



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0024117

(43) 공개일자 2016년03월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 17/00 (2016.01) A23B 4/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0110534

(22) 출원일자 2014년08월25일

심사청구일자 2014년08월25일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

(72) 발명자

오광수

경상남도 통영시 무전동 주영에이스빌 1차 501호

이소정

울산광역시 남구 야음동 롯데캐슬 201동 1601호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

한윤호, 양기혁

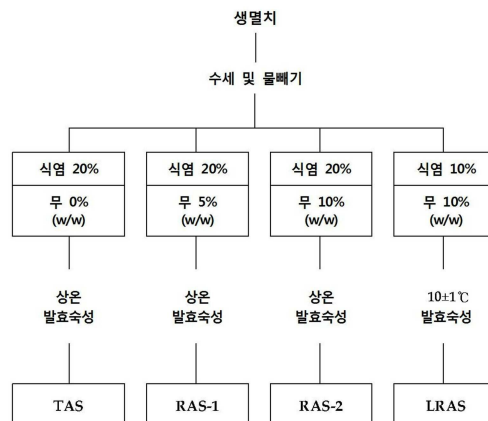
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 **숙성 자연발효 고칼슘 어류 액젓 및 그 제조방법**

**(57) 요약**

본 발명은 어류 액젓에 관한 것으로서, 더 상세하게는 세척 탈수한 어류에 무(*Raphanus sativus* L.)와 식염을 혼합하여 가염하는 단계; 상기 가염된 어류를 숙성발효시키는 단계; 및 상기 숙성발효된 어류로 부터 액체를 추출하는 단계를 포함하는, 어류 액젓의 제조 방법에 관한 것이다.

**대표도** - 도1



(72) 발명자

**윤재웅**

경상남도 밀양시 상남면 연금리 1325

**류성귀**

경상남도 통영시 항남1길 54

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014-0458

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 산학협력 선도대학 육성사업(LINC)

연구과제명 고부가가치 고칼슘 멸치액젓의 개발

기 여 율 1/1

주관기관 한국연구재단

연구기간 2014.06.01 ~ 2014.12.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

세척 탈수한 어류에 무(*Raphanus sativus* L.)와 식염을 혼합하여 가염하는 단계;  
상기 가염된 어류를 숙성발효시키는 단계; 및  
상기 숙성발효된 어류로부터 액체를 추출하는 단계를 포함하는, 어류 액젓의 제조 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,  
상기 무는 세절한 무인, 어류 액젓의 제조 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,  
상기 어류는 멸치, 가자미, 까나리, 뱀어 및 갈치 군에서 선택된 1종인, 어류 액젓의 제조 방법.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,  
상기 가염하는 단계는 어류 100 중량부에 무 5 내지 20 중량부와 식염 20 내지 30 중량부를 혼합해서 가염하는, 어류 액젓의 제조 방법.

#### 청구항 5

제1항의 방법으로 제조된, 칼슘 함량이 500~600  $\mu\text{g/mL}$  이상인 천연 고칼슘 어류 액젓.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 어류 액젓에 관한 것으로서, 더 상세하게는 무 첨가에 의한 숙성 자연발효 고칼슘 어류 액젓 및 그 제조방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 무(*Raphanus sativus* L.)는 Ca, Mg, K 및 Na 등 무기질 함량이 많고, 이중 상당량의 Ca가 무 염장 중 염장액 중으로 용출되는 것이 알려져 있다. 또한, 무에는 각종 protease를 비롯하여 amylase, diastase, myrosinase 등 다양한 효소가 다량 함유되어 있는데, 이중 protease는 젓갈류의 protease에 비해 활성은 낮으나 염장 숙성 발효 중 활성을 유지하여 단백질 분해효과를 상승시키며 유리아미노산의 생성에 관여하는 것으로 보고되어 있다. 특히, 수산물 김치 중 불락 무김치는 소금에 절인 무, 불락과 각종 양념을 넣고 버무려 담근 김치로, 불락이 무와 함께 숙성이 되면 뼈 중의 Ca과 P이 액즙으로 용출되고 단단한 뼈가 연화되어 그대로 먹을 수 있을 정도로 물러지는 연화현상이 나타난다.

[0003] 과거 멸치액젓(또는 멸치어간장)은 주로 가정에서 제조하여 사용하는 자급자족 형태이었으나 최근에는 공장산 멸치액젓과 포장 디자인을 개선한 제품이 생산되고 있으며, 그 수요량도 계속 증가하는 추세이다. 그러나 멸치 액젓은 다른 수산가공품에 비하여 제조기간이 2~4년 정도 장기간 소요되는 상품으로서 경제성 추구가 용이하지 않기 때문에 예전부터 숙성발효 기간을 단축시키기 위하여 인위적인 단백질분해효소나 젓갈 유래 우세균종 첨가와 관련된 다양한 연구가 수행되어 왔으나, 품질 및 풍미 면에서 여러 가지 문제점이 야기되어 현재까지 산업적으로 실용화되지 못하고 있다. 시중에는 많은 종류의 멸치액젓이 판매되고 있으나, 시판 제품들은 제품의 품질에 대한 기준이나 등급이 제대로 지켜지지 않은 상태에서 가공·유통되고 있고, 제품의 가격 또한 질보다는 양

에 의해 결정되기 때문에 저품질의 제품들이 상당량 유통되고 있는 실정이다. 따라서 대표적인 전통수산물발효식품인 멸치액젓의 고부가가치화 및 활용도 증가를 위해서 기존 제품에 비해 자연숙성발효 기간이 1/3 이하로 짧고, 고칼슘 등 이화학적 성분 조성과 관능적 품질이 우수한 멸치액젓의 제조기술 개발 및 표준화 제조공정의 확립, 그리고 이를 활용도 개발이 무엇보다도 중요하나, 현재 멸치액젓 제조업체들 대부분이 영세하며 신제품 개발을 위한 제반조건이나 연구시설이 거의 전무한 실정이다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0004] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 포함하여 여러 문제점들을 해결하기 위한 것으로서, 멸치 뼈에서 유래한 칼슘이 풍부한 무 첨가 숙성 자연발효 멸치액젓 및 그 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다. 그러나 이러한 과제는 예시적인 것으로, 이에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

### 과제의 해결 수단

- [0005] 본 발명의 일 관점에 따르면, 세척 탈수한 어류에 무(Raphanus sativus L.)와 식염을 혼합하여 가염하는 단계; 상기 가염된 어류를 숙성발효시키는 단계; 및 상기 숙성발효된 어류로부터 액체를 추출하는 단계를 포함하는, 어류 액젓의 제조 방법이 제공된다.
- [0006] 상기 어류 액젓의 제조 방법에 있어서, 상기 무는 세절한 무일 수 있다.
- [0007] 상기 어류 액젓의 제조 방법에 있어서, 상기 어류는 멸치, 가자미, 까나리, 뱅어 및 갈치 군에서 선택된 1종인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0008] 상기 어류 액젓의 제조 방법에 있어서, 상기 가염하는 단계는 어류 100 중량부에 무 5 내지 20 중량부와 식염 20 내지 30 중량부를 혼합해서 가염하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0009] 본 발명의 일 관점에 따르면, 상기 어류 액젓의 제조 방법으로 제조된, 칼슘 함량이 500~600  $\mu\text{g/mL}$  이상인 천연 고칼슘 어류 액젓이 제공된다.

### 발명의 효과

- [0010] 상기한 바와 같이 이루어진 본 발명의 일 실시예에 따르면, 기존 멸치액젓에 비해 멸치 뼈에서 유래한 Ca 함량이 높은 숙성 자연발효 멸치액젓을 제조할 수 있게 된다. 무의 연화현상의 기능적 특성을 멸치액젓의 제조공정에 이용한다면 자연발효 기간을 대폭 단축시킬 수 있을 뿐만 아니라, 멸치 뼈(fish frame)에서 Ca를 용출시켜 Ca 함량이 높은 고기능성 멸치액젓의 제조가 가능할 것이다. 물론 이러한 효과에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

### 도면의 간단한 설명

- [0011] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따라 무 첨가 고칼슘 멸치액젓의 제조공정 나타낸 개요도이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라 무 첨가 고칼슘 멸치액젓의 시료를 나타낸 사진이다. 좌측부터 무 첨가 고칼슘 멸치액젓(RAS-2 및 RAS-1), 전통멸치액젓(TAS), 시판 멸치액젓(CAS) 순이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0012] **용어의 정의:**
- [0013] 이하 본 문서에서 사용되는 용어를 정의한다:
- [0014] 본 문서에서 사용되는 용어 "일반성분의 조성"은 상법(KSFSN. Handbook of Experimental in Food Science and Nutrition. Hyoil Pub Co. Seoul : 96-127, 2000)에 따라 수분 함량은 상압가열건조법, 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet법, 회분 함량은 건식회화법으로 측정하였다. 탄수화물 함량은 100에서 수분, 조단백질, 조지방 및 회분의 함량을 뺀 값으로 나타낸다.
- [0015] 본 문서에서 사용되는 용어 "pH, 염도 및 수분활성도"는 pH는 시료를 균질화한 다음 pH meter(Accumet Basic, Fisher Sci. Co., USA)로 측정하였고, 염도는 염도계(460CP, Istek Co., Korea)로 측정하였다. 수분활성도(Aw, water activity)는 수분활성도 측정기(Novasina MSL, Novasina Co., Switzerland)를 이용하여 측정하여 나타낸

다.

[0016] 본 문서에서 사용되는 용어 "아미노질소, 총질소 및 휘발성염기질소"는 아미노질소( $\text{NH}_2\text{-N}$ ) 함량은 Formol 적정법(Ohara, T. *et al.*, *Food Analysis Handbook*, Kenpakusha Publish Co., Tokyo: 51-55, 1982), 총질소는 semi-micro Kjeldahl법(KSFSN, Handbook of Experimental in Food Science and Nutrition, Hyoil Pub Co. Seoul : 96-127, 2000), 그리고 휘발성염기질소(Volatile Basic Nitrogen, VBN)는 Conway unit을 사용하는 미량확산법(KSFSN., *Handbook of Experimental in Food Science and Nutrition*, Hyoil Pub. Co. Seoul : 625-627, 2000)으로 측정하였다.

[0017] 본 문서에서 사용되는 용어 "생균수"는 A.P.H.A.의 표준한천평판배양법(A.P.H.A. *Recommended procedures for the bacteriological examination of sea water and shellfish*, 3rd ed., Am. Pub. Health Assoc. Inc, New York : 17-24., 1970)에 따라  $37\pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 24~48시간 배양하여 나타난 집락수를 계측하였고, 배지는 표준한천평판배지를 사용하였다.

[0018] 본 문서에서 사용되는 용어 "수율"은 멸치액젓의 수율은 원료 멸치량에 대하여 분리된 멸치액젓의 백분율( $\text{mL}/100\text{ g}$ , v/w)로 나타낸다.

[0019] 본 발명의 일 관점에 따르면, 세척 탈수한 어류에 무(*Raphanus sativus* L.)와 식염을 혼합하여 가염하는 단계; 상기 가염된 어류를 숙성발효시키는 단계; 및 상기 숙성발효된 어류로 부터 액체를 추출하는 단계를 포함하는, 어류 액젓의 제조 방법이 제공된다.

[0020] 상기 어류 액젓의 제조 방법에 있어서, 상기 무는 세절한 무일 수 있으며, 상기 무는 0.5 내지 3 cm의 가로, 0.5 내지 3 cm의 세로, 및 0.5 내지 3 cm의 높이의 크기로 세절한 것일 수 있다.

[0021] 상기 어류 액젓의 제조 방법에 있어서, 상기 어류는 멸치, 가자미, 까나리, 뽕어 및 갈치 군에서 선택된 1종인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0022] 상기 어류 액젓의 제조 방법에 있어서, 상기 가염하는 단계는 어류 100 중량부에 무 5 내지 20 중량부와 식염 20 내지 30 중량부를 혼합해서 가염하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0023] 상기 숙성발효하는 단계는  $10^\circ\text{C}$  내지  $30^\circ\text{C}$  온도에서 12개월 내지 24개월간 숙성발효하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0024] 본 발명의 일 관점에 따르면, 상기 어류 액젓의 제조 방법으로 제조된, 칼슘 함량이 500~600  $\mu\text{g/mL}$  이상인 천연 고칼슘 어류 액젓이 제공된다.

[0025] 상기 어류 액젓에 있어서, 상기 칼슘 함량은 500 내지 1,000  $\mu\text{g/mL}$ , 500 내지 900  $\mu\text{g/mL}$ , 600  $\mu\text{g/mL}$  내지 800  $\mu\text{g/mL}$  또는 600 내지 700  $\mu\text{g/mL}$ 일 수 있다.

[0026] 이하, 실시예를 통해 본 발명을 상세히 설명하고자 한다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있는 것으로, 이하의 실시예는 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

[0027] **실시예 1: 무 및 멸치 뼈(fish frame)의 Ca 용출 모델**

[0028] **1-1: 재료**

[0029] 본 발명에서 2012년 3월에 선도가 좋은 대멸(*Engraulis japonicus*, 체장:  $15.2\pm 2.1\text{ cm}$ , 체중:  $21.3\pm 3.1\text{ g}$ )을 통영 수협에서 구입하여 사용하였으며, 부재료인 식염, 무(*Raphanus sativus* L.) 및 마른멸치 등은 통영시 소재 롯데마트에서 구입하여 사용하였다. 또한 시판 멸치액젓은 시중에서 제조일과 유통기한이 유사한 것으로 통영시 소재 롯데마트에서 3종을 구입하였으며, 개체차를 줄이기 위해 3종을 잘 혼합한 후 성분분석 비교용으로 사용하였다.

[0030] **1-2: 무 및 멸치 fish frame의 Ca 용출 모델**

[0031] 본 발명의 일 실시예에 따라 식염수 중 무 및 멸치 뼈(fish frame, 중추골)으로부터 Ca의 용출 상태를 살펴보기 위하여 0~20%의 식염수, 껍질을 제거한 후  $2\times 2\times 2\text{ cm}$  크기로 절단한 무 및 멸치 fish frame을 이용하여 표 1과 같은 식염-멸치-무 염장 모델계를 설정하였다. 염장 10일 후, 무 및 멸치 fish frame으로 부터 식염수 중으로

용출되는 Ca과 P의 함량을 측정하였다(표 2).

표 1

[0032]

염장액 증으로의 Ca 용출량 측정을 위한 식염-멸치-무 염장 모델계

| Model code | Addition ratio(%) |      |        |                    |
|------------|-------------------|------|--------|--------------------|
|            | Salt solution     |      | Radish | Anchovy fish frame |
|            | Water             | Salt |        |                    |
| 1          | 100               | 0    | 10     | 0                  |
| 2          | 90                | 10   | 10     | 0                  |
| 3          | 80                | 20   | 10     | 0                  |
| 4          | 80                | 20   | 10     | 10                 |

[0033]

0% 식염수-무 10% (model 1), 10% 식염수-무 10% (model 2) 및 20% 식염수-무 10% (model 3)의 염장 모델계에서 식염수 증으로 용출되는 Ca의 함량은 각각 혼적량, 5.0 및 16.6 mg/100 g이었고, P의 함량은 각각 0.1, 1.0 및 1.1 mg/100 g으로 대체로 식염의 농도가 높을수록 무에서 식염수 증으로 용출되는 Ca 및 P의 함량이 많아지는 경향을 나타내었다. 그리고, 20% 식염수-무 10%-멸치 fish frame 10% (model 4)의 염장 모델계를 살펴보면, 용출되는 Ca과 P의 함량이 각각 32.8과 39.5 mg/100 g으로 각 모델계 중에서 식염수 증으로 용출되는 양이 가장 많았다. 이 결과로 미루어 보아 염장 중 멸치 뼈(fish frame)속의 Ca과 P도 식염수 증으로 용출된다는 것을 확인하였다.

표 2

[0034]

염장 10일 후 무 및 멸치 뼈(fish frame)에서 식염수 증으로 용출되는 무기질 함량  
(mg/100 g)

| Minerals | Model code |         |         |         |
|----------|------------|---------|---------|---------|
|          | 1          | 2       | 3       | 4       |
| Ca       | tr         | 5.0     | 16.6    | 32.8    |
| P        | 0.1        | 1.0     | 1.1     | 39.5    |
| K        | 13.2       | 27.5    | 42.5    | 100.3   |
| Na       | 6.0        | 3,424.0 | 6,991.9 | 7,229.3 |
| Mg       | tr         | 5.3     | 15.3    | 17.2    |
| Fe       | 2.9        | 2.5     | 2.6     | 2.5     |
| Cu       | tr         | tr      | tr      | tr      |
| Zn       | 0.2        | 0.1     | 0.2     | 0.1     |
| S        | 77.3       | 84.4    | 100.3   | 108.1   |

[0035]

## 실시예 2: 무 첨가 고칼슘 멸치액젓의 제조

[0036]

본 발명에 일실시예에 따른 무 첨가 고칼슘 멸치액젓의 제조공정은 도 1에 나타난 바와 같다. 생멸치를 수세 및 물빼기(탈수)를 한 다음 멸치 중량에 대해 식염 20%(w/w) 및 2×2 cm 크기로 절단한 무 5%(w/w)와 함께 그물망에 넣고 잘 혼합하여 2.4 L 유리용기에 밀봉포장한 후 상온에서 12개월간 숙성발효시킨 것을 5% 무 첨가 멸치액젓(RAS-1)이라 하였고, 수세 및 물빼기를 한 멸치 중량에 대해 식염 20%(w/w) 및 2×2×2 cm 크기로 절단한 무 10%(w/w)와 함께 그물망에 넣고 혼합하여 2.4 L 유리용기에 밀봉포장한 후 상온에서 12개월간 숙성발효시킨 것을 10% 무 첨가 멸치액젓(RAS-2)이라 하였다. 그리고, 수세 및 물빼기를 한 다음 멸치 중량에 대해 20%의 식염을 첨가하여 그물망에 넣고 혼합하여 2.4 L 유리용기에 밀봉포장한 후 상온에서 12개월간 숙성발효시킨 것을 대조 멸치액젓(TAS)이라 하였다. 마지막으로, 본 무 첨가 고칼슘 멸치액젓의 저염화 가능성을 알아보기 위해 수세 및 물빼기를 한 다음 멸치 중량에 대해 식염 및 2×2×2 cm 크기로 절단한 무를 각각 10% 씩 그물망에 넣고 혼합하여 2.4 L 유리용기에 밀봉포장한 후 10±1℃에서 저온 숙성발효시킨 것을 무 첨가 저염 멸치액젓(LRAS)이라 하였다.

[0037]

## 실험예 1: 무의 이화학적 성분특성

[0038]

본 발명에서 사용한 무의 일반성분, pH 및 단백질분해효소 활성을 측정한 결과는 표 3와 같다. 무의 일반성분 조성은 수분 함량이 92.6%, 조단백질은 1.7%, 회분은 0.9%이었고, 탄수화물은 4.1% 함유되어 있었다. 이러한 무의 일반성분 조성은 재배 시기나 품종에 따라 다소의 차이가 있었으나 대체로 수분함량이 85~94%, 조단백질과 회분은 1% 내외이었다. 그리고 원료 무의 pH는 6.28, 단백질분해효소 활성은 0.576 unit으로 원료 무의 단백질분해효소 활성은 것갈류의 protease에 비해 활성은 다소 낮으나 멸치액젓에 첨가함으로써 단백질 분해효과를 상승시킬 것으로 추측된다. 또한 무의 무기질 함량을 ICP로 분석한 결과는 표 4와 같다. 원료 무에서 검출된 무기질은 K, S, Ca, Fe, Na 및 K이었고, 이중 K 함량이 459.5 mg/100 g 으로 타 무기질에 비해 월등히 많았다. 그 다음으로 S와 Ca이 각각 73.2, 37.7 mg/100 g으로 많이 함유되어 있었다. 일반성분의 조성은 상법 따라 수분 함량은 상압가열건조법, 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet법, 회분 함량은 건식 회화법으로 측정하였다. 탄수화물 함량은 100에서 수분, 조단백질, 조지방 및 회분의 함량을 뺀 값으로 나타내었다. pH는 시료를 균질화한 다음 pH meter(Accumet Basic, Fisher Sci. Co., USA)로 측정하였고, 단백질분해효소 활성은 기질인 Hammersten casein의 가수분해 정도를 tyrosine 정량법(Wrolstad RE. *et al.*, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc. New York, Unit C2.2., 2000)에 의해 측정하였다. 시료액 100  $\mu$ L를 40℃의 water bath에서 5분간 pre-incubation 시킨 다음, 1% 기질 용액 900  $\mu$ L를 첨가하여 동일한 온도에서 60분간 가수분해를 수행하였고, 10% TCA 용액 1,000  $\mu$ L를 첨가하여 효소반응을 중지시켰다. 가수분해되지 않은 단백질은 상온에서 10분간 방치한 후, 10,000 rpm에서 10분간 원심분리(Eppendorf, UK)하여 제거시켰다. 상층액 200  $\mu$ L와 0.55 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 800  $\mu$ L를 첨가한 후 혼합하여 15분 동안 방치하였다. 여기에 1.0 N Folin Ciocalteu's phenol 용액 200  $\mu$ L를 첨가하여 혼합하고, 30분 동안 방치한 후, 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 단위는 시료액 1.0 mL가 1분당 생성하는 tyrosine 1  $\mu$ M을 1 unit으로 정의하였으며, tyrosine을 사용하여 작성한 표준곡선으로부터 units를 계산하였다.

표 3

[0039]

무의 일반성분, pH 및 단백질분해효소 활성

| Proximate composition (g/100 g) |               |               |               |               | pH   | Protease activity (Unit) |
|---------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------|--------------------------|
| Moisture                        | Crude protein | Crude lipid   | Ash           | Carbohydrate  |      |                          |
| 92.6 $\pm$ 0.1                  | 1.7 $\pm$ 0.2 | 0.7 $\pm$ 0.1 | 0.9 $\pm$ 0.1 | 4.1 $\pm$ 0.1 | 6.28 | 0.576 $\pm$ 0.001        |

표 4

[0040]

ICP로 분석한 무의 무기질 함량 (mg/100 g)

| 무기질(Minerals) | 함량(Contents)    |
|---------------|-----------------|
| Ca            | 37.7 $\pm$ 2.1  |
| K             | 459.5 $\pm$ 4.3 |
| Mg            | 21.8 $\pm$ 2.6  |
| Na            | 25.3 $\pm$ 1.9  |
| Fe            | 27.4 $\pm$ 0.9  |
| Cu            | 0.3 $\pm$ 0.0   |
| Zn            | 8.3 $\pm$ 0.3   |
| P             | 15.9 $\pm$ 1.5  |
| S             | 73.2 $\pm$ 2.1  |

[0041]

## 실험예 2: 멸치의 성분특성

[0042]

### 2-1: 일반성분

[0043]

본 발명의 일실시예에 따라 사용한 원료 대멸의 일반성분 조성을 분석한 결과는 표 5와 같다. 원료 대멸의 일반성분 조성은 수분 70.3%, 조단백질 18.9%, 조지방 5.5%, 회분함량은 4.4%이었다.

[0044]

일반성분의 조성은 상법(KSFSN. *Handbook of Experimental in Food Science and Nutrition*. Hyoil Pub Co. Seoul : 96-127, 2000)에 따라 수분 함량은 상압가열건조법, 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방

함량은 Soxhlet 법, 회분 함량은 건식회화법으로 측정하였다. 탄수화물 함량은 100에서 수분, 조단백질, 조지방 및 회분의 함량을 뺀 값으로 나타내었다.

표 5

[0045]

원료 대멸의 일반성분 조성

(g/100 g)

|         | Proximate composition |               |             |         |               |
|---------|-----------------------|---------------|-------------|---------|---------------|
|         | Moisture              | Crude protein | Crude lipid | Ash     | Carbo-hydrate |
| Content | 70.3±0.1              | 18.9±0.3      | 5.5±0.3     | 4.4±0.1 | 0.9±0.1       |

[0046]

## 2-2: pH, 아미노질소, 휘발성염기질소 및 생균수

[0047]

원료 대멸의 pH, 아미노질소, 휘발성염기질소 및 생균수를 측정한 결과는 표 6과 같다. 원료 대멸의 pH는 6.88이었고, 수산식품의 맛에 관여하는 유리아미노산의 함량을 간접적으로 알 수 있는 아미노질소 함량은 232.5 ±3.8 mg/100 g이었다. 그리고 어패취의 강도를 간접적으로 알 수 있는 휘발성염기질소의 함량은 15.6 mg/100 g, 생균수는  $3.7\sim5.6\times10^3$  CFU/g으로 선도가 양호하였다.

[0048]

pH는 시료를 균질화한 다음 pH meter(Accumet Basic, Fisher Sci. Co., USA)로 측정하였고, 염도는 염도계(460CP, Istek Co., Korea)로 측정하였다. 수분활성도(Aw, water activity)는 수분활성도 측정기(Novasina MSL, Novasina Co., Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 아미노질소(NH<sub>2</sub>-N) 함량은 Formol 적정법, 총질소는 semi-micro Kjeldahl법, 그리고 휘발성염기질소(Volatile Basic Nitrogen, VBN)는 Conway unit을 사용하는 미량확산법(KSFSN., *Handbook of Experimental in Food Science and Nutrition*, Hyoil Pub. Co. Seoul :625-627, 2000)으로 측정하였다. 생균수는 A.P.H.A.의 표준한천평판배양법에 따라 37±0.5℃에서 24~48시간 배양하여 나타난 집락수를 계측하였고, 배지는 표준한천평판배지를 사용하였다.

표 6

[0049]

원료 대멸의 pH, 아미노질소, 휘발성염기질소 및 생균수

|         | pH        | NH <sub>2</sub> -N<br>(mg/100 g) | VBN<br>(mg/100 g) | Viable cell count<br>(CFU/g) |
|---------|-----------|----------------------------------|-------------------|------------------------------|
| Content | 6.88±0.01 | 232.5±3.8                        | 15.6±0.7          | $3.7\sim5.6 \times 10^3$     |

[0050]

## 실험예 3: 무 첨가 고칼슘 멸치액젓의 숙성발효 중 수율 및 성분 변화

[0051]

### 3-1: 수율

[0052]

도 1과 같은 본 발명의 일실시예에 따라 제조공정에 따라 제조한 TAS, RAS-1, RAS-2 및 LRAS의 숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 수율 변화는 표 7과 같다. 대조 멸치액젓 TAS의 수율은 숙성발효 1개월째에 35.9%이었고, 숙성발효기간이 경과함에 따라 자가소화 및 미생물의 작용에 의하여 액화되어 숙성발효 12개월째에는 61.0%로 수율이 1.7배가량 증가하였다. 무 첨가 고칼슘 멸치액젓 RAS-1과 RAS-2의 숙성발효 1개월째 수율은 각각 39.2, 41.5%이었고, 숙성발효기간이 경과함에 따라 액화가 진행되어 숙성발효 12개월째에는 수율이 각각 81.2, 88.7%로 약 2.1배 가량 증가하였으며, 그 중에서도 무 20%를 첨가한 RAS-2의 수율이 가장 높았다. 숙성발효 12개월째 RAS-1과 RAS-2는 TAS에 비해 수율이 1.3~1.5배 가량 높았으며, 무의 첨가량이 많을수록 수율이 다소 증가하는 것으로 나타났다.

[0053]

한편, 멸치 중량에 대해 10% 식염과 무 10%를 첨가하여 10±1℃에서 숙성발효시킨 LRAS의 경우 숙성발효 12개월째의 수율은 45.7%로서 TAS, RAS-1 및 RAS-2에 비해 훨씬 적었다. LRAS는 저염으로 인한 부패를 방지하기 위해 10±1℃에서 숙성발효시켰다. 멸치액젓의 수율은 원료 멸치량에 대하여 분리된 멸치액젓의 백분율(mL/100 g, v/w)로 나타내었다.

표 7

[0054]

대조 멸치액젓(TAS), 5% 무 첨가 멸치액젓(RAS-1), 10% 무 첨가 멸치액젓(RAS-2) 및 무 첨가 저염 멸치액젓(LRAS)의 숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 수율 변화  
(mL/100 g, v/w)

| Samples | Salt-fermented periods (Months) |      |      |      |
|---------|---------------------------------|------|------|------|
|         | 1                               | 4    | 8    | 12   |
| TAS     | 35.9                            | 51.7 | 55.9 | 61.0 |
| RAS-1   | 39.2                            | 68.3 | 75.0 | 81.2 |
| RAS-2   | 41.5                            | 73.0 | 81.7 | 88.7 |
| LRAS    | 25.3                            | 31.3 | 42.0 | 45.7 |

[0055]

### 3-2: 염도, 수분활성도 및 pH

[0056]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 염도를 측정한 결과를 표 8과 같다. 숙성발효 중 멸치액젓의 염도 변화를 살펴보면, 숙성발효 1개월째 멸치액젓의 염도는 11.5~13.0%, 숙성발효 8개월째에는 16.7~18.3%, 숙성발효 12개월째에는 17.2~18.6% 범위로 점차 증가하였다. 이는 숙성발효 초기에 삼투압 차이로 인해

[0057]

식염이 원료 멸치 중으로 침투되며, 멸치액젓의 숙성발효가 진행됨에 따라 육질의 액화와 더불어 액즙 중으로 이행되어 염도가 증가한 것으로 생각되었다. RAS-1과 RAS-2의 경우 TAS에 비해 염도가 약간 낮았는데, 이는 RAS-1과 RAS-2에 첨가된 무로부터 수분이 유출되어 희석되었기 때문으로 보인다.

[0058]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 수분활성도를 측정한 결과는 표 9와 같다. 멸치액젓의 숙성발효 중 수분활성도의 변화는 숙성발효 1개월째 분리된 멸치액젓의 수분활성도는 0.692~0.708 범위로 숙성발효가 진행됨에 따라 각 시료 모두 약간씩 증가하여 숙성발효 12개월째 수분활성도는 0.738~0.744 범위이었다. 이와 같이 수분활성도의 변화는 액젓 중의 염도와 상관관계가 있을 것으로 생각되었다. 숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 pH를 측정한 결과는 표 10과 같다. 숙성발효 중 멸치액젓의 pH는 TAS가 6.0~6.37, RAS-1이 5.99~6.14, RAS-2가 5.98~6.10으로 숙성발효 기간 동안 약간 증가하는 경향을 보였지만, 대체로 큰 변화는 없었다. pH는 시료를 균질화한 다음 pH meter(Accumet Basic, Fisher Sci. Co., USA)로 측정하였고, 염도는 염도계(460CP, Istek Co., Korea)로 측정하였다. 수분활성도(Aw, water activity)는 수분활성도 측정기(Novasina MSL, Novasina Co., Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

### 표 8

[0059]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 염도(%)

| Samples | Salt-fermented periods (Months) |          |          |          |
|---------|---------------------------------|----------|----------|----------|
|         | 1                               | 4        | 8        | 12       |
| TAS     | 13.0±0.1                        | 13.6±0.2 | 18.3±0.2 | 18.6±0.1 |
| RAS-1   | 12.2±0.2                        | 13.5±0.1 | 17.6±0.2 | 17.7±0.2 |
| RAS-2   | 11.5±0.1                        | 13.4±0.1 | 16.7±0.2 | 17.2±0.1 |

### 표 9

[0060]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 수분활성도

| Samples | Salt-fermented periods (Months) |             |             |             |
|---------|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|
|         | 1                               | 4           | 8           | 12          |
| TAS     | 0.708±0.001                     | 0.720±0.000 | 0.731±0.002 | 0.738±0.001 |
| RAS-1   | 0.707±0.001                     | 0.725±0.001 | 0.736±0.002 | 0.746±0.000 |
| RAS-2   | 0.692±0.002                     | 0.721±0.001 | 0.737±0.001 | 0.744±0.001 |

### 표 10

[0061]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 pH

| Samples | Salt-fermented periods (Months) |           |           |           |
|---------|---------------------------------|-----------|-----------|-----------|
|         | 1                               | 4         | 8         | 12        |
| TAS     | 6.00±0.01                       | 6.02±0.01 | 6.04±0.01 | 6.37±0.01 |
| RAS-1   | 5.99±0.01                       | 5.99±0.01 | 6.01±0.01 | 6.14±0.01 |
| RAS-2   | 5.98±0.01                       | 6.00±0.01 | 6.00±0.01 | 6.10±0.01 |

[0062]

### 3-3: 휘발성염기질소, 총질소 및 아미노질소

[0063]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 휘발성염기질소 함량을 측정한 결과는 표 11과 같다. 멸치액젓의 휘발성염기질소 함량은 숙성발효 1개월째 94.3~98.7 mg/100 mL 범위이었고, 숙성발효 기간이 경과할수록 멸치 육 성분이 분해됨에 휘발성염기 성분이 증가하여 숙성발효 12개월째 306~322.1 mg/100 mL의 범위를 나타내었다. 숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 총질소 함량을 측정한 결과는 표 12와 같다. 숙성발효 1개월째 각 멸치액젓의 총질소 함량은 1.7~1.8 g/100 mL, 숙성발효가 진행됨에 따라 점차 총질소 함량이 증가하여 숙성발효 12개월째 TAS, RAS-1 및 RAS-2의 총질소 함량은 각각 2.3, 2.7 및 2.9 g/100 mL로 TAS에 비해 약 17% 및 26% 정도 증가하였다. 아미노질소(NH<sub>2</sub>-N) 함량은 Formol 적정법, 총질소는 semi-micro Kjeldahl법, 그리고 휘발성염기질소(Volatile Basic Nitrogen, VBN)는 Conway unit을 사용하는 미량확산법으로 측정하였다.

표 11

[0064]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 휘발성염기질소 함량 (mg/100 mL)

| Samples | Salt-fermented periods (Months) |           |           |           |
|---------|---------------------------------|-----------|-----------|-----------|
|         | 1                               | 4         | 8         | 12        |
| TAS     | 94.3±1.8                        | 127.2±0.9 | 226.8±0.2 | 306.0±0.7 |
| RAS-1   | 95.2±0.8                        | 131.6±2.3 | 252.0±0.3 | 316.2±0.4 |
| RAS-2   | 98.7±1.2                        | 157.8±0.2 | 276.7±0.8 | 322.1±0.4 |

표 12

[0065]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 총질소 함량 (g/100 mL)

| Samples | Salt-fermented periods (Months) |         |         |         |
|---------|---------------------------------|---------|---------|---------|
|         | 1                               | 4       | 8       | 12      |
| TAS     | 1.7±0.1                         | 2.1±0.1 | 2.2±0.0 | 2.3±0.1 |
| RAS-1   | 1.8±0.1                         | 2.2±0.0 | 2.5±0.1 | 2.7±0.2 |
| RAS-2   | 1.8±0.0                         | 2.4±0.1 | 2.7±0.1 | 2.9±0.0 |

[0066]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 아미노질소 함량을 측정한 결과는 표 13과 같다. 원료 어육 단백질의 가수분해 및 액젓의 품질지표가 되는 아미노질소 함량은 멸치액젓 숙성발효 1개월째에 607.8~634.4 mg/100 mL, 숙성 기간이 경과함에 따라 급격히 증가하여 숙성발효 12개월째 TAS, RAS-1 및 RAS-2의 아미노질소 함량은 각각 1,392.4, 1,406.4 및 1,596.6 mg/100 mL이었다. 멸치액젓의 화학성분 중 아미노질소함량은 원료 어육 단백질의 가수분해 정도의 지표가 될 뿐만 아니라 액젓의 맛과도 관련이 있기 때문에 중요한 품질지표 중의 하나이며, 아미노질소의 증가는 액젓의 맛에 큰 영향을 미칠 것으로 보인다. 따라서 RAS-1과 RAS-2는 TAS 보다 총질소와 아미노질소 함량이 높은 것으로 보아 이화학적 성분조성 뿐만 아니라 관능적인 면에서도 우수할 것으로 생각되었다.

표 13

[0067]

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓의 아미노질소 함량 (mg/100 mL)

| Samples | Salt-fermented periods (Months) |              |             |              |
|---------|---------------------------------|--------------|-------------|--------------|
|         | 1                               | 4            | 8           | 12           |
| TAS     | 607.8±12.4                      | 1,008.0±9.6  | 1,092.4±9.9 | 1,392.4±10.0 |
| RAS-1   | 623.2±11.2                      | 1,125.6±12.8 | 1,384.0±8.2 | 1,406.4±8.4  |

|       |           |              |             |              |
|-------|-----------|--------------|-------------|--------------|
| RAS-2 | 634.4±9.6 | 1,187.2±10.8 | 1,531.2±8.8 | 1,596.6±12.8 |
|-------|-----------|--------------|-------------|--------------|

### 3-4: Ca 및 P

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓 중의 Ca과 P 함량의 변화를 측정한 결과는 표 14와 같다. 시료 멸치액젓의 Ca과 P의 함량은 숙성발효 4개월째에 각각 9.4~23.3, 20.7~31.1 mg/100 mL이었으나, 숙성기간이 경과할수록 용출량이 증가하여 숙성발효 12개월째 각각 22.3~87.1, 83.1~165.9 mg/100 mL 범위를 나타내었다. 숙성발효 12개월째 RAS-1 및 RAS-2는 TAS에 비해 Ca 함량이 각각 1.6 및 2.9배 정도 많았으며, P의 함량은 각각 0.5 및 1.0 배 많았다. 무에는 Ca, Mg, K 및 Na 등 무기질이 다량 함유되어 있으며, 무 김치를 담글 때 상당량의 무기질이 염장액 중으로 용출되는 것이 알려져 있다. 또한, 무에는 protease를 비롯하여 amylase, diastase, myrosinase 등 다양한 효소가 다량 함유되어 있는데, 무 중의 protease는 수산물 무김치에 첨가한 것갈류의 protease에 비해 활성은 낮으나 고염분에서 어느 정도의 활성을 유지하여 김치 발효 중 단백질의 분해를 상승시켜 유리아미노산의 생성에 관여하는 것으로 보고되어 있다(Kim *et al.*, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 39 : 255-259, 2007). 따라서 멸치액젓 제조시 무를 첨가할 경우 무에 함유된 각종 protease가 숙성발효 중 멸치 fish frame 조직을 가수분해를 촉진시키며, 이 때 유리된 Ca과 P이 멸치액젓 중으로 용출됨을 알 수 있었다. 이러한 무의 기능특성을 멸치액젓의 숙성발효에 적용할 경우 액젓의 숙성발효 기간을 대폭 단축시킬 수 있을 뿐만 아니라 Ca 함량이 높은 기능성 고품질 멸치액젓의 제조가 가능할 것으로 생각되었다.

표 14

숙성발효 중 분리된 시료 멸치액젓 중의 Ca과 P 함량의 변화 (mg/100 mL)

| Salt-fermented periods (Months) | Ca               |       |       |  | P    |       |       |
|---------------------------------|------------------|-------|-------|--|------|-------|-------|
|                                 | TAS <sup>1</sup> | RAS-1 | RAS-2 |  | TAS  | RAS-1 | RAS-2 |
| 4                               | 9.4              | 22.4  | 23.3  |  | 20.7 | 28.9  | 31.1  |
| 8                               | 20.4             | 33.6  | 52.0  |  | 62.1 | 101.2 | 124.8 |
| 12                              | 22.3             | 58.5  | 87.1  |  | 83.1 | 122.9 | 165.9 |

유리아미노산 및 관련화합물은 시료 엑스분을 감압건조한 다음, lithium citrate buffer(pH 2.20, 0.20 M)로서 정용한 후 아미노산 자동분석계(Biochrom 30, Biochrom. LTD, England)로 분석하였다. 무기성분 중 양이온은 시료 추출물을 회분 도가니에 일정량 취해 500~550℃에서 5~6시간 습식회화(Ohara T. *et al.*, *Food Analysis Handbook*. Kenpakusha Pub Co. Tokyo : 264-267, 1982)시킨 후 ashless filter paper로 여과하여 일정량으로 정용한 다음, Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP, Atomscan 25, TJA, USA)로 Na, K, Ca, Mg, Fe, P, Zn, Cu 및 S의 함량을 분석하였다.

### 3-5: 생균수

숙성발효 중 시료 멸치액젓 발효물의 생균수를 측정한 결과는 표 15와 같다. 멸치액젓의 숙성발효 1개월째 TAS, RAS-1 및 RAS-2의 생균수는 각각  $6.2\sim6.8\times10^3$ ,  $6.4\sim7.0\times10^4$  및  $7.7\sim8.2\times10^4$  CFU/mL이었으나, 숙성발효 기간이 경과할수록 서서히 사멸하여 숙성발효 12개월째 잔존 생균수는 각각  $3.1\sim3.7\times10^2$ ,  $2.8\sim3.5\times10^3$  및  $2.5\sim4.4\times10^3$  CFU/mL로 RAS-1과 RAS-2의 생균수가 TAS에 비해 약간 많았다. 따라서 이러한 잔존 내염성 및 호염성 생균수의 차이는 멸치액젓의 숙성기간 단축이나 품질과 밀접한 관련이 있음을 나타냈다.

생균수는 A.P.H.A.의 표준천천평판배양법(A.P.H.A. *Recommended procedures for the bacteriological examination of sea water and shellfish*. 3rd ed., Am. Pub. Health Accoc. Inc, New York : 17-24., 1970)에 따라  $37\pm0.5^\circ\text{C}$ 에서 24~48시간 배양하여 나타난 집락수를 계측하였고, 배지는 표준천천평판배지를 사용하였다.

표 15

숙성발효 중 시료 멸치액젓 발효물의 생균수 (CFU/mL)

| Samples | Salt-fermented periods (Months) |   |   |    |
|---------|---------------------------------|---|---|----|
|         | 1                               | 4 | 8 | 12 |

|       |                        |                        |                        |                        |
|-------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| TAS   | $6.2\sim6.8\times10^3$ | $8.1\sim9.4\times10^2$ | $7.2\sim7.8\times10^2$ | $3.1\sim3.7\times10^2$ |
| RAS-1 | $6.4\sim7.0\times10^4$ | $7.5\sim9.2\times10^3$ | $6.4\sim7.2\times10^3$ | $2.8\sim3.5\times10^3$ |
| RAS-2 | $7.7\sim8.2\times10^4$ | $5.0\sim6.3\times10^3$ | $3.5\sim5.5\times10^3$ | $2.5\sim4.4\times10^3$ |

#### 실험예 4: 무 첨가 고칼슘 멸치액젓의 품질특성

전통 수산발효식품의 숙성발효 기간단축 및 영양기능성이 우수한 숙성 멸치액젓을 제조할 목적으로 도 1의 제조공정에 따라 전통 대조멸치액젓(TAS) 및 무 첨가 고칼슘 멸치액젓 RAS-1 및 RAS-2를 제조하였고, 본 시작품들의 성분조성 및 품질특성에 관하여 살펴보았다.

#### 4-1: 일반성분 및 pH

도 1과 같은 제조공정에 따라 제조한 TAS, RAS-1, RAS-2 및 3종의 시판 멸치액젓(commercial anchovy sauce, CAS) 혼합물의 일반성분 및 pH를 측정하여 비교한 결과는 표 16과 같다. RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 수분 함량은 각각 62.9, 63.5, 62.0 및 69.7 %로 RAS-1과 RAS-2가 TAS에 비해 수분함량이 다소 많았으나, CAS 보다는 훨씬 적었다. 현행 멸치액젓의 품질지표(Park *et al.*, *Applied Fisheries Processing*, Suhyubmunhwasa, Seoul : 273-275., 2000)로 사용되는 조단백질 함량은 각각 15.6, 17.0, 13.8 및 5.6 %로 RAS-1과 RAS-2가 TAS와 CAS에 비해 1.1 내지 1.2배, 2.8 내지 3.0배 가량 높았다. 이는 RAS-1과 RAS-2가 TAS에 비해 각종 효소가 풍부히 함유되어 있는 무에 의한 멸치 육 단백질의 가용화가 더욱 촉진되었기 때문이라 생각되었다. 한편, RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 회분 함량은 각각 18.8, 18.6, 19.9 및 23.7 %로서 RAS-1과 RAS-2는 TAS와 CAS에 비해 다소 낮았다.

RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 pH는 각각 6.15, 5.85, 6.91 및 5.79로 RAS-1과 RAS-2가 TAS에 비해 낮았다. CAS의 경우 pH가 5.79로 가장 낮았는데 이는 CAS의 장기간 유통 중 품질유지를 위해 인위적으로 첨가한 산미료 때문일 것으로 생각되었다. 일반성분의 조성은 상법에 따라 수분 함량은 상압가열건조법, 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet법, 회분 함량은 건식회화법으로 측정하였다. 탄수화물 함량은 100에서 수분, 조단백질, 조지방 및 회분의 함량을 뺀 값으로 나타내었다. pH는 시료를 균질화한 다음 pH meter(Accumet Basic, Fisher Sci. Co., USA)로 측정하였다.

표 16

TAS, RAS-1, RAS-2 및 3종의 시판 멸치액젓(commercial anchovy sauce, CAS) 혼합물의 일반성분 및 pH

| Products | Proximate composition (g/100 mL) |               |          | pH        |
|----------|----------------------------------|---------------|----------|-----------|
|          | Moisture                         | Crude protein | Ash      |           |
| RAS-1    | 62.9±0.2                         | 15.6±0.2      | 18.8±0.3 | 6.15±0.00 |
| RAS-2    | 63.5±0.0                         | 17.0±0.1      | 18.6±0.1 | 5.85±0.02 |
| TAS      | 62.0±0.1                         | 13.8±0.2      | 19.9±0.5 | 6.91±0.01 |
| CAS      | 69.7±0.2                         | 5.6±0.4       | 23.7±0.1 | 5.79±0.00 |

#### 4-2: 아미노질소 및 휘발성염기질소

RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 아미노질소 및 휘발성염기질소 함량을 측정하여 비교한 결과는 표 17과 같다. RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 맛에 관여하는 유리아미노산 함량을 간접적으로 알 수 있는 아미노질소 함량은 각각 1,590.4, 1,638.0, 1,372.8 및 705.6 mg/100 mL로 RAS-1과 RAS-2가 TAS에 비해 약 1.16 및 1.19배 많았으며, CAS에 비해서는 2배 이상 월등히 많았다. 멸치액젓 중의 아미노질소 함량은 멸치 육단백질의 가수분해 지표가 될 뿐만 아니라 풍미와 관련이 있기 때문에 액젓류의 중요한 품질 지표 중의 하나이며, 아미노질소 함량의 증가는 액젓의 맛에 결정적인 영향을 준다고 알려져 있다(Back *et al.*, *Korean J. Food & Nutr.* 9 : 392-397., 1996). 따라서 본 시작품 RAS-1과 RAS-2는 이화학적 성분 조성 뿐만 아니라 관능적인 품질 면에서도 TAS나 CAS에 비해 월등히 우수함을 알 수 있었다. 멸치액젓의 어패취 정도를 알 수 있는 휘발성염기질소 함량은 RAS-1과 RAS-2가 각각 301.0, 312.0 mg/100 mL로 TAS의 294.0 mg/100 mL에 비해 약간 많았으며, CAS의 214.7 mg/100 mL보다 월등히 높아 멸치액젓 특유의 풍미가 강함을 알 수 있었다.

아미노질소(NH<sub>2</sub>-N) 함량은 Formol 적정법, 총질소는 semi-micro Kjeldahl법, 그리고 휘발성염기질소(Volatile

Basic Nitrogen, VBN)는 Conway unit을 사용하는 미량확산법으로 측정하였다.

표 17

[0085]

RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 아미노질소 및 휘발성염기질소 함량

| Products | NH <sub>2</sub> -N<br>(mg/100 mL) | VBN<br>(mg/100 mL) |
|----------|-----------------------------------|--------------------|
| RAS-1    | 1,590.4±30.2                      | 301.0±4.8          |
| RAS-2    | 1,638.0±40.8                      | 312.0±2.0          |
| TAS      | 1,372.8±35.4                      | 294.0±1.8          |
| CAS      | 705.6±14.6                        | 214.7±3.3          |

[0086]

#### 4-3: 정미성분

[0087]

RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS에서 추출한 엑스분의 taste-active compounds인 유리아미노산 조성을 분석하여 비교한 결과는 표 18과 같다. RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 유리아미노산 총 함량은 각각 13,117.8, 14,174.9, 12,390.6 및 4,261.7 mg/100 mL로 RAS-1과 RAS-2의 함량이 TAS와 CAS에 비해 월등히 많았다. RAS-1과 RAS-2의 주요 유리아미노산으로는 glutamic acid와 lysine이 각각 1,635.4 및 1,811.2 mg/100 mL, 1,249.7 및 1,375.2 mg/100 mL로 함량이 가장 많았고, 다음으로 alanine, aspartic acid, leucine, valine 및 threonine 순이었다. 그 외의 아미노산도 고루 함유되어 있었는데 이로 미루어, 본 RAS-1이나 RAS-2에 함유된 각 아미노산의 조성은 건강기능학적으로 매우 우수하다고 생각되었다. 단, 각 시료엑젯 모두에서 arginine 함량이 소량인 점이 특이하였다.

표 18

[0088]

RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS에서 추출한 엑스분의 유리아미노산 조성 분석 (mg/100 mL)

| Amino acids <sup>1</sup> | Products |         |         |         |         |         |         |         |
|--------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|                          | RAS-1    |         | RAS-2   |         | TAS     |         | CAS     |         |
| Phser                    | 8.6      | ( 0.1)  | 9.5     | ( 0.1)  | 6.6     | ( 0.1)  | 8.2     | ( 0.2)  |
| Tau                      | 302.5    | ( 2.3)  | 343.4   | ( 2.4)  | 287.4   | ( 2.3)  | 95.9    | ( 2.3)  |
| Asp                      | 1025.7   | ( 7.8)  | 1137.2  | ( 8.0)  | 975.2   | ( 7.9)  | 326.6   | ( 7.7)  |
| Thr                      | 740.7    | ( 5.6)  | 867.0   | ( 6.1)  | 680.6   | ( 5.5)  | 226.3   | ( 5.3)  |
| Ser                      | 429.5    | ( 3.3)  | 305.9   | ( 2.2)  | 663.8   | ( 5.4)  | 130.4   | ( 3.1)  |
| Glu                      | 1,635.4  | ( 12.5) | 1,811.2 | ( 12.8) | 1,539.7 | ( 12.4) | 1,175.1 | ( 27.6) |
| Sar                      | tr       | ( 0.0)  | tr      | ( 0.0)  | 28.0    | ( 0.2)  | 11.5    | ( 0.3)  |
| AAAA                     | 15.9     | ( 0.1)  | 16.8    | ( 0.1)  | 17.1    | ( 0.1)  | 12.9    | ( 0.3)  |
| Pro                      | 386.1    | ( 2.9)  | 442.4   | ( 3.1)  | 327.2   | ( 2.6)  | 134     | ( 3.1)  |
| Gly                      | 487.4    | ( 3.7)  | 536.5   | ( 3.8)  | 466.6   | ( 3.8)  | 104.3   | ( 2.4)  |
| Ala                      | 1,143.2  | ( 8.7)  | 1,268.6 | ( 8.9)  | 999.0   | ( 8.1)  | 284.1   | ( 6.7)  |
| AABA                     | 7.3      | ( 0.1)  | 4.0     | ( 0.0)  | 9.8     | ( 0.1)  | 5.2     | ( 0.1)  |
| Val                      | 858.3    | ( 6.5)  | 957.5   | ( 6.8)  | 823.5   | ( 6.6)  | 277.8   | ( 6.5)  |
| Cys                      | 241.3    | ( 1.8)  | 281.5   | ( 2.0)  | 173.9   | ( 1.4)  | 52.2    | ( 1.2)  |
| Met                      | 372.2    | ( 2.8)  | 429.5   | ( 3.0)  | 353.9   | ( 2.9)  | 63.3    | ( 1.5)  |
| Cysth                    | 8.8      | ( 0.1)  | 9.1     | ( 0.1)  | 18.1    | ( 0.1)  | 4.2     | ( 0.1)  |
| Ile                      | 622.6    | ( 4.7)  | 703.1   | ( 5.0)  | 503.0   | ( 4.1)  | 189.9   | ( 4.5)  |
| Leu                      | 941.2    | ( 7.2)  | 1,076.8 | ( 7.6)  | 605.0   | ( 4.9)  | 178.4   | ( 4.2)  |
| Tyr                      | 60.1     | ( 0.5)  | 87.1    | ( 0.6)  | 48.5    | ( 0.4)  | 18.3    | ( 0.4)  |
| Phe                      | 456.6    | ( 3.5)  | 564.7   | ( 4.0)  | 442.6   | ( 3.6)  | 129.5   | ( 3.0)  |
| GABA                     | 4.2      | ( 0.0)  | 4.8     | ( 0.0)  | 4.2     | ( 0.0)  | 1.1     | ( 0.0)  |
| Ethamin                  | 17.2     | ( 0.1)  | 11.0    | ( 0.1)  | 21.6    | ( 0.2)  | 6.8     | ( 0.2)  |
| Amm                      | 761.0    | ( 5.8)  | 759.5   | ( 5.4)  | 725.1   | ( 5.9)  | 125.5   | ( 2.9)  |
| Hyls                     | tr       | ( 0.0)  | tr      | ( 0.0)  | 11.7    | ( 0.1)  | tr      | ( 0.0)  |
| Orn                      | 626.9    | ( 4.8)  | 704.5   | ( 5.0)  | 607.8   | ( 4.9)  | 182.9   | ( 4.3)  |
| Lys                      | 1,249.7  | ( 9.5)  | 1,375.2 | ( 9.7)  | 1,187.7 | ( 9.6)  | 240.9   | ( 5.7)  |
| His                      | 596.6    | ( 4.5)  | 337.7   | ( 2.4)  | 768.6   | ( 6.2)  | 241.3   | ( 5.7)  |
| Ans                      | 108.2    | ( 0.8)  | 122.2   | ( 0.9)  | 85.0    | ( 0.7)  | 31.4    | ( 0.7)  |

|       |          |         |          |         |          |         |         |         |
|-------|----------|---------|----------|---------|----------|---------|---------|---------|
| Arg   | 10.9     | ( 0.1)  | 8.3      | ( 0.1)  | 9.4      | ( 0.1)  | 3.7     | ( 0.1)  |
| Total | 13,117.8 | (100.0) | 14,174.9 | (100.0) | 12,390.6 | (100.0) | 4,261.7 | (100.0) |

[0089] <sup>1</sup>Phser: phosphoserine, AAAA: α-amino adipic acid, AABA: α-aminobutyric acid, Cysth: cystathionine, GABA: γ-aminobutyric acid, Ethamin: ethanolamine, Orn: ornithine.

[0090] 시료에 3배량의 70% ethanol 용액을 가하여 균질기(Ultra Turrax T25, IKA, Janke & Kunkel GmbH & Co., Germany)로 균질화한 후 17,000×g에서 15분간 원심분리하였다. 이 조작을 2회 더 반복하여 얻은 상층액을 모아 감압농축한 후 증류수로 일정량으로 정용하였고, 여기에 제단백을 위해 5-sulfosalicylic acid를 10% 첨가하여 하룻밤 방치 및 여과한 후 정미성분 분석용 엑스분으로 사용하였다. 유리아미노산 및 관련화합물은 시료 엑스분을 감압건조한 다음, lithium citrate buffer(pH 2.20, 0.20 M)로서 정용한 후 아미노산 자동분석계(Biochrom 30, Biochrom. LTD, England)로 분석하였다.

[0091] RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS에서 추출한 엑스분의 무기질 조성을 분석한 결과는 표 19와 같다. RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS에서 검출된 무기질은 Na가 각각 7,142.3, 7,006.0, 7,543.7, 8,386.0 mg/100 mL로 가장 많았고, 이외에 S, K, Mg, P 등도 비교적 많이 함유되어 있었다. 특히, 본 RAS-1과 RAS-2의 Ca 및 P의 함량이 각각 60.7과 83.4 mg/100 mL, 104.9와 145.6 mg/100 mL로서 TAS나 CAS에 비해 월등히 많이 함유되어 있는 점은 본 시작품이 갖는 영양·기능학적 특징이라고 할 수 있다. CSAS의 경우는 RAS-1, RAS-2 및 TAS에 비해 Na가 많은 반면, 타 무기이온 함량은 대체로 1/10에서 1/3 정도로 적게 함유되어 있었다.

표 19

[0092] RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS에서 추출한 엑스분의 무기질 조성 분석 (mg/100 mL)

| Minerals | Products <sup>1</sup> |         |         |         |
|----------|-----------------------|---------|---------|---------|
|          | RAS-1                 | RAS-2   | TAS     | CAS     |
| Na       | 7,142.3               | 7,006.0 | 7,543.7 | 8,386.0 |
| Ca       | 60.7                  | 83.4    | 21.3    | 5.2     |
| Mg       | 195.7                 | 253.1   | 151.4   | 43.4    |
| K        | 446.5                 | 452.6   | 440.5   | 178.5   |
| Fe       | 5.3                   | 7.8     | 4.9     | 1.9     |
| Cu       | 0.1                   | tr      | tr      | tr      |
| Zn       | 1.1                   | 1.2     | 1.0     | 0.1     |
| P        | 104.9                 | 145.6   | 65.3    | 8.3     |
| S        | 683.1                 | 691.7   | 679.5   | 67.4    |

[0093] 무기성분 중 양이온은 시료 추출물을 회분 도가니에 일정량 취해 500~550℃에서 5~6시간 습식회화시킨 후 ashless filter paper로 여과하여 일정량으로 정용한 다음, Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP, Atomscan 25, TJA, USA)로 Na, K, Ca, Mg, Fe, P, Zn, Cu 및 S의 함량을 분석하였다.

#### [0094] 4-4: 히스타민, 대장균 및 단백질분해효소 활성

[0095] RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 히스타민 함량, 대장균수 및 단백질분해효소 활성을 측정하여 비교한 결과는 표 20과 같다. RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 히스타민 함량은 각각 8.6, 8.4, 19.2 및 0.4 mg/100 mL로서 TAS는 RAS-1, RAS-2 및 CAS에 비해 히스타민 함량이 가장 많았다. 각 시료 멸치액젓 모두 일반적인 알레르기성 식중독 한계치인 100 mg/100 mL 보다는 훨씬 적은 양으로 시료 멸치액젓의 히스타민 함량은 식품 위생학적면에서 안전하다고 판단되었다. 일반적으로 히스타민은 *Proteus morgani* 같이 탈탄산효소 작용이 강한 세균에 의해서 생성되며, 주로 적색육 어류나 그 가공품에서 높은 함량을 보인다고 알려져 있다. 한편 식품공전(2013)에서는 멸치액젓의 대장균 기준을 음성으로 규정하고 있는데(Korea Food and Drug Administration, Food Code. Korean Food and Drug Administration. Seoul : 9-3-32-33., 2012)RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS 모두 대장균이 음성으로 나타나 식품위생학적면에서 안전함을 알 수 있었다. RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS에서 추출한 단백질분해효소의 Hammersten casein에 대한 활성은 각각 0.801, 0.858, 0.695 및 0.293 uM/unit로 RAS-1과 RAS-2의 효소 활성이 가장 높았고 CAS의 활성이 가장 낮았다. 이로 미루어 RAS-1과 RAS-2의 경우 첨가한 무에서 유래한 각종 protease의 활성이 잔존해 있었으며, 이들이 숙성발효 중 육 단백질의 가용화를 촉진하여 자연 숙성발효 기간을

크게 단축시킬 수 있을 것으로 판단된다.

표 20

[0096]

RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 히스타민 함량, 대장균수 및 단백질분해효소활성

| Products | Histamine<br>(mg/100 mL) | <i>E. coli</i> | Protease activity<br>(Unit) |
|----------|--------------------------|----------------|-----------------------------|
| RAS-1    | 8.6±0.1                  | Negative       | 0.801±0.006                 |
| RAS-2    | 8.4±0.2                  | Negative       | 0.858±0.010                 |
| TAS      | 19.2±0.3                 | Negative       | 0.695±0.003                 |
| CAS      | 0.4±1.2                  | Negative       | 0.293±0.001                 |

[0097]

히스타민 분석은 식품공전에 따라 시료 5 g을 취하여 0.1N HCl을 25 mL 가한 후 균질화하고 여과한 다음 0.1 N HCl 용액을 가해 50 mL로 정용한 것을 시험용액으로 사용하였다. 표준용액 및 시험용액 각각 1 mL를 마개가 있는 시험관에 취한 다음 내부표준용액 100 µL를 가한 후 포화 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 0.5 mL와 1% 염화단산(dancyl chloride) 아세톤 용액 0.8 mL를 가하여 혼합한 후 마개를 닫고 45℃에서 1시간 동안 유도체화 시켰다. 유도체화 시킨 표준용액 및 시험용액에 10% proline용액 0.5 mL와 ether 5 mL를 가하여 약 10분간 진탕하고 상층액을 취하여 질소 농축한 뒤 acetonitrile 1 mL를 가하여 여과한 것을 HPLC (Surveyor Plus HPLC system, Thermo Co., USA)로 분석하였다.

[0098]

대장균 측정 실험은 식품공전에 따라 시료 10 mL에 0.85% 멸균 생리식염수 90 mL를 가하여 시험용액을 제조한 뒤 10배씩 단계 희석한 용액 1mL를 LB 배지(Lactose broth, Merck, USA)를 가한 시험관에 접종한 후 35±1℃에서 24시간 배양하였다. 24시간 후, Durham 발효관 내에 가스가 발생하면 추정시험 결과 양성으로 판정하여 BGLB 배지(Brilliant green lactose bile broth, Merck, USA)로 접종시켜 35±1℃에서 24시간 배양한 후 가스 발생이 확인되거나 추정시험 결과 양성으로 판정된 시험관의 균액을 EMB 한청평판배지(Eosin methylene blue agar, Merck, USA)에 도말(spreading) 하여 35±1℃에서 24시간 배양 후 금속 광택을 띄는 전형적인 집락이 발생되면 확정시험 결과 양성으로 판정하였다.

[0099]

4-5: 관능검사

[0100]

본 발명의 일실시에 따라 RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 맛, 냄새, 색깔 및 종합적 기호도에 대하여 관능검사한 결과는 표 21과 같다. 멸치액젓의 관능적 특성에 익숙하도록 훈련된 9인의 panel을 구성하여 시료 멸치액젓의 색깔, 맛, 냄새 및 종합적 기호도와 같은 관능적 parameter에 대하여 5단계 평점법(5: 아주 좋음, 4: 좋음, 3: 보통, 2: 나쁨, 1: 아주 나쁨)으로 평점 하였다. 이 때, 대조 멸치액젓(TAS)의 관능평가 점수를 4점으로 설정하고, 이를 기준으로 하여 무 첨가 고갈습 멸치액젓과 시판 멸치액젓(Commercial anchovy sauce, CAS)의 상대적인 관능특성을 평가하였다. 관능검사의 결과는 SPSS system (Statistical Package, SPSS Inc. USA)을 이용하여 ANOVA test 및 Duncan's multiple cange test로 p<0.05 수준에서 시료간의 유의성을 검정하였다. TAS를 기준으로 RAS-1과 RAS-2 모두 각 관능평가 항목에서 TAS 보다 약간씩 우수한 평점을 받은 반면, CAS는 보통 이하의 낮은 평점을 받았다. RAS-2가 각 관능평가 항목에서 가장 우수한 평점을 받았으며, RAS-1과 RAS-2 사이에는 95% 수준에서 유의적 차이는 없었다. 냄새와 색깔의 경우 RAS-1, RAS-2 및 TAS 사이에 95% 수준에서 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 관능검사 결과, 무 첨가 고갈습 멸치액젓은 재래식 멸치액젓이나 시판멸치액젓에 비해 맛과 종합적 기호도에서 월등히 우수한 평점을 받았으며, 멸치액젓 제조시 무를 5~10% 첨가함으로써 자연발효 기간의 단축과 더불어 제품의 이화학적 품질 및 관능적 품질도 향상시킬 수 있었다.

표 21

[0101]

RAS-1, RAS-2, TAS 및 CAS의 관능검사(n=9, p<0.05)

| Products | Sensory evaluation   |                      |                      |                      |
|----------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|          | Taste                | Flavor               | Color                | Over-all acceptance  |
| RAS-1    | 4.3±0.2 <sup>c</sup> | 4.0±0.1 <sup>b</sup> | 4.2±0.1 <sup>b</sup> | 4.3±0.1 <sup>c</sup> |
| RAS-2    | 4.4±0.3 <sup>c</sup> | 4.1±0.1 <sup>b</sup> | 4.2±0.2 <sup>b</sup> | 4.4±0.2 <sup>c</sup> |

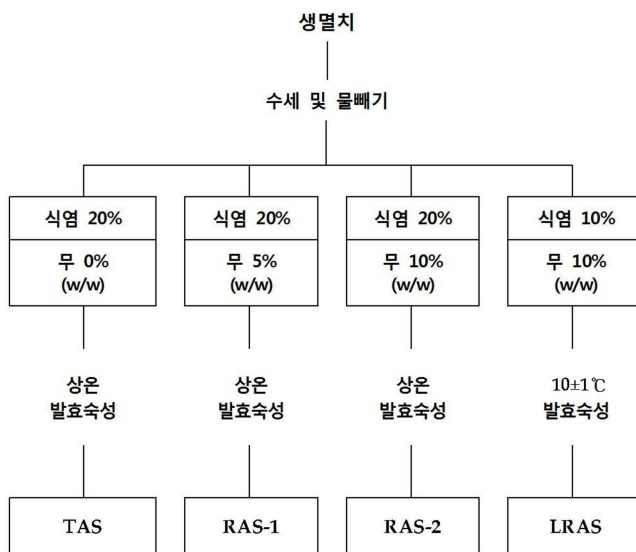
|     |                      |                      |                      |                      |
|-----|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| TAS | 4.0 <sup>b</sup>     | 4.0 <sup>b</sup>     | 4.0 <sup>b</sup>     | 4.0 <sup>b</sup>     |
| CAS | 2.3±0.3 <sup>a</sup> | 3.0±0.2 <sup>a</sup> | 3.0±0.2 <sup>a</sup> | 2.6±0.3 <sup>a</sup> |

[0102]

본 발명은 상술한 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구 범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

## 도면

### 도면1



### 도면2

