

발효형 멸치분말 조미료 소재의 제조

조진호 · 오세욱 · 최종건
한국식품개발연구원

Processing of Fermented and Powdered Anchovy Seasoning Material

Jin-Ho JO, Se-Wook OH and Jong-Geon CHOI
Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

In order to utilize large size anchovy effectively, fermented and powdered anchovy seasoning for extractives was manufactured. Fermented anchovy seasoning was fabricated by adding 10% koji of *Aspergillus oryzae* and mixing with 5% *Laminaria*. The optimum fermentation temperature, humidity and time for manufacture of anchovy seasoning were 40°C, RH 80% and 48 hrs, respectively. The amount of total free amino acids in anchovy seasoning with 5% *Laminaria* was 6,486.9 mg/100 g, while that of commercial product was 444.4 mg/100 g. The principal taste compounds in anchovy seasoning material were IMP and amino acids such as leucine, glutamic acid, histidine, alanine and valine. Extractive nitrogen and organoleptic quality of the extractives in anchovy seasoning packed in tea bag with air permeability, 100 m³/m²/min, were better than those of commercial product.

Key words: fermented and powdered anchovy seasoning, free amino acids, *Aspergillus oryzae*

서 론

멸치는 연간 20만톤 이상 어획되는 연근해 어자원중 15% 이상을 차지하고 있는 중요한 수산자원으로서 (해양수산부, 1998) 중멸이하의 부가가치가 높은 자건품으로 가공되고 있으나 어체가 큰 대멸은 선도변화가 빠른 생화학적 특성으로 인해 대부분 젓갈원료로 이용되고 있는 실정으로서 이의 이용도를 증진시킬 수 있는 가공방법의 개발이 필요하다. 이러한 멸치를 보다 효율적으로 이용하기 위하여 멸치수우프 제조 (Lee et al., 1984a), 식품가공용 중간소재 가공 (Oh et al., 1989), 멸치스낵제품 개발 (Lee et al., 1989) 등에 관한 연구가 보고되고 있으나 대부분 중멸 이하를 원료로 한 것으로서 대멸의 이용도 제고를 위한 연구는 멸치팽화스낵 제조 (Jo et al., 1999)를 제외하고는 거의 없는 실정이다. 또한 멸치는 일반가정이나 음식점 등에서 조미소제로 많이 사용되고 있으며 사용의 간편화를 위하여 상업적 제품도 개발되어 있으나 대부분 값이 비싼 자건품을 기본소재로 이용하고 있어 구매비용이 다소 높은 문제가 있다.

따라서, 본 연구에서는 대멸의 효율적 이용을 위하여 비교적 원료가격이 싼 대멸을 원료로 koji를 첨가하여 발효시킨 다음 동결분쇄한 분말에 정미성분의 보강을 위하여 분말 다시마를 혼합한 엑스분 추출용 발효형 멸치조미료 소재를 제조하고 주요 정미성분인 유리아미노산과 핵산관련물질 함량을 측정하여 상업제품과 비교하므로써 그 활용가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재 료

실험에 사용한 멸치, *Engraulis japonica* (체장 12.3~15.6 cm, 체중 5.3~7.8 g), 는 1997년 5월에 경남 거제군에서 유자망으로 어획한 것을 구입, 빙장하여 사용하였다. 그리고, 상업용 koji는 밀을 기질로하여 *Aspergillus oryzae*를 접종하여 제조한 간장용

단모제품 (분말)을 충무중곡 (주)에서 구입하여 사용하였으며, 다시마 (*Laminaria*)는 서울 가락동 소재 농수산물도매시장에서 구입하여 20 mesh로 분쇄하여 사용하였다.

발효형 멸치 조미료소재의 제조

멸치를 이용한 발효형 조미료 소재의 제조방법은 다음과 같다. 즉, 멸치를 chopping하고 koji 10% (w/w)를 혼합하여 40°C, 상대습도 80%의 조건에서 배양하여 동결건조한 다음 20 mesh로 분쇄하였다. 다음에 다시마가루를 5% (w/w) 첨가하여 tea bag (공기투과도: 100 m³/m²/min, 두께: 80 μm)에 20 g씩 포장하였다. 추출물은 복합분말 40 g에 160 ml의 물을 가하고 100 ± 2°C에서 일정 시간 동안 가열하여 추출하였고 이를 냉각한 다음 200 ml로 정용하여 분석시료로 사용하였다.

아미노태질소의 정량

아미노태질소는 小原 등 (1977)에 의한 formol 적정법에 따라 측정하였다.

엑스분 질소 정량

엑스분 질소함량은 Ryu and Lee (1978)의 방법에 따라 분석하였다. 즉, 시료 4~5 g에 1% picric acid 80 ml를 가하여 homogenizer로 균질화하고 15분간 교반추출하여 물로써 100 ml로 정용한 다음 원심분리 (4,000 rpm, 15 min)하였다. 그 상층액 80 ml를 취하여 Dowex 2×8 chloric form (100~200 mesh) 칼럼에 통과시켜 picric acid를 제거한 다음 물로써 다시 100 ml로 정용하여 엑스분 질소 정량용 시료로 하였으며, 질소정량은 semimicro Kjeldahl 법으로 정량하였다.

핵산관련물질

핵산관련물질의 분석은 Lee et al. (1984b)과 Valentine (1977)에 따라 HPLC (Waters)를 이용하여 분석하였으며 핵산관련물질의

정량은 표준품 (Sigma)과 시료의 retention time을 비교하여 각 시료용량의 peak 면적으로 환산하였다. 분석조건은 μ -Bondapak C₁₈ column을 사용하였으며 mobil phase는 1% triethylamine/phosphoric acid (pH 6.5), flow rate 2.0 ml/min, chart speed는 0.25 cm/min, 검출기는 UV detector (254 nm)를 사용하였다.

유리아미노산

유리 아미노산은 시료를 phenylisothiocyanate (PITC) 유도체를 만들어 HPLC로 분석하는 Pico-Tag 아미노산 분석방법 (1958)에 따라 행하였다.

단백질분해효소 활성 측정

곰팡이가 활착된 멸치육 10g을 증류수 30 ml를 가하여 2분간 균질화한 후 5°C에서 원심분리 (6,000×g, 15min)하여 얻은 상정액을 0.45 μ m filter로 여과하여 조효소액으로 사용하였으며, 단백질분해효소의 활성은 Anson (1939)의 방법에 따라 측정하였다. 효소활성은 최대 효소활성을 나타내었을 때를 기준으로 한 상대값으로 표시하였다.

관능검사

관능검사는 추출물의 색조, 맛, 전체적 기호도에 대하여 관능요원 30명을 대상으로 5점척도법 (5=아주좋다, 3=좋지도 싫지도 않다, 1=아주 나쁘다)으로 실시하였다. 관능검사 결과는 SAS program (1988)을 사용하여 5%에서의 유의차 검정을 하였다.

결과 및 고찰

배양조건 검토

Fig. 1은 마쇄멸치육과 koji를 혼합하여 상대습도 80%의 조건에서 72시간 배양하면서 배양온도별 단백질분해효소의 활성 변화를 조사한 결과이다. 단백질분해효소의 활성은 40°C 부근에서 가장 높은 반면 배양온도 30°C 이하와 50°C 이상에서는 효소활성이 크게 감소하는 현상을 보였다. Kim et al. (1995)의 보고에 의하면 멸치육과 *Aspergillus oryzae*를 접종하여 제조한 koji를 혼합하여 배양할 때 최대활성을 나타내는 배양온도가 30~50°C로 넓은 분포대를 나타내었으며, Kim et al. (1990)은 살균된 정어리육에 *A. oryzae*를 접종했을 때 35°C 부근에서 가장 높은 단백질분해활성을 나타내었다고 보고한 바 있어 본 연구의 결과와 유사한 경향이였다.

Fig. 2는 마쇄 멸치육에 koji를 혼합하여 40°C에서 72시간 배양하면서 여러 상대습도 조건에서의 단백질분해효소 활성을 측정된 결과이다. 상대습도 50% 이하에서는 곰팡이의 생육이 저해되어 단백질분해효소의 활성이 낮게 나타났으나 60% 이상에서는 활성이 서서히 증가되어 80%에서 활성이 가장 높았고 그 이상의 상대습도에서는 단백질분해효소 활성이 감소하는 경향이였으며 간장용 koji의 제조조건 (枋倉, 1988)과 거의 유사하였다.

Fig. 3은 멸치육과 koji 혼합물을 40°C, 상대습도 80%의 조건에서 72시간 배양하면서 배양시간에 따른 단백질분해효소의 활성을 나타낸 것이다. 배양 48시간까지는 단백질분해효소 활성이 증가하는

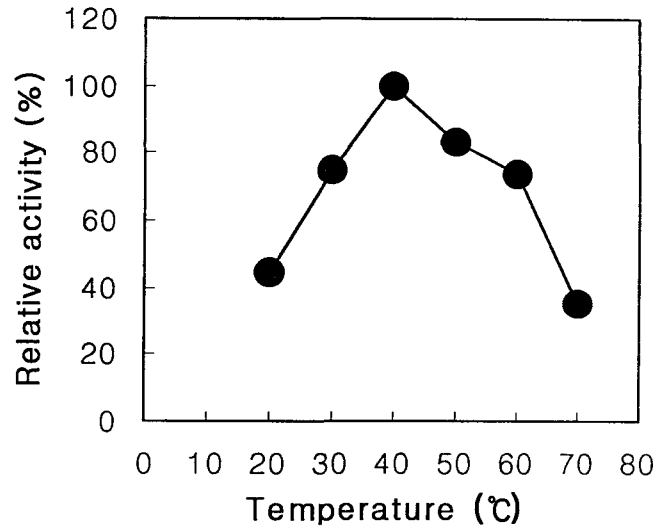


Fig. 1. Effects of temperature on the protease activity of anchovy mixed with 10% koji of *Aspergillus oryzae* fermented at RH 80% for 72 hrs.

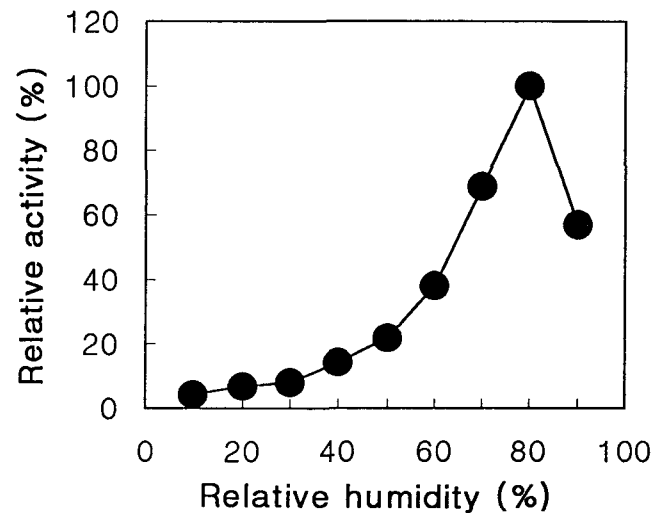


Fig. 2. Effects of humidity on the protease activity of anchovy mixed with 10% koji of *Aspergillus oryzae* fermented at 40°C for 72 hrs.

경향을 나타내어 48시간째 최대활성을 보였고 60시간 이후에는 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. Lee and Chung (1980)의 보고에 의하면 밀기울을 기질로 하였을 때 *Asp. oryzae*는 최적배양시간이 30~40시간이라 하여 본 연구결과보다는 최적배양시간이 다소 짧았는데 이와같은 차이는 배양온도, 균주의 첨가량과 첨가방법의 차이에서 기인하는 것으로 사료되었다.

한편, koji 혼합 멸치육의 배양중 아미노태질소의 함량변화를 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 배양시간의 경과에 따라 아미노태질소 함량은 증가하였으며 배양 12시간 이후부터 급속하게 증가하는 현상을 보였으나 48시간 이후에는 증가폭이 완만하였다. 멸치육 혼합물의 아미노태질소는 발효전 0.78%이었으나 발효 48시간, 72시간 후에는 각각 1.72%와 1.98%를 나타내어 발효전과

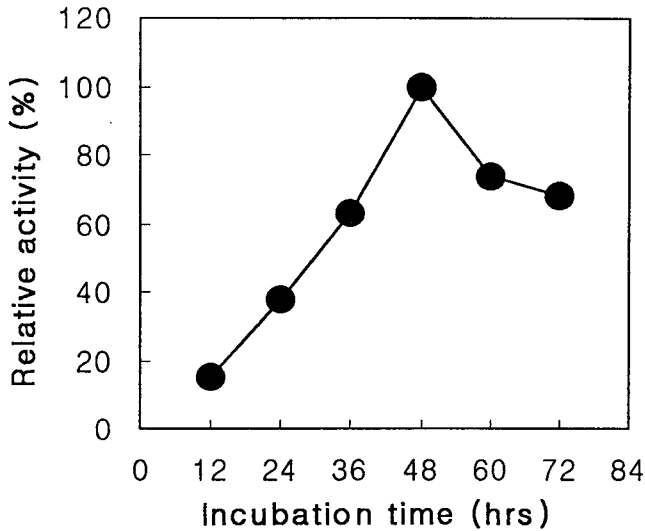


Fig. 3. Effects of time on the protease activity of anchovy mixed with 10% koji of *Aspergillus oryzae* fermented at 40°C and RH 80%.

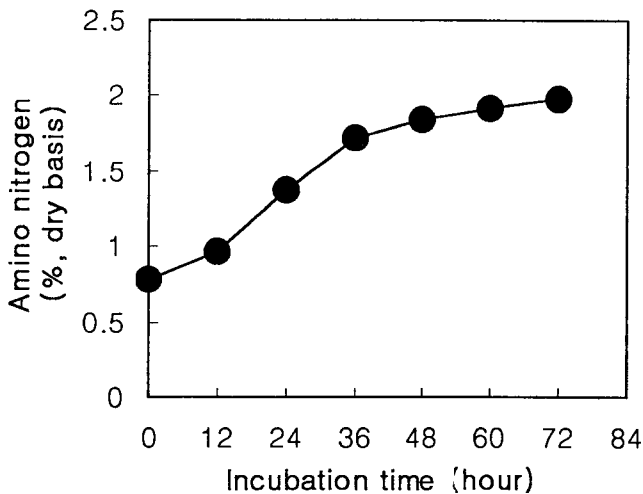


Fig. 4. Changes in amino nitrogen content of anchovy mixed with 10% koji of *Aspergillus oryzae* fermented at 40°C and RH 80%.

비교하면 각각 2.2배와 2.5배 증가한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 *A. oryzae*를 접종한 콩 koji의 제조과정에서 숙성기간의 증가에 따라 아미노태질소의 함량이 급격히 증가하였다고 한 보고 (Rhee et al., 1982)와 유사한 경향이였다.

멸치조미료 소재의 유리아미노산 및 핵산관련물질

발효 멸치분말에 다시마 5% (w/w)를 혼합한 멸치조미료와 상업제품의 유리아미노산과 핵산관련물질의 함량을 분석하여 각각 Table 1과 Table 2에 나타내었다. 건물 100 g에 대한 유리아미노산의 총합량은 시제품이 6,486.9 mg, 상업제품은 444.4 mg으로 시제품의 유리아미노산 함량이 상업제품에 비하여 14.6배 높아 시제품의 유리아미노산 함량이 풍부함을 알 수 있었다. 주요한 유리아미노산은 시제품은 leucine, glutamic acid, histidine, alanine,

Table 1. Free amino acids of powdered anchovy seasonings (mg%, dry basis)

| Free amino acids | Products | | | |
|------------------|------------------|-----------|------------------|-----------|
| | FA ¹⁾ | Ratio (%) | CP ²⁾ | Ratio (%) |
| Alanine | 572.3 | 8.8 | 31.3 | 7.0 |
| Arginine | 486.7 | 7.5 | 47.3 | 10.6 |
| Aspartic acid | 260.2 | 4.0 | 46.1 | 10.4 |
| Cysteine | 451.6 | 7.0 | 5.0 | 1.1 |
| Glutamic acid | 637.0 | 9.8 | 64.9 | 14.6 |
| Glycine | 10.4 | 0.2 | 10.0 | 2.3 |
| Histidine | 601.5 | 9.3 | 58.7 | 13.2 |
| Isoleucine | 337.4 | 5.2 | 6.0 | 1.4 |
| Leucine | 692.1 | 10.7 | 10.9 | 2.5 |
| Lysine | 278.7 | 4.3 | 34.2 | 7.7 |
| Methionine | 287.2 | 4.4 | 5.4 | 1.2 |
| Phenylalanine | 339.9 | 5.5 | 10.0 | 2.3 |
| Proline | nd | - | 16.2 | 3.6 |
| Serine | 75.4 | 1.2 | 8.5 | 1.9 |
| Taurine | 447.1 | 6.9 | 62.8 | 14.1 |
| Threonine | 229.6 | 3.5 | 9.9 | 2.2 |
| Tyrosine | 264.8 | 4.1 | 6.1 | 1.4 |
| Valine | 515.0 | 7.9 | 11.1 | 2.5 |
| Total | 6486.9 | 100.0 | 444.4 | 100.0 |

¹⁾FA, Fermented anchovy seasoning with 5% *Laminalia*

²⁾CP, Commercial product on the market (anchovy 95.2% and *Laminalia* 4.8%)

Table 2. Nucleotides and their related compounds of powdered anchovy seasonings (mg%, dry basis)

| Nucleotides and their related compounds | Products | | | |
|-----------------------------------------|------------------|-----------|------------------|-----------|
| | FA ¹⁾ | Ratio (%) | CP ²⁾ | Ratio (%) |
| ATP | - | - | 3.8 | 0.4 |
| ADP | - | - | 4.8 | 0.6 |
| AMP | - | - | 95.4 | 11.1 |
| IMP | 438.8 | 51.3 | 581.6 | 67.8 |
| Inosine | 147.4 | 17.2 | 76.7 | 8.9 |
| Hypoxanthine | 268.4 | 31.4 | 95.7 | 11.2 |
| Total | 854.6 | 100.0 | 858.0 | 100.0 |

^{1,2)}Referred to Table 1

valine 등이었으며 상업제품은 glutamic acid, taurine, histidine, arginine, aspartic acid 등으로 제품의 종류에 따라 다소 차이를 보였는데 이는 멸치외에 첨가하는 부재료의 종류와 함유비율 차이에 의한 것으로 판단되었다.

한편, 건물 100 g에 대한 핵산관련물질의 총합량은 시제품이 854.6 mg이었으며 상업제품이 858.0 mg으로서 유사하였으며 함량이 많은 성분은 두 제품 공히 IMP로서 전체의 절반이상을 차지하였다. 유리아미노산은 정미성분으로서 가장 중요하며 (朴 등, 1995), 유리아미노산과 IMP가 공존하면 맛이 보다 향상된다고 보고된 바 있다 (Konosu et al., 1960). 이러한 보고와 본 연구의 발효형 멸치조미료 소재의 결과로 볼 때 시제품의 맛은 유리아미노산과 IMP가 어우러져 상승효과를 내며 유리아미노산 함량이 풍부한 시제품이 상업제품에 비하여 맛이 우수할 것으로 사료되었다.

발효형 멸치조미료의 추출조건

멸치 분말조미료는 기호성 증진을 위한 엑스분 추출을 목적으로 이용되고 있으므로 적정 추출조건을 살펴보고자 발효형 멸치조미료 소재를 공기투과도 100 m³/m²/min인 tea bag에 포장하고 추출시간을 달리하여 엑스분질소의 함량과 관능적 기호도의 변화를 조사하였다.

Fig. 5는 발효형 멸치조미료를 추출시간을 달리하였을 때의 엑스분질소 함량의변화를 조사한 결과이다. 추출물의 엑스분 질소는 시제품의 경우 15분간 추출하였을 때 222.0 mg/100 ml이었고 그 이상 추출하여도 큰 변화는 없었다. 상업제품의 경우도 시제품과 같이 15분 추출하였을 때 36.2 mg/100 ml였으며 그 이상 추출하여도 엑스분질소 함량에는 큰 변화가 없었다. 그러나, 엑스분질소의 함량은 시제품이 상업제품에 비하여 6배 이상 높아 시제품이 상업제품에 비하여 정미성분이 풍부함을 알 수 있었으며 이는 Table 1에서 본 바와 같이 유리아미노산 함량 차이에 의한 영향일 것으로 판단되었다.

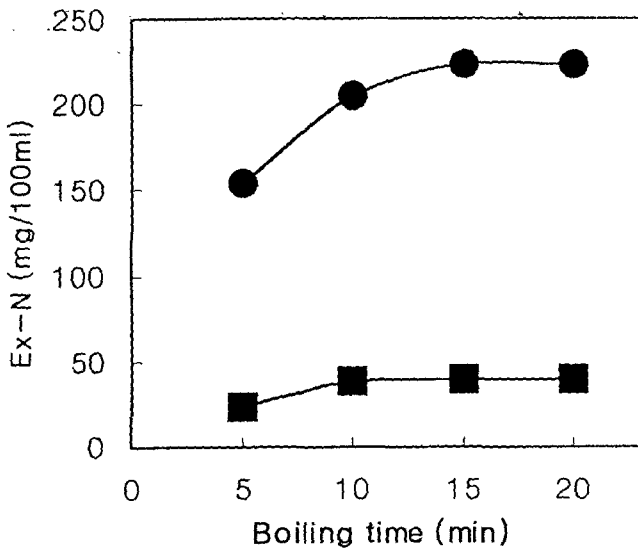


Fig. 5. Extractive nitrogen changes in extractives of powdered anchovy seasoning at 100 ± 2°C and different boiling time. ●-●, FA¹⁾; ■-■, CP²⁾
¹⁾²⁾Referred to Table 1

Table 3. Organoleptic quality changes in extractives of fermented anchovy seasonings with 5% *Laminaria* as a function of boiling time at 100 ± 2°C

| Organoleptic characteristics | Products ¹⁾ | Boiling time (min) | | | |
|------------------------------|------------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 5 | 10 | 15 | 20 |
| Color | FA | 2.8 ^{d2)} | 4.2 ^b | 4.7 ^a | 4.8 ^a |
| | CP | 2.5 ^d | 3.6 ^c | 3.8 ^c | 3.8 ^c |
| Taste | FA | 2.8 ^c | 3.6 ^b | 4.3 ^d | 4.5 ^d |
| | CP | 2.3 ^d | 3.4 ^b | 3.5 ^b | 3.6 ^b |
| Overall acceptability | FA | 2.8 ^d | 3.8 ^b | 4.5 ^a | 4.6 ^a |
| | CP | 2.4 ^e | 3.2 ^c | 3.6 ^b | 3.7 ^b |

¹⁾Referred to Table 1

²⁾Score range : 1 (Extremely low) to 5 (extremely high)

^{a-c)}Means with the same superscripts in the same raw are not significantly different (p<0.05)

로 판단되었다.

Table 3에는 발효형 멸치 조미료와 상업제품의 추출시간별 추출물에 대한 관능검사 결과를 나타내었다. 추출시간 15분까지 시제품과 상업제품의 색조, 맛과 종합적 기호도는 추출시간이 경과할수록 증가하는 경향을 보였으며 그 이상 추출시간을 연장하여도 관능평점에 큰 변화는 없었고 시제품의 관능평점이 상업제품에 비하여 전반적으로 높은 경향을 나타내었다. 따라서, 본 실험에서 제조한 발효형 멸치조미료 소재는 기존 상업제품의 대체가 가능하며 엑스분 추출을 위해서는 공기투과도 100 m³/m²/min인 tea bag으로 포장하였을 때 끓는 물에서 15분 정도 추출하는 것이 적절할 것으로 판단되었다.

요 약

대멸의 효율적 이용을 위하여 대멸을 원료로 koji를 첨가하여 발효시킨 다음 동결분쇄한 분말에 정미성분의 보강을 위하여 분말 다시마를 혼합한 엑스분 추출용 발효형 멸치조미료 소재를 제조하고 주요 정미성분인 유리아미노산과 핵산관련물질 함량을 조사하여 상업제품과 비교하였다. 멸치육에 *Aspergillus oryzae*를 접종하여 제조한 상업코지 10%를 첨가한 혼합물은 온도 40°C, 습도 80%의 조건에서 48시간 배양하였을 때 단백질분해효소의 활성이 최대값을 나타내어 적정 배양조건임을 알 수 있었다. 발효 멸치분말을 동결건조하여 20 mesh로 분쇄한 다음 동일한 입자의 다시마분말 5%를 첨가하여 제조한 멸치조미료 소재는 유리아미노산 함량이 6,486.9 mg/100 g으로 상업제품에 비하여 14.6배 높아 유리아미노산 함량이 풍부하였으며 발효형 멸치조미료 소재의 맛성분은 leucine, glutamic acid, histidine, alanine, valine 등의 유리아미노산과 IMP 등의 핵산관련물질이 주체를 이루는 것으로 판단되었다. 사용의 편리성을 위하여 발효형 멸치조미료 소재를 공기투과도 100 m³/m²/min인 tea bag으로 포장하여 15분 추출하였을 때 엑스분질소의 함량이 높았으며 추출물의 관능적 기호도도 상업제품에 비하여 높았다.

참 고 문 헌

Anson, M.L. 1939. The estimation of pepsin, papain, cathepsin with hemoglobin. *J. Physiol.*, 22, 79~86

Jo J.H., S.W. Oh, N.H. Lee and J.R. Do. 1999. Processing conditions of expanded anchovy snack and monolayer moisture content of the products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 31 (2), 380~384 (in Korean).

Kim, D.S., Y.M. Kim, J.K. Koo, Y.C. Lee. and S.G. Woo. 1990. Studies on the processing of sardine meal koji using *Aspergillus* spp. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 23 (2), 69~76 (in Korean).

Kim, Y.M., J.H. Jo, D.S. Kim, S.W. Oh, E.M. Kim, H.C. Kim. and Noh, H.J. 1995. A study on the development of fermented seasoning sauce. *Korea Food Research Institute* (in Korean).

Konosu, S., Y. Maeda and T. Fujita. 1960. Evaluation of inosinic acid and free amino acids as tasting substances in the katsuobushi stock. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 26 (1), 45~48 (in Japanese).

- Lee, M.J. and M.J. Chung. 1980. Studies on the production of protease by *Aspergillus oryzae* KC-15 and characteristics of enzyme. Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng., 8 (2), 77~85 (in Korean).
- Lee, E.H., J.H. Ha, Y.J. Cha, K.S. Oh and C.S. Kwon. 1984a. Preparation of powdered dried sea mussel and anchovy for instant soup. Bull. Korean Fish. Soc., 17 (4), 299~305 (in Korean).
- Lee, E.H., J.G. Koo, C.B. Ahn and K.S. Oh. 1984b. A rapid method for determination of ATP and its related compounds in dried fish and shell-fish products using HPLC. Bull. Korean Fish. Soc., 17 (5), 368~372 (in Korean).
- Lee, E.H., J.S. Kim, C.B. Ahn, D.S. Joo, S.W. Lee, C.S. Lim and H.Y. Park. 1989. Comparisons in food quality of anchovy snacks and its changes during storage. Bull. Korean Fish. Soc., 22 (2), 49~56 (in Korean).
- Oh, K.S., R.H. Ro, E.H. Lee and H.Y. Park. 1989. Processing of the Intermediate product (Frozen seasoned anchovy meat) derived from anchovy. Korean J. Food Sci. Technol., 21 (1), 498~504 (in Korean).
- Rhee, S.H., H.S. Cheigh and C.S. Kim. 1982. Studies on the changes of lipids during soybean koji preparation for daenjang fermentation in model system. Korean J. Food Sci. Technol., 14 (4), 375~381 (in Korean).
- Ryu, B.H. and E.H. Lee. 1978. The taste compounds of broiled dried sea mussels. Bull. Korean Fish. Soc., 11 (2), 65~83 (in Korean).
- SAS/STAT User's guide. 1988. Rerlease 6.03 ed., SAS institute Inc. Cray. NC. U.S.A.
- Spackman, D.H., W.H. Stein and S. Moore, 1958. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. Anal. Chem., 30, 1190~1195.
- Valentine, D. 1977. Determination of ATP and its degradation products in fish muscle by HPLC. Sandwich student report, Torry Research Station, UK.
- 朴榮浩, 張東錫, 金善奉. 1995. 水産加工利用學. 螢雪出版社, pp.149~153.
- 枋倉辰六郎 編著. 1988. 醬油の科學と技術. 財團法人 日本醸造協會, p. 87.
- 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕之. 1972. 食品分析ハンドブック. b. ホルモン滴定法, 建綿社. 東京, p.58.
- 해양수산부. 1998. 해양수산통계연보. p.998.

1999년 8월 12일 접수

1999년 10월 19일 수리