



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

A23L 1/325 (2006.01)

A23L 1/327 (2006.01)

(11) 공개번호

10-2006-0123978

(43) 공개일자

2006년12월05일

(21) 출원번호 10-2005-0045657

(22) 출원일자 2005년05월30일

심사청구일자 2005년05월30일

(71) 출원인 경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 가좌동 900
서운언
경남 통영시 봉평동 139-9번지

(72) 발명자 허민수
경남 통영시 용남면 청구아파트 106-1307
김진수
경남 통영시 미수동 현대아파트 102-1003
서운언
경남 통영시 봉평동 139-9번지
양수경
경남 고성군 고성읍 수남리 49-2 장미아파트 304호
김혜숙
경남 마산시 회원1동 53-1 5/5
박찬호
전남 여수시 학동 장미아파트 210-505
오현석
부산 연제구 연산7동 174-32 16/4
강경태
부산 수영구 망미1동 로얄베스트피아아파트 105-803
심남혁
경남 진주시 신안동 30-4번지

(74) 대리인 특허법인 율촌

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 새우가공부산물을 이용한 새우향 멸치액젓의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 두부, 갑각 및 꼬리부와 같은 새우가공부산물을 첨가하여 제조한 새우향 멸치액젓 및 그 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 멸치와 새우가공부산물을 혼합하여 액젓을 제조함으로써 원가를 절약하면서 멸치액젓의 숙성기간을 단축시키고, 새우향이 가미됨으로써 기호성 개선에 의한 고품질의 새우향 멸치액젓 및 그 제조방법에 관한 것이다.

이를 위하여 본 발명은 멸치 마쇄물 100중량부에 대하여, 새우가공부산물 마쇄물 10~30중량부를 혼합교반하여 멸치새우 혼합물을 제조하고, 상기 멸치새우혼합물 100중량부에 대하여 식염 10~30중량부 가하여 숙성된 것을 특징으로 하는 새우향이 가미된 멸치액젓 및 그 제조방법을 제공한다.

대표도

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

멸치 마쇄물 100중량부에 대하여, 새우가공부산물 마쇄물 10~30중량부를 혼합교반하여 멸치새우혼합물을 제조하고, 상기 멸치새우혼합물 100중량부에 대하여 식염 10~30중량부 가하여 숙성된 것을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓.

청구항 2.

제 1 항에 있어서,

상기 멸치 마쇄물은 세척한 멸치를 상온에서 1 ~ 2.5mm로 마쇄한 것임을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓 제조방법.

청구항 3.

제 1 항에 있어서,

상기 새우가공부산물 마쇄물은 동결한 새우가공부산물을 1 ~ 2.5mm로 마쇄한 것임을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓 제조방법.

청구항 4.

제 1 항에 있어서,

상기 숙성은 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 150~200일간 이루어지는 것을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓.

청구항 5.

멸치 마쇄물 100중량부에 대하여 새우가공부산물 마쇄물 10~30중량부를 상온에서 혼합교반하여 멸치새우혼합물을 제조하는 원료혼합과정;

상기 멸치새우혼합물 100중량부에 대하여 식염 10~30중량부 가하여 상온에서 혼합교반하는 염분혼합과정; 및

상기 염분 혼합된 멸치새우혼합물을 발효탱크에 담아 숙성시키는 숙성공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓 제조방법.

청구항 6.

제 5 항에 있어서,

상기 원료혼합공정에서 멸치 마쇄물은 세척한 멸치를 상온에서 1 ~ 2.5mm로 마쇄한 것임을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓 제조방법.

청구항 7.

제 5 항에 있어서,

상기 원료혼합공정에서 새우가공부산물 마쇄물은 동결한 새우가공부산물을 1 ~ 2.5mm로 마쇄한 것임을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓 제조방법.

청구항 8.

제 5 항에 있어서,

상기 숙성공정은 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 150~200일간 숙성되는 것을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 새우가공부산물을 첨가하여 제조한 새우향이 가미된 멸치액젓 및 그 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 멸치와 새우가공부산물을 혼합하여 액젓을 제조함으로써 원가를 절약하면서 멸치액젓의 숙성기간을 단축시킬 수 있는 새우향 멸치액젓 및 그 제조방법에 관한 것이다.

젓갈은 염장품으로써 어류, 패류, 어류의 내장 등에 식염을 가하여 부패균의 번식을 억제하고, 어패류 자체의 효소에 의한 자가소화가 이루어지고 또한 외부 미생물의 효소작용으로 육질을 분해시킨 독특한 맛과 풍미를 가진 전통발효식품이다.

액젓은 식염만을 첨가하여 제조하는 방법으로 상기 젓갈류와 동일하지만 숙성기간에서 구별된다. 기존의 젓갈들은 2~3개월 숙성 발효시켜 원료가 완전히 분해되지 않은 상태에서 식용되나, 액젓은 숙성기간을 6~24개월 정도 연장함으로써 얻을 수 있으며, 저장기간이 오래 지속되면서 원료의 육질에서 효소적 가수분해가 충분히 일어나게 되고 숙성이 충분하게 된 후 여과장치를 통하여 고형분을 걸러내면 우리가 식용하는 액젓이 되는 것이다. 이 액젓을 보통 어장유라고도 부르며, 대표적인 것으로는 멸치액젓과 까나리액젓을 들 수 있다.

이 중 멸치 액젓은 전통적으로 가정에서 조리하여 자급자족하여 왔으나, 근년에는 맛벌이 주부의 대거 등장, 생활수준의 향상, 주거환경의 변화, 경제적인 여유, 편의성 추구, 김치산업의 신장 추세 및 천연식품이라는 측면에 의해 가정에서 조리되기보다는 대부분이 슈퍼에서 구입하여 소비하는 패턴으로 변화하였고, 이로 인해 멸치액젓은 주요 수산가공품으로 자리매김하게 되었다.

그러나 근년 멸치의 생산량은 유가상승, 인건비 증가 등과 같은 고정성 경비의 증가, 인공 어초사업, 양식어업의 증대 및 연안지역의 개발 사업에 따른 해수의 유동과 해저지형의 변화 등으로 인한 멸치의 산란, 서식장 등과 같은 생태계 변화로 어획량이 감소하고 있는 추세이다(참조: MOMAF, 2004. Production by fisheries type. In *Statistical year book of maritime affair and fisheries*(http://www.momaf.go.kr/info/stat/d_stat_01.asp). Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Seoul. p 1-12).

이로 인해, 멸치액젓 시장은 원료의 단가 상승으로 인하여 제품의 단가도 동반 상승하게 되고, 자연히 국내산 멸치액젓의 가격에 비하여 저렴한 중국산 및 태국산 멸치액젓 등과 같은 수입산 멸치액젓이 다량 수입되어 시장을 혼란하게 만들고 있는 실정이며, 이의 대책이 절실하다. 또한, 멸치액젓과 같은 어류액젓은 다른 수산가공품의 생산에 비하여 숙성기간이 수개월간 또는 수년간 소요되어 상품으로서 경제성 추구가 용이하지 않다(참조: Kang SG, Yoon SW, Kim, JM, Kim SJ and Jung ST. 2001. Quality of accelerated salt-fermented anchovy sauce prepared with fig. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1142-1146).

따라서 멸치액젓의 수입 억제 및 숙성 기간 단축을 위하여 멸치 대신에 일부의 저렴한 원료를 대체하거나 단백질 분해효소 등을 이용하여 단가를 저하시키고 숙성기간을 단축하면서 품질이 우수한 멸치액젓의 제조방법 및 특성이 구명되어야 한다.

멸치액젓의 숙성 기간 단축으로 액젓의 경제성 추구를 위한 연구로는 상업적 단백질 분해효소를 이용한 시도(참조: Kim IS, Choi YJ, Heu MS, Cho YJ, Im YS, Gu YS, Yeo SG, Park JW. 1999. Peptide properties of rapid salted and fermented anchovy sauce using various proteases. 1. Hydrolysis of anchovy sauce and actomyosin by various proteases. *J Korean Fish Soc* 32: 481-487), 오징어 내장, 코지(koji) 등을 이용한 시도(참조: Kim WJ, Kim SM, Lee SK. 2002. Quality characteristics of the accelerate-fermented Northern sand lance, *Ammodytes personatus*, sauce. *J Korean Fish Soc* 35: 709-714), 어류 유래 미생물 분비 효소를 이용한 시도(참조: Cha YJ, Lee EH. 1990. Studies on the processing of rapid fermented anchovy prepared with low salt contents by adapted microorganism. 2. Thermodynamic characteristics of microbial extracellular protease isolated from fermented fish paste. *J. Korean Agric Chem Soc* 33: 325-329.), histidine을 이용한 시도(참조: Sanceda NG, Kurata T, Arakawa N. 1996. Accelerated fermentation process for the manufacture of fish sauce using histidine. *J Food Sci.* 61: 220-225) 및 미역 마쇄물을 이용한 시도(참조: Byun HS, Lee TG, Lee YW, Park YB, Kim SB, Park YH. 1994. The accelerative effect on fermentation of salted and fermented anchovy by homogenates of sea tangle, *Laminaria japonica aresschoug*. *Bull Korean Fish Soc* 27: 127-132) 등이 있다.

하지만, 이들이 시도한 숙성 발효 기술의 경우 발효 속도에만 기준을 두어 대부분이 endo type의 효소로 이루어져 있는 소재를 적용하여 다량의 소수성 아미노산의 노출로 쓴맛이 증가하는 것과 관능적으로 소비자의 기호를 충족시키는 데는 부족함이 있어 아직 산업화된 경우는 없다.

한편, 새우는 식생활의 서구화, 다양화 및 고급화되어 가는 추세에 발맞추어 생것, 젓갈, 건제품, 냉동품의 형태로 다량 유통되고 있고, 앞으로도 더욱 증가할 추세이어서 현재 우리나라 새우의 생산량(참조: National Federation of Fisheries Cooperatives. 2005. Import by commodity and country (1995-2004) of shrimp. In *Statistical data of National Federation of Fisheries Cooperatives* (<http://trade.suhyp.co.kr>))으로는 부족하여 다량 수입되고 있을 정도로 증가 추세에 있다.

하지만 새우는 두홍부, 갑각 및 꼬리부 등에 세균의 육단백질이 분해되어 생성되는 수용성 물질인 티로신(tyrosine)이 존재하고, 이것이 산소와 자외선 항서 산화효소인 티로시나제(tyrosinase)에 의해 산화되어 멜라닌(melanine)으로 변하여 저장 및 유통 중 흑변 현상이 발생하여 품질이 저하된다(참조: Kim JS. 2003. *Food Freezing and Cooling*. Hyoilbooks Publishing Co., Seoul: p 231-234). 이로 인해, 새우는 어체 그대로 이용되는 젓갈을 제외하고는 품질저하 억제를 위하여 생것, 건제품 및 냉동품 등과 같은 가공품의 제조시 대부분이 두부와 껍질을 제거한 상태로 유통되고 있다.

이와 같이 새우가공 중 다량 발생하는 부산물 중 두부에는 다량의 엑스분(참조: Heu MS, Kim JS, Shahidi F. 2003. Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. *Food Chem* 82: 235-242; Hirano T, Yamaguchi M, Shirai T, Suzuki T, Suyama M. 1992. Free amino acids, trimethylamine oxide, and betaines of the raw and boiled meats of mantis shrimp, *Oratosquilla oratoria*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 973-980) 및 발효속도가 빠른 endo type의 효소와 맛성분 강화에 기여하는 exo type의 효소가 적절히 구성되어 있어 여러 가지 엑스분 추출 소재 및 액젓의 발효조제 등으로 사용 가능하다(참조: Kim JS, Shahidi F, Heu MS. 2003. Characteristics of salt-fermented sauces from shrimp processing byproducts. *J. Agric. Food Chem* 51: 784-792; Asahara M. 1973. Studies on proteolytic enzyme in the liver of shrimp, *Trachypenaeus curvirostris*. *Bull Japan Soc Sci Fish* 39: 987-991; Maugle PD, Deshimaru O, Katayama T, Simpson KL. 1982. Characteristics of amylase and protease of the shrimp, *Penaeus japonicus*. *Bull Japan Soc Sci Fish* 48: 1753-1757).

하지만, 현재 새우가공부산물은 단지 일부만이 사료로 이용되고 있을 뿐이고, 나머지 대부분은 폐기되어 환경오염을 야기하고 있는 실정이다.

국내 특허공개 제2004-52888호에는 보라새우와 멸치를 주재료로 한 것갈의 제조방법이 개시되어 있다. 그 제조방법을 간단히 살펴보면, 보라새우 약 76%, 소금 약 24%를 혼합하여 발효탱크에서 약 14℃의 온도로 약 5개월 발효시킨 후, 침출액을 약 25% 제거한 후 고형분 보라새우덩어리를 약 0.1mm로 분쇄하고, 멸치 약 76%, 소금 약 24%를 혼합하여 발효탱크에서 약 14℃에서 약 12개월 발효시켜 침출된 멸치액젓을 생산하여 상기 보라새우덩어리 70%와 상기 멸치액젓 30%를 상호 혼합하여 2개월간 숙성시킨다. 이는 기존의 것갈과는 차별화된 맛과 향을 제공하는 데 그 목적이 있는 것이며, 보라새우와 멸치를 각각 별도로 장기간 숙성시킨 후, 다시 혼합하여 숙성시킴으로써 번거롭고 숙성기간이 오래걸리는 단점이 있다.

한편, 국내 특허공개 제2001-44107호에는 숙성새우조미액젓의 제조방법이 개시되어 있다. 이는 새우의 활용가치와 부가가치를 증대시키기 위한 가공기술로써, 단백질을 분해효소 및 각종 식품 첨가물을 가하여 생산기간을 단축시키는데 특징이 있다. 그러나 이는 새우만을 이용한 경우이며, 별도로 단백질을 분해효소와 식품 첨가물을 가하여야 하는 불편한 점이 있다.

이에 본 발명자들은 발효 속도가 빠른 endo type의 효소와 맛성분 강화에 기여하는 exo type의 효소가 적절히 구성되어 있으면서, 영양성분과 기호성이 우수한 두홍부, 갑각 및 꼬리부와 같은 새우가공부산물을 이용하여 멸치 액젓의 발효기간 단축, 영양 및 새우향이 가미됨으로써 기호성 증진이 가능함을 실험을 통하여 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

따라서 본 발명은 멸치와 새우가공부산물을 일정비율로 혼합하고 식염을 가하여 숙성시킴으로써, 숙성기간을 단축시키고 기호성을 증진시킨 새우향 멸치액젓을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

또한 본 발명은 보다 저렴하고 풍미가 우수한 새우향 멸치액젓을 숙성으로 단기에 제조하는 방법을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

발명의 구성

상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명은 멸치 마쇄물 100중량부에 대하여, 새우가공부산물 마쇄물 10~30중량부를 혼합교반하여 멸치새우혼합물을 제조하고, 상기 멸치새우혼합물 100중량부에 대하여 식염 10~30중량부 가하여 숙성된 것을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓을 제공한다.

상기 멸치 마쇄물은 세척한 멸치를 상온에서 1 ~ 2.5mm로 마쇄한 것임을 특징으로 한다.

상기 새우가공부산물 마쇄물은 동결한 새우가공부산물을 1 ~ 2.5mm로 마쇄한 것임을 특징으로 한다.

상기 숙성은 24±2℃에서 150~200일간 이루어지는 것을 특징으로 한다.

또한 본 발명은 멸치 마쇄물 100중량부에 대하여 새우가공부산물 마쇄물 10~30중량부를 상온에서 교반하여 멸치새우혼합물을 제조하는 원료혼합공정; 상기 멸치새우혼합물 100중량부에 대하여 식염 10~30중량부 가하여 상온에서 교반하는 염분혼합공정; 및 상기 염분 혼합된 멸치새우혼합물을 발효탱크에 담아 숙성시키는 숙성공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 새우향 멸치액젓 제조방법을 제공한다.

상기 원료혼합공정에서 멸치 마쇄물은 세척한 멸치를 상온에서 1 ~ 2.5mm로 마쇄한 것임을 특징으로 한다.

상기 원료혼합공정에서 새우가공부산물 마쇄물은 동결한 새우가공부산물을 1 ~ 2.5 mm로 마쇄한 것임을 특징으로 한다.

상기 숙성공정은 24±2℃에서 150~200일간 숙성되는 것을 특징으로 한다.

이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

멸치를 선별 및 세척하여 상온에서 마쇄하여 멸치 마쇄물을 제조하고, 새우의 두부, 갑각 및 꼬리부를 선별하고 이물질을 제거한 후, 마쇄를 용이하게 하기 위해 동결하여 쇼퍼를 사용하여 마쇄하여 새우가공부산물 마쇄물을 제조한다. 동결온도

는 마쇄가 용이하도록 동결되면 되는 것으로 특별히 한정되지 않으나, 영하 15~25℃가 좋다. 마쇄된 원료의 크기는 숙성에 영향을 미치는데, 멸치 및 새우가공부산물물은 각각 1 ~ 2.5mm로 마쇄하는 것이 좋다. 이는 멸치와 새우가공부산물물에 포함된 효소들이 작용하기 용이하도록 단위 표면적을 높이는 과정이다.

마쇄한 멸치와 새우가공부산물물을 혼합 교반하는데, 그 혼합비율은 멸치 마쇄물 100중량부에 대하여 새우가공부산물 마쇄물을 10~30중량부로 하여 혼합하여 멸치새우혼합물을 제조한다.

상기 제조된 멸치새우혼합물 100중량부에 대하여 식염 10~30중량부를 가하여 혼합 및 교반한다. 상기 식염은 수분의 활성을 떨어뜨려 미생물의 증식을 억제하기 위하여 첨가한다.

여기서 멸치 마쇄물과 새우가공부산물 마쇄물을 혼합한 후 식염을 혼합하는 것은 각각의 재료들에 보다 골고루 혼합이 되게 위함이며, 상기 멸치 마쇄물과 새우가공부산물 마쇄물을 혼합할 때 식염을 함께 혼합 및 교반하여도 무방하다.

상기의 멸치새우혼합물을 발효탱크에 담아 상온에서 150~200일동안 숙성시킨다.

숙성시킨 멸치새우혼합물을 원심분리한 후, 감압 여과하여 최종적으로 액젓을 얻는다.

이하, 본 발명의 제조에 및 실험예로 더욱 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 이들에 한정되는 것은 아니다.

<제조예>

새우가공부산물물을 첨가한 멸치액젓의 제조를 위하여 주원료인 멸치를 선별 및 세척하여 상온에서 1 ~ 2.5mm로 마쇄하고, 새우가공부산물물을 선별 및 세척하여 이물질을 제거하고 영하 20℃로 동결하여 1 ~ 2.5mm로 마쇄한다. 상기 멸치 (*Engraulis japonicus*, 체장: 10.0±1.2 cm, 체중: 13.5±0.7 g)는 통영 근해에서 기선권현망으로 어획된 것을 통영소재 금정수산의 어선으로부터 직접 구입한 다음 초퍼로 마쇄하여 사용하였으며, 상기 새우가공부산물물은 북쪽분홍새우(*Pandalus borealis*, 체장: 11.2±1.1 cm, 체중: 13.1±1.1 g)의 두부, 갑각 및 꼬리부를 2004년 3월에 통영소재 채래식 시장에서 구입하여 이물질을 제거한 다음, 동결 후 초퍼로 마쇄하여 사용하였다.

발효 중 부패방지를 위하여 사용하는 식염은 통영소재 슈퍼에서 구입하여 사용하였다.

상기 새우가공부산물물의 마쇄물을 멸치 마쇄물 100중량부에 대하여 각각 0중량부, 10중량부, 20중량부 및 30중량부 첨가하여 교반하여 멸치새우혼합물을 제조하고, 상기 멸치새우혼합물 100중량부에 대하여 식염을 25중량부 가하여 잘 혼합한 후 플라스틱 용기(13D×18H cm)에 담아 상온(24±2℃)에서 1, 2, 3, 6, 9, 12개월 동안 각각 숙성시키고, 원심분리(5,000×g, 20분) 및 감압 여과하였다.

상기와 같이 제조된 멸치액젓의 수율, 수분, 조단백질, 염도, pH, 휘발성염기질소, 투과율, 갈변도, 아미노질소의 함량, 효소활성 및 단백질 분자량 분포를 측정하였다.

<실험예 1> 수율

새우향 멸치액젓의 수율은 사용한 멸치량에 대하여 분리된 액젓의 상대비율(% v/w)로 측정하였다. 새우가공부산물물의 첨가량에 따른 숙성 중 멸치액젓의 수율 변화는 도 1과 같다. 새우가공부산물물 첨가 멸치액젓의 수율은 숙성 30일째에 41.0 ~ 63.7% 범위이었다. 숙성 기간의 경과에 따른 멸치액젓의 수율은 숙성기간이 경과할수록 증가하여 새우가공부산물물 무첨가 및 10% 첨가 제품의 경우 270일째까지 급격히 증가하여 73.4 ~ 75.4%를 나타내었고, 새우가공부산물물 20% 첨가 및 30% 첨가 제품의 경우 90일까지 급격히 증가하여 72.4 ~ 78.5%를 나타내었으며, 그 이후에는 서서히 증가를 하였다.

이와 같이 숙성 중 멸치액젓의 수율이 새우가공부산물물의 첨가량에 관계없이 일정 발효기간 동안 증가하는 것은 멸치단백질이 숙성기간의 경과와 함께 멸치와 새우가공부산물물의 활성이 강한 자가소화효소들(Kim JS, Shahidi F, Heu MS. 2003. Characteristics of salt-fermented sauces from shrimp processing byproducts. *J. Agric. Food Chem* 51: 784-792.; Cha YJ, Lee EH. 1985. Studies on the processing of low salt fermented seafoods. 6. Taste compounds of low salt fermented anchovy and yellow corvenia. *Bull Korean Fish Soc* 18: 325-332.)에 의하여 액화되었기 때문이라 판단된다. 새우가공부산물물의 첨가량에 따른 멸치액젓의 수율은 첨가량이 증가할수록 증가하였는데, 이는 새우가공부산물물에 다량

함유되어 있는 저분자의 질소 화합물과 다양한 효소들의 멸치액젓으로 유리되는 함량 차이 때문이라 판단된다(Heu MS, Kim JS, Shahidi F. 2003. Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. *Food Chem* 82: 235-242.).

<실험예 2> 수분, 조단백질, 염도 및 pH

새우향 멸치액젓의 일반성분은 AOAC(AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC.)법에 따라 수분의 경우 상압가열건조법으로, 총질소의 경우 semimicro Kjeldahl 법으로 각각 정량하였고, 조단백질의 경우 총 질소에 질소계수(Hirano T, Yamaguchi M, Shirai T, Suzuki T, Suyama M. 1992. Free amino acids, trimethylamine oxide, and betaines of the raw and boiled meats of mantis shrimp, *Oratosquilla oratoria*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 973-980.; NFPQIS. 1994. The law of fisheries products inspection(<http://www.nfpqis.go.kr/>). The National Fisheries Products Quality Inspection Service, Seoul, p 165.)를 곱하여 산출하였다. 염도와 pH는 멸치액젓 그 자체를 시료로 하여, 염도는 염도계(Istek model 460CP, Seoul, Korea)로, pH는 pH meter(Metrohm model 744, Switzerland)로 측정하였다.

숙성 중 새우향 멸치액젓의 수분함량, 조단백질 함량, 염도 및 pH에 대한 새우가공부산물 첨가량의 영향은 다음의 표 1과 같다.

[표 1]

숙성기간(일)	첨가비율(%)	수분(%)	조단백질(%)	염도(%)	pH
30	0	67.5±0.3	7.0±0.0	23.0±0.1	5.52±0.03
	10	68.0±0.1	7.2±0.1	23.8±0.2	6.35±0.00
	20	67.5±0.1	7.5±0.0	23.9±0.1	6.85±0.06
	30	67.6±0.0	8.2±0.1	24.5±0.2	7.10±0.00
60	0	66.5±0.1	8.4±0.1	23.2±0.0	5.39±0.02
	10	66.5±0.7	8.5±0.0	23.6±0.2	6.28±0.04
	20	66.8±0.2	8.4±0.0	23.9±0.1	6.80±0.03
	30	66.7±0.1	8.9±0.1	23.9±0.2	6.99±0.02
90	0	66.2±0.0	9.4±0.1	23.3±0.2	5.36±0.03
	10	66.3±0.2	9.3±0.0	23.7±0.2	6.09±0.00
	20	66.2±0.1	9.6±0.0	23.6±0.1	6.68±0.00
	30	67.1±0.1	9.7±0.0	24.2±0.0	6.95±0.02
180	0	66.1±0.1	9.8±0.0	23.9±0.1	5.14±0.00
	10	66.3±0.3	10.0±0.1	23.5±0.2	5.83±0.01
	20	65.3±0.0	10.6±0.0	23.7±0.2	6.52±0.02
	30	65.2±0.1	10.5±0.0	23.7±0.2	6.90±0.02
270	0	65.1±0.6	10.9±0.0	24.0±0.3	5.11±0.01
	10	65.2±0.3	10.8±0.0	24.0±0.2	5.78±0.01
	20	65.9±0.1	10.6±0.1	23.2±0.2	6.48±0.03
	30	65.7±0.2	10.6±0.0	23.3±0.3	6.89±0.02
360	0	64.8±0.2	10.8±0.3	23.5±0.0	5.03±0.02
	10	64.5±0.3	10.8±0.4	23.8±0.1	5.63±0.02
	20	64.0±0.3	10.7±0.2	23.3±0.2	6.14±0.03
	30	64.5±0.0	10.7±0.2	23.0±0.2	6.58±0.02

새우향 멸치액젓의 수분함량, 조단백질 함량, 염도 및 pH는 숙성 30일째에 각각 67.5 ~ 68.0 % 범위, 7.0 ~ 8.2% 범위, 23.0 ~ 24.5% 범위, 5.52 ~ 7.10 범위이었다. 숙성기간이 경과할수록 멸치액젓의 수분함량 및 pH는 감소하는 경향을 나타내어 숙성 360일째에 각각 64.0 ~ 64.8% 범위 및 5.03 ~ 6.58 범위를 나타내었다.

이와 같이 새우가공부산물물의 첨가량에 관계없이 숙성 중 멸치액젓의 수분함량이 감소하는 것은 멸치 및 새우가공부산물물의 고분자 단백질이 저분자화하여 가용화 함으로 인해 멸치액젓의 단백질 함량이 상대적으로 증가하였기 때문이라 판단되었고, 숙성 중 멸치액젓의 pH가 감소하는 것은 염기성 물질의 생성량보다 유기산의 생성량이 많았기 때문이라 판단된다.

한편, koji, 효소, 및 오징어 내장을 첨가하여 숙성 까나리 어간장을 제조하고자 하는 연구(Kim WJ, Kim SM, Lee SK. 2002. Quality characteristics of the accelerate-fermented Northern sand lance, *Ammodytes personatus*, sauce. *J Korean Fish Soc* 35: 709-714.)에서 액젓의 pH는 미생물이 생성하는 유기산에 의하여 전 숙성 기간을 통하여 감소하였고, 그 경향은 발효 촉진제 (koji와 오징어 내장) 첨가 제품에서 현저하였다고 보고한 바 있다.

숙성기간이 경과할수록 조단백질 함량은 새우가공부산물물 0% 첨가 및 10% 첨가 제품의 경우 증가하는 경향을 나타내어 숙성 270일째에 10.6 ~ 10.8% 범위를 나타내었고, 20% 첨가 및 30% 첨가 제품의 경우 숙성 180일째에 10.5 ~ 10.6% 범위를 나타내었으며, 그 이후에는 거의 변화가 없었다.

하지만 염도는 숙성기간에 관계없이 23.0 ~ 24.5% 범위로 차이가 인정되지 않았다.

숙성 기간에 관계없이 새우가공부산물물의 첨가량이 증가할수록 조단백질 함량 및 pH의 경우 증가하였으나, 수분함량 및 염도의 경우 차이가 없었다. 이와 같이 숙성기간에 관계없이 새우 첨가량이 증가할수록 멸치액젓의 조단백질 함량 및 pH가 증가하는 것은 새우가공부산물물 중의 단백질성분이 멸치액젓으로 유리된 점과 새우가공부산물물의 pH가 알칼리측으로 기울어져 있기 때문이라 판단된다(Heu MS, Kim JS, Shahidi F. 2003. Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. *Food Chem* 82: 235-242.). 현재 우리나라 수산물검사법규(NFPQIS. 1994. The law of fisheries products inspection(<http://www.nfpqis.go.kr/>). The National Fisheries Products Quality Inspection Service, Seoul, p 165.)에서는 멸치액젓의 경우 수분함량이 68%이하이어야 하고, 총질소의 경우 1.0%이하이어야 한다고 규정되어 있는데, 본 실험에서 제조한 시제품의 경우 새우가공부산물물의 첨가량에 관계없이 숙성 30일째(수분함량: 67.5 ~ 68.0%, 총질소 함량: 1.12 ~ 1.31%) 이후에는 모든 시료구에서 이 조건을 충족하여, 새우가공부산물물 첨가 멸치액젓의 경우 시판 출하하여도 품질 규격면에서는 문제가 없으리라 판단된다.

<실험예 3> 휘발성 염기질소

휘발성 염기질소 함량은 Conway unit를 사용하는 미량확산법(Ministry of Social Welfare of Japan. 1960. *III. Volatile basic nitrogen*. In *Guide to experiment of sanitary infection*. Kenpakusa, Tokyo, p 30-32.)으로 측정하였다.

숙성 중 멸치액젓의 휘발성 염기질소 함량에 대한 새우가공부산물물 첨가량의 영향은 도 2와 같다. 멸치액젓의 휘발성 염기질소 함량은 새우가공부산물물의 첨가량에 관계없이 숙성 30일째에 43.5 ~ 75.3 mg/100g 범위이었고, 숙성기간이 경과할수록 증가하여 숙성 360일째 192.3 ~ 211.1 mg/100g의 범위이었다. 한편, 저염 멸치젓의 휘발성 염기질소 함량은 숙성기간의 경과와 함께 계속적으로 증가하였다고 보고된 바 있다(Cha YJ, Lee EH. 1985. Studies on the processing of low salt fermented seafoods. 6. Taste compounds of low salt fermented anchovy and yellow corvenia. *Bull Korean Fish Soc* 18: 325-332.). 새우가공부산물물의 첨가량에 따른 멸치액젓의 휘발성 염기질소 함량은 숙성기간에 관계없이 새우가공부산물물의 첨가량이 증가할수록 높았다.

<실험예 4> 투과율

투과율은 감압여과한 멸치액젓을 시료로 하여 660nm에서 측정한 투과율로 하였으며, 새우가공부산물물 첨가량에 따른 숙성 중 멸치액젓의 투과율의 변화는 도 3과 같다.

숙성 30일째 멸치액젓의 투과율은 새우가공부산물물의 첨가량에 관계없이 10%이하로 상당히 낮아, 액화된 단백질이 완전히 가용화되지 않고 현탁되어 있음을 볼 수 있다. 하지만, 새우가공부산물물의 첨가량에 관계없이 발효기간이 경과함에 따라 멸치액젓의 투과율은 증가하는 경향을 나타내어 90%이상에 도달하는 숙성기간은 새우가공부산물물의 20% 첨가 및 30% 첨가 제품의 경우 숙성 90일째이었고, 새우가공부산물물 무첨가 제품 및 10% 첨가 제품의 경우 180일째이었다. 발효기간에 관계없이 새우가공부산물물의 첨가량이 증가할수록 멸치액젓의 투과율은 증가하는 경향을 나타내었는데, 이는 새우가공부산물물 중에 다량 함유되어 있는 다양하면서 높은 활성을 가진 효소에 의해 현탁되어있던 단백질이 거의 저분자화하여 가용화되었기 때문이라 판단된다. 숙성 270일째 멸치액젓의 투과율은 새우가공부산물물 첨가량에 관계없이 94.6 ~ 96.9% 범위로 상당히 맑고 투명하였으며, 거의 차이가 없었다.

<실험예 5> 갈변도

갈변도는 Cho 등(Cho YJ, Im YS, Lee, KW, Kim GB, Choi YJ. 1999. Quality investigation of commercial Northern sand lance, *Ammodytes Personatus* sauce. *J Korean Fish Soc* 32: 607-611.)과 같은 방법으로 milipore로 막여과 ($0.45\mu\text{l}$)한 멸치액젓을 시료로 하여 453nm에서 측정된 흡광도로 하였다.

새우가공부산물물의 첨가량에 따른 숙성 중 멸치액젓의 갈변도는 도 4와 같다. 숙성 30일째 멸치액젓의 갈변도는 0.169 ~ 0.232 범위이었고, 새우가공부산물물의 첨가량에 관계없이 모든 멸치액젓 제품이 숙성기간이 270일까지는 급격히 증가하여 0.666 ~ 0.824 범위를 나타내었으며, 그 이후에는 서서히 증가하거나 거의 변화가 없었다. 한편, Cho 등(Cho YJ, Im YS, Park HY, Choi YJ. 2000. Changes of components in salt-fermented anchovy, *Engraulis japonicus* sauce during fermentation. *J Korean Fish Soc* 33: 9-15.)은 숙성 중 멸치액젓의 갈변도의 경우 1차 회귀방정식으로 증가하는 경향을 나타내었다고 보고하여, 본 실험의 결과와 잘 일치하였다. 새우가공부산물물의 첨가량에 따른 멸치액젓의 갈변도는 숙성기간에 관계없이 새우 첨가량이 증가할수록 낮아, 연한 노란색을 나타내었다.

<실험예 6> 총질소, 아미노질소 및 총질소에 대한 아미노질소 함량의 비

아미노질소 함량은 Formol법(KOAC. 1997. *Korea Official Method of Analysis*. Ministry of Health and Welfare, Korea.)으로 측정하였다. 총질소의 측정방법은 AOAC(AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC.)법에 따라 측정하였다.

새우가공부산물물의 첨가량에 따른 멸치액젓의 총질소 함량, 아미노질소 함량 및 총질소 함량에 대한 아미노질소의 함량비의 변화는 도 5와 같다.

멸치액젓의 총질소 함량과 아미노질소 함량은 숙성 30일째에 각각 1.12 ~ 1.31 g/100g 범위 및 0.38 ~ 0.54 g/100g 범위를 나타내었다. 숙성 중 새우가공부산물물 20% 첨가 및 30% 첨가 제품의 경우 180일째까지 급격 증가하여 각각 1.70 g/100g 및 1.07 g/100g과 1.68 g/100g 및 1.10 g/100g을 나타내었고, 그 후 약간 증가하거나 거의 변화가 없었다. 하지만, 새우가공부산물물 무첨가 제품 및 10% 첨가 제품의 경우 총질소 함량과 아미노질소 함량은 숙성 270일째까지 급격히 증가하여 각각 1.74 g/100g 및 1.07 g/100g과 1.72 g/100g 및 1.09 g/100g을 나타내었고, 그 후 거의 변화가 없었다.

이와 같은 결과로 미루어 보아 새우가공부산물물 무첨가 제품 및 10% 첨가 제품의 경우 새우가공부산물물 20% 및 30% 첨가 제품보다는 숙성 속도가 약간 늦은 패턴을 나타내었다. 이와 같은 차이는 새우가공부산물물에 함유되어 있는 다양하면서 활성이 높은 자가소화효소의 영향이라 판단된다(Heu MS, Kim JS, Shahidi F, Jeong YH, Jeon YJ. 2003. Extraction, fractionation and activity characteristics of protease from shrimp processing discards. *J Food Biochem* 27: 221-236.). 멸치액젓의 숙성 중 및 새우가공부산물물 첨가량의 차이에 따른 총질소 함량에 대한 아미노질소 함량의 비는 총질소 및 아미노질소 함량의 경향과 유사하였다.

한편, 숙성기간에 따른 멸치액젓의 성분변화를 검토한 연구(Cho YJ, Im YS, Park HY, Choi YJ. 2000. Changes of components in salt-fermented anchovy, *Engraulis japonicus* sauce during fermentation. *J Korean Fish Soc* 33: 9-15.)에서 멸치액젓의 최적 숙성기가 11 ~ 12개월 정도라고 보고되고 있고, Park 등(Park CK. 1995. Extractive nitrogenous constituents of anchovy sauce and their quality standardization. *Korean J Food Sci Technol* 27: 471-477.)은 6개월이라 보고한 바 있다. 하지만, 본 실험에서 제조한 새우가공부산물물 무첨가 제품의 경우 최적 숙성기가 9개월 정도로 판단되어, 이들 연구자들(Cho YJ, Im YS, Park HY, Choi YJ, Park CK)의 연구 결과와 차이가 있었다. 이와 같이 본 실험에서 제조한 멸치액젓과 타 연구자들이 제조한 멸치액젓의 최적 숙성기의 차이는 원료 멸치의 상태, 어획지 등과 같은 원료의 조건과 멸치에 첨가하는 식염량, 숙성온도 및 숙성조의 크기 등과 같은 숙성조건의 차이 때문이라 판단되었다.

<실험예 7> 효소활성

새우가공부산물물 첨가 멸치액젓의 효소활성은 endoprotease와 exoprotease 로 나누어 측정하였다. Endoprotease 활성은 Anson(Anson ML. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J Physiol* 22: 79-89.)의 방법에 따라 1% hemoglobin(Hb, pH 3), 2% casein(pH 6과 9)에 대한 분해활성과 Starky(Starky PM. 1977.

Elastase and cathepsin G, the serine proteinases of human neutrophil leucocytes and spleen. In *Proteinases in Mammalian Cells and Tissues*, Barrett AJ. ed. North-Holland Publishing Co. Amsterdam, p 57-89.)의 방법에 따라 1% azocasein(pH 6과 9)에 대한 분해활성으로 검토하였다.

일정량의 효소(액젓 20 ~ 50 uL)와 2mL의 각각의 기질을 함유하는 완충액을 반응 혼합액으로 하여 반응(40℃, 1시간)시킨 후, 2 mL의 5% trichloroacetic acid(TCA)용액을 가하여 반응정지를 시킨 다음, 원심분리(3,000 × g, 15분)하였다. 이렇게 얻어진 hemoglobin 및 casein 분해물은 파장 280 nm의 자외선 영역에서, azocasein 분해물은 파장 410 nm의 가시광선 영역에서 각각 흡광도를 측정하여 효소활성 단위(1U: 액젓 1 mL 중의 효소가 1시간동안 변화시키는 흡광도 0.1)로 나타내었다.

Exoprotease 활성은 Erlanger 등(Erlanger BF, Kokowsky N, Cohen W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch Biochem Biophys* 95: 271-278.; Erlanger BF, Edel F. Cooper AG. 1966. The action of chymotrypsin on two new chromogenic substrates. *Arch Biochem Biophys* 155: 206-210.)의 방법에 따라 0.2 mM L-leucine -p-nitroanilide(LeuPNA)에 대한 aminopeptidase의 분해활성으로, Folk 등(Folk JE, Piez KA, Carroll WR, Gladner JA. 1960. Carboxypeptidase B. IV. Purification and characterization of the porcine enzyme. *J Biol Chem* 235: 2272-2277.)의 방법에 따라 0.2 mM Hippuryl-phenylalanine(Hi-phe)에 대한 carboxypeptidase의 분해활성으로 검토하였다.

일정량의 효소(액젓 10 ~ 20 uL)와 1 mL의 각각의 기질을 함유하는 완충액을 반응 혼합액으로 하여 40℃에서 1시간동안 반응시킨 후, 300 uL의 33% acetic acid용액을 가하여 반응정지를 시킨 다음, 원심분리(3,000 × g, 15분)하였다. 이렇게 얻어진 LeuPNA로부터 유리된 p-nitroanilide(PNA)를 파장 410 nm에서, Hi-phe로부터 유리된 Hippuric acid를 파장 254 nm에서 각각 흡광도를 측정하여 효소활성 단위(1U: 액젓 1 mL 중의 효소가 1시간동안 변화시키는 흡광도 0.1)로 나타내었다.

Hemoglobin(pH 3)과 casein(pH 6과 9)에 대한 숙성 중 멸치액젓에 존재하는 효소의 분해활성 변화는 도 6과 같다.

Hemoglobin(pH 3)에 대한 멸치액젓에 존재하는 효소의 활성 변화는 담금 직후(48 U/mL)에 비하여 숙성 30일째에 새우가공부산물 무첨가 제품의 36 U/mL로 감소한 반면, 새우가공부산물 10%, 20% 및 30% 첨가 제품은 각각 77 U/mL, 71 U/mL 및 64 U/mL로 무첨가 제품에 비하여 증가하였고, 또한 새우가공부산물 첨가 제품 간에는 새우가공부산물의 첨가량이 높아질수록 증가하였다. 이와 같은 결과는 초기 숙성에 새우가공부산물 유래 산성 효소가 활발히 작용한 결과로 추정된다.

그러나 이후의 숙성기간에서 젓갈 내의 식염과 수분이 평형화가 이루어지고, 아울러 효소 자체의 자가분해와 단백질의 분해, 그리고 식염에 의한 영향(Lee DS, Heu MS, Kim DS, Pyeun JH. 1996. Some properties of the crude proteases from fish for application in seafood fermentation industry. *J Korean Fish Soc* 29: 309-319.; Pyeun JH, Heu MS, Cho DM, Kim HR. 1995. Proteolytic properties of cathepsin L, chymotrypsin and trypsin from the muscle and viscera of anchovy, *Engraulis japonica*. *J Korean Fish Soc* 28: 557-568.)으로 인하여 숙성 60일째는 효소활성이 급격히 감소하여 35 ~ 70 U/mL을 나타내었고, 숙성 90 ~ 270일까지는 서서히 감소하는 추세를 나타내었다.

숙성 중 젓갈의 Hemoglobin(pH 3) 분해능은 새우가공부산물 10% 첨가 제품이 가장 높은 활성을 유지하였으며, 다음으로 30% 첨가 제품, 20% 첨가 제품의 순이었고, 새우가공부산물 무첨가 제품이 가장 낮았다. 본 실험에서 제조한 새우가공부산물 첨가 멸치액젓의 숙성 초기에 강한 분해능은 여러 가지 효소에 의한 영향의 결과라고 판단되나, 그 중에서도 특히, 멸치 및 새우가공부산물 중에 다량 함유되어 있으면서 endoprotease 중 산성 pH 영역에서 단백질 분해활성이 강한 pepsin과 cathepsin D 등에 의한 영향이 컸으리라 추정되었다(Heu MS, Kim JS, Shahidi F, Jeong YH, Jeon YJ. 2003. Extraction, fractionation and activity characteristics of protease from shrimp processing discards. *J Food Biochem* 27: 221-236.; Heu MS, Ahn SH. 1999. Development and fractionation of proteolytic enzymes from inedible seafood product. *J Korean Fish Soc* 32: 458-465.).

Casein(pH 6)에 대한 멸치액젓의 효소활성은 담금직후에 69 U/mL이었고, 숙성 60일까지 감소하는 경향을 나타내어 새우가공부산물 무첨가 제품의 경우 20 U/mL, 10% 첨가 제품의 경우 32 U/mL, 20% 첨가 제품의 경우 55 U/mL이었다. 그리고, 이들 새우가공부산물 첨가 멸치액젓의 숙성 중 효소활성은 숙성 270일째까지 14 ~ 54 U/mL 범위를 유지하였다. 멸치액젓의 숙성 중 효소활성은 20% 첨가 제품이 가장 높았고, 다음으로 30% 첨가 제품, 10% 첨가 제품 및 무 첨가 제품의 순이었다. 약산성 및 중성 pH에서 단백질 분해 활성을 나타내는 효소에는 세포 내 lysosome에 존재하는 cathepsin B, H, L 효소와 cathepsin G 등이 있으며(Barrett AJ, Kirschke H. 1980. Cathepsin B, Cathepsin H, and Cathepsin L. In

Methods in Enzymology, Vol 80, Lorand L ed. Academic Press Inc. New York, p 535-561.), 이들 효소는 동물체의 사후변화에 관여하여, 제조직을 분해하고, 그 중에서도 특히 cathepsin L은 동물의 소장에서 분비되는 trypsin과 유사한 성질을 가지면서 단백질의 분해능이 다른 cathepsin류 보다 뛰어나다고 보고되어 있다(Heu MS, Kim HR, Cho DM, Godber JS, Pyeun JH. 1997. Purification and characterization of cathepsin L-like enzyme from muscle of anchovy, *Engraulis japonica*. *Comp Biochem Physiol* 118B: 523-529.; Ueno R, Sakanaka K, Ikeda S, Horoguchi Y. 1988. Purification and pepstatin insensitive protease from mackerel white muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 691-697.). 이와 같은 보고로 미루어 보아, 발효 촉진제로서 새우가공부산물을 사용한 본 발명의 멸치액젓의 숙성에도 중요한 역할을 한 것을 알 수 있다.

멸치액젓의 숙성 중 casein(pH 9)에 대한 활성변화는 새우가공부산물 무첨가 제품의 경우 담금 직후 239 U/mL이었고, 급격히 감소하여 숙성 60일째에 약 61 U/mL를 나타내었으며, 이후의 숙성기간에는 완만히 감소하여 숙성 270일째에는 49 U/mL를 나타내었다. 새우가공부산물 첨가 제품은 첨가량에 관계없이 모두 숙성 30일째까지 급격히 감소(10%, 135 U/mL ; 20%, 180 U/mL ; 30%, 103 U/mL)한 후, 10% 첨가 제품 및 20% 첨가 제품의 경우 숙성 270일째까지 완만한 감소(각각 130 U/mL 및 140 U/mL)를 한 반면, 30% 첨가 제품의 경우 숙성 60일째에 94 U/mL를 나타내었고, 이후 서서히 증가하여 숙성 270일째에는 130 U/mL를 나타내었다.

알칼리 pH 영역에서 강한 활성을 나타내는 endoprotease는 소화기관에서 분비되는 chymotrypsin과 trypsin이 대표적이며(Heu, MS, Kim HR, Pyeun JH. 1995. Comparison of trypsin and chymotrypsin from the viscera of anchovy, *Engraulis japonica*. *Comp Biochem Physiol* 112B: 557-567.), 이들 효소들의 경우 강력한 단백질 분해력을 가지고 있어 본 실험에서 제조한 멸치액젓과 같은 발효식품의 숙성에도 중요한 역할을 하였으리라 판단된다.

한편, Pyeun 등(Pyeun JH, Heu MS, Cho DM, Kim HR. 1995. Proteolytic properties of cathepsin L, chymotrypsin and trypsin from the muscle and viscera of anchovy, *Engraulis japonica*. *J Korean Fish Soc* 28: 557-568.)의 경우도 액젓의 숙성에는 일차적으로 멸치 소화기관의 chymotrypsin과 trypsin과 근육의 cathepsin L이 액젓 숙성의 중요 key factor로서 작용하여 아미노산 등과 같은 저분자 물질을 유리시키고, 이어서 이들 저분자물질을 미생물이 영양원으로 이용하여 보다 저급의 물질을 생성을 할 뿐만 아니라, 이차적으로 미생물이 생산하는 단백질분해효소의 작용으로 젓갈의 숙성이 촉진된다고 보고한 바 있다. 이상의 결과와 보고로 미루어 보아 멸치에 단백질분해효소와 정미성분이 다량 함유되어 있는 새우가공부산물인 두부, 겹질, 꼬리부를 일정 비율로 대체 혼합하여 액젓을 제조하는 경우 멸치액젓의 발효속도 및 기호성 개선 등에 기여할 수 있으리라 판단된다.

Azocasein (pH 6과 9) 기질을 사용하여 멸치액젓의 숙성 중 endoprotease의 활성변화는 도 7과 같다. pH 6에서의 활성변화는 casein에 대한 분해 경향과 유사하여, 새우가공부산물 무첨가 제품의 담금직후 활성이 38 U/mL이었고, 숙성 30일째까지 20% 첨가 제품을 제외한 나머지 멸치액젓 제품은 40 ~ 58%의 감소(무첨가 제품: 16 U/mL, 10% 첨가 제품: 25 U/mL 및 30% 첨가 제품: 18 U/mL)를 보였으나, 20% 첨가 제품의 경우 36 U/mL로 단지 약 5%만의 감소를 보였다. 이후, 숙성기간 270일째까지 새우가공부산물의 첨가량에 관계없이 azocasein에 대한 pH 6에서의 활성은 일정(무첨가 제품: 18 U/mL, 10% 첨가 제품: 27 U/mL, 20% 첨가 제품: 29 U/mL, 30% 첨가제품: 23 U/mL)하게 유지되었다.

새우가공부산물 무첨가 멸치액젓에 함유되어 있는 효소의 pH 9에서 azocasein에 대한 숙성 중 활성 변화는 담금 직후의 활성이 79 U/mL이었다. 숙성 60일째에는 새우가공부산물의 첨가량에 관계없이 멸치액젓의 효소활성은 감소(무첨가 제품: 37 U/mL, 10% 첨가 제품: 60 U/mL, 20% 첨가 제품: 70 U/mL, 30% 첨가 제품: 48 U/mL)하였으나, 이후에는 무첨가 제품을 제외한 새우가공부산물 첨가 제품에서는 숙성 270일까지 활성이 증가하여 10% 첨가 제품이 73 U/mL, 20% 첨가 제품이 90 U/mL, 30% 첨가 제품이 78 U/mL로, 20% 첨가 제품과 30% 첨가 제품의 경우 담금 직후의 활성보다 높은 분해능을 나타내었다.

멸치액젓 중의 LeuPNA 기질을 사용한 exoprotease의 활성 변화는 도 8과 같다. 새우가공부산물 무첨가 멸치액젓의 담금 직후 exoprotease 활성은 421 U/mL이었다. Exoprotease 활성은 숙성기간의 경과와 더불어 새우가공부산물 무첨가 제품과 첨가 제품 모두 급격한 활성 감소를 나타내어, 숙성 180일째에 20% 첨가 제품의 경우 137 U/mL, 10% 첨가 제품의 경우 87 U/mL, 30% 첨가 제품의 경우 81 U/mL 및 무첨가 제품의 경우 약 22 U/mL의 잔존활성을 나타내었다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 새우가공부산물을 첨가한 제품의 경우 첨가량에 관계없이 무첨가 제품에 비하여 exoprotease의 활성이 높게 유지되었다(Heu MS, Kim JS, Shahidi F, Jeong YH, Jeon YJ. 2003. Extraction, fractionation and activity characteristics of protease from shrimp processing discards. *J Food Biochem* 27: 221-236.; Doke SN, Ninjoor HJ. 1987. Characteristics of an alkaline proteinase and exopeptidase from shrimp(*Penaeus indicus*) muscle. *J Food*

Sci 52: 1203 -1208.). 숙성기간의 진행과 더불어 exoprotease 활성의 급격한 감소와 첨가비율이 높을수록 감소 폭이 큰 이유는 이들 효소도 단백질이기 때문에 멸치 및 새우가공부산물에 존재하는 endoprotease와 같은 자가소화 관련 효소에 의한 자가분해의 결과로 판단된다.

한편, exoprotease 중 aminopeptidase는 단백질의 N-말단으로부터 아미노산 단위로 분해하는 특성을 가진 효소로서 단백질 가수분해물의 쓴맛을 제거하는 역할을 것으로 알려져 있다(Saha BC, Hayashi K. 2001. Debittering of Protein hydrolyzates. *Biotechnol Adv* 19: 355-370.; Bouchier PJ, O'Cuinn G, Harrington D, Fitzgerald RJ. 2001. Debittering and hydrolysis of a tryptic hydrolysate of b-casein with purified general and proline specific aminopeptidases from *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* AM2. *J Food Sci* 66: 816-820.; Nishiwaki T, Yoshimizu S, Fruta M, Hayashi K. 2002. Debittering of enzymatic hydrolysates using an aminopeptidase from the edible basidiomycete *Grifola frondosa*. *J Biosci Bioengineer* 93: 60-63.). 이상의 보고와 새우가공부산물 첨가 제품이 무첨가 제품에 비해 exoprotease의 높은 활성을 유지한다는 본 실험의 결과로 미루어 보아 새우가공부산물 첨가에 의한 멸치액젓의 숙성 중 endoprotease의 과도한 단백질 분해로 생성된 액젓의 쓴맛이 exoprotease에 의한 소수성 아미노산의 노출 억제에 의해 감소되어지리라 판단되었다.

<실험예 8> Gel filtration

겔 여과용 시료는 숙성 기간별 젓갈 일정량을 원심분리($12,000 \times g$, 15분)하여 얻어진 액젓(5 mL)을 사용하였다. 이들 시료는 탈이온수로 평형화 시킨 Sephadex G-50 칼럼(i.d. 1.6×95 cm)에 주입하여 40 mL/hr 유속으로, 튜브 당 분획량이 3 mL가 되도록 하여 용출시켰고, 용출액은 흡광도 280 nm에서 측정하여 단백질 분자량 분포를 확인하였다. 분자량 측정을 위한 표준 단백질(Sigma Co., St. Louis, USA)은 insulin(5,700 Da), cytochrome C(12,400 Da), carbonic anhydrase(29,000 Da), bovine serum albumin(66,000 Da) 그리고 alcohol dehydrogenase(150,000 Da)을 사용하였다.

새우가공부산물의 첨가량에 따른 숙성 중 멸치액젓의 단백질 분자량 변화를 Sephadex G-50 겔 여과법으로 측정하여 숙성기간별 단백질 분자량 변화를 도 9에, 새우가공부산물의 첨가량에 따른 단백질 분자량 변화를 도 10에 나타내었다.

새우가공부산물 무첨가 제품은 담금 직후 단백질의 분자량 분포의 경우 fraction number 22 ~ 28(>70,000 Da)에 해당하는 peak, fraction number 60 ~ 70(12,000 ~ 29,000 Da), 72 ~ 80(5,000 ~ 12,000 Da), 82 ~ 88(3,000 ~ 5,000 Da) 및 90이상(<3,000 Da)의 광범위한 분자량 분포를 보이는 peak가 검출되었다. 무첨가 멸치액젓의 분자량 분포는 숙성기간의 경과와 더불어 담금 직후에 비하여 분자량 70,000 Da 이상의 peak(fraction No. 22 ~ 28)의 경우 점차 감소(65 ~ 78%)를, 5,000 ~ 29,000 Da(fraction No. 60 ~ 80)을 의미하는 peak의 경우 증가(130 ~ 153%)를 하였다. 이와 같은 결과는 고분자량의 단백질이 분해로 인해 저분자로 이행되어졌기 때문이라 판단된다. 또한, 3,000 ~ 5,000 Da(fraction No. 82 ~ 88)의 저분자량도 숙성기간에 따라 증가하는 경향을 나타내었다.

새우가공부산물 10% 첨가 제품은 무첨가 담금직후 제품에 비하여 숙성기간의 경과에 따라 70,000 Da 이상의 peak (fraction No. 22 ~ 28)는 감소하였고, 감소비율은 숙성 90일째에 76%, 숙성 180일째에 86% 및 숙성 270일째에 78%였다. 이보다 저분자인 12,000 ~ 29,000 Da(fraction No. 60 ~ 70)의 경우 무첨가 담금직후 제품에 비하여 162 ~ 203%의 증가를 하였고, 5,000 ~ 12,000 Da(fraction No. 72 ~ 80)의 경우도 증가를 하였고, 그 비율은 숙성 90일째에 140%, 숙성 180일째에 170%, 그리고 숙성 270일째에 206%였다. Fraction number 82 ~ 88(3,000 ~ 5,000 Da)에 해당하는 단백질 분자량의 분포의 경우 무첨가 담금직후 제품에 비하여 숙성기간의 경과에 따라 약 4.2 ~ 10.0배 증가하였다.

새우가공부산물 20% 첨가 제품은 무첨가 담금직후 제품에 비하여 숙성기간의 경과에 따라 70,000 Da 이상의 peak (fraction No. 22 ~ 28)는 숙성 90일째에 71%, 숙성 180일째에 87%, 그리고 숙성 270일째에 87%정도 감소하였다. 무첨가 담금직후 제품에 비하여 숙성기간이 경과함으로써 12,000 ~ 29,000 Da(fraction No. 60 ~ 70)의 분포는 증가(155 ~ 252%)하였으며, 5,000 ~ 12,000 Da(fraction No. 72 ~ 80)의 분포도 증가를 하여, 숙성 90일째에 192%, 숙성 180일째에 267%, 그리고 숙성 270일째에 261%를 나타내었다. 또한, 무첨가 담금 직후 제품 비하여 숙성기간이 경과와 함께 fraction No. 82 ~ 88(3,000 ~ 5,000 Da)에 해당하는 단백질 분자량의 분포도 증가(3.5 ~ 4.3배)하였다.

새우가공부산물 30% 첨가 제품의 경우 무첨가 담금직후 제품에 비하여 숙성기간의 경과에 따라 12,000 ~ 29,000 Da (fraction No. 60 ~ 70)의 분포가 증가(1.5 ~ 2.7배)하였고, 5,000 ~ 12,000 Da(fraction No. 72 ~ 80)의 분포도 숙성 90일째에 2.5배, 숙성 180일째에 3.7배 및 숙성 270일째에 3.9배의 증가를 나타내었다. Fraction number 82 ~ 88

(3,000 ~ 5,000 Da)에 해당하는 단백질 분자량의 분포도 숙성기간의 경과에 따라 증가(3.0 ~ 3.7배)한 반면 70,000 Da 이상의 peak는 숙성 90일째에 88%, 숙성 180일째에 93%, 숙성 270일째에 94%가량 감소하여, 거의 분해되었음이 확인되었다.

이상의 새우가공부산물 첨가 멸치액젓의 숙성 중 단백질 분자량 분포로 미루어 보아 고분자량(>70,000 Da)의 단백질은 숙성 180일째에 새우가공부산물의 첨가량에 관계없이 거의 모두가 분해되었으며, 숙성기간의 경과 및 새우가공부산물의 첨가량 이 증가할수록 무첨가 제품에 비하여 첨가 제품이 3,000 ~ 29,000 Da(fraction No. 60 ~ 90)의 저분자량의 단백질 peak가 증가됨이 확인되었다. 또한 증가비율에 있어서 20% 첨가 제품 및 30% 첨가 제품이 숙성 180일과 270일간의 차이는 인정되지 않았다. 따라서 새우가공부산물의 첨가량이 증가할수록 새우가공부산물에 존재하는 자가소화관련 단백질 분해효소의 작용으로 액젓의 숙성이 무첨가 제품에 비하여 빨리 진행되어, 새우가공부산물의 첨가에 의해 멸치액젓의 숙성기간을 단축할 수 있으리라 판단된다.

<실험예 9> 관능검사

새우가공부산물 무첨가 멸치액젓의 향, 맛 및 냄새를 기준점인 3점으로 하여 새우가공부산물 첨가 멸치액젓의 향, 맛 및 냄새에 대하여 관능검사한 결과는 표 2와 같다.

[표 2]

구분	새우가공부산물 첨가비율			
	0중량%	10중량%	20중량%	30중량%
향	3.0±0.0 ^a	3.3±0.5 ^a	4.7±0.5 ^b	4.9±0.3 ^b
맛	3.0±0.0 ^a	3.7±0.5 ^b	4.0±0.7 ^b	2.7±0.8 ^a
색	3.0±0.0 ^a	3.7±0.5 ^b	4.3±0.5 ^c	4.8±0.4 ^d

* 동일 행의 서로 다른 알파벳 사이에 p<0.05 수준에서 유의적 차이 있음.

새우가공 부산물 무첨가 액젓에 비하여 첨가 액젓은 향의 경우 10%까지는 유의차가 인정되지 않았고, 20% 첨가 및 30% 첨가 제품들은 차이가 인정되어 좋은 평점을 받았다. 그러나 새우가공부산물 20% 첨가 및 30% 첨가 제품 간에는 유의차가 인정되지 않았다. 새우가공부산물 무첨가 제품에 비하여 첨가 제품은 맛의 경우 10% 및 20% 첨가 제품은 유의차가 인정되어 좋은 평가를 받았으나, 30% 첨가 제품의 경우 쓴맛이 약간 감지되어 첨가 제품 중에는 가장 낮은 평점을 받았고, 무첨가 제품에 비하여 유의차가 인정되지 않는 낮은 범위의 평점을 받았다. 그리고, 새우가공부산물 10% 첨가 및 20% 첨가 제품 간의 맛에는 유의차가 인정되지 않았다. 새우가공부산물 무첨가 제품에 비하여 첨가 제품은 색조의 경우 첨가량이 증가할수록 유의차가 인정되는 범위에서 좋은 평점을 받았다. 이상의 관능검사 결과로 미루어 보아 멸치액젓의 제조시 새우가공부산물의 첨가량은 20%가 적절한 것을 알 수 있다.

상기 실험결과를 종합하면, 새우 가공부산물의 첨가량에 관계없이 숙성 중 수분함량 및 pH의 경우 감소하는 경향을 나타내었고, 조단백질 함량, 휘발성염기질소 함량, 갈변도 및 수율의 경우 증가하는 경향을 나타내었으며, 염도의 경우 거의 변화가 없었다. 각 숙성 기간에서 새우 가공부산물의 첨가량이 증가할수록 단백질, 휘발성염기질소, pH 및 수율의 경우 증가하였고, 갈변도의 경우 감소하였으며, 수분함량 및 염도의 경우 차이가 없었다. 아미노 질소 및 총질소에 대한 아미노질소의 비율은 숙성 중 새우 가공부산물 0% 및 10% 첨가 제품의 경우 270일째까지 급격히 증가하는 경향을 나타내었으나, 새우 가공부산물 20% 및 30% 첨가 제품의 경우 180일째까지 급격히 증가한 후 거의 변화가 없었다. Gel filtration의 결과 새우 가공부산물의 첨가량에 관계없이 숙성기간이 경과함으로써 멸치액젓은 저분자화 되었고, 이러한 경향은 새우 가공부산물의 첨가량이 증가할수록 현저하였다. 또한, 새우 가공부산물 0% 및 10% 첨가 멸치액젓의 경우 분해 경향이 270일째까지 차이가 있었으나, 20% 및 30% 첨가 멸치액젓의 경우 180일째 이후 유사한 경향을 나타내었다.

이와 같이, 아미노질소 함량, 총 질소에 대한 아미노질소 함량의 비 및 gel filtration에 대한 결과로 미루어 보아 새우 가공부산물 첨가 멸치액젓의 최적 숙성기는 0% 및 10% 첨가 제품의 경우 270일, 20% 및 30% 첨가 제품의 경우 180일로 판단되어, 새우 가공부산물의 경우 멸치액젓의 제조시 발효촉진제로 사용 가능함을 알 수 있다.

발명의 효과

이상에서 설명한 바와 같이 본 발명은 멸치와 새우가공부산물을 일정비율로 혼합하고 식염을 가하여 숙성시킴으로써, 숙성기간을 단축시키고 보다 저렴하고 풍미가 우수한 새우향 멸치액젓 및 그 제조방법을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 새우가공부산물의 첨가량에 따른 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓의 숙성 중 수율 변화를 나타낸 그래프,

도 2는 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓의 숙성 중 휘발성염기질소 함량에 대한 새우가공부산물 첨가량의 영향을 나타낸 그래프,

도 3은 새우가공부산물 첨가량에 따른 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓의 숙성 중 투과율의 변화를 나타낸 그래프,

도 4는 새우가공부산물의 첨가량에 따른 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓의 숙성 중 갈변도를 나타낸 그래프,

도 5는 새우가공부산물의 첨가량에 따른 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓의 총질소 함량, 아미노질소 함량 및 총질소 함량에 대한 아미노질소의 함량비의 변화를 나타낸 그래프,

도 6은 Hemoglobin(pH 3)과 casein(pH 6과 9)에 대한 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 숙성 중 멸치액젓에 존재하는 효소의 분해활성 변화를 나타낸 그래프,

도 7은 Azocasein (pH 6과 9) 기질을 사용하여 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓의 숙성 중 endoprotease의 활성변화를 나타낸 그래프,

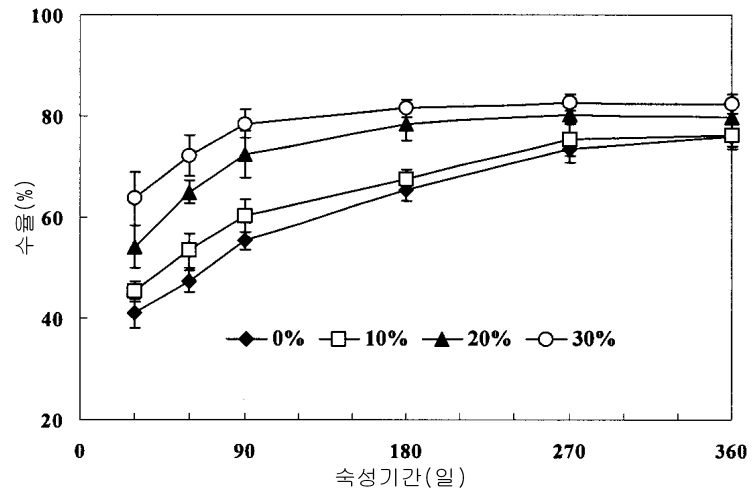
도 8은 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓 중의 LeuPNA 기질을 사용한 exoprotease의 활성 변화를 나타낸 그래프,

도 9는 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓의 숙성 중 단백질 분자량 변화를 새우가공부산물의 첨가량에 따라 Sephadex G-50 겔 여과법으로 측정하여 나타낸 그래프,

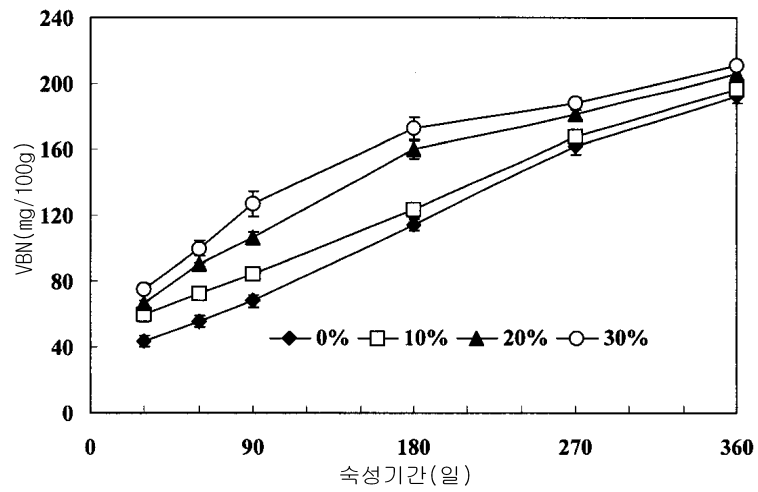
도 10은 본 발명의 제조방법에 의하여 제조된 멸치액젓의 숙성 중 단백질 분자량 변화를 숙성기간별로 Sephadex G-50 겔 여과법으로 측정하여 나타낸 그래프이다.

도면

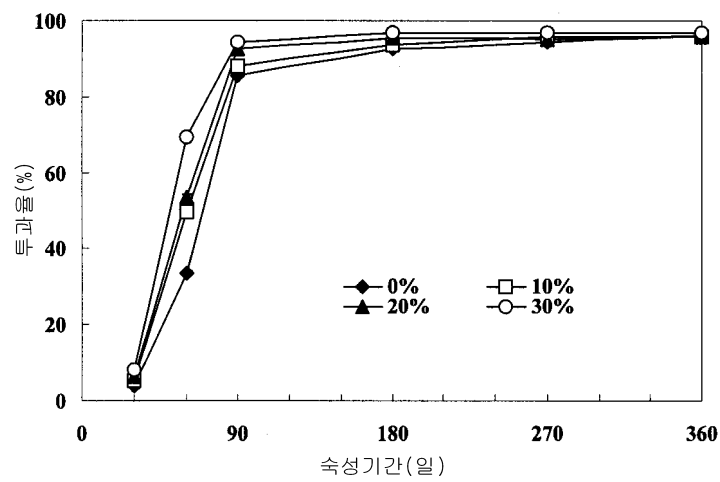
도면1



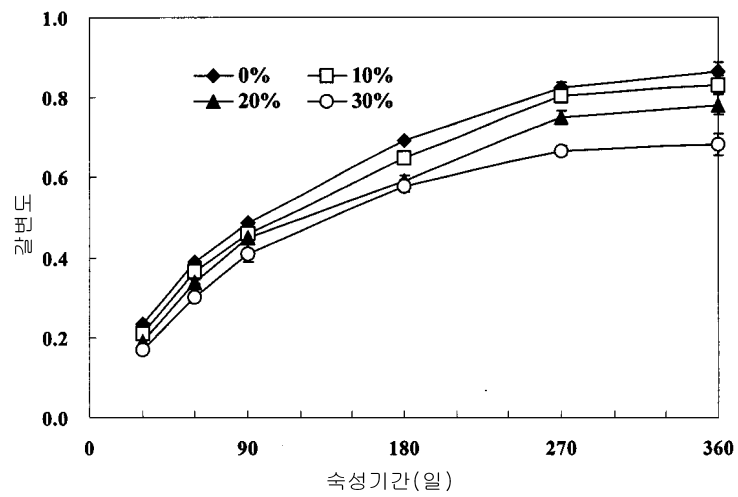
도면2



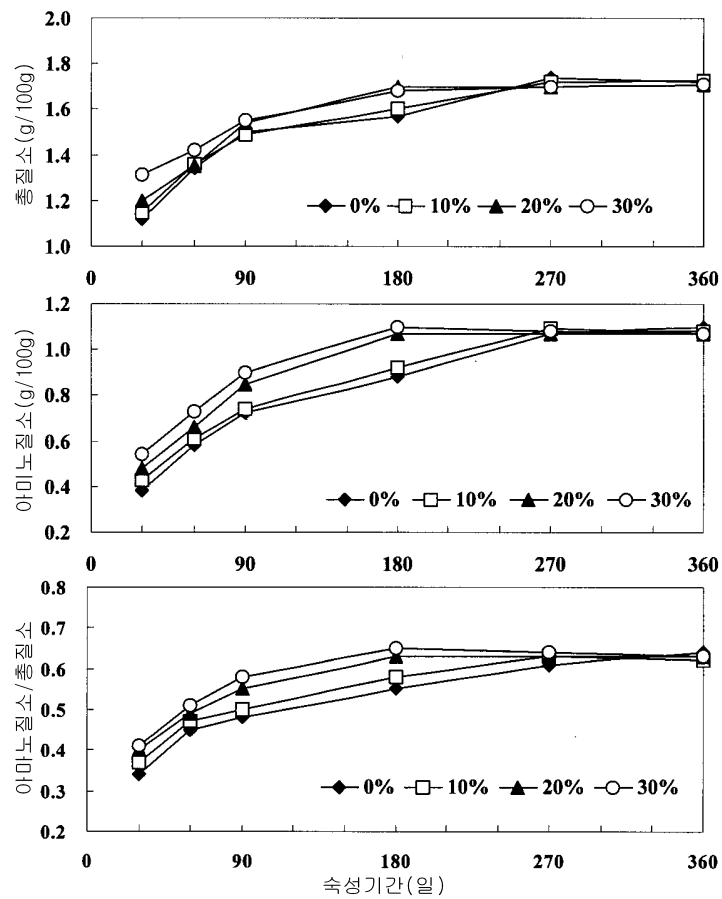
도면3



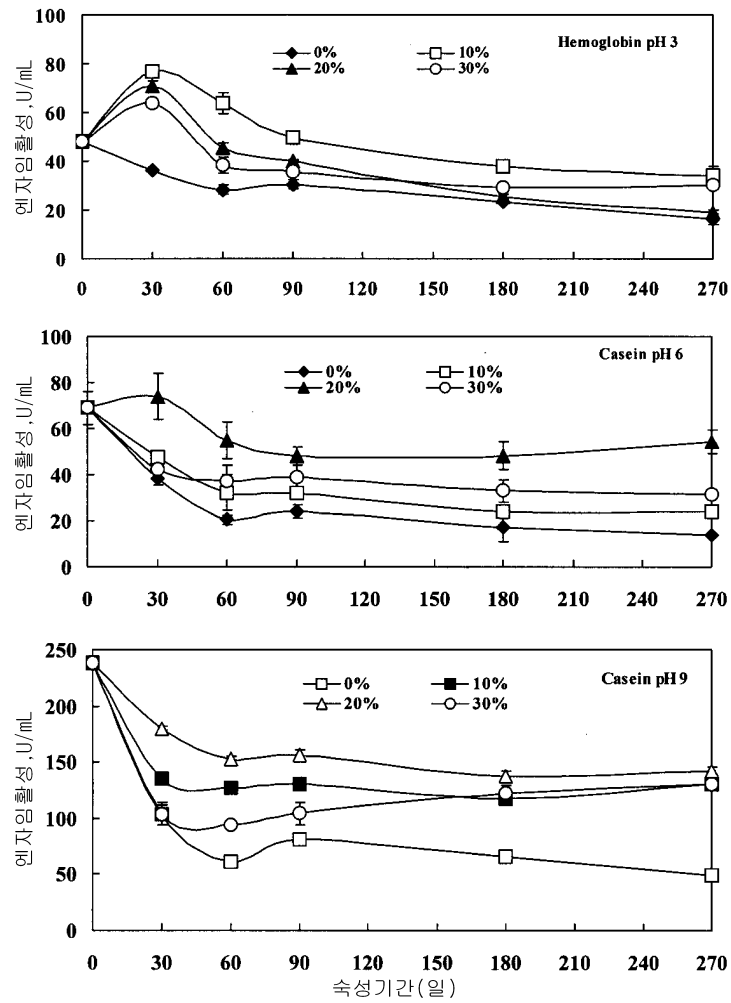
도면4



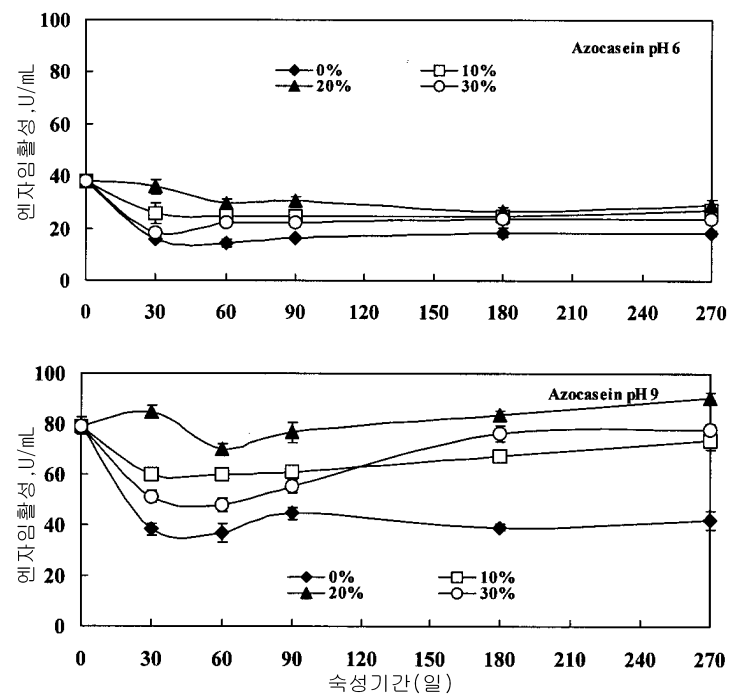
도면5



도면6



도면7



도면8

