pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 1, pp. 27~34 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.1.27

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

식염농도 및 숙성온도가 멸치 젓갈의 숙성 중 위생품질인자의 변화에 미치는 영향

고영애[1] · 김성훈[1] · 송호수[2]*
[1]영산대학교 관광대학원 조리예술전공, [2]영산대학교 서양조리학과

Effect of Salt Concentration and Fermentation Temperature on Changes in Quality Index of Salted and Fermented Anchovy During Fermentation

Young Aey Ko[1], Sung Hun Kim[1], and Ho Su Song[2]*
[1]*Dept. of Culinary Art Graduate School of Tourism Youngsan University, Busan 48015, Korea*
[2]*Dept. of Western Cuisine & Culinary Arts, Youngsan University, Busan 48015, Korea*
(Received September 27, 2016/Revised October 20, 2016/Accepted December 7, 2016)

ABSTRACT - Effect of salt concentration (10, 20 and 30%, respectively) and fermentation temperature (10 and 20°C, respectively) on changes in quality index (VBN, Histamine, Amino nitrogen, Total viable cell counts, Coliform bacteria and *E. coli* counts) of culinary salted and fermented anchovy during fermentation were investigated to suggestion of fundamental documents for industrial objectives. Our results show that the effect of salt concentration on changes in quality index was not high compared with fermentation temperature in salted and fermented anchovy with below 20% of salt concentration however effect of salt concentration and fermentation temperature on quality index was not significant with 30% salt concentration. And all most whole changes of quality index were rapidly increased or decreased for 30 days of fermentation.

Key words : anchovy, salt concentration, fermentation temperature, VBN, hitamine, AN, total viable cell count, coliform bacteria

우리나라 전통 발효식품 중에 하나인 젓갈은 주원료인 어패류의 근육, 내장 또는 생식란에 일정량의 식염을 첨가하여 자가 소화 및 미생물이 분비하는 효소의 작용으로 분해, 숙성시킨 대표적인 수산가공식품으로서 이들 원료에 함유되어 있는 영양성분으로 그 가치를 높게 평가받고 있을 뿐만 아니라 발효과정에서 생긴 유리아미노산과 핵산 관련물질 등에 의한 독특한 풍미로 인해 그 자체를 기호식품으로 우리 국민들이 즐겨 먹는 식품이며, 멸치젓, 새우젓 등은 김치의 부재료로 사용되어 김치의 풍부한 맛과 영양을 제공하고 있다. 그 동안 우리나라의 젓갈은 대부분의 가정에서 직접 담아서 조리에 사용하는 형태였으나 최근에는 공장 또는 가공조합에서 제조하여 시판하는 것을 구매하여 소비하는 형태로 변화되어 왔으며, 젓갈 산업의 규모가 확대됨에 따라 젓갈의 안전성을 확보하기 위한 규격화가 요구되었고, 이에 대한 연구로 젓갈제품의 미생물학적 품질 표준화에 관한 고찰 등이 보고되었고[1], 시판 젓갈류의 품질평가 방법[2]에 관한 연구도 이루어졌다. 또한 젓갈의 안전성 검토의 기초작업으로 멸치젓갈의 인공 소화 시 N-Nitrosamine 생성과 돌연변이의 상관성에 대한 결과도 보고되었으며[3], 젓갈의 제조에서부터 최종 소비에 이르는 과정에서 발생될 수 있는 위해요소 관리를 위한 방안의 하나로 시판 젓갈 중의 중금속 및 유기염소 잔류농약의 함량을 조사하여 식품위생상의 문제점을 검토한 결과도 보고된 바가 있다[4]. 그리고 국민들의 경제 수준이 높아지면서 식품에 대한 인식도 함께 높아지게 됨에 따라 웰빙식품에 대한 관심이 고조되었고, 따라서 저 식염 젓갈이라든지 젓갈에 함유된 기능성 물질의 이용 또는 속성 발효 젓갈 등에 대한 연구 등이 이루어져 있다[5-9].

전통 발효젓갈은 생선 등에 25% 내외의 식염을 첨가하여 2~3개월 숙성시켜 유통되고 있지만, 고식염으로 인한 성인병을 우려한 소비자들의 소비심리 위축과 최근 대중매체 등을 통해 구더기, 파리, 쥐똥 등 발효과정이나 발효탱크 및 포장용기의 위생적인 문제뿐만 아니라, 또한 히스타민 등 biogenic amine 생성과 부패취 등의 문제가 제기되고 있고, 또한, 조미 양념젓갈의 맛, 보존성, 그리고 색택 향상을 위해 사용되고 있는 각종 식품 첨가물 등에

*Correspondence to: Ho Su Song, Dept. of Western Cuisine, Youngsan University, Busan 48015, Korea
Tel: 82-51-540-7142
E-mail: hssong@ysu.ac.kr

대한 화학적 안전성에 대한 문제도 제기되고 있는 실정이다. 국내 액젓 산업은 땅을 파서 콘크리트 탱크나 공업용 고무통에 생선과 소금을 혼합하여 발효시키는 경우는 1년 이상의 발효기간 동안에 고염에 노출되므로, 발효용기의 페인트, 시멘트 등의 유해성분이 액젓으로 녹아 나올 가능성이 있다. 또한 1년 이상의 발효기간 동안에 일부 공장에서 관리 소홀로 쥐똥, 파리, 구더기 등 위해 해충의 식품위생적 문제가 야기되고 있다.

연근해 어류 생산량의 약 30~35%를 차지하는 멸치는 우리나라 사람들이 즐겨 먹는 고단백, 고칼슘의 국민건강 식품으로 항산화 효과와 콜레스테롤 함량을 낮출 뿐만 아니라 혈압을 정상적으로 유지하고 성장에 좋은 타우린이 풍부하게 함유하고 있다. 또한 지능발달에 효과가 있는 EPA, DHA 등의 고도 불포화 지방산과 시원하고 감칠맛을 내는 이노신산과 각종 유리아미노산이 다량 함유되어 있으며, 인체의 골격과 치아 형성, 세포조직 구성에 필요한 칼슘, 인, 철 등과 같은 무기질의 보급원이다. DHA는 기억력 향상, 뇌세포 활성화, 생체막 구조와 기능 및 중추신경계를 구성하고, 칼슘은 뼈의 성장 및 유지, 혈액응고시에 필요한 보조 효소 작용을 하며 신경전달과 신체 생리작용을 원활하게 이루어지도록 도와주며 세포의 활성화 및 골다공증 예방에 효과가 있다[10].

이상에서 살펴본 바와 같이 젓갈에 관한 연구는 다양한 분야에서 이루어져 왔으나 대부분이 특정 시료를 대상으로 제한된 숙성기간 동안에 나타나는 특정 인자의 효과나 특정 성분의 발생 및 변화 등에 주로 초점을 맞추어 진행된 경우가 많았다. 즉 젓갈의 제조단계에서부터 전체 숙성기간에 걸쳐 제조방법별, 숙성온도별 품질특성 인자의 변화를 모니터링한 결과를 찾아보기는 어려운 실정이다.

본 연구에서는 조미용으로 일반 가정에서 흔히 접할 수 있거나 산업적 수요가 높은 멸치젓을 대상으로 젓갈의 품질에 가장 큰 영향을 미치는 식염의 농도 및 숙성 온도가 전체 숙성기간 동안에 식품위생적 품질 인자의 변화에 미치는 영향을 살펴봄으로써 조미용 젓갈의 품질관리를 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

Materials and Methods

실험재료

본 실험에 사용한 젓갈용 멸치는 부산광역시 기장읍에서 유자망으로 어획한 것을 구입하여 즉시 얼음을 채워 냉각한 상태로 운반한 다음 젓갈 원료로 사용하였으며, 소금은 국내산 천일염(신안도초)을 구입하여 사용하였다.

젓갈의 제조

멸치는 3% 식염수로 수세하여 혈액 등 불순물을 제거한 후 천일염을 전체 중량의 10%, 20% 및 30%가 되도록 첨가하여 젓갈을 제조하였고, 미리 조절된 10ºC와 20ºC의 배양기에서 숙성시키면서 실험에 사용하였다. 실험을 위하여 젓갈은 각 조건별로 3개씩 따로 제조하여 용기에 담아 배양기에서 숙성시키면서 사용하였다.

휘발성 염기질소(Volatile Basic Nitrogen; VBN)

휘발성 염기질소는 Conway unit를 사용하는 미량 확산법으로 측정하였다[11]. 즉 마쇄한 시료에 7% TCA 90 mL를 가하고 30분간 방치하여 단백질을 침전시킨 후 0.45 μm sylinge filter (Advantec, Tokyo, Japan)로 여과하여 사용하였다. 시료액 1 mL을 외실에 넣고, 내실에 0.01 N H_2SO_4 1 mL을 각각 넣은 후 외실의 위쪽에 K_2CO_3 포화 용액 1 mL를 넣고 즉시 덮개를 덮어 시험 용액과 K_2CO_3 포화 용액이 잘 섞이도록 약하게 흔들어 준 다음 클립으로 고정시키고, 25ºC에서 1시간 정치하였다. 정치 후 덮개를 열고 Brunswick (0.07% methyl red, 0.03% methylene blue) 지시약을 1~2 방울 첨가하고, 마이크로 뷰렛을 사용하여 0.01 N NaOH 용액으로 적정하였다. 바탕 시험도 20% TCA 용액을 사용하여 같은 방법으로 행하였다. 0.01 N NaOH 용액 적정량을 다음의 식에 적용하여 시료의 휘발성 염기질소량을 계산하였다.

$$VBN\ (mg\%) = 0.14 \times (V_1 - V_0) \times f \times 100 \times d / W$$

V_1 : Volume of 0.01 N NaOH soln. used in sample titration (mL)
V_0 : Volume of 0.01 N NaOH soln. used in blank titration (mL)
f : Factor of 0.01 N NaOH soln.
d : Dilution rate
0.14 : VBN content in 1 ml of 0.01 N H_2SO_4 soln.
W : Weight of sample (g)

히스타민

각 시료 젓갈의 히스타민 분석은 불휘발성 부패 아민 분석법을 변형하여 사용하였다[12]. 즉, 시료 5 g을 취하여 0.1 N HCl 용액 20 mL를 가하고 균질화한 후 원심분리(4000 rpm, 4ºC, 15 min)하여 상층액을 취하고, 잔사에 다시 0.1 N HCl 용액 20 mL를 가하고 같은 조작으로 상층액을 취한 후 1, 2차 상층액을 모아 50 mL로 정용한 것을 시료용액으로 하였다. 히스타민 표준품(Sigma Co.)과 내부 표준품(1,7-diaminoheptane, Sigma Co.)을 0.1 N HCl 용액에 녹여 약 1,000 mg/L가 되도록 하여 표준용액으로 하였다. Dansyl chloride를 이용한 유도체화는 표준용액 및 시료 용액 각각 1 mL를 마개 달린 시험관에 취한 다음 내부 표준용액(100 mg/L) 100 μl를 가한 후 포화 탄산나트륨 용액 0.5 mL와 1% dansyl chloride 아세톤 용액 1 mL를 가하여 혼합한 후 마개를 닫고 45ºC에서 1시간 유도체화하였다. 유도체화 후 10% proline 용액 0.5 mL를 가하여 과잉의 dansyl chloride를 제거하였다. 시험관에 에테르 5 mL를 가하여 3분간 진탕하고 상층액을 취하여 질소 농축

Table 1. Analysis condition of HPLC for histamine contents in salted and fermented anchovy and shrimp

Parameter	Conditions
Detector	FAD
Column	C18 (4.6 × 150 mm × 5 μm)
Column Temp.	40°C
Flow rate	1 ml/min
Run time	30 min
Gradient elution (min)	ACN : H_2O (65:35)
Wavelength	254 nm

한 뒤 아세토니트릴(ACN) 1 mL를 가하여 0.45 μm 실린지 필터로 여과한 것을 시험 용액으로 하였다. 시험 용액에 대한 기기분석은 Diode array 검출기 및 형광검출기가 부착된 HPLC (Agilent 1260, Agilent Technologies, Germany)를 사용하였으며 분석 조건은 Table 1과 같다.

아미노산성질소(NH_2-N; Amino-nitrogen, AN)

아미노산성 질소는 Formol 적정법으로 다음과 같이 측정 하였다[13]. 즉, 시료 1 g에 증류수를 가하여 25 mL로 정용한 다음 0.1 N NaOH 용액을 가하여 pH를 8.5로 조정한 후 중성 Formalin 용액 20 mL를 가하고 다시 0.1 N NaOH 용액으로 pH가 8.5가 될 때까지 적정하였다. 별도로 증류수에 대하여 바탕 시험을 실시한 후 소비된 0.1 N NaOH 용액 적정량(mL)을 아래 식에 적용하여 아미노산성 질소 함량을 계산하였다.

$$\text{Amino-nitrogen (mg\%)} = 0.14 \times (V_1 - V_0) \times f / W$$

V_1 : Volume of 0.1 N NaOH soln. used in sample titration (mL)
V_0 : Volume of 0.1 N NaOH soln. used in blank titration (mL)
f : Fator of 0.1 N NaOH soln.
W : Weight of sample (g)

일반세균수

일반세균수는 식품공전 제10.3.5.1 일반세균수 나. 건조필름법으로 측정하였다. 즉, 검체 25 g을 filter bag에 취하고 멸균 생리식염수(0.85% NaCl 수용액)를 가하여 10배 희석(10^{-1} 희석단계) 되도록 하여 stomacher (Model 400, Seaward, London, England)로 30초간 균질화 하였다. 이것을 시험 용액으로 하여 십진법으로 희석하였다. 이때의 희석방법은 시험용액(10^{-1} 단계) 1 mL와 9 mL의 멸균 생리식염수를 희석병에 가하고 교반 한다(10^{-2} 단계). 다시 이 용액의 1 mL을 다른 희석병에 옮기고 9 mL의 멸균 생리식염수를 가하여(10^{-3} 단계) 교반하는 단계를 반복하여 건조 필름에 30~300개의 콜로니가 형성될 것으로 예상되는 단계까지 희석하였다. 각 희석 단계별 시험용액 1 mL를 각각의 건조 필름 배지에 접종하고, 36°C에서 48시간 배양한 후 30~300개의 집락이 생성된 건조 필름 배지를 골라 집락수를 세고 그 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 세균수로 하였다.

대장균군

검체 25 g에 멸균생리식염수 225 mL을 가하여 시험용액을 제조한 뒤 10배씩 단계 희석한 용액 1 mL씩을 대장균군 건조필름배지(3M, USA)에 접종한 후 잘 흡수시켜 35°C에서 24시간 배양하였다. 생성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성하고 있는 집락수의 평균값에 희석배수를 곱하여 대장균군 수를 산출하였다.

대장균

대장균은 식품공전 제10.3.8.2 대장균 가. 최확수법으로 측정하였다. 즉, 검체 25 g을 filter bag에 취하고 멸균 생리식염수(0.85% NaCl 수용액)를 가하여 10배 희석되도록 하여 stomacher (Model 400, Seaward, London, England)로 30초간 균질화한 것을 시험 용액으로 하였다. 이 시험 용액 10 mL, 1 mL, 0.1 mL을 각각의 E. coli (EC)배지에 3개씩 접종하였다. 이때 10 mL는 double 배지(EC broth of 74 g/Sterile Saline soln. of 1 L) 200 mL에 1 mL와 0.1 mL은 single 배지(EC broth of 37 g/Sterile Saline soln. of 1 L) 500 mL에 접종하였다. 접종 후 44.5°C의 항온수조에서 24시간 배양한 후 가스 발생 발효관을 확인하고, 최확 수표로부터 대장균군수를 구하였다.

통계분석

본 연구에서 조사한 식염 농도 및 숙성온도에 따른 젓갈의 이화학적 및 미생물학적 위생품질 인자 변화에 대한 결과의 통계처리는 3회 반복 실험한 자료를 Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)에 의해 분석하였다.

Results and Discussion

젓갈의 숙성 중 특성 변화

휘발성염기질소의 변화

멸치를 구입 후 빙장하여 실험실로 운반한 다음 3% 식염수로 수세한 후 천일염을 전체 중량의 10%, 20% 및 30% 되도록 첨가하여 젓갈을 제조하였고, 미리 10°C와 20°C로 조절된 배양기에서 90일간 숙성시키면서 측정한 멸치젓갈의 휘발성 염기질소 함량변화를 Fig. 1에 나타내었다.

그림에서 보는 바와 같이 멸치젓갈의 휘발성 염기질소 함량은 전체 숙성기간 동안 식염 첨가량이나 숙성온도의 영향에 관계없이 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었다.

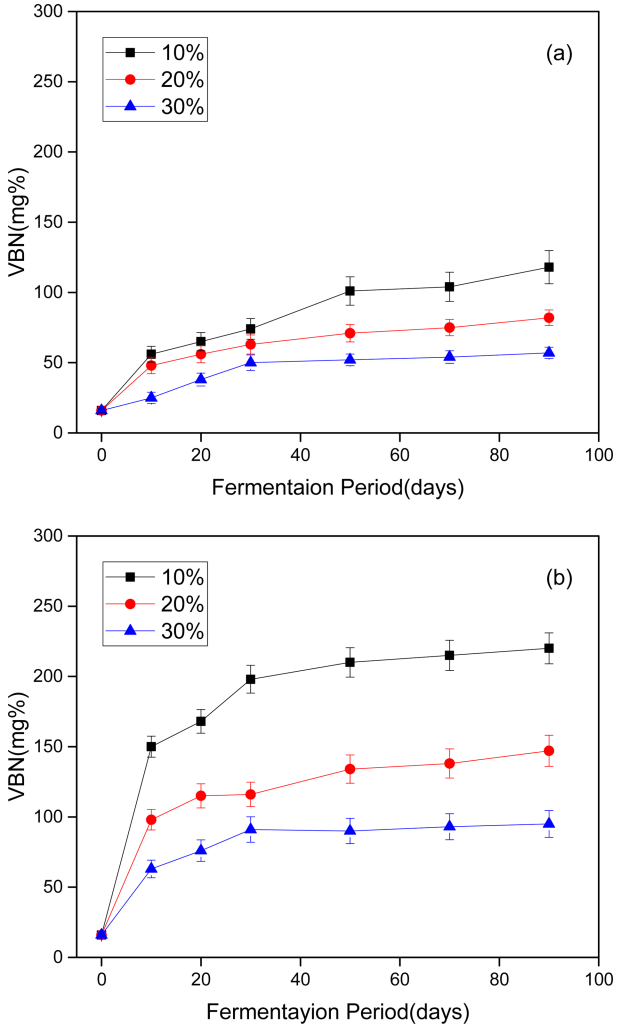

Fig. 1. Changes in VBN of salted and fermented anchovy at different salt concentration and fermentation temperature. (a) fermented at 10°C; (b) fermented at 20°C.

숙성온도 10°C의 경우 숙성 초기 10일까지 식염 10% 첨가한 젓갈은 휘발성 염기질소 함량이 16 mg%에서 56 mg%로 증가하였고, 20%는 48 mg%, 30%는 25 mg%로 증가하였다. 숙성 30일에서는 식염 10% 첨가 구는 74 mg%, 20%는 63 mg%, 30%는 50 mg%로 증가하였고, 숙성 90일 차에는 10% 첨가 구가 118 mg%, 20%가 82 mg%, 30%가 57 mg%로 나타났다. 첨가한 식염 농도가 높을수록 휘발성 염기질소 함량은 낮게 나타났고, 30일까지는 비교적 높은 증가를 보이다가 30일이 경과하고 90일까지는 완만한 증가를 나타내었다. 숙성온도 20°C에서도 10°C의 경우와 같은 휘발성 염기질소 증가 경향을 나타내었으나 10°C에 비해 20°C의 휘발성 염기질소 함량은 10일차에 10% 첨가 구가 150 mg%, 20%가 98 mg%, 30%가 63 mg%로 증가하여 2배 이상의 높은 휘발성 염기질소 증가를 나타내었고, 전체 숙성기간에서도 10°C에 비해 2배 정도 높은 것으로 나타났다. 차 등은[14] 저염 멸치젓 가공에 관한 연구에서 휘발성 염기질소 함량이 저장기간의 경과에 따라 비교적 일정하게 증가하는 현상을 나타내었다고 보고한 바 있는데 본 연구에서의 결과가 일치하는 것으로 나타났다.

이상과 같이 멸치 젓갈에 있어서 휘발성 염기질소 함량의 증가는 젓갈의 숙성 동안에 TMAO (trimethylamine N-oxide) 및 아미노산의 분해에 의한 암모니아의 생성과 TMA (trimethylamine) 및 DMA (dimethylamine) 등의 생성에 의한 것이며, 이들 휘발성 염기질소는 멸치와 같은 어류의 사후 초기에는 주로 AMP (adenosine monophosphate)의 탈아미노 반응에 따라 암모니아가 생성되고, 이어서 TMAO의 분해에 의해 TMA나 DMA가 생성된다. 또한 아미노산 등과 같은 함 질소화합물의 분해에 의해서도 암모니아 및 각종 아민류가 생성되기도 한다. 멸치와 같은 어류에는 trimethylamin N-oxide (TMAO)가 존재하며 이는 어류 체액의 삼투 농도를 높여 어는점을 낮추는 역할을 하는 것으로 이것이 분해되어 TMA 및 DMA 등과 같은 휘발성 염기질소가 생성되며, 저장기간이 경과하면 TMAO가 분해되면서 그 함량이 낮아짐에 따라 휘발성 염기질소의 증가도 낮아지는 것으로 알려져 있다[15]. 이러한 휘발성 염기질소는 어획 직후에는 함량이 극히 낮으나 선도의 저하와 함께 증가하므로 이들 휘발성 염기질소량을 측정하여 선도를 판정하는 방법이 널리 이용되고 있기도 하다. 숙성온도 10°C보다 20°C에서 휘발성 염기질소의 증가가 현저히 높게 나타났고, 식염의 경우는 첨가량이 높을수록 휘발성염기질소의 증가가 낮은 것으로 나타났는데 이는 온도가 낮을수록 그리고 식염의 농도가 높을수록 TMAO 또는 아미노산을 분해하는 반응속도의 저하와 이들을 분해하는 미생물 또는 효소의 활성도가 낮아짐에 따른 결과라 생각된다.

히스타민의 변화

Biogenic amines은 비휘발성 아민으로 어류나 갑각류의 사후에 생성되는 물질들이다. 여기에는 cataverine, putrescine, spermidine, spermine, tyramine, trytamine 및 histamine 등이 속해있다. 이들은 어류나 갑각류의 조직에 함유된 특정 유리아미노산의 탈탄산(decarboxylation) 반응에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다. 어류를 장시간 보관할 경우 어류에 있는 미생물에 의해 유리아미노산이 biogenic amines으로 전환되어 이것을 섭취한 사람이 특이 증세를 나타내게 된다. 식품 중에 낮은 수준의 biogenic amines이 함유되어 있을 경우에는 이를 섭취하여도 큰 문제가 일어나지 않지만 과량을 섭취하였을 경우에는 아민의 이화 작용이 저해되어 저혈압, 고혈압, 메스꺼움, 구토, 발진 및 심계항진과 같은 생리적 증세를 나타내게 되고 심지어 사망에 이르기도 한다고 알려져 있다[16]. 이러한 biogenic amines은 식품의 동결, 레토르트 및 훈연과 같은 가공이나 조리 등의 방법으로 쉽게 분해되지 않는 특성을 가지고 있으며[17],

Table 2. Changes in histamine contents of salted and fermented anchovy at different salt concentration and fermentation temperature (unit : mg/kg)

Fermentation Temperarture (°C)	Fermentation period (days)	Salt concentration(%)		
		10	20	30
	0	nd[1)]	nd	nd
10	10	nd	nd	nd
	20	nd	nd	nd
	30	5.7 ± 0.4[2)]	nd	nd
	50	13.7 ± 0.8	6.5 ± 0.7	nd
	70	19.2 ± 1.1	16.6 ± 0.6	5.1 ± 0.5
	90	31.2 ± 0.8	26.5 ± 1.2	12.4 ± 0.5
20	10	nd	nd	nd
	20	6.4 ± 0.7	nd	nd
	30	15.7 ± 0.8	8.5 ± 0.4	nd
	50	22.3 ± 0.9	14.3 ± 0.3	nd
	70	423.8 ± 0.7	92.4 ± 1.6	11.6 ± 1.5
	90	1,137.6 ± 1.8	108.7 ± 1.4	45.4 ± 0.9

[1)]not detected
[2)]Values are mean ± SD.

게다가 biogenic amines은 N-nitrosamine과 같은 발암물질의 전구체 역할을 하므로 식품의 중요한 품질 인자로 인식되고 있다[18]. 이와 같이 biogenic amines은 사람의 건강과 식품의 안전성에 중요한 영향을 미치는 인자임을 고려하여 멸치젓갈에 함유된 biogenic amines의 일종인 히스타민은 인간의 일반적 대사과정에서 인체 내에 생성되며, 식품에서는 숙성 또는 저장 중에 식품 중의 유리아미노산인 histidine이 미생물에 의해 생성된 decaboxylase에 의해 탈탄산 반응이 일어나 히스타민이 생성된다. 특히 미생물의 작용이 많이 일어나는 단백질성 발효식품일수록 높게 나타나므로 젓갈 제조 시 품질관리 인자로 히스타민이 중요하다고 여겨진다. 이에 히스타민의 함량을 젓갈 제조 시 첨가한 식염 농도와 저장온도에 따른 저장기간 중의 변화를 주기적으로 측정하여 그 결과를 Table 2에 나타내었다.

표에서 보는 바와 같이 멸치젓갈을 제조하여 30일까지 숙성시키는 동안 식염 농도 및 숙성온도와 무관하게 히스타민은 검출되지 않았으며, 숙성 30일을 경과한 이후부터 히스타민이 증가하여 식염 10%를 첨가하여 20°C에서 숙성시킨 멸치젓갈의 경우 70일 차부터 히스타민 함량이 400 ppm을 초과하여 일반적인 섭취 기준 200 ppm을 크게 초과하는 것으로 나타나 식품 조리용으로 적합하지 않음을 알 수 있었다. 전체적으로는 식염의 농도가 낮을수록 히스타민이 발현되는 시기가 빨라지는 경향을 나타내었고, 숙성온도가 낮은 경우 히스타민의 함량도 낮게 나타났다. 따라서 멸치젓갈의 경우 숙성온도가 히스타민 발현에 크게 영향을 미치는 인자임을 확인하였다. 최근 저염식이 강조되고 있는 현실을 감안해 볼 때 식염의 첨가량이 20% 이하인 멸치젓갈의 경우에는 가능한 한 낮은 온도에서 숙성시키는 것이 조리용 젓갈로서 안전성을 확보하는데 중요하다고 생각된다.

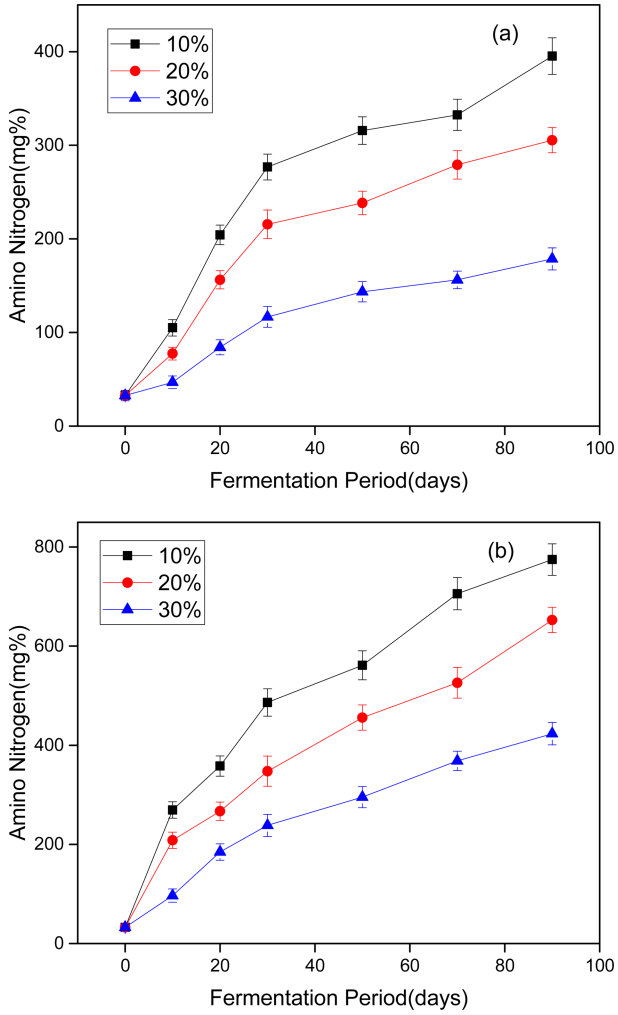

Fig. 2. Changes in amino nitrogen of salted and fermented anchovy at different salt concentration and fermentation temperature. (a) fermented at 10°C; (b) fermented at 20°C.

그리고 태국 펑후섬에서 유통되고 있는 46개의 건조 수산제품의 히스타민과 히스타민 생성균에 대하여 조사한 결과, 수분함량은 19.32~61.90%, 수분활성도는 0.63~0.92, 염농도는 1.8~27.1%이었으나 히스타민 함량이 5 mg/100 g (FDA 기준)을 초과하는 시료가 30.4%라고 보고하고 있다[19]. 이는 염장 건조제품의 낮은 수분 활성(aw 0.75)에도 불구하고 높은 함량의 히스타민이 생성되기도 한다고 보고하고 있음을 감안할 때 히스타민과 같은 biogenic amines 생성을 조절하는데 온도가 가장 중요한 요소라고 생각된다. 그리고 히스타민의 생성은 0°C 또는 그 이하의 온도가 유질 될 때에도 생성은 가능하지만 건강에 위해를 미칠

정도의 함량까지는 생성되지 않았다고 보고되어 있다[20].

아미노산성 질소의 변화

일반적으로 젓갈에 함유된 질소 화합물 중 아미노산성 질소의 변화는 원료육에서 액으로 이행된 단백질이 미생물이나 호염성 세균 및 단백질 자가분해효소에 의해 저분자 펩타이드 및 아미노산으로 분해되고 있음을 나타낸다고 알려져 있으며, 아미노산성 질소 함량은 젓갈을 비롯한 수산 발효식품 숙성도의 지표로 사용될 뿐만 아니라 감칠맛 등 향미와 깊은 관련이 있기 때문에 중요한 품질지표로 인식되고 있다[21].

본 연구에서 식염의 첨가 농도 및 숙성온도를 달리 한 조리용 멸치젓갈의 숙성 중 아미노산성 질소함량의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 멸치젓갈의 아미노산성 질소함량의 변화는 숙성기간 동안 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 식염 농도가 높을수록 아미노산성 질소함량은 낮았고, 숙성온도가 높을수록 아미노산성 질소의 함량이 높은 경향을 나타내었다. 숙성온도 10°C의 경우 숙성 10일 차에 아미노산성 질소함량은 식염 농도 10%가 105.1 mg%이었고, 20%는 77.5 mg%, 30%는 46.8 mg%이었다. 30일 차에는 식염 농도 10%가 276.8 mg%, 20%가 215.6 mg%, 30%가 116.7 mg%이었으며, 90일 차에는 식염 농도 10%는 395.2 mg%, 20%는 305.4 mg%, 30%는 178.6 mg%로 나타나 식염 농도가 높을수록 아미노산성 질소함량은 상대적으로 낮게 나타났다. 이와 유사한 경향은 20°C 숙성온도에서도 보였으며, 숙성온도 20°C에서는 10일 차에 식염 농도에 따라 96.8~269.3 mg%이었고, 30일 차에 238.4~486.3 mg%, 90일 차에는 423.4~774.6 mg%의 함량을 나타내어 10°C숙성온도에서 보다 높은 아미노산성 질소함량을 나타내었다. 이는 숙성온도가 높을수록 단백질 분해효소 또는 호염성 미생물의 작용이 활발해진 결과라고 여겨진다.

미생물학적 변화

세균수

젓갈의 변질은 대부분 부패에 의해 섭취할 수 없는 상태가 아니고 가스 생성균에 의한 가스 생성, 산 생성균의 과다 증식에 의한 강한 신맛, 미생물에 의한 단백질 분해효소의 과다 생성으로 인한 고형분의 액즙화 및 미생물의 과다 증식으로 인한 젓갈의 백색화 등에 의한 것으로 알려져 있다[22]. 본 연구에서 조리용 젓갈의 숙성 중 미생물 증식에 미치는 젓갈의 식염 농도와 숙성온도의 영향을 살펴보고자 식염 10%, 20% 및 30%를 첨가하고, 숙성온도 10°C 및 20°C에서 90일간 각각 숙성시킨 멸치젓갈의 총균수 변화를 Table 3에 나타내었다. 식염 농도의 영향으로 10°C와 20°C에서 숙성시킨 멸치젓갈의 총균수는 식염 농도가 높을수록 낮은 개체수를 나타내었다. 숙성온도 10°C에서 식염 농도 10%의 경우 숙성 30일 차까지 5.5 log CFU/mL로 증가하다가 이 후 90일 차까지 총균수의 변화가 크게 나타나지 않는 경향을 보였으며, 식염 농도 20%의 경우에는 숙성 30일 차에 4.3 log CFU/mL 정도로 증가하였다가 이 후 약간씩 감소하였고, 식염 농도 30%의 경우 30일 차에 3.7 log CFU/mL이었다가 이 후 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 식염에 의한 미생물 생육의 저해가 가장 큰 원인이라 생각된다. 숙성온도 20°C에서도 숙성 30일 차 정도에서 가장 높은 개체수를 나타내어 식염 농도 10%는 6.7 log CFU/mL, 20%는 6.1 log CFU/mL, 30%는 4.4 log CFU/mL이었다. 이 후 90일 차까지는 개체수가 감소하여 식염 농도 10%는 5.9 log CFU/mL, 20%는 3.3 log CFU/mL, 30%는 3.8 log CFU/mL이었다. Hong 등[23]은 멸치액젓에서 NaCl의 농도가 높을 경우 미생물의 생육이 억제되었다고 하였으며, 멸치액젓의 숙성과정 중 미생물수의 변화는 숙성기간이 경과함에 따라 전체적으로 감소하는 경향을 나타내어 숙성 28주째에는 일반세균수가 10^{3-5} CFU/g sample로 감소하였다고 보고하였다. 그리고 멸치 액젓의 숙성 단계별 미생물의 균총변화를 조사한 결과에서 19주째에 효모균들이 우점종을 이루고 있고, 그램 음성 세균들의 비율이 비교적 일정하게 유지되었다고 하였다. 그에 앞서 Hur[24]는 멸치젓갈 발효 중의 생균수 변화는 15~20일 사이에 급격히 증가한 후 점차 감소하였으며, 담금 30일째에는 *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus*속 및 *Flavobacterium*속 균주가 가장 많이 검출되었고, 담금 30~60

Table 3. Changes in total viable cell numbers of salted and fermented anchovy at different salt concentration and fermentation temperature

Fermentation Temperarture (°C)	Fermentation period (days)	Log No. of viable cells (CFU/ml)		
		Salt concentration		
		10%	20%	30%
	0	4.2[1)]	3.9	3.6
10	10	4.3	3.7	3.1
	20	4.9	4.2	3.5
	30	5.5	4.3	3.7
	50	5.4	4.2	3.6
	70	5.5	3.8	2.7
	90	5.1	3.7	2.8
20	10	6.4	4.7	3.7
	20	7.6	5.8	4.1
	30	6.7	6.1	4.4
	50	7.4	4.2	3.9
	70	5.1	3.2	4.2
	90	5.9	3.3	3.8

[1)]"values are expressed as logarithmic mean"

Table 4. Changes in coliform bacteria and *E. coli* counts of salted and fermented anchovy at different salt concentration and fermentation temperature

Temp.[a] (°C)	Period[b] (days)	Salt concentration (%)					
		10		20		30	
		Bacteria counts (MPN/100 ml)					
		Coliform bacteria	*E. coli*	Coliform bacteria	*E. coli*	Coliform bacteria	*E. coli*
	0	1,600[1)]	58	1,600	58	1,600	58
10	10	175	12	6	-*	4	-
	20	26	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-
	90	-	-	-	-	-	-
20	10	240	23	14	6	9	-
	20	40	15	2	-	-	-
	30	17	9	-	-	-	-
	50	7	4	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-
	90	-	-	-	-	-	-

[a]: fermentation temperature, [b]: fermentation period, *: bacteria negative
[1)]"values are expressed as logarithmic mean"

일 사이에서는 *Pediococcus*, *Halophilus*, *Micrococcus*속 및 *Sarcina*속 등이 검출되었으며, 담금 60일 이후에는 *Sacharomyces*속과 *Tolulopsis*속 등의 효모 류가 우점종이었으며, 생균수는 담금 35~40일 사이에 최고치에 도달하였으며, 효모는 담금 80일에 최고였다가 점차 감소하였다고 하였다고 보고하였다. 본 연구의 결과에서도 전체적으로 숙성 30일 차 근처까지는 총균수가 증가하는 경향을 나타내었으며, 이후 시험 구들마다 다소의 증감은 있으나 유지 또는 감소하는 경향을 보여 이상의 보고들과 잘 일치하는 결과라고 생각된다.

이상의 결과에서 살펴본 바와 같이 본 연구에서 제조한 조리용 멸치젓갈의 총균수 변화에 미치는 식염 농도 및 숙성온도의 영향은 식염 농도가 높을수록 식염에 의한 미생물의 생육억제 효과가 크게 나타났고, 숙성온도가 높을수록 총균수도 높게 나타났으며, 대체로 숙성 30일 차 근처까지 총균수가 증가하다가 이후 유지 또는 감소하는 경향을 나타내었다.

대장균군 및 대장균

조리용 멸치젓갈의 식염 농도 및 숙성온도에 따른 대장균군 및 대장균의 변화는 Table 4에 나타내었다. 표에서 보는 바와 같이 원료 멸치에서 대장균군과 대장균이 검출되었으나 젓갈을 제조하여 숙성기간을 거치는 동안 대장균군과 대장균수가 감소하였으며, 식염 농도가 높을수록 빠르게 감소하여 숙성 20~30일이 경과하면서 대부분 검출되지 않았다. 이러한 결과는 젓갈에 있어서 대장균군과 대장균은 외부로부터 추가 오염이 없다면 크게 문제없을 것으로 사료된다.

Acknowledgement

이 연구는 2016년 영산대학교 교내연구비의 지원을 받아 수행되었음.

국문요약

멸치젓갈을 대상으로 젓갈의 품질에 가장 큰 영향을 미치는 식염의 농도 및 숙성 온도가 전체 숙성기간 동안에 식품 위생적 품질 인자의 변화에 미치는 영향을 살펴보았으며, 그 결과는 다음과 같다. 멸치젓갈의 휘발성 염기질소 함량은 전체 숙성기간 동안 30일까지는 비교적 높은 증가를 보이다가 이후 90일까지는 완만하게 증가하는 경향을 나타내었으나, 첨가한 식염 농도가 높을수록 휘발성 염기질소 함량은 낮게 나타났고, 숙성온도 20°C에서는 10°C에 비해 2배 이상의 높은 휘발성 염기질소 증가를 나타내었다. 또한, 히스타민의 발현은 숙성온도가 낮은 경우 히스타민의 함량도 낮게 나타나 온도가 히스타민의 발현에 영향을 미치는 인자임을 확인하였으며, 아미노산성 질소

함량의 변화는 숙성기간 동안 지속적으로 증가하는 경향을 나타내었다.

조리용 멸치젓갈의 총균수 변화에 미치는 식염 농도 및 숙성온도의 영향은 식염 농도가 높을수록 식염에 의한 미생물의 생육억제 효과가 크게 나타났고, 숙성온도가 높을수록 총균수도 높게 나타났으나, 대체로 숙성 30일 차 근처까지 총균수가 증가하다가 이후 유지 또는 감소하는 경향을 나타내었다. 대장균군 및 대장균의 변화는 원료 멸치에서 대장균군과 대장균이 검출되었으나 젓갈을 제조하여 숙성기간을 거치는 동안 대장균군과 대장균수가 감소하였으며, 식염 농도가 높을수록 빠르게 감소하여 숙성 20~30일이 경과하면서 대부분 검출되지 않았다.

Referances

1. Lee S.M., Lim J.M,, Kim K.H., Cho S.Y., Park K.S., Sin Y.M., Cheung C.Y., Cho J.I., You H.J., Kim K.H., Cho D.H.: Microbiological study using monitoring of microorganism in salt-fermented fishery products. *J. Food Hyg. Saf.*, **23**, 198-205 (2008).
2. Lee K.H., Kim J.H., Cha B.S., Kim J.O., Byun M.W.: Quality evaluation of commercial salted and fermented seafoods. *Korean J. Food Sci. Techmol.,* **31**, 1427-1433 (1999).
3. Shon M.Y., Park G.J., Shin J.H., Sung N.J.: Correlation of N - Nitrosamine Formation and Mutagenicity in Fermented Anchovy under Simulated Gastric Digestion. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **33**, 1560-1565 (2004).
4. Ryu B.H., Ha M.S., Kim D.S., Sin D.B., Hur H.J., Jung J.S.: Heavy metals contents and organochlorine pesticide residues in commercial salted and fermented sea foods. *J. Korean Soc. Food Nutr.,* **15**, 207-212 (1986).
5. Choi S.H., Im S.I., Hur S.H., Kim Y.M.: Processing conditions of low salt fermented squid and its flavor components; 1. Volatile flavor components of low salt fermented squid. *J. Korean Soc. Food Nutr.,* **24**, 261-267 (1995).
6. Lee K.G., Kim S.M.: Quality changes in low salted squid Jeot-gal during fermentation and determination of shelf-life. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.,* **41**, 687-694 (2012).
7. Jeon C.P., Kim Y.H., Lee J.B., Jo M.S., Shin K.S., Choi C.S., Kwon G.S. :Physiological characteristics and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of *Lactobacillus brevis* HLJ59 isolated from salted shrimp. *The Korean J. Microbiol. Biotechnol.,* **46**, 9-14 (2010).
8. Kim I.S., Kim H.S., Han B.W., Kang K.T., Park J.M., Oh H.S., Han G.U., Kim J.S., Heu M.S.: Preparation and quality characteristics of enzymatic salt-fermented pearl oyster, Pinctada fucata martensii., *J. Korean Fish Soc.,* **39**, 9-15 (2006).
9. Kim S.J, Ma S.J., Kim H.L.: Probiotic properties of lactic acid bacteria and isolated from korean traditional food, Jeotgal. *Korean J. Food Preserv.,* **12**, 184-189 (2005).
10. Heu M.S,, Kim J.S.: Comparison of quality among boiled-dried anchoves caught from different sea. *J. Korean Fish Soc.,* **35**, 173-178 (2002).
11. Chae S.K.: Standard food analysis. Jigu Publishing Co., Seoul, Korea. 637-640 (1998).
12. Cho T.Y., Han G.H., Bahn K.N., Son Y.W., Jang M.R., Lee C.H., Kim S.H., Kim D.B., Kim S.B.: Evaluation of biogenic amines in korean commercial fermented foods. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **38**, 730-737 (2006).
13. Chae S.K.: Standard food analysis. Jigu Publishing Co., Seoul, Korea. p.299-301 (2000).
14. Cha Y.J., Park H.S., Cho S.Y., Lee E.H:. Studies on the processing of low salt fermented sea foods. *J. Korean Fish Soc.,* **16**, 363-367 (1983).
15. Hernandez M.M., Roig A.X., Lopezr E.I., Rodriguez J., Mora M.T.: Total volatile basic nitrogen and other physico-chemical and microbiological characteristics as related to ripening of salted anchovies. *J. Food Science,* **64**, 343-347 (1999).
16. Rawles D.D., Flick G.J., Martin R.E.: Biogenic amines in fish and shelfish. *Adv. Food Nutr. Res.,* **39**, 329-365 (1996).
17. Etkind P, Wilson. ME., Gallagher K., Cournoyer J.: Bluefish-associated scombroid poisoning. JAMA: *J. Am. Med. Assoc.,* **258**, 3409-3410 (1987).
18. Mietz J.L., Karmas E.: Chemical quality index of canned tuna as determined by high pressure liquid chromatography. *J. Food Sci.*, **42**, 155-158 (1977).
19. Huang Y.R., Liu K.J., Hsieh H.S, Hsieh C.H, Hwang D.F and Tsai Y.H.: Histamine level and histamine-forming bacteria in dried fish products sold in Penghu Island of Taiwan. *Food Control,* **21**, 1234-1239 (2010).
20. Behling A.R., Taylor S.L.: Bacterial histamine production as a function of temperature and time of incubation. *J. Food Sci.*, **47**, 1311-1317 (1982).
21. Lee K.G., Kim S.M.: Quality changes in low salted squid Jeot-gal during fermentation and determination of shelf-life. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.,* **41**, 687-694 (2012).
22. Cho H.R., Park U.Y., Chang D.S.: Studies on the shelf-life extension of *jeotgal*, salted and fermented seafood. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **34**, 652-660 (2002).
23. Hong Y., Kim J.H., Ahn B.H., Cha S.K.: The effects of low temperature storage and aging of *jeot-kal* on the microbial counts and microflora. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **32**, 1341-1349 (2000).
24. Hur S.H.: Critical review on the microbiological standardization of salt-fermented fish product. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.,* **25**, 885-891 (1996).