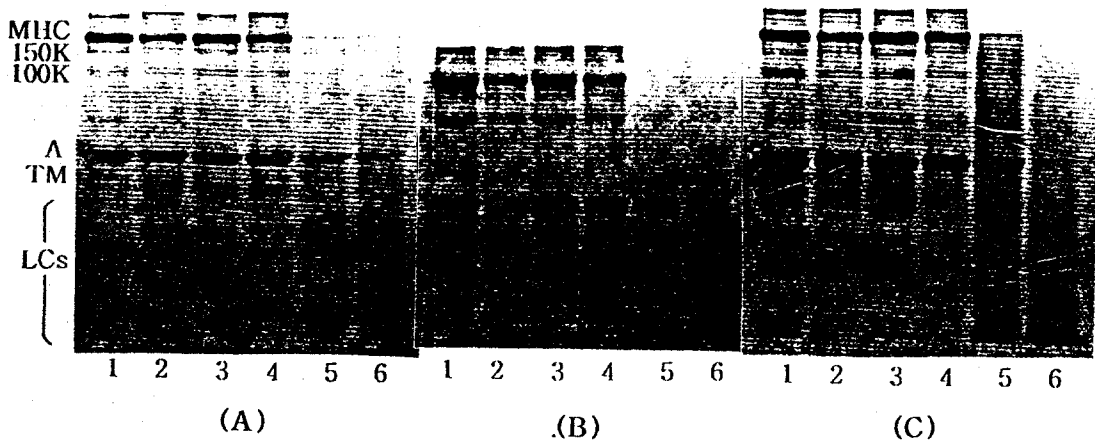


Fig. 41. SDS-PAGE patterns of solubilized protein from various meat muscle incubated with crude protease at 37°C for 1hr.

(A) beef (B) pork (C) chicken meat.

Lane 1: control (raw meat), 2: heat-denatured meat at 100°C for 20 min, 3: raw meat incubated with water for 1 hr, 4: heat-denatured meat incubated with water for 1 hr, 5: raw meat incubated with crude protease from saewoojeot for 1 hr, 6: heat-denatured meat incubated with crude protease from saewoojeot for 1 hr. MHC: myosine heavy chain, A: actin, TM: tropomyosin, LCs: myosine light chains.

었으나 가열변성하지 않은 처리구(lane 5)의 경우 MHC가 소량 검출되었으며 actin은 거의 분해되지 않은 것으로 나타나 우육, 돈육과는 매우 다른 분해 특성이 있음을 알 수 있었다. 따라서 계육의 경우 가열 변성하지 않았을 경우 새우젓에 존재하는 단백질 분해효소에 의해 쉽게 분해가 일어나지 않음을 알 수 있었다. 가열변성을 받지 않은 기질보다 가열 변성된 기질이 더욱 더 원활히 분해되었으며 돈육과 계육의 경우 열변성을 받은 기질은 거의 모든 근원섬유 단백질이 완전히 분해되어 전기영동상 매우 희미한 band로 검출되어 매우 강력하게 단백질 분해가 진행되었음을 알 수 있었다.

따라서 새우젓내에 존재하는 단백질 분해효소는 육류 단백질에 대하여 강력한 분해 작용을 나타내었으며 이러한 분해는 가열변성된 기질을 사용하였을 경우 더욱 더 현저하게 진행되었으며 비가열 기질일 경우에도 매우 원활히 단백질을 분해하였다.

기질에 따른 새우젓 조효소액의 분해력을 측정하기 위하여 기질농도에 대한 protease activity를 측정하여 Fig. 42에 나타내었다. 기질은 100℃에서 20분간 처리한 가열변성육을 사용하였다. 기질의 농도가 증가할수록 protease activity는 완만히 증가하였으며 그 이후 평형에 도달하였다. 계육이 가장 원활하게 분해되었으며 돈육, 우육의 순으로 분해가 원활히 진행되었다. 계육에 대한 분해능을 100%로 설정하였을 때 돈육이 47%, 우육이 31%에 상당하였다. 따라서 가열변성한 기질의 경우 계육이 가장 원활히 분해됨을 알 수 있었다.

나. 우육, 돈육, 계육 단백질의 시간별 단백질 분해 패턴

새우젓 조효소액을 가열변성 시킨 육류 단백질에 반응시켜 시간 경과

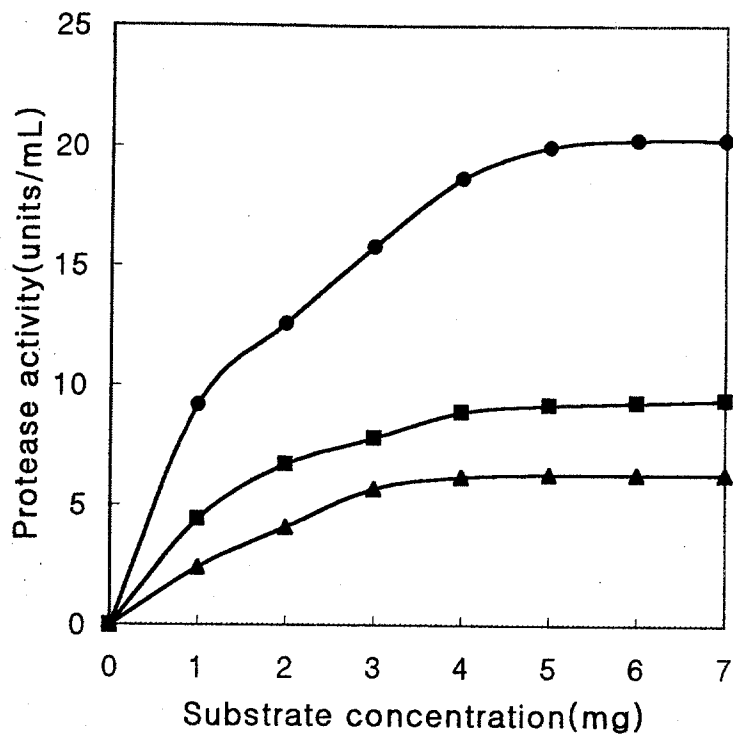


Fig. 42. Effect of substrate concentration on the protease activity.

Substrate concentration curves were drawn on a plot of substrate concentration(mg of protein) versus initial rate(enzyme activity). The substrate used for comparison were heat-denatured beef(▲-▲), heat-denatured pork(■-■) and heat-denatured chicken(●-●)

에 따른 단백질 분해 양상을 측정하기 위해 1분 단위로 실험구를 취하여 SDS-PAGE한 결과를 Fig. 43에 나타내었다. (A)에 나타낸 가열변성한 우육의 분해 패턴을 살펴보면 1분 반응시 MHC, A, TM 및 150K, 100K에 상당하는 성분들이 분해된 양상을 나타내었으며 1분 이후 시간의 경과에 따라 급격한 단백질 분해가 일어나지 않았다. 가열변성한 돈육을 기질로 사용하여 조효소액과 반응시켰을 때의 단백질 분해 패턴을 (B)에 나타내었다. 1분 반응후 MHC, A, TM 및 150K, 100K에 상당하는 subunit의 원활한 분해가 진행되었다. 비교적 안정하다고 알려져 있는 actin의 경우도 MHC의 분해와 동시에 분해가 진행되었으며 4분 이상 반응시 거의 모든 근원섬유 단백질이 분해되었으며 전기영동시 front line에 해당하는 위치에 분해된 저분자의 단백질이 검출되어 매우 급격한 단백질 분해가 일어났음을 알 수 있었다. 계육을 가열변성하여 새우젓 조효소액에 반응시켰을 때의 단백질 분해 결과를 (C)에 나타내었다. 계육의 경우 1분 반응후의 결과는 대조구와 별반 차이를 나타내지 않아 MHC 만 약간 분해된 결과로 원활한 분해가 이루어지지 않은 것으로 나타났다으나 2분 반응후부터 거의 모든 MHC가 분해되었으며 이와 동시에 actin 및 TM 등이 급격히 분해되는 양상을 나타내었다.

4. 새우젓을 이용한 소스제품 개발

가. Dipping 소스제품 개발

육류 섭취시 짝어 먹을 수 있는(dipping) 소스 제품을 개발하고자 새우젓에 존재하는 단백질 분해 효소의 활성을 최대한 유지시키면서 단백질 분해력이 기대되는 배즙(pear juice)을 첨가하여 단백질 분해 효율을 최대화 하고자 하였다. 또한 국제적인 감각의 육류 단백질 분해 특성

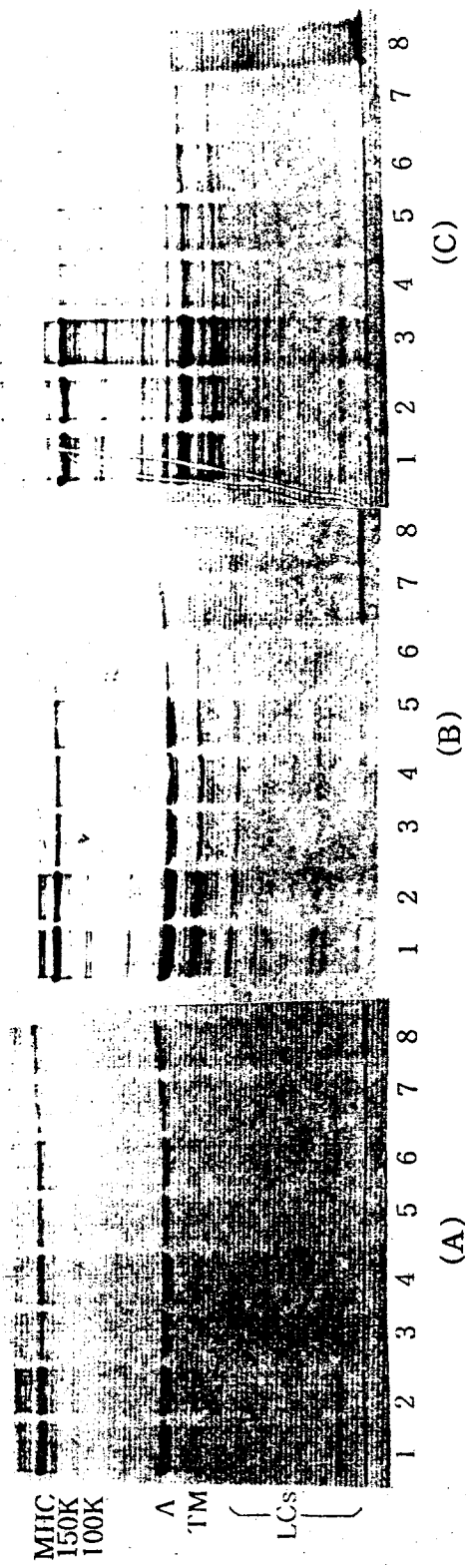


Fig. 43. SDS-PAGE patterns of solubilized protein from various meat muscle incubated with crude protease at 37°C (time course).
 (A) beef (B) pork (C) chicken meat.
 Lane 1: control (raw meat), 2: heat-denatured meat at 100°C for 20 min, 3, 4, 5, 6, 7 and 8: heat-denatured meat incubated with crude protease from saewoojeot for 1, 2, 3, 4, 5 min and 1 hr, respectively.

의 dipping sauce 제품으로 개발하기 위하여 새우 어체를 완전히 마쇄하여 새우어체가 보이지 않게 하였으며 Xanthan gum 및 천연 향신료 등을 첨가하여 적정 물성 및 조미 배합비를 결정하였다. 관능검사에 의해 결정된 dipping 소스의 최적 배합비는 Table 43에 나타내었다.

Table 43. Recipe of developed dipping sauce

| Ingredients | Ratio(%) | Ingredients | Ratio(%) |
|-----------------|----------|--------------------|----------|
| Shrimp juice | 46 | Sesami | 0.2 |
| Pear juice | 46 | Egg dye | 2.0 |
| Garlic(crushed) | 4.5 | Xanthane gum | 0.1 |
| Green onion | 2.0 | Red pepper(powder) | 0.2 |
| Mustard sauce | 1.0 | | |

나. 육류 연화용 조미소스 제품 개발

돼지고기나 갈비 및 쇠고기에 대한 조미 및 육질연화용 소스제품을 개발하고자 하였다. 새우젓에 존재하는 단백질 분해 효소는 삶은 돼지고기를 원활히 분해 할 뿐만 아니라 삶지 않은 돼지고기도 원활히 분해하는 특성을 가지고 있으므로 이러한 특성을 이용하여 육류 연화용 조미소스를 개발하고자 하였다. 단백질 분해 활성을 극대화 시키고자 파인애플 즙을 첨가하여 새우젓을 희석하였으며 물엿과 간장 등을 사용하여 기호도가 우수한 배합비를 결정하였다(Table 44). 개발된 육류 연화용 조

미소스를 이용하여 돼지고기 및 소고기를 30분 정도 처리하였을 때 최적의 연화 정도를 나타내었으며 그 결과 부드러운 조직감 및 맛을 나타내었다.

Table 44. Recipe of developed seasoning and tenderizing sauce.

| Ingredients | Pork sauce(%) | Beef sauce(%) |
|------------------|---------------|---------------|
| Shrimp juice | 13 | 12 |
| soy sauce | 5 | 24 |
| Sugar | 11 | 13 |
| Pineapple juice | 11 | 12 |
| Sugar syrup | 27 | 27 |
| <i>Gochujang</i> | 21 | - |
| Onion | 6 | 6 |
| Garlic(crushed) | 6 | 6 |
| Pepper, Caramel | trace | trace |

5. 개발 제품의 품질 특성 및 저장 특성

개발 제품은 Screw capped bottle에 넣어 10℃ 항온 조건에서 저장하면서 단백질분해력, 총균수 등 품질 특성에 대한 경시적인 변화를 조사하였다.

가. Dipping sauce의 저장 특성 구명

(1) pH의 변화

10℃에서 저장하면서 10일 간격으로 시료를 취하여 pH를 측정하였다. 초기에는 pH 8.25를 나타내었으며 저장기간이 경과함에 따라 pH가 저하되는 특성이 있었다. 저장 60일 이후에는 6.80의 pH를 나타내었다. 이는 부재료에 혼합된 당류등에 의한 발효가 진행된 결과로 산이 생성되었기 때문으로 판단되었다. 따라서 산이 생성되므로 저장성이 연장되는 효과가 있는 것으로 생각되었다.

(2) 산도 변화

초기의 산도는 0.16%를 가지고 있었으며 시간이 경과함에 따라 완만히 산도가 증가하는 경향이였다. 저장 30일 경에는 0.26%의 산도를 가지고 있었으며 저장 60일 경에는 0.42%의 산도를 나타내었다. 이는 염도가 10%이고 첨가된 당류에 의해 젖산발효가 일어난 결과로 생각되었다.

(3) 총균수의 변화

Dipping sauce 제조 직후의 초기 미생물 수는 2.3×10^3 colony/g으로 측정되었으며 저장 기간이 경과함에 따라 완만히 증가하는 경향을 나타내었다. 저장 30일 경우에는 10^4 colony/g의 총균수를 가지고 있었으며 저장 60일 경에는 10^6 colony/g 정도의 총균수를 가지고 있었다.

이는 dipping sauce내의 단백질 분해 효소를 실행 시키지 않기 위해 살균 공정을 피한 제품이기 때문에 미생물의 성장이 일어나는 것으로 생각되었으나 이러한 미생물의 성장은 위생지표상 문제가 되는 유해세균이라기 보다는 산을 생성하는 젖산균이 총균수의 90% 이상이므로 위생상

문제는 되지 않을 것으로 사료되었다.

(4) 관능적 기호도의 변화

저장기간을 달리한 시료에 대하여 5점 평점의 관능검사를 실시하였으며 그 결과를 Table 45에 나타내었다. 제조 직후의 시료를 대조구로 하였으며 대조구와 차이가 없을 때는 5.0, 보통으로 차이가 있을 때는 3.0, 차이가 많이 있을 때는 1.0으로 하였다. 저장 기간이 경과함에 따라 기호도는 서서히 감소하였으며 30일이 경과하였을 때 4.32를, 60일 경과하였을 때 3.95의 기호도를 나타내어 저장 60일 까지 커다란 품질상의 차이는 인정되지 않는 것으로 판단되었다.

Table 45. Changes in sensory properties of shrimp dipping sauce during storage at 10°C

| Sample | Storage time(days) | | | | | | |
|---------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|
| | Initial | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| Dipping sauce | 4.91 | 4.85 | 4.65 | 4.32 | 4.12 | 4.03 | 3.95 |

나. 육류연화용 조미소스의 저장 특성 구명

(1) pH의 변화

개발 제품을 10°C 정온 조건에 저장하면서 pH의 변화를 측정하여 그 결과를 Table 46에 나타내었다.

Table 46. Changes in pH of meat tenderizing sauces during storage at 10°C

| Sample | Storage time(days) | | | | | | |
|----------------------------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| Pork sauce | 5.24 | 5.18 | 5.13 | 5.07 | 5.03 | 4.92 | 4.87 |
| Beef sauce | 5.42 | 5.37 | 5.32 | 5.26 | 5.20 | 5.14 | 5.09 |
| Commercial sauce A ¹⁾ | 5.18 | 5.16 | 5.14 | 5.10 | 5.07 | 5.05 | 4.99 |
| Commercial sauce B ¹⁾ | 5.25 | 5.24 | 5.24 | 5.23 | 5.20 | 5.17 | 5.16 |

1)Commercial sauce for seasoning pork

2)Commercial sauce for seasoning beef

모든 처리구에서 완만하게 pH가 감소하는 경향으로 나타났으며 시판품 보다는 시제품의 pH 감소폭이 크게 나타났다. 이는 시제품 내에 존재하는 단백질 분해 효소가 계속적으로 작용하고 있기 때문으로 추측되었다.

(2) Protease activity의 변화

개발 시제품은 대조구에 비하여 비교적 빠른 속도로 단백질 분해 활성이 감소하는 것으로 나타났는데 이는 시판품의 경우 살균 제품으로서 미생물의 성장등이 억제되므로 품질 변화가 뚜렷하지 않는 반면에 개발 시제품의 경우 단백질 분해 효소의 작용을 최적화 하기 위해 살균 공정

을 거치지 않기 때문에 미생물 및 효소에 의해 품질 변화가 일어나는 것으로 사료되었다. 돼지 고기 sauce의 경우 초기의 단백질 분해 효소 활성은 4.17로, 갈비 sauce의 경우 4.10으로 나타나 시판 돼지 고기용 연화 sauce 0.41, 시판 갈비용 연화 sauce 0.32에 비하여 돼지고기 sauce의 경우 10.17배 높은 활성을 가지고 있었으며 갈비 연화용 sauce에 비하여 12.81배 높은 활성을 나타내었다(Table 47). 육류연화용 조미소스는 10℃ 이하의 냉장보관시 약 60일이 경과하여도 기존 제품에 비하여 약 10배 이상의 단백질 분해활성을 나타내었다.

Table 47. Changes in protease activity of meat tenderizing sauce during storage at 10℃ (unit : $\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{min}$)

| Sample | Storage time(days) | | | | | | |
|----------------------------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| Pork sauce | 4.17 | 4.12 | 4.05 | 3.93 | 3.89 | 3.81 | 3.72 |
| Beef sauce | 4.10 | 4.06 | 3.97 | 3.87 | 3.81 | 3.73 | 3.63 |
| Commercial sauce A ¹⁾ | 0.41 | 0.40 | 0.41 | 0.39 | 0.38 | 0.38 | 0.37 |
| Commercial sauce B ¹⁾ | 0.32 | 0.32 | 0.31 | 0.29 | 0.28 | 0.27 | 0.28 |

1)Commercial sauce for seasoning pork

2)Commercial sauce for seasoning beef

(3) 총균수의 변화

총균수의 변화는 시판품 및 시제품 모두 커다란 변화가 없는 것으로 나타났다. 시판품의 경우 살균 제품이지만 저온 살균에 의해 10^2-10^3 colony/g 정도의 미생물이 검출되었으며 시제품의 경우 10^3-10^4 colony/g 정도의 미생물이 검출되었다. 시제품의 경우 살균 공정을 거치지 않기 때문에 완만하게 미생물 수가 증가하는 경향으로 나타났으나 시판품의 경우 저장 기간 경과에 따른 미생물수의 급속한 증가는 관찰되지 않았다. 이는 시판품 및 시제품에 사용되는 과당, 물엿 등에 의해 수분 활성이 낮아져 미생물의 성장을 억제하였기 때문이라고 사료되었다.

(4) 관능적 기호도의 변화

저장기간을 달리한 시료에 대하여 5점 평점의 관능검사를 실시하였으며 그 결과를 Table 48에 나타내었다. 제조 직후의 시료를 대조구로 하였으며 대조구와 차이가 없을 때는 5.0, 보통으로 차이가 있을 때는 3.0, 차이가 많이 있을 때는 1.0으로 하였다. 저장 기간이 경과함에 따라 기호도는 서서히 감소하였으며 30일이 경과하였을 때 돼지고기 연화용 소스의 경우 4.44를, 갈비연화용 소스의 경우 4.12를 나타내었다. 60일이 경과하였을 때 돼지고기 연화용 소스의 경우 4.02를, 갈비 연화용 소스의 경우 3.68의 기호도를 나타내어 돼지고기 연화용 소스 보다는 갈비 연화용 소스의 품질변화가 더욱 더 많이 진행됨을 알 수 있었다. 그러나 두 가지 개발 제품 모두 10°C 조건에서 저장 60일 까지 커다란 품질상의 차이는 인정되지 않는 것으로 판단되었다. 따라서 개발 제품을 cold chain을 이용하여 유통한다면 120일 이상 품질이 안정할 것으로 사료되었다.

Table 48. Changes in organoleptic acceptability of meat tenderizing sauce during storage at 10°C

| Sample | Storage time(days) | | | | | | |
|------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|
| | Initial | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| Pork sauce | 4.74 | 4.67 | 4.52 | 4.44 | 4.21 | 4.10 | 4.02 |
| Beef sauce | 4.67 | 4.52 | 4.31 | 4.12 | 3.94 | 3.84 | 3.68 |

다. 개발제품의 품질 특성 및 저장 특성

기존의 시판품의 경우 단백질 분해 효소를 첨가하여 제조되지 않으며 단지 조미용 소스로 제조되어 판매되고 있는 실정으로 살균 공정을 거치기 때문에 저장 기간중 품질의 급격한 변화가 없는 것으로 판단되었다.

개발 시제품의 경우 새우젓내 존재하는 강력한 단백질 분해 효소를 첨가하여 제조하였으며 분해 활성을 극대화 하기 위해 식물성 유래의 단백질 분해 효소를 첨가하여 제조하였기 때문에 육류를 원활히 분해하여 연화시키는 우수한 기능이 있었다. 하지만 기존의 시판품 처럼 살균 공정을 거치기 어려운 점이 있으므로 상온 유통 보다는 cold chain을 이용한 저온 유통용 제품으로 적합할 것으로 사료되었다.

제 4 절. 제조립 어란 및 발효어란 제품의 개발

1. 명란, 청어란을 원료로한 제조립 어란 개발

가. 제조립 어란 제품 개발 전략

破卵 상태의 명란과 청어란을 이용하여 새로운 타입의 고 부가가치 어란제품을 개발하고자 하였다. 명란, 청어란을 일반 소시지 casing에 충전하여 포화식염수에 염지한 다음 상온에서 숙성시켰다. 숙성 중 단백질 분해에 의한 결착능이 생성되고 발효풍미가 우수한 새로운 타입의 제품 개발을 목적으로 하였다.

나. 제조립 어란 제품 개발 공정

파란상태의 명란, 청어란을 소시지 casing(collagen edible casing)에 충전하여 포화식염수에 염지한 상태로 숙성, 발효 시켰다. 숙성이 진행된 후 fresh water에 방치하여 탈염한 후 casing을 제거하고 냉풍건조기에서 수분을 조정한 후 성형하여 어란 제품을 개발하였다. 개발된 어란제품의 제조공정도는 다음과 같다.

명란의 경우 sausage casing(edible collagen or cellulose casing)에 stuffing 하여 포화식염수중에 brining하고 숙성 후 건조하였을 때 전통 방식에 의해 제조된 어란과 유사한 향미를 나타내었으며 결착성이 우수하게 나타났으며 우수한 재성형 특성도 있었다. 청어란의 경우 brining 후 담수에 침지하여 탈염하였을 때 과도하게 탈염되는 경향이 있으며 또한 건조후 gel 형성능이 명란과는 다르게 매우 약한 것으로 나타났다.

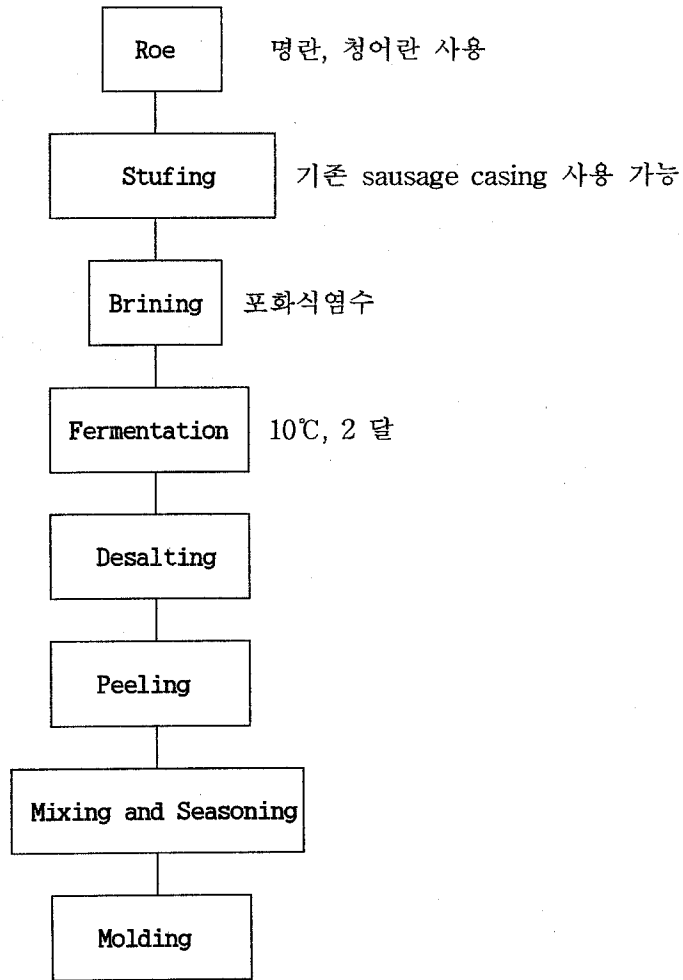


Fig. 44. Scheme process of developed fermented-roe.

다. 개발제품의 관능적 기호도

10인의 관능 panel에 대하여 맛, 발효풍미, 조직감, 종합적 기호도의 항목에 대하여 5점 평점법으로 관능검사를 실시하였다(Table 49). 대조 구로는 시판되고 있는 송어알로 제조된 영암어란을 이용하였다.

개발된 재조립 발효어란은 영암어란 등의 시중 어란제품과 비교하였을 때 풍미 및 기호성이 유사한 것으로 나타나 시제품의 품질이 매우 우수함을 알 수 있었다.

Table 49. Sensory evaluation of aggregated and fermented fish roe(AFF)

| Sample | Taste | Flavor | Overall quality |
|-----------------------|-------|--------|-----------------|
| AFF | 4.03 | 3.87 | 3.85 |
| Control ¹⁾ | 4.12 | 3.68 | 3.97 |

1) Young-am fish roe

라. 개발제품의 유리 아미노산 함량의 변화

재조립 어란 제조후 유리아미노산 함량을 측정하여 Table 50에 나타내었다. Aspartic acid, glutamic acid, leucine, lysine, valine 등 필수아미노산 및 정미성 아미노산의 함량이 높게 나타났다.

Table 50. Free amino acid composition of aggregated and fermented fish roe(AFF) (unit : mg%)

| Amino acid | Raw material(fish roe) | AFF |
|---------------|------------------------|-------|
| Isoleucine | 210.4 | 281.4 |
| Leucine | 286.7 | 365.5 |
| Lysine | 413.3 | 504.5 |
| Methionine | 229.4 | 241.9 |
| Cysteine | 42.4 | 43.8 |
| Phenylalanine | 134.7 | 174.8 |
| Tyrosine | 156.8 | 217.8 |
| Threonine | 132.7 | 151.4 |
| Serine | 313.8 | 337.7 |
| Valine | 289.3 | 342.3 |
| Arginine | 366.5 | 465.7 |
| Histidine | 212.2 | 214.6 |
| Alanine | 314.5 | 375.9 |
| Aspartic acid | 444.6 | 503.8 |
| Glutamic acid | 445.7 | 625.5 |
| Glycine | 279.2 | 349.9 |
| Proline | 223.9 | 241.9 |

마. 개발제품의 물성적 특성

개발제품 및 명란 원료에 대하여 물성을 측정하여 Table 51에 나타내었다. 개발제품은 adhesiveness가 크게 감소하였으며 hardness가 135배 이상 증가하는 특성이 있었다. 따라서 파란 상태의 명란을 casing에 충전하여 brining 하면서 숙성되는 과정에서 salting out(염석, 염석)에 의한 어란 단백질의 부분 탈수에 따른 hardness의 증가, 염용성 단백질의 용출 및 응도 등 일련의 생화학적 반응으로 특이한 물성을 갖는 제품 생산이 가능하며 brine 중에서 혐기적 발효가 진행되어 풍미가 우수한 제품 생산이 가능함을 알 수 있었다.

Table 51. Rheological properties of aggregated and fermented fish roe(AFF)

| Parameters | Raw material (fish roe) | AFF |
|--------------|----------------------------|--------|
| Adhesiveness | 25.6 | 2.0 |
| Cohesiveness | 0.2 | 0.5 |
| Hardness | 13.2 | 1791.4 |
| Gumminess | 3.0 | 980.8 |

Condition : deformation 10%

2. Salami형 발효어란 제품 개발

명란, 청어란을 이용하여 발효소시지 제조 공정을 도입하여 젖산의 생성에 의한 pH의 저하 및 수분활성 저하를 유도하여 독특한 식감과 저장성이 있는 발효어란 제품을 개발하고자 하였다. Silent cutter로 세절한 후 향신료 등과 혼합한 어란 혼합물에 *Lactobacillus carnosus*, *Styphilococcus pentose* 등의 starter culture를 접종시키고 sausage casing에 충전하여 항온항습기에서 저장, 숙성시켰다. 발효어란 제조시 원재료 배합비는 실험 방법에 나타낸 바와 같다.

Cellulose casing에 stuffing한 어란 혼합물을 R.H. 80%, 12~20℃의 조건에서 약 14일에 걸쳐 숙성 발효시켜 salami형 발효어란 제품을 제조하였다. 14일 숙성후 모든 처리구에서 발효소세지 풍미와 성상을 나타내어 어란을 이용한 발효소시지 제조가 가능함을 알 수 있었다.

가. pH의 변화

어란을 이용한 발효소시지의 발효 및 건조기간 중 pH의 변화는 Fig. 45와 같이 모든 처리구에서 발효 및 건조기간이 경과됨에 따라 pH의 저하가 나타났으며 명태알 25%, surimi 25%, 돈육 40%, 지방 10%를 혼합한 B 처리구가 가장 빠른 속도로 저하되었다. 제조시 모든 처리구의 pH는 6.32~6.67의 범위를 나타내었고 발효 및 건조가 진행됨에 따라 신속하게 떨어져 2일 경과시 pH는 B 처리구의 경우 4.87, A과 C 처리구는 각각 5.17, 5.48로 저하되었으며 12일까지의 변화는 B 처리구는 4.70, A과 C 처리구는 각각 4.97, 5.04를 나타내었다. 이러한 pH의 저하는 starter로 첨가된 젖산균의 지속적인 성장으로 소시지내의 당을 분해하여 젖산을 생성시켰기 때문으로 사료되었다. 숙성중 낮아진 pH는 발효소시

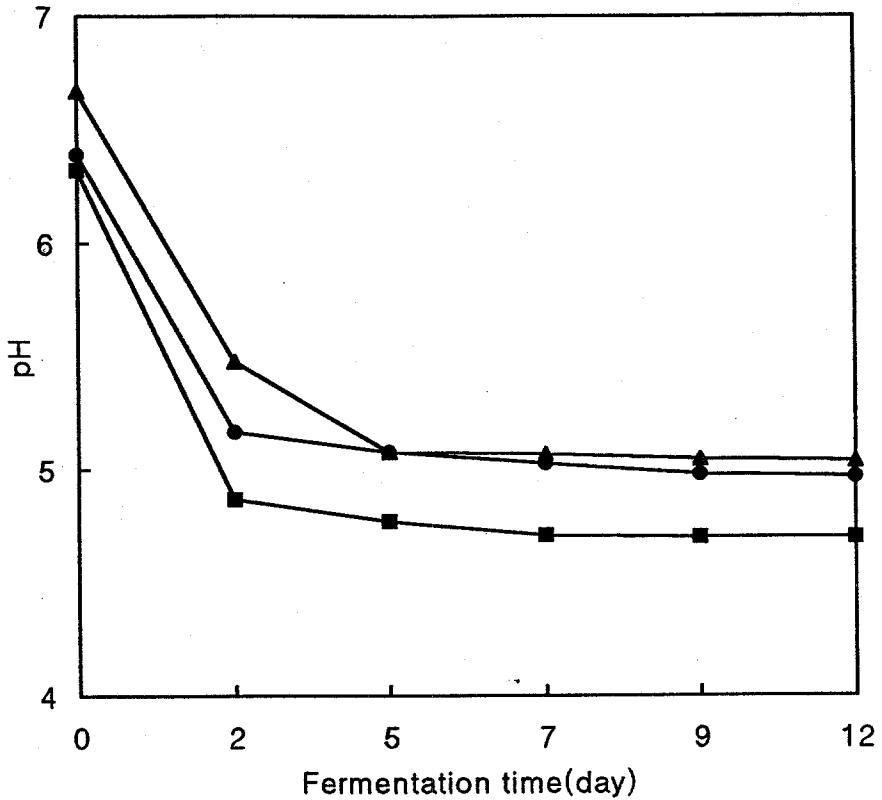


Fig. 45. Changes in pH of fermented fish roe sausage during ripening. ●-●: A (herring roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ■-■: B (pollack roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ▲-▲: C (pollack roe 25%+surimi 65%+pork back fat 10%).

지의 결착을 좋게하는데 건조에 따른 탈수에 의해 지방입자와 육입자간의 결착을 더욱 증진시킨다고 하였으며 또한, pH가 낮아지면 단백질 용해도를 낮춤으로 발효소시지의 결착력을 저하시킨다는 상반된 보고도 있다.

나. 수분활성도(Aw)의 변화

어란을 이용한 발효소시지의 숙성 및 건조기간 중 Aw의 변화는 Fig. 46과 같다. 발효 및 건조 기간이 증가할수록 Aw는 감소되는 경향을 나타내어 처리구 A은 0.94에서 12일 후 0.80으로, 처리구 B는 0.96에서 0.81, 처리구 C는 0.94에서 0.79로 C 처리구가 가장 낮은 수분활성도를 나타내었다. Leistner등의 보고에 의하면 발효소시지의 저장 안정성에 영향을 미치는 요소들 중 Aw가 가장 중요한 요소라고 하였으며 발효 육제품의 부패균인 그람 음성 세균은 대부분 Aw에 내성이 약하므로 발효 육제품의 원료육에 오염된 부패균이 숙성 초기에 증식할 수 없도록 작용한다고 보고되고 있다.

다. 젖산균의 변화

어란을 이용한 발효소시지의 발효 및 건조기간 중 젖산균의 증식 변화는 Fig. 47과 같이 초기 제조시 젖산균 수는 10^6 colony/g 정도로 측정되었으며 발효 및 건조기간이 진행됨에 따라 급격히 증가하여 2일 후에는 10^8 colony/g 정도였으며 그 이후로 완만한 증가를 나타내었다. 이는 건조가 진행됨에 따라 수분활성도가 저하되어 0.90 이하의 수치를 나타내는 5일 이후의 젖산균의 급격한 성장은 이루어지지 않음을 알 수 있었다. 숙성 초기의 빠른 젖산균의 증식은 발효 소시지 제조에 우려되는

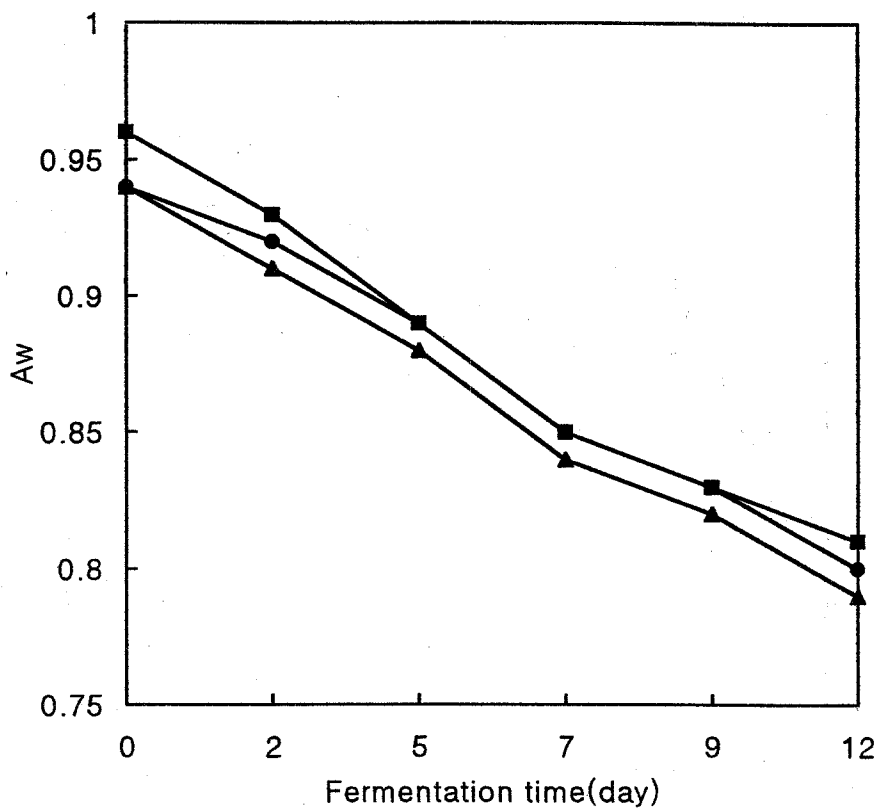


Fig. 46. Changes in water activity of fermented fish roe sausage during ripening. ●-●: A (herring roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ■-■: B (pollack roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ▲-▲: C (pollack roe 25%+surimi 65%+pork back fat 10%).

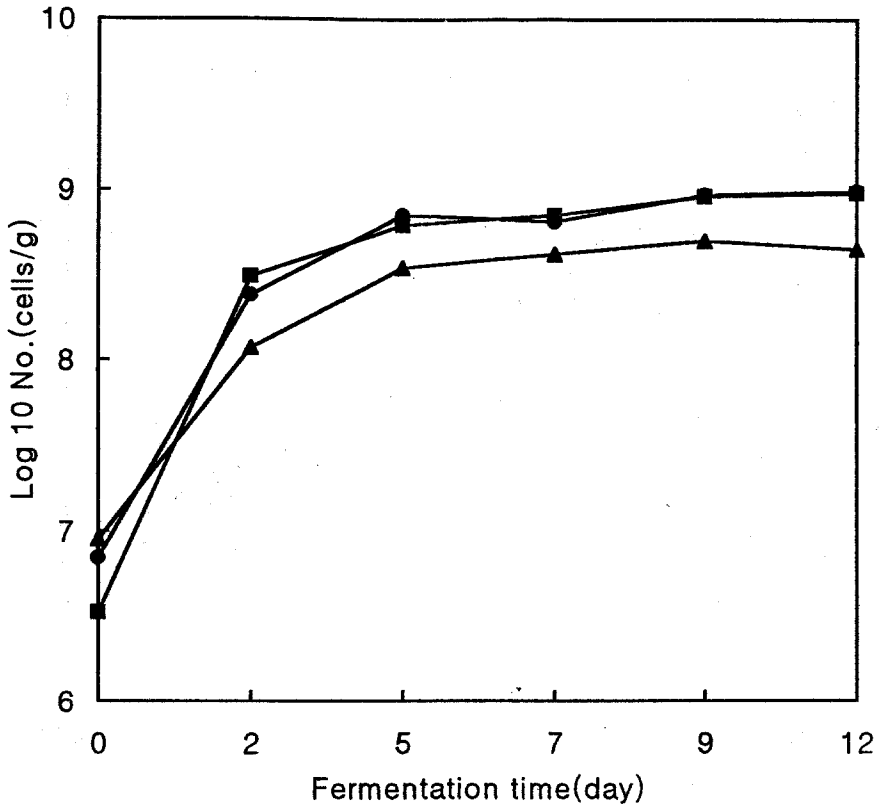


Fig. 47. Changes in lactic acid bacteria cell count of fermented fish roe sausage during ripening.
 ●-●: A (herring roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ■-■: B (pollack roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ▲-▲: C (pollack roe 25%+surimi 65%+pork back fat 10%).

그람 음성 부패균의 증식을 억제하므로 육제품의 안정성에 직접적인 영향을 미친다고 보고되고 있다.

라. 대장균의 변화

어란을 이용한 발효소시지 제조는 젖산균의 대사에 의해 숙성이 진행되므로 위해 미생물의 대표 세균인 대장균수도 중요한 품질 요인으로 발효 및 건조기간 중 대장균수의 변화는 Fig. 48과 같이 초기에는 $10^3 \sim 10^4/g$ 을 나타내었으며 발효 및 건조기간이 진행됨에 따라 감소하는 경향을 나타내어 7일 이후에는 $10^2/g$ 정도의 수를 나타내었고 숙성 말기인 14일에는 모든 처리구에서 검출되지 않아 미생물적으로 안정함을 알 수 있었다.

마. 색도의 변화

어란을 이용한 발효소시지의 색도를 측정한 결과는 Fig. 49에 나타난 바와 같다. 밝기를 나타내는 L 값과 황색을 나타내는 b 값은 발효 및 건조 기간이 경과함에 따라 감소하여 A, B, C 처리구의 L 값이 각각 제조시에는 41.4, 42.6, 41.4, 12일 후에는 38.9, 33.9, 31.9를 나타내었으며 b 값은 각각 제조시에는 10.7, 10.2, 12.8, 12일 후에는 8.78, 9.63, 6.98을 나타내었다. 한편 적색을 나타내는 a 값의 변화는 발효 및 건조 기간이 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었고 특히 제조시 A, B, C 처리구의 a 값이 각각 8.17, 8.17, 3.31을 나타내었으며 12일 경과 후 각각 9.4, 9.50, 9.36을 나타내어 C 처리구가 큰 폭으로 증가하였으며 A와 B 처리구와 비슷한 수치를 나타내었음을 알 수 있었다.

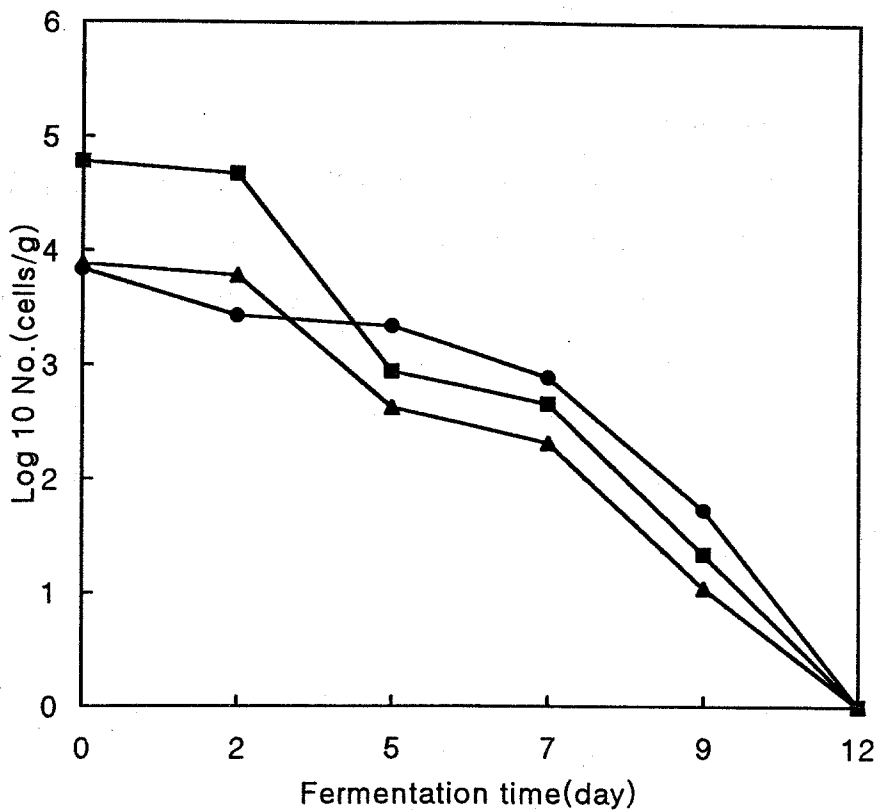


Fig. 48. Changes in enterobacteria cell count of fermented fish roe sausage during ripening. ●-●: A (herring roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ■-■: B (pollack roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ▲-▲: C (pollack roe 25%+surimi 65%+pork back fat 10%).

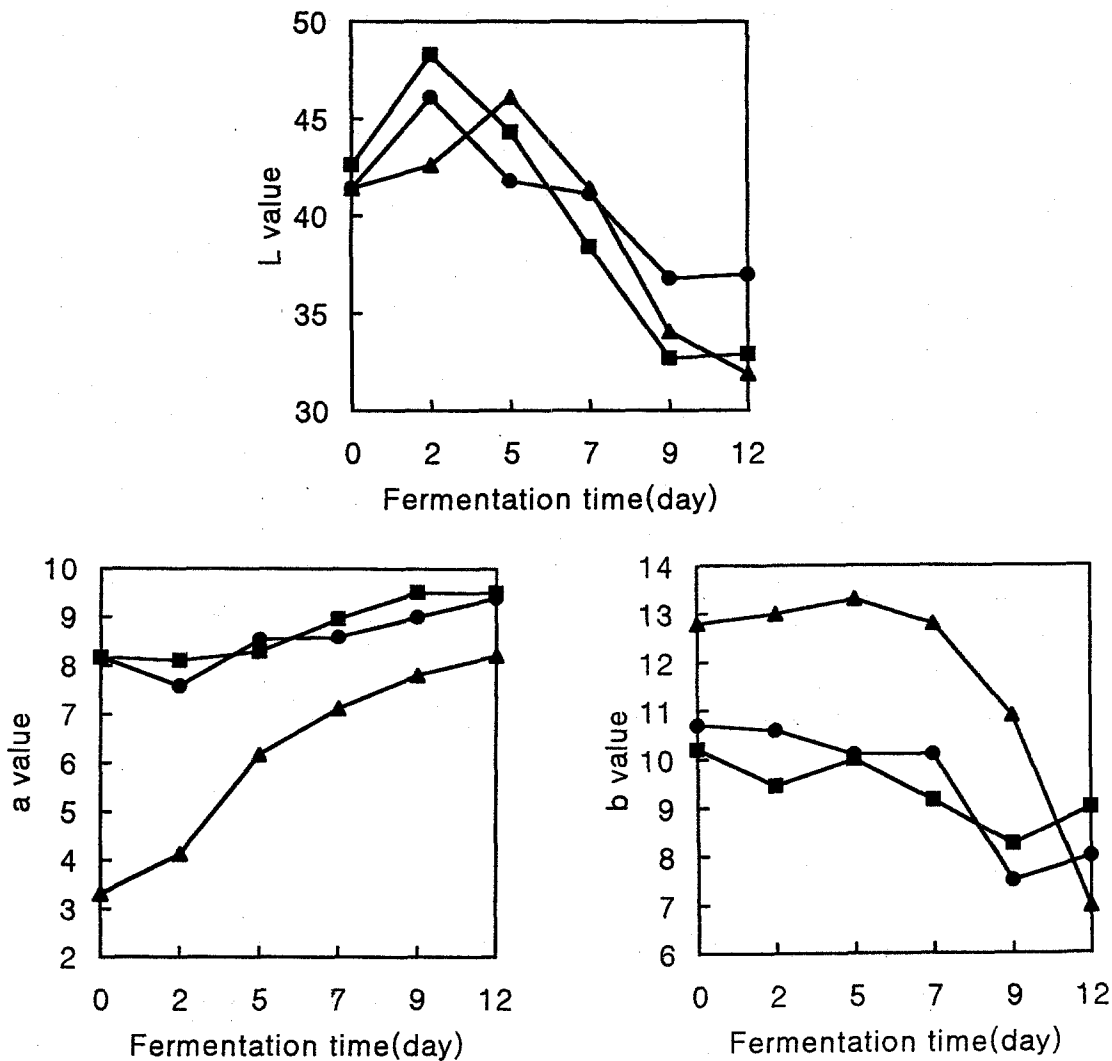


Fig. 49. Changes in color index of fermented fish roe sausage during ripening. ●-●: A (herring roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ■-■: B (pollack roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ▲-▲: C (pollack roe 25%+surimi 65%+pork back fat 10%).

바. 수분 함량 및 Weight loss(shrinkage)의 변화

어란을 이용한 발효소시지의 발효 및 건조기간 중 수분 함량을 측정한 결과는 Fig. 50과 같이 제조시 A, B, C 처리구의 수분 함량이 각각 55.8%, 60.1%, 61.8%로 나타났으며 12일 경과시 각각 46.3%, 45.7%, 41.5%로 C 처리구가 가장 낮게 나타났음을 알 수 있었다. 또한 어란을 이용한 발효소시지의 발효 및 건조 기간 중 중량감소율을 측정한 결과 Fig. 51과 같이 12일 경과 후 A, B, C 처리구의 중량감소가 각각 15.50%, 13.46%, 20.08%로 C 처리구가 가장 높게 나타나 수분 함량이 높은 경우 중량감소가 더 큼을 알 수 있었다. 수분 함량 및 중량감소는 발효소시지를 분류하는 지표로 수분 50%, 중량감소 20%정도는 semi-dry sausage로, 수분 35%, 중량감소 40%는 dry sausage로 분류되는 보고에 의하면 본 실험에서 어란을 이용한 발효소시지의 경우 12일 숙성시 semi-dry sausage의 기준에 미침을 알 수 있었다.

제 5 절. 저염 조개젓 개발

1. 수분활성 조절 방법 및 brining 중 이화학적 변화 양상

염농도 10%(w/v), 15%, 20%의 식염수 및 포화식염수에 의한 brining 및 dry salting에 의한 조개육의 염지과정중 수분활성 변화 양상을 고찰하였다(Fig. 52). 10% 염용액을 사용하였을 경우 0.9 이상의 수분활성도를 나타내었으며 20% 염용액을 사용하였을 경우 초기 3시간까지는 탈수가 진행되어 0.8 정도의 수분활성을 나타내었지만 그 후 시간이 경과함에 따라 수분활성도는 증가하여 10% 염용액을 사용하였을때와

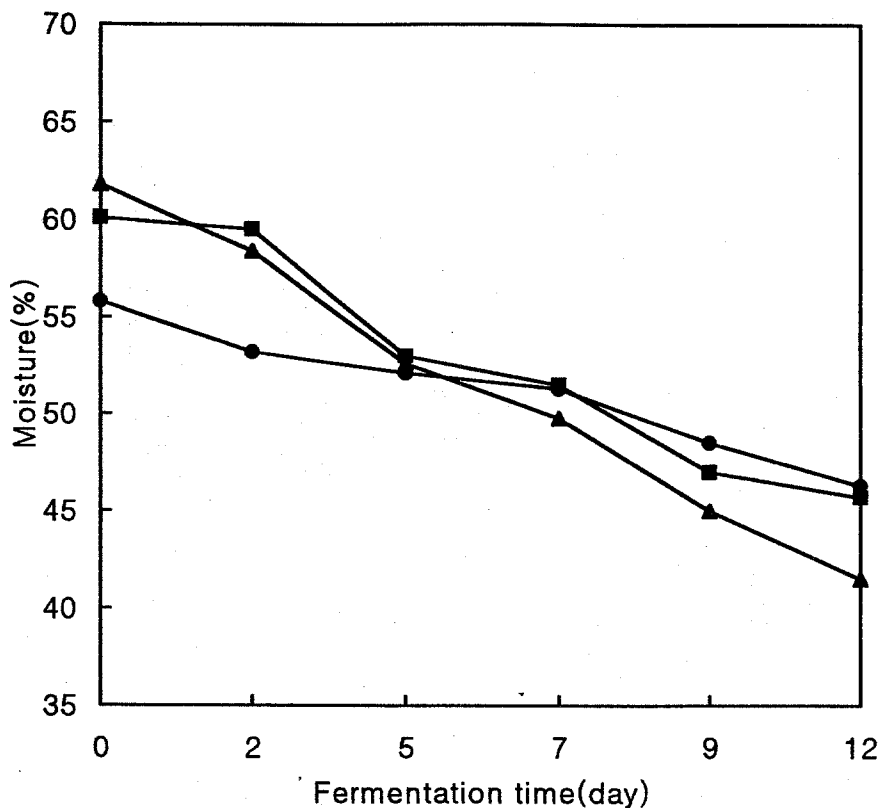


Fig. 50. Changes in moisture contents of fermented fish roe sausage during ripening. ●-●: A (herring roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ■-■: B (pollack roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ▲-▲: C (pollack roe 25%+surimi 65%+pork back fat 10%).

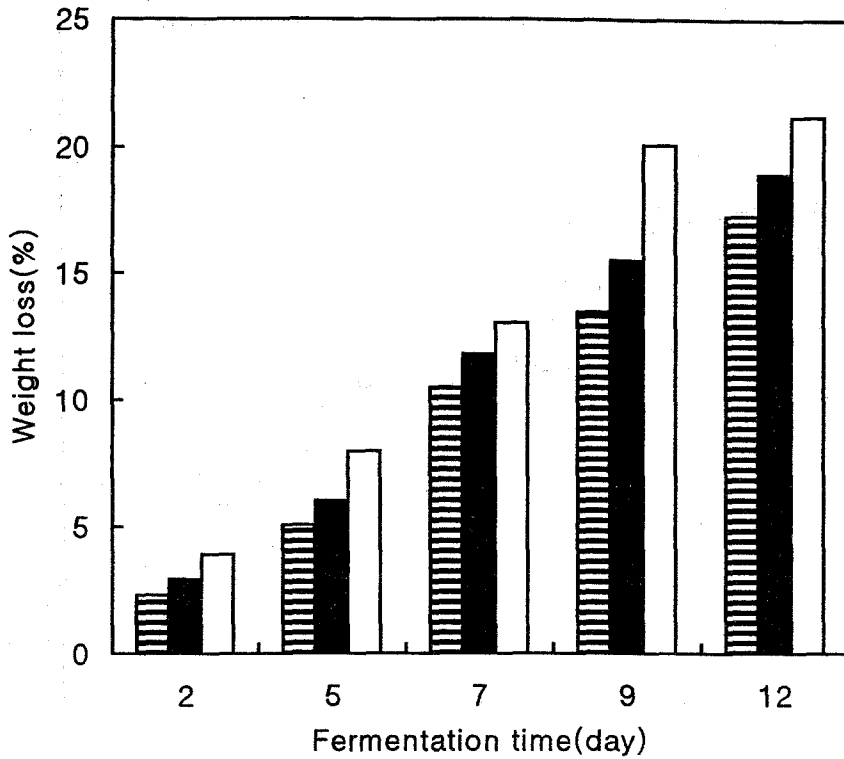


Fig. 51. Changes in weight loss of fermented fish roe sausage during ripening. ▨-▨: A (herring roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), ■-■: B (pollack roe 25%+surimi 25%+lean pork 40%+pork back fat 10%), □-□: C (pollack roe 25%+surimi 65%+pork back fat 10%).

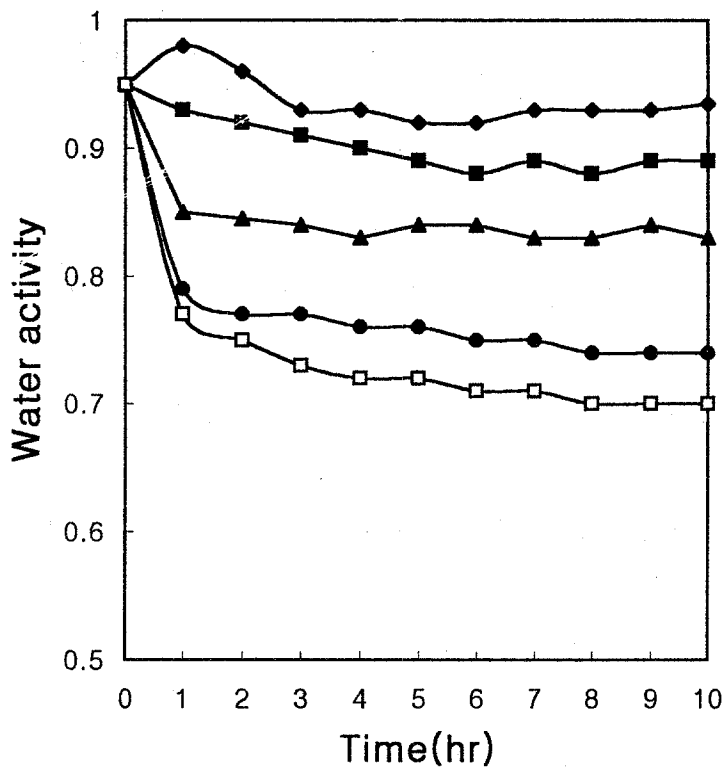


Fig. 52. Changes in water activity of short-necked clam during brining. ◆-◆: 10%, ■-■: 15%, ▲-▲: 20%, ●-●: saturated NaCl solution and □-□: dry salting

거의 같은 수준의 수분활성도를 나타내었다. Dry salting 하였을 경우와 포화식염수를 사용하여 brining 하였을 경우 0.75 이하의 수분활성도를 나타내어 발효 초기 효소안정화에 의한 저염 조개젓 생산 가능성이 있음을 알 수 있었다.

2. 수분활성이 조절된 조개젓의 숙성 특성

바지락을 포화식염수에 brining하여 염농도를 10%로 조정된 처리구와 건염을 10% 첨가하여 제조한 처리구를 4℃에서 숙성시키면서 이화학적 변화를 측정하였다.

가. pH의 변화

숙성중 조개젓의 pH 변화를 측정하여 Fig. 53에 나타내었다. 건염을 10% 첨가한 처리구는 숙성 15일 까지 pH가 감소하였으며 그 이후 완만히 증가하였으며 75일 이후 매우 급격히 증가하였다. 포화식염수에 brining하여 염농도를 10%로 조정된 처리구는 숙성 45일까지 pH가 감소하였으며 그 이후 완만히 증가하는 경향이였다.

나. 아미노태 질소 함량의 변화

숙성중 아미노태 질소 함량을 측정하여 Fig. 54에 나타내었다. 포화식염수에 brining한 처리구는 저장 기간중 안정적인 발효양상을 나타내어 저장 90일 경에 600mg%를 상회하여 숙성적기에 다달았으나 건염처리구의 경우 저장 60일부터 아미노태 질소 함량이 급격히 증가하였으며 관능적으로도 부패에 의한 변질이 관찰되었다.

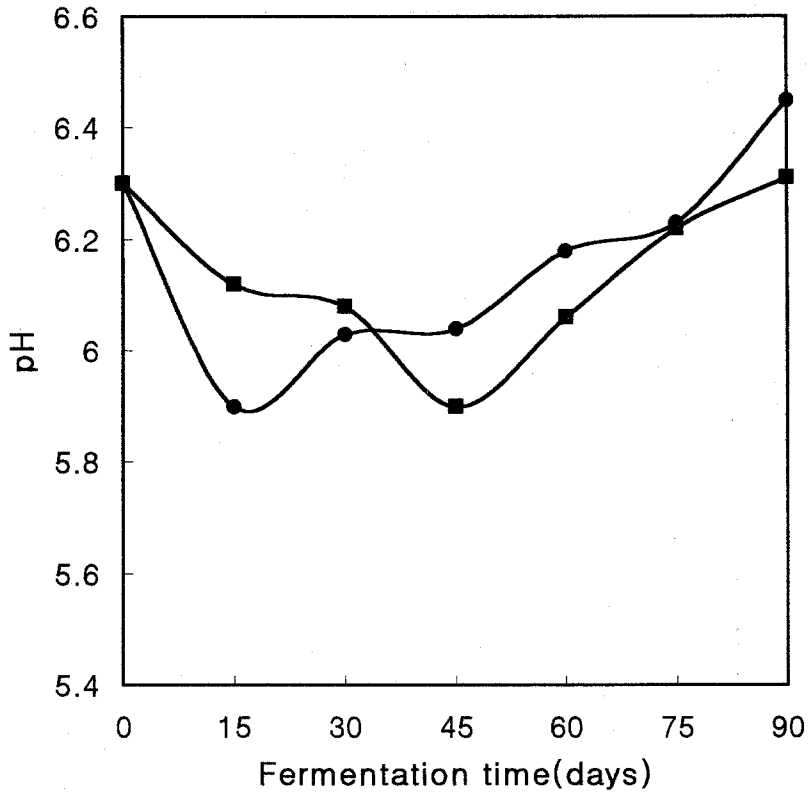


Fig. 53. Changes in pH of salted short-necked clam differs in salting method during fermentation at 4°C. ●-●: 10% dry salting, ■-■: brining

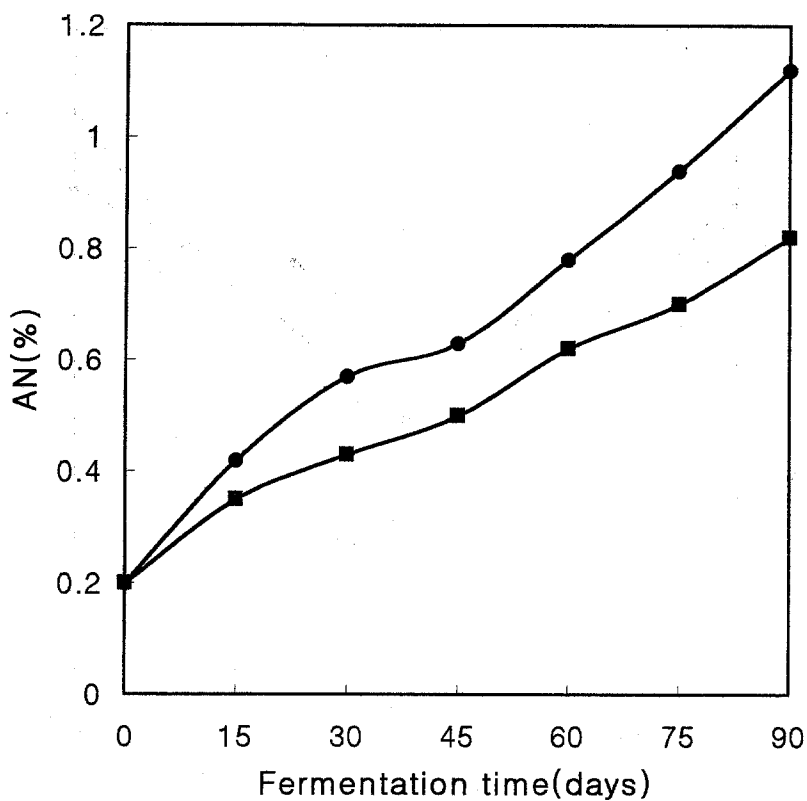


Fig. 54. Changes in amino nitrogen(AN) content of short-necked clam differs in salting method during fermentation at 4°C. ●-●: 10% dry salting, ■-■: brining

다. 조개육의 숙성온도에 따른 pH의 변화

Brining에 의해 염농도가 10%로 조정된 조개젓을 -20, 0, 4, 10, 20℃의 온도조건에서 숙성시키면서 숙성중 pH의 변화를 측정하여 Fig. 55에 나타내었다. 숙성온도가 높을수록 pH 변화폭이 크게 나타났다. 20℃ 처리구의 경우 숙성 30일 까지 pH가 저하되었다가 그 이후 급속히 pH가 증가하였다. 10℃의 경우 숙성 45일 까지 pH가 저하되었다가 다시 완만하게 증가하였다. 4℃ 이하 처리구의 경우 pH가 완만하게 변화 되었으며 처리구간의 커다란 차이는 없는 것으로 판단되었다.

라. 조개육의 숙성온도에 따른 아미노태 질소 함량의 변화

Brining에 의해 염농도가 10%로 조정된 조개젓을 -20, 0, 4, 10, 20℃의 온도 조건에서 숙성시키면서 숙성중 아미노태 질소 함량을 측정하여 Fig. 56에 나타내었다. 10, 20℃에서 숙성시켰을 경우 숙성초기부터 급격히 아미노태 질소 함량이 증가하였다. 비교적 저온인 0, 4℃에서 숙성시킨 처리구의 경우 발효초기부터 매우 완만하게 아미노태 질소 함량이 증가하여 안정적인 발효가 진행됨을 알 수 있었다. 따라서 염농도가 10% 밖에 되지 않아 이상발효 가능성이 큰 저염조개젓은 10℃ 이하의 낮은 온도에서 숙성시키는 것이 바람직함을 알 수 있었다.

제 6 절. 액젓의 무열 살균 기술 개발

1. 액젓의 고전압 펄스 전기장(High Voltage Pulsed Electric Field)을 이용한 비가열 처리에 의한 살균 효과

HVPEF 처리조건 즉 exponential wave로 펄스 지속기 10us에서 8, 16, 24, 32의 펄스의 수로 적용하여 10 KV/cm, 20 KV/cm, 30

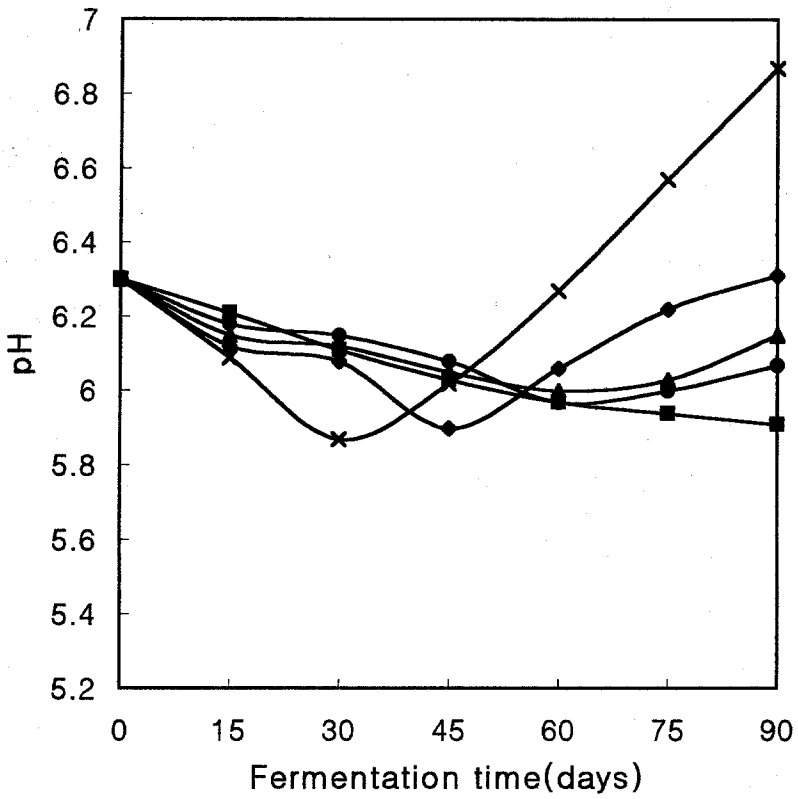


Fig. 55. Changes in pH of short-necked clam according to fermentation temperature. ■-■: -20°C, ●-●: 0°C, ▲-▲: 4°C, ◆-◆: 10°C and ×-×: 20°C

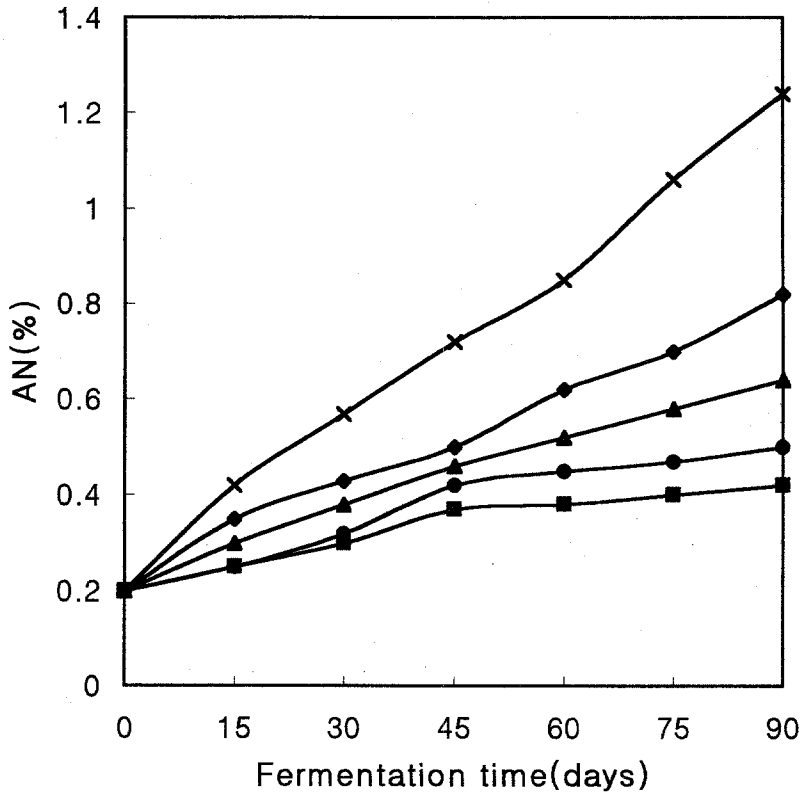


Fig. 56. Changes in amino nitrogen(AN) content of short-necked clam according to fermentation temperature. ■-■: -20°C, ●-●: 0°C, ▲-▲: 4°C, ◆-◆: 10°C and ×-×: 20°C

KV/cm, 40 KV/cm로 액젓을 처리하였을 때 소금농도가 30%인 액젓의 높은 전해질 성분 특성으로 인하여 HVPEF 처리시 급격한 온도상승이 발생하였다. 즉 10 KV/cm에서 8, 16, 24, 32 펄스의 수로 처리하였을 때 액젓의 온도는 처리전의 대조구 액젓온도 10℃에서 각각 55℃, 70℃, 80℃, 90℃로 급격히 상승하는 것으로 나타났다.

그리고 20 KV/cm에서 8, 16, 24, 32 펄스의 수로 처리시 온도는 65℃, 75℃, 85℃, 95℃로 나타났다. 30 KV/cm 처리시에는 34 펄스의 수로 처리시 거의 100℃에 이르렀고 40 KV/cm 처리시에는 24 펄스의 수일 때 100℃에 이르렀다(Fig. 57).

이로볼 때 HVPEF 처리에 의한 액젓의 고전압 펄스 전기장을 이용한 비가열 처리는 액젓의 높은 소금농도로 인한 전류의 증가로 급격한 온도상승을 초래하여 비가열 살균효과를 얻기 어려운 것으로 판단되었다. 이와함께 액젓의 비가열 처리에 의한 미생물의 사멸효과도 고온의 살균효과와 병용되어 조사하기 어려운 것으로 판단된다.

전해질이 높은 소금과 같은 성분들이 많이 함유된 시료들은 고전압 펄스 전기장(HVPEF)에 의한 비가열 살균처리 공정에 어려움이 많은데 그것은 시료에 높은 전압이 적용될 때 동시에 일정량의 전류도 흐르게 되고 이때 전해질 성분들이 전류의 흐름을 급격히 상승시켜 전류가 상승하게 되고 전류가 상승하게 될 때 필연적으로 시료의 온도가 높아지기 때문이다.

그리고 급격한 전류의 상승으로 인하여 고전압 펄스 전기장이 갖고 있는 한계 용량을 초과할 때 고전압 펄스 전기장의 장치가 충격을 받을 수 있고 이와함께 시료의 온도상승은 증기를 발생하게 되고 기포로 형성된 증기는 고전압상에서 arc를 발생하게 되어 고전압 펄스 전기장 장치

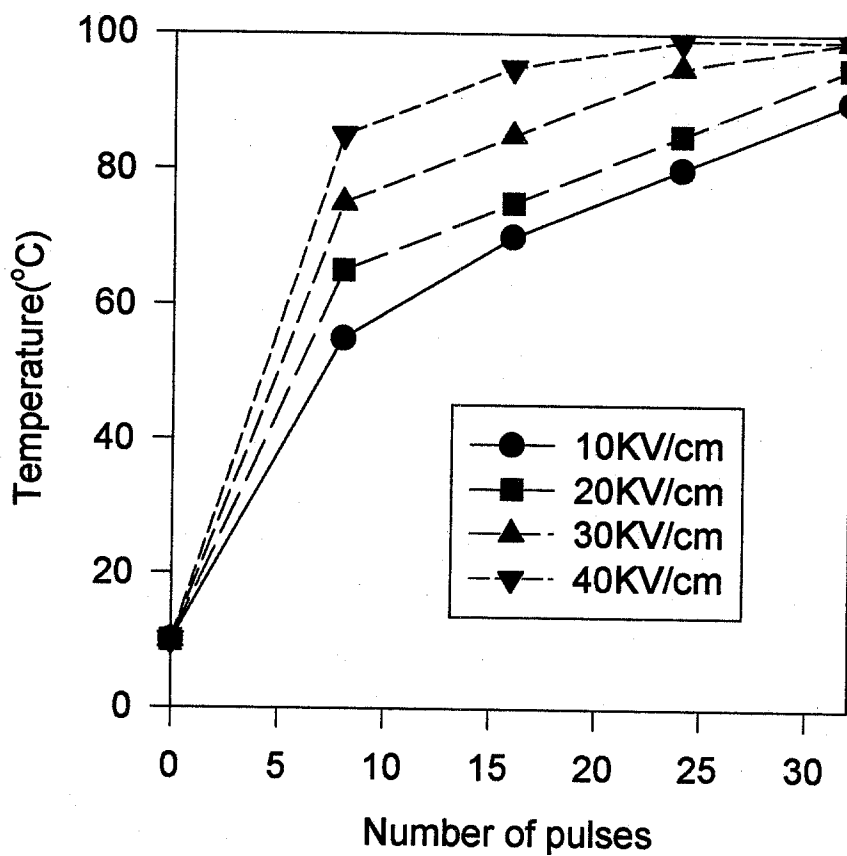


Fig. 57. Changes of temperature in model solution by High Voltage Pulsed Electric Field treatment at $10\ \mu\text{S}$ pulse length exponential wave

를 손상시킬 수 있기 때문이다.

2. 제균(除菌) 여과 가능성

가. 제균 여과의 원리

제균(除菌) 여과는 액젓중의 고형물질이나 미생물을 미세여과막을 이용하여 여과하는 방법이다. 막의 pore size를 조정하여 미생물의 제균 효과를 얻을 수 있는 동시에 열을 이용하지 않으므로 액젓류의 무열살균 공정에 이용할 수 있는 가능성이 있다.

나. 제균 여과 장치의 구성

Pore size를 0.20, 0.45 μm 의 polyclean cartridge filter 및 1 μm , 3, 5, 10, 20, 50 μm 의 cartridge filter를 이용하여 액젓을 여과하였다. 액젓은 pump를 이용하여 cartridge filter가 장착된 housing을 연속적으로 통과하도록 설치하였으며 본 실험에 사용한 여과 장치 구성은 뒤에 첨부한 부록에 나타나 있다.

다. 미생물수의 변화

Pore size가 다르게 조절된 여과 장치를 통과한 액젓을 40 $^{\circ}\text{C}$ 의 가온 조건에 저장하면서 총미생물수를 측정하여 Table 52에 나타내었다.

Pore size가 0.20, 0.45 μm 인 cartridge filter를 사용하였을 경우 여과 후 미생물이 검출되지 않았으며 그 이상의 pore size cartridge filter를 사용하였을 경우 약간의 제균 효과가 있음을 알 수 있었다.

Table 52. Microbial count of fish sauces after filtration

| Pore size(μm) | Raw | Storage period(days) | | |
|----------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
| | | Initial | 7 | 14 |
| 0.20 | 3.1×10^4 | - | - | - |
| 0.45 | 3.1×10^4 | - | - | - |
| 1 | 3.1×10^4 | 2.1×10^2 | 2.7×10^2 | 3.7×10^2 |
| 3 | 3.1×10^4 | 4.0×10^2 | 3.5×10^2 | 7.5×10^2 |
| 10 | 3.1×10^4 | 7.2×10^3 | 9.7×10^3 | 4.6×10^3 |
| 20 | 3.1×10^4 | 2.5×10^3 | 2.6×10^3 | 8.9×10^3 |
| 50 | 3.1×10^4 | 6.2×10^3 | 6.2×10^3 | 9.4×10^3 |

여과 후 여액을 저장하면서 미생물 수를 측정하였을 때 약간의 검출미생물 수에만 소폭의 차이만 있을 뿐 일정한 미생물수를 나타내었으며 0.20, 0.45 μm cartridge filter를 이용하여 제균한 처리구는 저장시간내에도 미생물이 검출되지 않아 액젓의 무열살균 기술에 유용하게 이용될 수 있을 것이라고 사료되었다.

3. UV 조사 효과

가. UV 조사의 미생물 살균 원리

미생물은 UV에 의해 쉽게 사멸되는 특성이 있으므로 이를 이용

한 살균 방법이다. 액젓류의 물리적인 방법을 가하지 않으며 단순한 조사에 의해 높은 살균 효과를 얻을 수 있다고 알려져 있다. 액젓의 UV 조사 살균은 일반 양식장에서 해수의 살균기로 사용되고 있는 UV 살균기(253nm, 39W, PVC housing)를 이용하였으며 본 실험에 사용된 살균 공정은 부록에 나타내었다. 액젓은 pump를 이용하여 자외선 살균기(UV가 액젓과 최단거리 접촉이 가능하도록 설치된 2중 tube형 구조)에 유입되며 이 부분을 통과하는 동안 UV가 조사되어 살균이 이루어지게 된다.

나. 미생물수의 변화

액젓의 유속을 달리하여 UV 살균기를 통과시킨 후 미생물수를 측정하였으며 40℃에 저장하면서 미생물수를 측정하여 Table 53에 나타내었다.

Table 53. Microbial count of fish sauces after UV irradiation

| Flow rate (ton/hr) | Raw | Storage period(days) | | |
|-----------------------|-------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
| | | Initial | 7 | 14 |
| 1.2 | 3.1×10^4 | 3.2×10^4 | 1.5×10^4 | 2.4×10^4 |
| 0.6 | 3.1×10^4 | 7.5×10^3 | 6.2×10^3 | 8.2×10^3 |
| 0.3 | 3.1×10^4 | 4.2×10^3 | 2.7×10^3 | 3.7×10^3 |
| 0.15 | 3.1×10^4 | 2.4×10^3 | 3.5×10^3 | 4.5×10^3 |
| 0.075 | 3.1×10^4 | 3.8×10^2 | 9.7×10^2 | 4.6×10^2 |
| 0.038 | 3.1×10^4 | 1.2×10^2 | 8.6×10^1 | 3.9×10^2 |

UV 살균기를 이용한 액젓의 살균은 유속에 비교적 많은 영향을 받는 것으로 나타났는데 유속이 빠를수록 살균정도는 낮아지는 것으로 측정되었다. 유속이 0.075 ton/hr 이하가 되어야 10^2 colony/g 정도의 미생물수를 나타내어 100배 정도의 살균효과가 있는 것으로 나타났으나 cartridge filter를 이용한 것과는 달리 완전한 제균 혹은 살균은 어려운 것으로 나타났다. 이는 액젓이 고유의 색깔을 띠고 있으며 미세한 고형입자 등이 존재하여 효율적인 UV 조사가 어려운 데 기인한 것으로 사료되었다.

제 7 절. 국제 규격에 부합한 용기재질 및 위생포장 기술 개발

1. 국제 규격에 부합한 용기재질의 선택

젓갈 포장 소재의 경우 기체 차단성이 지질 산패에 중요한 역할을 담당하므로 식품 포장용 film 3종(PE, Nylon/PE 2중 적층, PET/Al/PE 3중 적층), 유리용기 1종, plastic 용기 1종, aluminium can, 금속용기(금속 캔 1종) 등에 염농도 30%의 새우젓을 넣어 30℃에 저장하여 두고, pH, AN 등의 이화학적 분석 및 관능검사를 통한 품질변화를 측정하였으며 ICP를 이용한 중금속 유리 특성 등을 분석하였다.

가. pH의 변화

Plastic film 3종류, plastic 용기 및 유리 용기에 새우젓을 넣어 30℃에 저장하면서 pH 변화를 측정하여 Table 54에 나타내었다. 초기의 pH는 8.13이었으며 모든 처리구에서 완만하게 pH가 증가하는 경향을 나타내었다. Plastic film 중에서는 PE에 저장한 새우젓의 pH 상승폭이 가장 크게 나타났으며 그 다음이 Nylon/PE 이었으며 PET/AL/PE에 포장한

새우젓의 pH 상승폭이 가장 작게 나타났다. 이는 PET/AL/PE film의 경우 aluminium에 의한 광투성이 저해되며 3중 적층 film이라 가스 차단성이 있어 공기중에 존재하는 산소의 film내 투과에 의한 산화가 억제되었기 때문으로 사료되었다. Plastic과 유리용기에 보관한 처리구의 경우 PET/AL/PE 3중 적층 film과 유사한 경향을 나타내었다.

Table 54. Effects of packing materials on the changes in pH of salted and fermented shrimp at 30°C

| Packing material | Storage period(months) | | | |
|------------------|------------------------|------|------|------|
| | Initial | 1 | 2 | 3 |
| PE | 8.13 | 8.24 | 8.55 | 8.87 |
| Nylon/PE | 8.13 | 8.22 | 8.45 | 8.71 |
| PET/AL/PE | 8.13 | 8.22 | 8.41 | 8.68 |
| Plastic | 8.13 | 8.23 | 8.42 | 8.67 |
| Glass | 8.13 | 8.24 | 8.41 | 8.66 |

나. AN 함량의 변화

아미노태질소 함량 254mg%인 새우젓을 3종의 plastic film, plastic 용기, 유리용기에 포장하여 30°C에서 저장하면서 아미노태 질소 함량의 변화를 측정하였다(Table 55). Plastic film 중에서는 PET/AL/PE에 포장

한 새우젓의 아미노태 질소 함량 증가폭이 가장 적게 나타나 plastic film 중에서는 가장 우수한 것으로 나타났다. Plastic 용기와 유리용기를 이용하여 포장한 처리구의 경우 아미노태 질소 함량의 증가는 PET/AL/PE를 이용하여 포장한 처리구와 유사한 경향이었다.

Table 55. Effects of packing materials on the changes in AN contents of salted and fermented shrimp during storage at 30°C

| Packing material | Storage period(months) | | | |
|-----------------------|------------------------|-----|------|------|
| | Initial | 1 | 2 | 3 |
| PE | 454 | 892 | 1300 | 1681 |
| Nylon/PE | 454 | 764 | 1195 | 1574 |
| PET/AL/PE | 454 | 646 | 937 | 1322 |
| Plastic(transparency) | 454 | 635 | 947 | 1225 |
| Glass | 454 | 685 | 984 | 1245 |

다. 기존 젓갈 포장재료의 유해 중금속 유리 특성

기존 젓갈 포장재료 중 plastic 용기, 금속 can, 유리용기, plastic film을 대상으로 중금속 유리 특성을 조사하였다.

중금속 유리특성 실험은 정제염을 사용하여 30%(w/w) 과포화 염수를 제조하였으며 각 포장재료에 염수를 넣어 50°C 온도조건에서 Model

가속실험을 행하였다. 30일이 경과한 후의 ICP를 이용하여 금속 성분을 정량한 결과를 Table 56에 나타내었다. plastic 용기, 유리용기, plastic film 모두 중금속 유리가 발생하지 않았으며 금속 can에 포장한 처리구에서만 Cd가 흔적량 유리되었다. 기존의 금속 포장재의 경우 속에 plastic film을 이용하여 내포장을 하므로 중금속 유리가 발생되지 않지만 재질이 약한 plastic film을 사용하였을 경우 손상시 중금속 유리 가능성을 배제할 수 없으므로 가능한한 현재 사용하고 있는 드럼통을 사용하지 않는 것이 위생상 현명한 선택이 될 것이라고 생각된다.

Table 56. Heavy metal libration patterns of packing material in model system (unit : mg%)

| Packing material | Na | Fe | Pb | Cd | Cu | As |
|------------------|--------|----|----|----|----|----|
| plastic bottle | 12,600 | - | - | - | - | - |
| Metal can | 12,760 | - | - | tr | - | - |
| Glass bottle | 12,750 | - | - | - | - | - |
| plastic film | 12,762 | - | - | - | - | - |

2. 젓갈류 위생포장 기술 개발

가. 고행젓갈류 포장 기술

명란젓, 조개젓, 오징어젓, 새우육젓 등의 고행젓갈 4종을 포장 대상

젓갈류로 하여 660mmHg의 진공도로 유리병에 진공포장하여 20℃에서 저장하면서 진공포장에 의한 품질유지 특성을 살펴보았다.

(1) pH의 변화

명란젓의 경우 진공포장처리구가 대조구 보다 낮은 pH를 나타내었으며 진공포장 처리구 및 대조구 모두 28일 이후에는 식용이 불가능하였다. 진공포장 처리구의 경우 저장 7일 경에 pH가 6.1이하로 저하하였으나 대조구의 경우 pH 6.2 정도로 나타났으며 이후로 두 가지 처리구 모두 비슷한 양상으로 pH가 증가하였다(Fig. 58).

조개젓을 진공 포장하여 저장하면서 pH의 변화를 측정하여 Fig. 59에 나타내었다. 명란의 경우 저장 시간이 경과함에 따라 pH가 상승하였지만 조개의 경우 저장 전기간에 걸쳐 pH가 저하되는 특성이 있었다. 초기의 pH는 6.5이었으며 진공포장 처리구가 저장 42일 경에 pH 5.0 정도를 나타내었으며 진공포장하지 않은 처리구가 pH 5.4 정도를 나타내었다. 진공포장의 경우 pH 측면에서 고찰하여 볼 때 약 7일 정도(control의 % 상당)의 저장성 연장 효과가 있는 것으로 나타났다.

양념 오징어 젓갈의 진공포장시 저장기간에 따른 pH 변화 양상을 Fig. 60에 나타내었다. 오징어 젓갈의 경우도 조개젓과 비슷한 양상으로 pH가 저하되는 특성이 있었다. 이는 오징어 젓갈 및 조개젓의 경우 숙성초기의 제품을 구매하여 실험에 공시하였기 때문에 지속적인 숙성, 발효가 진행되기 때문으로 사료되었다. 오징어 젓갈의 초기 pH는 6.75를 나타냈으며 저장 42일 경에는 진공포장 처리구의 경우 pH 4.5 정도를, 대조구의 경우 pH 4.75 정도를 나타내었으며 pH 저하 속도로 고찰하여 볼 때, 20℃ 조건에서 저장할 때 약 7일 간의 저장성 연장 효과가 있는 것으로 판단되었으며 실제의 오징어 젓갈 유통온도인 10℃ 이하일 경우

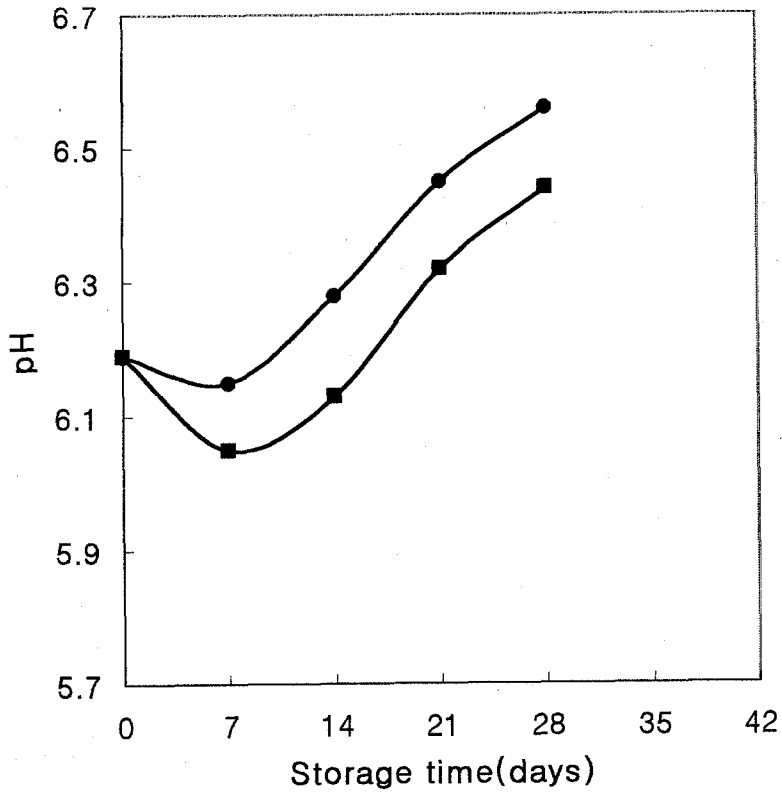


Fig. 58. Changes in pH of salted and fermented alaska pollack roe differs in packing method during storage at 20°C.

■-■: vacuum at 660mmHg ●-●: control

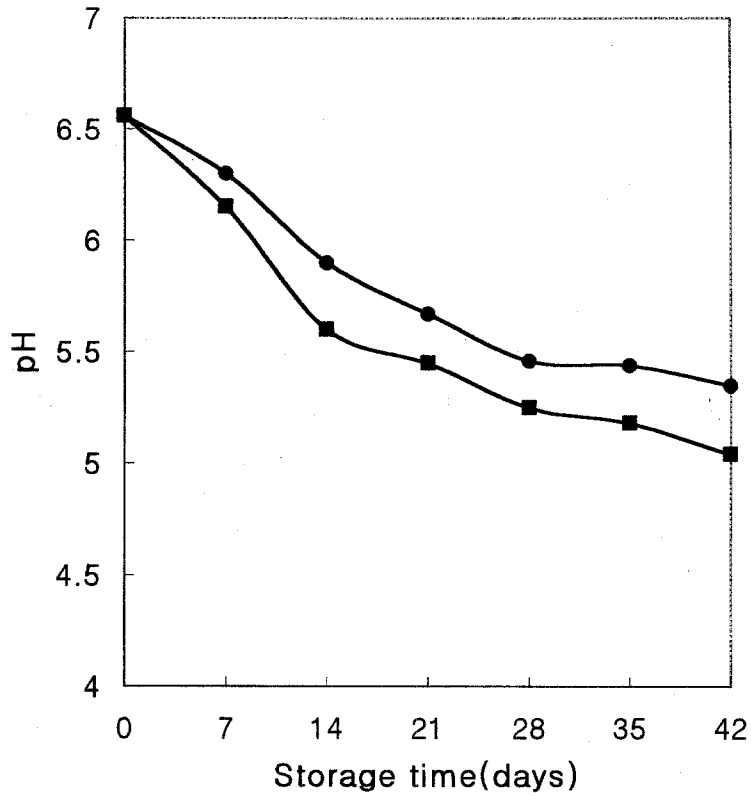


Fig. 59. Changes in pH of salted and fermented short-necked clam differs in packing method during storage at 20°C.

■-■: vaccum at 660mmHg ●-●: control

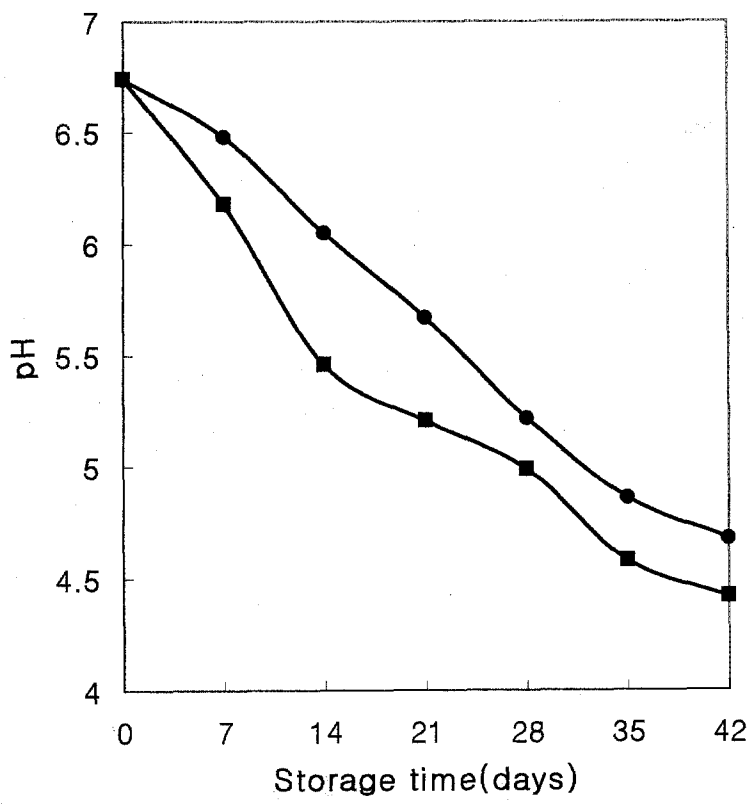


Fig. 60. Changes in pH of salted and fermented squid differs in packing method during storage at 20°C.

■-■: vacuum at 660mmHg ●-●: control

더욱 더 큰 효과가 있을 것으로 생각되었다.

새우젓(육젓)을 진공포장하여 20℃에 저장하면서 pH의 변화를 측정하여 Fig. 61에 나타내었다. 새우젓의 경우 저장기간에 따라 저장 7일까지는 소폭으로 pH가 저하되었으며 그 이후로 계속적으로 pH가 증가하는 경향을 나타내었다. 진공포장 처리구의 경우 비교적 완만한 속도로 pH가 증가한 반면, 대조구의 경우 28일 이후 급격한 속도로 pH가 상승하여 부패로 진행되는 것으로 판단되었다.

(2) 아미노태 질소 함량의 변화

명란젓을 진공포장하여 20℃에서 저장하면서 아미노태 질소 함량을 측정하여 Fig. 62에 나타내었다. 초기의 아미노태 질소 함량은 0.7% 정도로 어느정도 숙성이 진행된 제품임을 알 수 있었다. 저장 기간이 경과함에 따라 진공포장 처리구 및 대조구 모두 완만하게 아미노태 질소 함량이 증가하는 경향을 나타내었으며 28일 이후는 식용이 불가능할 정도의 초기 부패가 진행되었다.

조개젓의 초기 아미노태 질소 함량은 0.7% 정도로 숙성 시기로는 숙성 초기에 상당하였다. 진공포장 처리구가 저장 7일경에 대조구보다 아미노태 질소 함량이 높게 측정되었으나 14일 이후 대조구가 진공포장 처리구보다 약간 높은 아미노태 질소 함량을 나타내었다(Fig. 63).

양념 오징어젓 진공포장 처리구의 저장중 아미노태 질소 함량을 측정하여 Fig. 64에 나타내었다. 아미노태 질소 함량은 초기 0.82%를 나타내었으며 저장 42일 경에는 1% 미만의 아미노태 질소 함량을 나타내었다. 진공 처리구 및 비진공 처리구간의 유의적인 차이는 없는 것으로 판단되었다.

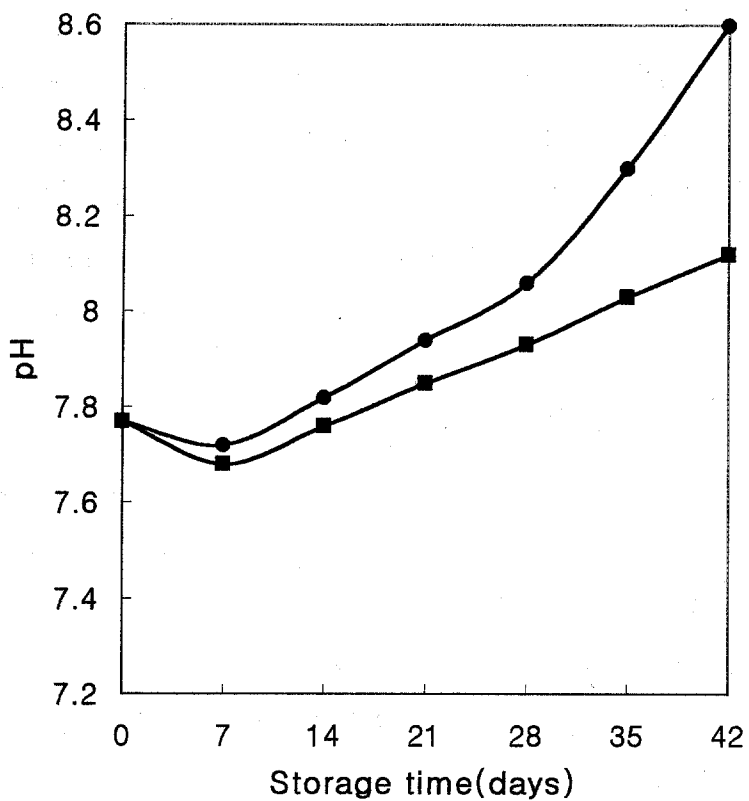


Fig. 61. Changes in pH of salted and fermented shrimp differs in packing method during storage at 20°C.

■-■: vacuum at 660mmHg ●-●: control

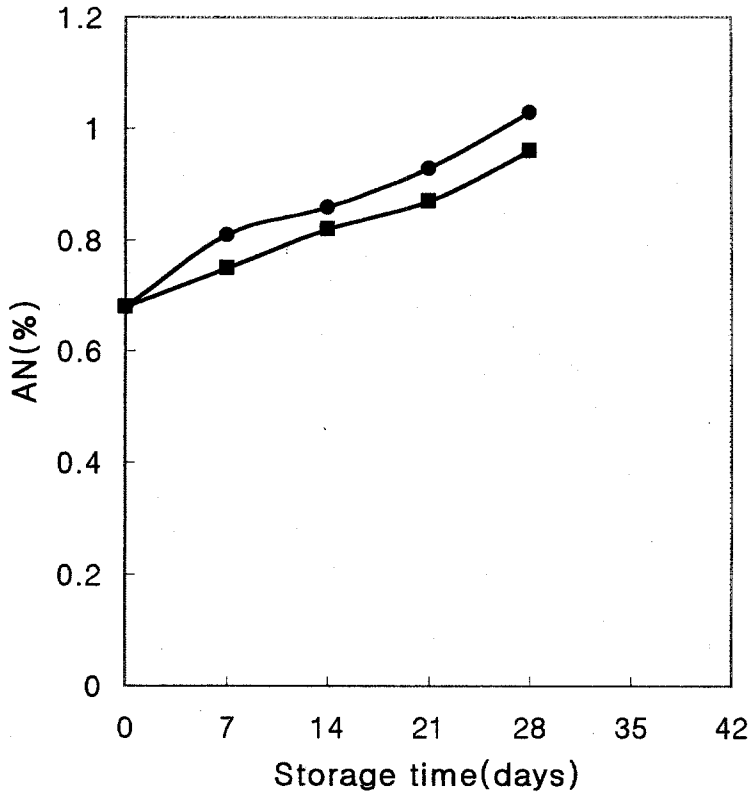


Fig. 62. Changes in amino nitrogen(AN) content of salted and fermented alaska pollack roe differs in packing method during storage at 20°C.

■-■: vacuum at 660mmHg ●-●: control

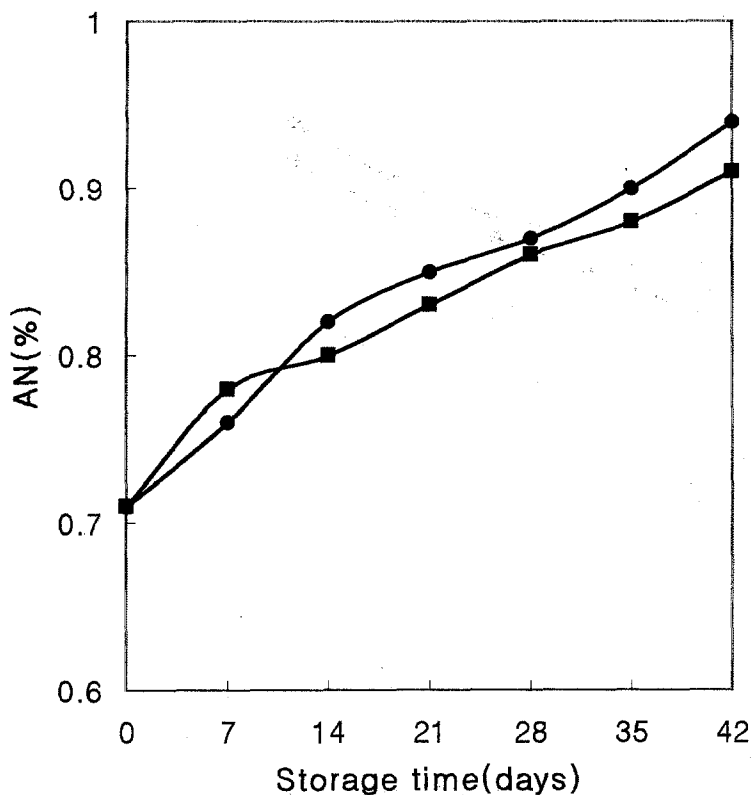


Fig. 63. Changes in amino nitrogen(AN) content of salted and fermented short-necked clam differs in packing method during storage at 20°C.

■-■: vacuum at 660mmHg ●-●: control

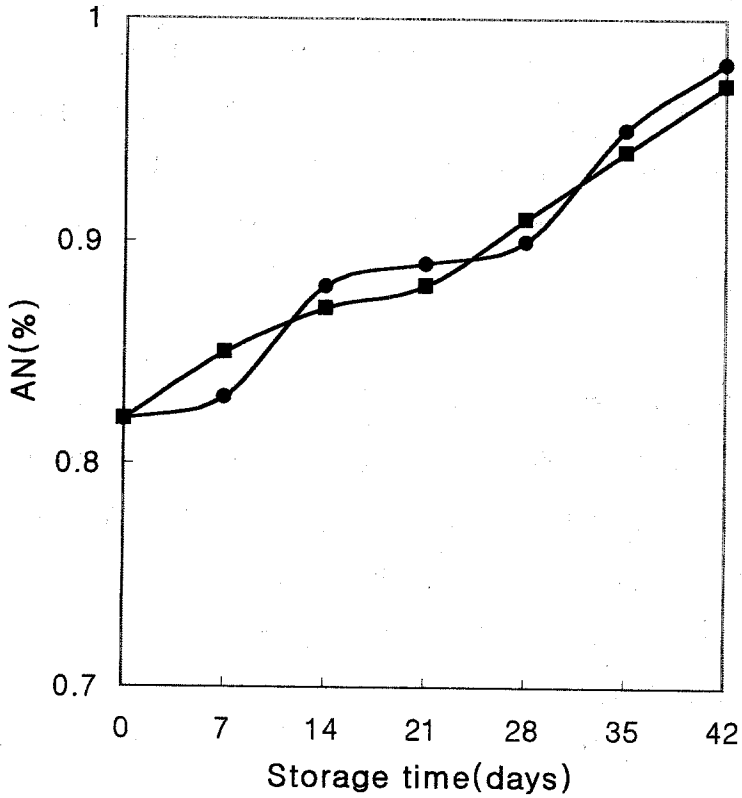


Fig. 64. Changes in amino nitrogen(AN) content of salted and fermented squid differs in packing method during storage at 20°C.

■-■: vacuum at 660mmHg ●-●: control

새우젓 제품의 진공포장시 아미노태 질소 함량을 측정하여 Fig. 65에 나타내었다. 비진공 처리구가 진공처리구 보다 높은 아미노태 질소 함량을 가지고 있었으며 저장 42일 경에 진공 처리구는 0.93%의 아미노태 질소 함량을 나타내었으며 비진공 처리구는 1% 정도의 아미노태 질소 함량을 나타내었다. 아미노태 질소 함량의 변화로 판단하여 볼 때 진공포장시 20℃ 온도 조건에서 약 7일 정도의 저장성 연장 효과가 있는 것으로 판단되었다.

나. 액젓류의 위생포장 방법

액젓류의 포장시 진공포장 방법 적용이 어려우며 액젓의 경우 자외선 투과에 의한 변색, 변질이 발생할 가능성이 있으므로 액젓류는 투명 용기 및 불투명 용기를 이용하여, 포장하여 상온에서 5개월간 저장하면서 pH, 아미노태 질소 함량의 변화 등을 측정하였다.

(1) pH의 변화

초기 실험에 공시하였던 액젓의 pH는 6.2 정도였으며 저장기간이 경과함에 따라 소폭 감소하다가 다시 완만하게 증가하는 경향을 나타내었다 (Fig. 66). 투명 용기를 이용하여 포장한 처리구가 불투명 용기를 이용하여 포장한 처리구보다 높은 pH를 나타내었다. 이는 불투명 용기의 경우 자외선을 차단하는 효과가 있어 pH 상승 속도를 저하한 것으로 생각되었다. 따라서 액젓의 경우 불투명 용기를 이용하여 포장하는 것이 저장 안정성 측면에서 우수함을 알 수 있었다.

(2) 아미노태 질소 함량의 변화

투명, 불투명 용기를 이용하여 액젓을 포장하여 저장 기간이 경과함에

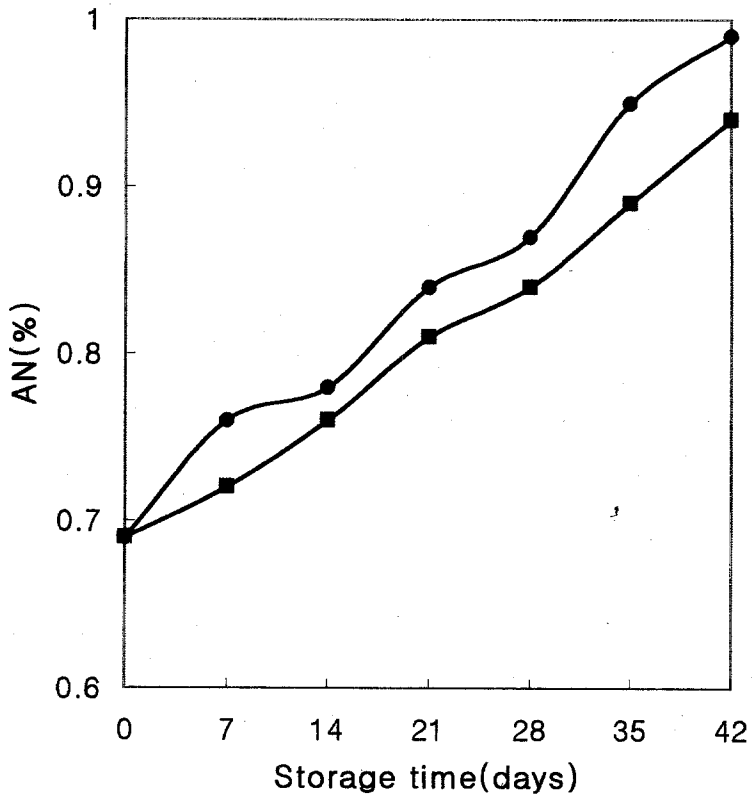


Fig. 65. Changes in amino nitrogen(AN) content of salted and fermented shrimp differs in packing method during storage at 20°C.

■-■: vacuum at 660mmHg ●-●: control

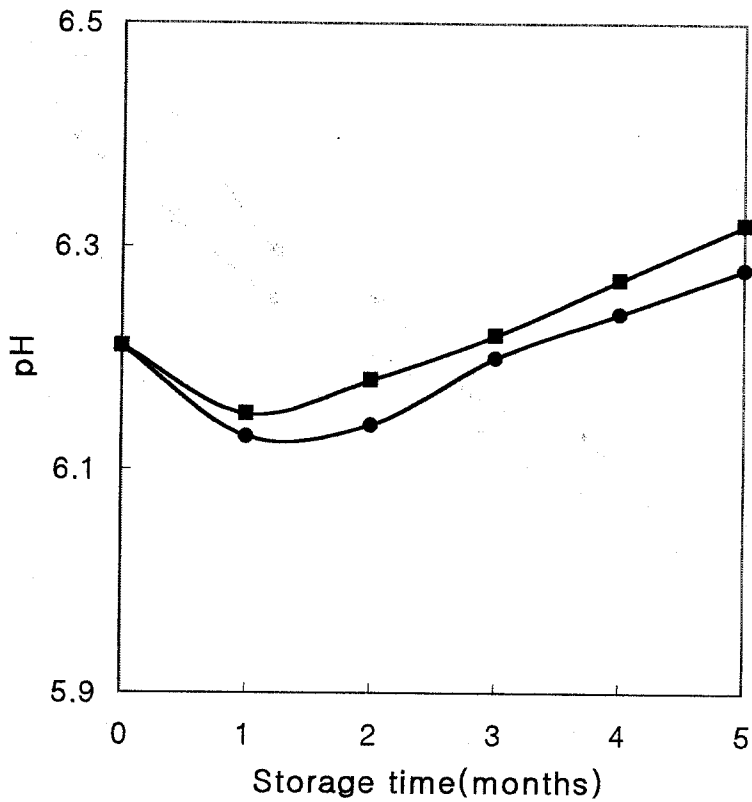


Fig. 66. Changes in pH of fish sauce differs in packing materials during storage at ambient temperature.

- : transparent material
- : non-transparent material

따라 아미노태 질소 함량을 측정하여 Fig. 67에 나타내었다. 투명 용기를 이용하여 포장한 처리구가 불투명 용기를 이용하여 포장한 처리구 보다 높은 아미노태 질소 함량을 나타내었으나 커다란 유의차는 없는 것으로 판단되었다. 이는 액젓의 경우, 어체의 숙성후 여과되어 제조되기 때문에 액젓 자체의 숙성이 진행됨에 따라 분해될 기질의 양이 충분히 존재하지 않기 때문에 처리구에 따른 아미노태 질소 함량의 차이가 발생하지 않는 것으로 사료되었다.

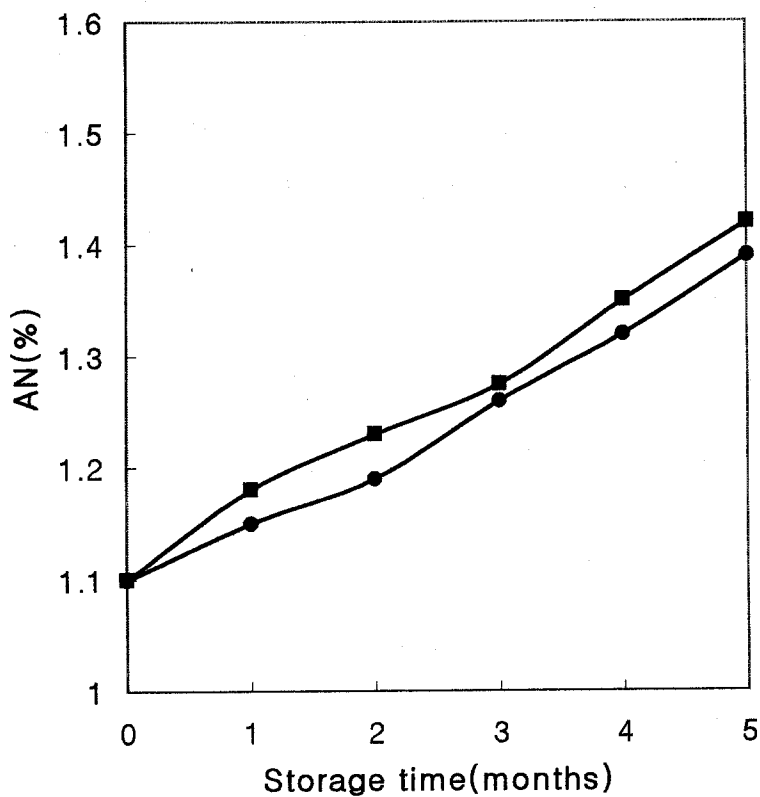


Fig. 67. Changes in amino nitrogen(AN) content of fish sauce differs in packing materials during storage at ambient temperature.

- : transparent material
- : non-transparent material

참 고 문 헌

1. 槍桓寅雄. (1985). 酵素利用技術の新展開, Co., Tokyo.
2. Godbery, T. and Reichett, J. (1983). Industrial Enzymology-The application of enzyme industry. The Nature Press Co.
3. Peckman. E.V. (1951). Aspergillus protease. Biochemistry. 5, 321-325.
4. Crewth. W. C. (1963). The effect of pH and cations on the thermal denaturation of trypsin. Aus. J. Biol. 6, 597-601.
5. Masaaki, Y, S., Kazuo and M., Mitsuo. (1984). Purification and properties of acid properties of acid protease from Monascus sp. No.3405. Agric. Biol. Chem. 48, 1637-1645.
6. Kageyama. K. (1955). Studies on Aspergillus oryzae strain for sake brewing. J.Fermant. Technol. 33, 53-57
7. Nunokawa. Y., Y. namba and S. Watanabe. (1961). A study of rice Koji protease. J. Soc. Brew. 53, 930-933.
8. Rohm. O. (1913). Ger. Pat. 283, 923.
9. Barret, A. J. and Salvesec, G. (1983). Proteinase inhibitors, Elserier Co.
10. 鶴大典. (1969). 科學と工業. 43.
11. Horikoshi, K, and Y. Aysukawa. (1973). Production of alkaline enzymes by alkalophilic microorganisms. Arg. Biol. Chem. 35, 1407-1414.
12. 장신재, 김윤숙, 성하진, 최용진, 양한철. (1988). Bacillus subtilis가

- 생산하는 alkaline protease에 연구. 한국농화학회지. 31, 356-360.
13. 김태호, 박성희, 이동선, 권택규, 김종국, 홍순덕 (1990). 호알카리성 Bacillus속 균주가 생산하는 alkaline protease의 특성. 한국산업 미생물학회지. 18, 159-164.
 14. Ichishima. E., V. Takada. K. Taira and M. Takeuchi. (1986). Specificities of extracellular and ribosomal serine proteinases from Bacillus natto, a food microorganism. Biochimica et Biophysica. Acta. 869, 178-184.
 15. McConn. J. D., D. Tsura and K. T. Yasunobu. (1964). Bacillus subtilis neutral proteinase. J. Biol. Chem. 239, 3706-3709.
 16. Tsura. D., K. Heizokira and T. Yamamoto. (1966). Studies on bacterial proteinase part 16. Purification. crystalization and some enzymic properties of alkaline protease of Bacillus subtilis var.amylosacchariticus. Agr. Biol. Chem. 30, 1261-1268.
 17. 이우제, 손규목, 최 청. (1991). Bacillus sp. CW-1121이 생성하는 Alkaline protease의 생산 및 정제. 한국영양식량학회지. 20(4), 388-394.
 18. Masahiro Kamekura and Hiroshi Onishi. (1974). Protease Formation by Moderately Halophilic Bacillus strain. Applied Microbiology. Apr. 809-810.
 19. 안영석, 김찬조, 최성현. (1990). 고도 호염성 Halobacterium sp.가 생산하는 protease의 특성. 33(3), 247-251.
 20. 안영석, 김찬조, 최성현. (1990). 고도 호염성 Halobacterium sp.에 의한 protease의 생산. 33(4),337-342.

21. L. S. Izotova, A. Y, Strongin, L. N. Chekulaeva, V. E. Sterkin, V. I. Ostoslavskaya, L. A. Lyublinskaya, E. A. Timokhina, and V. M. Stepanov. (1983). Purification and Properties of serine Protease from *Halobacterium halobium*. *Journal of Bacteriology*. Aug. 826-830.
22. 차원섭, 조영제, 최청 (1989). *Aspergillus fumigatus*에 의한 alkaline protease의 생산과 정제. *한국영양식량학회지*. 18, 279-286.
23. Ito.M. and M. Sugiura. (1968). Studies on *Aspergillus* proteinase. *Yakugaku Zasshi*. 88, 1576-1582.
24. 김관우, 윤태욱, 김준평. (1991). *Katsuobushi*에서 분리한 곰팡이 protease 분리정제. *Korean J. Food Sci. Technol.* vol. 23, No. 4. 394-399.
25. 김경미, 이태경, 양한철. (1989). *streptomyces rimous*가 생성하는 protease의 정제와 특성. *한국산업미생물학회지*. 17, 407-411.
26. 윤성우, 이강표, 유주현, 신철수, 오두환. (1989). *streptomyces* sp. YSA-130이 생성하는 alkaline protease의 정제와 특성. *한국산업미생물학회지*. 17, 358-364.
27. Siegel.S., A.H. Brady and W.M. Awad. (1972). The proteolytic enzymes of the K-1 strain of *streptomyces griseus* obtained from commercial preparation. *J. Biol. Chem.* 247, 4155-4159.
28. 김경신, 한강완, 김형로. (1984). *Streptomyces alboniger*가 생산하는 protease의 특성에 관한 연구. *한국농화학회지*. 27, 174-179.
29. 배인휴, 강국희. (1987). *Saccharomycopsis lipolytica*(*Candida lipolytica*)의 균체의 protease의 특성에 관한 연구. *한국산업미생물*

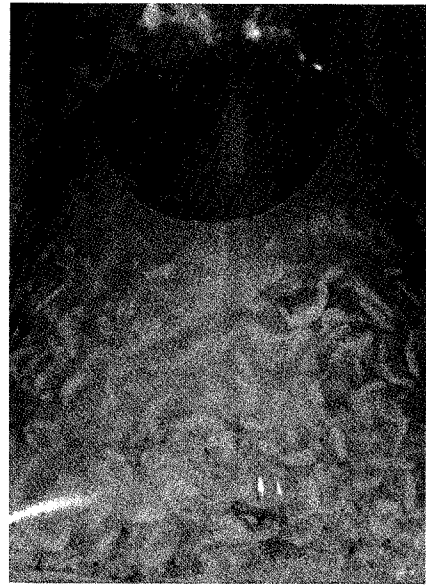
- 학회지. 15, 279-293.
30. 김영명, 김동수 : 한국의 젓갈-그 원료와 제품, 창조사, 서울, p.19 (1990)
 31. 이응호, 차용준, 이종수 : 저염수산발효식품의 가공에 관한 연구. 1. 저염정어리젓의 가공 조건. 한국수산학회지, 16, 133 (1983)
 32. 고영환, 김착용, 강동섭, 하진환, 김수현, 강영주, 송대진 : 유산균 강화 자리젓 제조. 한국산업미생물학회지, 19, 200 (1991)
 33. 조진호 : 수분활성을 조절한 원료어육으로 제조한 저염 오징어젓갈의 품질특성, 중앙대학교 박사 학위논문 (1997)
 34. Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 751 (1970)
 35. John, A.T. and Christian, J.H.B.: Microbial growth. In *Water activity and Food*, 1st ed., Academic press, New York, p.86 (1978)
 36. Fougere, H.: The water transfer in codfish muscle immersed in sodium chloride solutions. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 9, 388 (1952)
 37. Deng, J.C.: Effect of freezing and frozen storage on salt penetration into fish muscle immersed in brine. *J. Food Sci.*, 42, 348 (1977)

APPENDIX

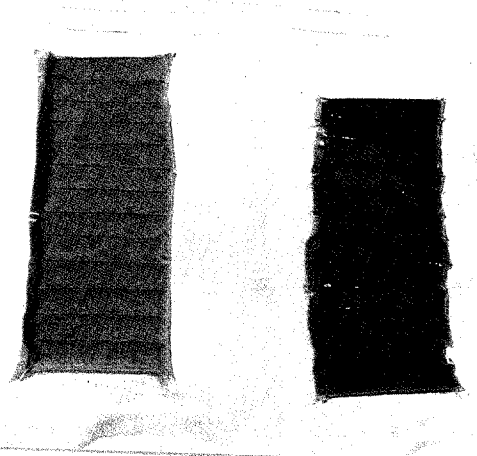
여 백



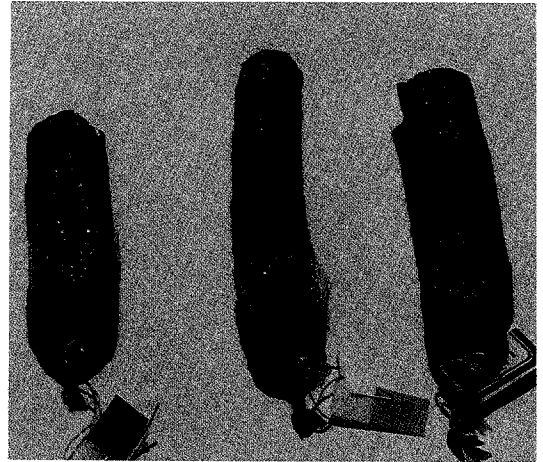
개발된 저염멸치젓갈



개발된 저염새우젓



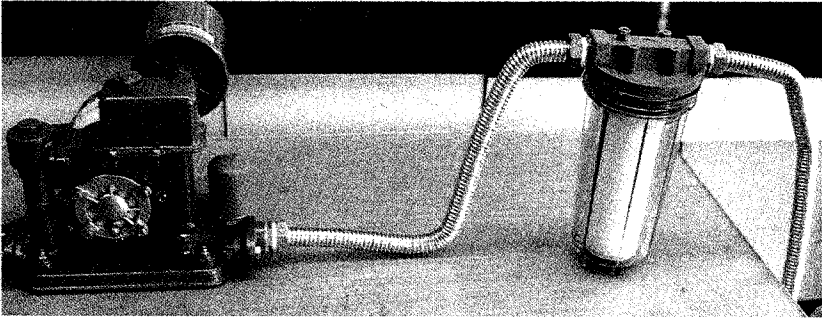
개발된 발효어란 제품



개발된 salami-type의
발효어란 제품

여 백

In



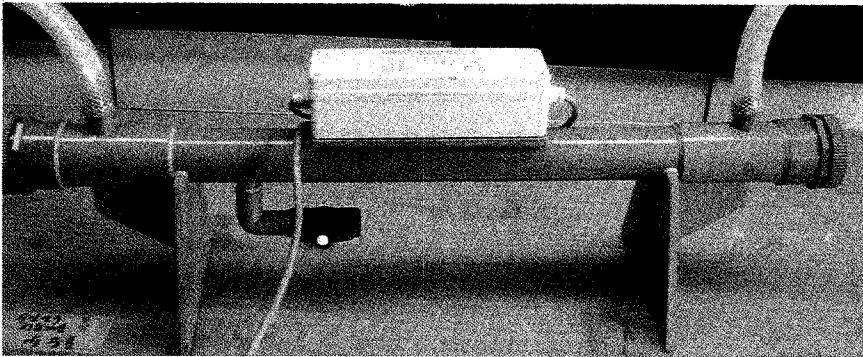
Out

Pump

Cartridge filter

Filtration 장치 구성도

Out



In

UV 살균기를 이용한 액체의 살균(UV 살균기)