

경상도 전통미른오징어 식해의 향기성분 및 생리활성효과

이 희 덕 / 한국식품연구소 시험평가부장

Abstract

The volatile compounds of traditional Kyungsando squid *sikhe* were identified by GC-MS. the amount of-zingibirene among identified volatile compounds was 19.73 mg/kg. The major volatile compounds of *sikhe* was (Z)-Di-2-propenyl disulfide, -curcumene, methyl allyl disulfide, (E, E)-farnesene, pentanol, z-citral, 3-ethyl-1,2-dithi-5-ene- β -elemene, β -Elemene, acetic acid, and β phellandrene. The volatile flavour compounds of standard *sikhe* identified total 162 kinds, including hydrocarbone group 49 kinds, aldehyde group 15 kinds, alcohol group 33 kinds, ketone and ester group 11 kinds.

The fraction obtained from *sikhe* were tested for electron donating ability, angiotensin converting enzyme inhibitory activity, Xanthine oxidase inhibitory activity. There was no electron donating abilities(SC50) of hexane and water fraction. On the other hand, the abilities of ethylacetate fraction and butanol fraction showed 310.64 g/mL, 1096.49 g/mL, respectively. Angiotensin converting enzyme inhibitory activities(IC50) of ethylacetate fraction and butanol fraction were 1.623mg/mL, 1.303mg/mL, respectively. Xanthine oxidase inhibitory activities(IC50) of ethylacetate fraction and butanol fraction were 3.591mg/mL, 2.083mg/mL, respectively.

서론

젓갈류는 어패류의 저장 목적을 목적으로 선사시대 부터 만들어진 염장 발효 식품으로 사용하는 원료에 따라 그 종류와 맛이 다양하다. 어패류에 식염을 가하여 염장시킨 젓갈류는 부패균의 번식을 억제하고 자가소화 효소 또는 미생물의 효소작용에 의해 육질을 분해시킨 우리나라 전통의 수산 발효식품으로 제조공정이 단순하고 특별한 제조장치도 필요하지 않으며, 숙성 후의 제품은 독특한 감칠맛을 가지고 있어 옛부터 오늘에 이르기까지 밑반찬이나 김치의 소재로 많이 이용되고 있다. 젓갈류의 기록에 쓰여진 바로는 기원전 3세기에 쓰여진 중국 周禮의 膳夫에서 醬 120동이란 기록과 事物起源에서는 周公이 장을 만들었다는 기록이 있다¹⁾. 여기에서 말하는 장에는 醢(해)나 醢(해)가 있으며 해는 새고기, 짐승고기, 물고기 할 것 없이 일광에 말려서 고운 가루로 만들어 술에 담그고 여기에 粟으로 만든 누룩과 소금을 넣어 잘 섞어 항아리에 넣고 밀폐하여 100 일간 어두운 곳에서 숙성시킨 것이다. 해는 재료가 해와 같으나 青梅汁을 넣어서 신맛이 나게 한 것이라고 하였다. 당시의 중국에서는 고기나 채소를 삶아서 醢나 醢에 묻혀 먹었는데 이것이 오늘날의 간장이나 양념의 구실을 하였다²⁾.

우리 조상들의 지혜와 슬기로 전승해 발전하여 온 귀중한 전통식품의 하나인 경상도 마른오징어 식해는 경상도 동해안 연안을 중심으로 하여 계승해온 전통 향토 수산 식품의 일종이지만 일반화되지 못하고 이 지역에서 명맥 만을 유지하고 있는 실정이다. 경상도 마른고기 식해³⁾는 일종의 젓갈류로써 일반 젓갈류와 특이하게 다른 점은 마른 오징어와 마른 명태에 조 또는 멍쌀밥, 무채, 엇기름, 고춧가루 및 일정량의 소금 부재료를 넣어 일정기간 동안 숙성시켜 숙성 중 미생물의 발효작용에서 독특한 정미성분을 나타내는 것이 특징이다⁴⁾.

경상도 마른 고기식해에 관하여서는 한국 식품학사적 측면에서 향토음식 중 식해의 종류 등에 관한 보고가 있을 뿐이다⁵⁻⁸⁾. 이⁹⁾ 와 이 등¹⁰⁾의 가자미식해에 관한 연구와 무사 등¹¹⁾ 가자미식해 발효에 관여하는 미생물을 보고한 바 있었으며, 정 등¹²⁾은 함경도 지방의 전통 가자미식해의 소금수준에 따른 숙성 중 맛 성분의 변화를 보고하였다. 김 등^{13,14)}은 강릉지방의 오징어식해 개발에 관한 연구에서 숙성온도 및 기간에 따른 화학적 변화, 미생물변화 및 단백질 분해 효소를 정제하였다. 채¹⁵⁾는 오징어를 이용한 강릉식해의 상품화 증진을 위한 연구를 수행하였고 이 등¹⁶⁾은 오징어식해 숙성 중 단백질 화학적 변화를 보고한바 있다. Kim 등¹⁷⁾의 명태식해의 발효과정 중 품질 특성 등의 보고가 있으나 대부분 숙성과정중 미생물적인 연구가 수행되었으

경상도 전통 마른고기 식해의 제법조사 및 이에 관여하는 미생물과 식해의 생리활성에 관한 연구 등은 이루어지지 않고 있는 실정이다.

본 연구에서는 우리나라 경상도의 마른고기식해의 전통적인 제조법을 계승, 보존하고 식품향상을 도모하기 위한 연구의 일환으로 경상도 동해안 연안에서 마른 오징어를 주원료로 한 식해의 제조방법을 영덕, 감포, 포항 및 구룡포 지방을 중심으로 전통 명문집을 각각 방문하여 그 제조방법을 조사 및 재현한 후 그 제조공정을 확립하였다. 또한 마른오징어 식해로부터 젖산균을 분리 동정하고 화학적성분 및 기능성을 검토하였다.

재료 및 방법

경상도 전통 마른오징어 식해의 제법조사

경상도 동해연안의 영일, 영덕, 감포, 각각 1개소와 포항 2개소를 포함하여 문화재관리국의 도움으로 5개의 명문집을 선정하여 99년 2월부터 5월까지 각 가정을 방문하고 현지에서 직접 참여하여 경상도 전통 마른오징어 식해(이하 식해)를 제조한 것을 분석자료로 하였다.

휘발성 향기성분의 추출 및 분석

본 연구에 사용된 모든 표준시약은 미국 Sigma사에서 구입하였으며, 추출 및 chromatography에 사용한 유기용매는 wire spiral packed double distilling 장치로 재증류한 것을 사용하였다. 또한 물은 순수재증류장치 (Millipore Milford, USA)에서 처리하여 사용하였다. 유기용매의 탈수에 사용된 무수 Na_2SO_4 는 105°C 의 건조기에서 미리 4시간 동안 건조시켰다.

시료 각 200g과 증류수 1L를 혼합하여 Waring blender로 분쇄하여 2L의 등근 플라스크에 옮겨 담았다. pH meter를 이용하여 pH를 측정하였으며, pH의 보정을 위해 1% NaOH 수용액을 첨가하여 pH 6.5로 조정하여 이를 휘발성 향기성분 추출용 시료로 사용하였다.

휘발성 향기성분의 추출은 연속수증기증류추출장치(Likens & Nickerson type simultaneous steam distillation and extraction apparatus, SDE)를 상압에서 2시간 동안 추출하였다. 이때 휘발성 향기성분의 추출용매는 재증류한 n-pentane과 diethylether 혼합용매(1:1, v/v) 200mL를 사용하였으며 냉각수의 온도는 4°C 로 유지하였다. 추출

후 추출용매에 무수 Na_2SO_4 를 첨가하여 4 에서 하룻밤 동안 방치하여 수분을 제거하였다. 정량분석을 위한 n-buthylbenzene 1 L를 내부표준물질로서 시료에 첨가하였다. 향기성분의 유기용매 분획분은 Vigreux column을 사용하여 약 2mL까지 농축하고 GC용 vial에 옮긴 후 질소가스 기류하에서 약 0.2mL까지 농축하여 GC와 GC/MS의 분석시료로 하였다.

머무름 지수 (retention index)의 산정

머무름 지표의 합리적인 표시법으로서 Kovats가 제시한 머무름 지수 (retention index or Kovats index, RI)는 직쇄알칸을 기준으로 하여 머무름 시간을 등간격으로 표시한 것이다. 머무름 지표를 구하기 위하여 탄소수 7개 부터 30개 까지의 n-alkane 표준물질을 구입하여 각각 $10\mu\text{L}$ 씩 재증류된 10mL의 n-hexane에 희석하였으며, C7 ~ C17(mixture I), C13 ~ C22(mixture II), C23 ~ C30(mixture III) 세등분의 혼합액으로 조제하였다. 조제된 혼합액 1 L를 Hewlett-Packard 5890 II Plus로 분석하였다. Column은 DB-WAX(J&W, 60m 0.25mm i.d., $0.25\mu\text{L}$ film thickness)을 사용하였으며, detector 및 injector의 온도는 300°C 와 250°C 로 하였다. 분석에 이용한 온도 조건은 40°C 에서 3분간 유지한 다음 $2^\circ\text{C}/\text{min}$. 속도로 150°C 까지 다시 $4^\circ\text{C}/\text{min}$. 속도로 220°C 까지 상승시켰다. Detector는 FID를 사용하였고, carrier gas는 helium을 $1.0\mu\text{L}/\text{min}$ 유속으로 하였다. 시료의 양은 $1\mu\text{L}$ 를 주입하여 split ratio는 1:20으로 설정하였다.

GC chromatogram에서 확인된 n-alkane 표준물질의 머무름 시간 (retention time, RT)을Chromopak 6A integrator에 basic program을 작성하여 입력하였다.

향기성분의 GC/MS에 의한 확인

질량분석에 사용한 GC/MS 분석기기는 Shimadzu GC/MS QP-5000을 사용하였으며 시료의 ion화는 electron impact ionization (EI)방법으로 행하였다. GC/MS 분석조건은 ionization voltage를 70eV로 하였고, ion source temperature는 230 로 하였다. 또한 분석할 분자량의 범위(m/z)는 41~450으로 설정하였다. 다른 분석조건들은 GC의 분석조건과 동일한 조건으로 분석하였다. Total ionization chromatogram(TIC)에 분리된 각 peak의 성분분석은 mass spectrum library (WILEY 139, NIST 62와 NIST¹²⁾와 mass spectral data book^{18,19)}의 spectrum과의 일치 및 GC-FID의 분석에 의한 retention index²⁰⁾와 문헌상의 retention index^{21, 22)}와의 일치 및 표준물질의 분석 data를 비교하여 확인하였다.

향기성분의 정량

정량을 위하여 시료 200g에 내부표준물질로 첨가된 n-buthylbenzene과 각각 동정된 향기성분의 peak area%를 이용하여 시료 1kg에 함유된 휘발성 향기성분을 상대적으로 정량하였다.

향기성리활성효과

시료 전처리

본 시료를 70% 메탄올로 추출하여 수용성인 물질만 모은 후 hexane, ethyl acetate, butanol, 물 등을 사용하여 순차적으로 추출하여 각각 분획층을 50℃에서 감압농축하여 냉동고에 보관하면서 실험시 일정농도로 녹인 후 실험을 실시하였다.

전자공여능(DPPH) 측정

각 추출물의 전자공여작용은 Blois²³⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 1mL에 2×10⁻⁴M, -diphenyl- α -picryl-hydrazyl(DPPH) 1mL를 넣고 교반한 후 30분 동안 방치한 다음 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{전자 공여능} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성 측정

ACE 저해효과 측정은 Cushman과 Ondetti²⁴⁾의 방법에 따라 실험하였다. 즉, 반응구는 0.3M NaCl을 함유하는 0.1M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질(Hippuryl-L-histidyl-L-leucine : HHL) 2.5mL, ACE 0.1mL와 메탄올추출한 식해 0.1mL를 혼합하며, 대조구는 메탄올 추출한 식해 대신 증류수 0.1mL를 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시키고 1N-HCl 0.35mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3mL의

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}{\text{대조구의 hippuric acid 생성량}} \right) \times 100$$

ethylacetate를 첨가하였다. ethylacetate 층으로 부터 용매를 증류시킨 잔사에 2mL의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 흡광도 280nm에서 측정한 후 다음 식에 따라 저해율(%)을 구하였다.

Xanthine oxidase 저해

Xanthine oxidase 활성 저해 측정은 Strip와 Corte[®]의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 반응구는 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine 2mM을 녹인 기질액 0.4mL에 xanthine oxidase(0.2unit/mL) 0.2mL와 시료액 0.2mL를 가하고 대조구에는 시료액 대신 증류수를 0.2mL 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시키고 20% trichloroacetic acid(TCA) 1mL를 가하여 반응을 종료시키고 원심분리하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292nm에서 측정하여, 다음 식으로 저해율(%)을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}} \right) \times 100$$

결과 및 고찰

식해의 분리 및 동정

식해의 향기성분을 Nickerson과 Likens[®]의 개량형의 연속 수증기유출장치로 포집하여 GS/MS에 의해 향기성분을 동정한 결과는 Table 1과 같다. 식해의 숙성과정 중 7일째 분리동정한 향기성분을 기능별로 살펴보면 camphene, β -elemene등을 포함하는 hydrocarboney류 49종, 2-methyl butane, pentanal을 포함하는 알데히드류 15종, propanol, 2-propen-1-ol, d-nerdiol 등을 포함하는 알콜류 33종, 2-propanone, 2-nonanone을 포함하는 케톤류 9종, ethyl acetate 및 3-buthyl isothiocyanate 등을 포함한 에스테르류 11종 등 총 162종을 확인 동정하였다.

식해에서 동정된 물질 중에서 α -zingibirene 이 19.73 mg/kg으로 전체 상대농도에서 가장 높았으며 (E)-Di-2-propenyl disulfide(14.18 mg/kg), α -curcumene (9.92 mg/kg), methyl allyl disulfide(6.07 mg/kg), (E-E)- α -farnesene(5.17 mg/kg), pentanol(4.91 mg/kg), Z-citral(4.79 mg/kg), 3-ethyl-1,2-dithi-5-ene- β -elemene(4.44 mg/kg), β -

Elemene (3,59 mg/kg), acetic acid (3,10 mg/kg) 및 β -phellandrene (3,10 mg/kg)의 함량 순으로 동정되어 이러한 11종류의 성분들이 식혜의 주요성분으로 나타났다. 식혜의 향기성분은 예측한 바와 같이 첨가된 향신료에 의하여 생성된 생강의 α -zingibirene, camphene과 고춧가루에 의한 E-Di-propenyl-disulfide, methyl allyl disulfide가 상당량 검출되었다.

쌀에서 향기 성분이 발생하는 경로는 아미노산의 Strecker 분해와 지질의 자동산화에 의해 short chain carbonyl 화합물과 산에 의해 향기가 생성되고^(27,28) Yajima 등⁽²⁹⁾은 밥의 중요 향기 성분으로 알려진 알데히드는 지질의 산화에 의해, 케톤은 지방산의-oxidation에 의해 생성된다고 보고하였다. 알데히드류와 알콜류의 주성분인 hexanal, hexanol과 같은 C₆화합물은 green note로 불포화 지방산의 전구체로부터 lipoxygenase(LOX)에 의한 가수분해를 통해 생성된다고 알려져 있다⁽³⁰⁾. 천연물의 향기는 수십 또는 수백개의 휘발성 성분들이 복합적으로 작용하여 발현한다고 알려져 있으므로⁽³¹⁾ 역가가 낮은 알데히드류, 케톤류와 알콜류 등의 휘발성 성분들이 복합적으로 작용하여 특징적인 차이를 나타낸다고 생각된다.

Table 1. Identified volatile flavour compounds in traditional kyungsando sikhe fermentation and storage at 5°C

Peak No.	RT ^a	RI	Compound Name	MF ^b	FW ^c	Area(%)	mg/kg
1	5,147	702	Acetaldehyde	C ₂ H ₄	44	0,36	0,631
2	5,612	749	Dimethyl sulfide	C ₂ H ₆ S	62	0,06	0,104
3	6,99	818	2-Propanone	C ₃ H ₆ O	58	0,04	0,062
4	6,667	827	Ethyl formate	C ₃ H ₆ O ₂	74	0,27	0,478
5	7,048	846	2-Propenal	C ₃ H ₄ O	56	0,02	0,028
6	7,322	859	2-Methyl-2-heptene	C ₈ H ₁₆	112	0,04	0,062
7	8,055	891	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	0,92	1,608
8	8,776	915	2-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0,04	0,065
9	8,910	919	3-Methylbutanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0,24	0,417
10	9,375	931	Propylene sulfide	C ₃ H ₆ S	74	0,02	0,031
11	9,717	940	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	0,7	1,227
12	10,167	952	2-Ethylfuran	C ₆ H ₈ O	96	0,17	0,297
13	10,290	955	Allylmethyl sulfide	C ₄ H ₈ S	88	0,52	0,911
14	11,166	975	Pentanal	C ₅ H ₁₀ O	86	0,09	0,157

Peak No.	RT ^a	RI	Compound Name	MP ^b	FW ^c	Area(%)	mg/kg
15	12.422	1002	Tricyclene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.07	0.124
16	13.256	1019	α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.16	2.026
17	14.032	1035	Methylbenzene	C ₇ H ₈	92	0.18	0.307
18	14.192	1038	Propanol	C ₃ H ₈ O	60	0.05	0.081
19	14.913	1051	2-Methyl-4-Pentanal	C ₆ H ₁₀ O	98	0.04	0.069
20	15.622	1064	Camphene	C ₁₀ H ₁₆	136	2.49	4.346
21	15.899	1069	Dimethyl disulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	0.82	1.435
22	16.420	1077	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	0.51	0.882
23	17.011	1087	2-Methyl-2-butanal	C ₅ H ₈ O	84	0.06	0.101
24	17.100	1088	2-Methyl-1-propanol	C ₄ H ₁₀ O	74	0.05	0.083
25	17.890	1101	2- β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.16	0.281
26	18.295	1108	2-Propen-1-ol	C ₃ H ₆	58	0.04	0.070
27	18.729	1115	Sabinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.04	0.061
28	18.926	1119	2-Pentanol	C ₅ H ₁₂ O	88	0.06	0.098
29	19.153	1123	4-Pentenal	C ₅ H ₈ O	84	0.02	0.027
30	19.933	1135	P-Xylene	C ₈ H ₁₀	106	0.03	0.052
31	20.444	1143	Diallyl sulfide	C ₆ H ₁₀ S	114	0.78	1.364
32	21.388	1158	1-Penten-3-ol	C ₅ H ₁₀ O	86	0.05	0.92
33	21.642	1162	β -Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.34	2.339
34	22.017	1167	α -Fenchene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.03	0.054
35	22.712	1177	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	0.15	0.262
36	22.898	1180	Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	0.05	0.090
37	24.058	1195	α -Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.41	2.464
38	24.800	1206	Pentanol	C ₅ H ₁₂ O	88	2.81	4.914
39	24.947	1209	β -Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.78	3.102
40	25.091	1211	1,8-Cineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.17	2.046
41	25.199	1213	(E)-Phellandrene	C ₆ H ₁₀ O	98	0.07	0.124
42	25.275	1214	2-Buten-1-ol	C ₄ H ₈ O	72	0.05	0.088
43	26.136	1228	2-Pentyl furan	C ₉ H ₁₈ O	138	0.19	0.331
44	26.461	1232	(Z)- β -Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.08	0.144

지 상 강 좌 2

Peak No.	RT	RI	Compound Name	MF	FW	Area(%)	mg/kg
45	27.202	1243	r-Terpinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.05	0.083
46	27.400	1246	1,3,5-Tris(methylene) cycloheptane	C ₁₀ H ₁₄	134	0.02	0.028
47	27.673	1250	(E)- β -Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.24	0.424
48	28.329	1260	(Z)-1-Propenyl methyl disulfide	C ₄ H ₈ S ₂	120	0.07	0.120
49	28.672	1265	1-Nitropropane	C ₃ H ₇ NO ₂	89	0.06	0.110
50	28.986	1269	p-Cymene	C ₁₀ H ₁₄	134	0.11	0.185
51	29.835	1280	Methyl allyl disulfide	C ₄ H ₈ S ₂	120	3.48	6.071
52	30.179	1285	(E)-1-Propenyl methyl	C ₄ H ₈ S ₂	120	0.69	1.200
53	30.968	1295	Isolimonene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.09	0.162
54	31.585	1304	2-Methyl-1,6-heptadiene	C ₈ H ₁₄	110	0.05	0.084
IS	32.073	1312	Butylbenzene	C ₁₀ H ₁₄	134	2.46	
55	32.539	1319	2-Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	116	0.33	0.581
56	33.524	1334	6-Methyl-5-hepten-2-one	C ₈ H ₁₄	126	0.5	0.881
57	34.692	1351	2-Allyl-1,3-dioxolane	C ₆ H ₁₀ O ₂	114	0.09	0.158
58	34.790	1353	Hexanol	C ₁₀ H ₁₄ O	102	0.13	0.231
59	36.518	1377	Dimethyl trisulfide	C ₂ H ₆ S ₃	126	1.22	2.133
60	36.864	1382	(E)-3-Hexen-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	100	0.01	0.025
61	37.198	1386	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O	142	0.13	0.219
62	37.527	1390	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	0.04	0.068
63	37.817	1394	Piperitenone	C ₁₀ H ₁₄ O	150	0.03	0.049
64	39.050	1414	Perillene	C ₁₀ H ₁₄ O	150	0.03	0.058
65	39.841	1427	Dipropyl disulfide	C ₆ H ₁₄ S ₂	150	0.46	0.798
66	40.249	1434	α -p-Dimethylstyrene	C ₆ H ₁₂	132	0.11	0.196
67	40.628	1440	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	1.78	3.109
68	41.439	1453	3-Butenyl isothiocyanate	C ₅ H ₇ NS	113	0.17	0.297
69	41.870	1460	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	0.13	0.226
70	42.311	1466	(Z)-Di-2-propenyl disulfide	C ₆ H ₁₀ S ₂	146	0.64	1.113
71	42.621	1471	6-Methyl-5-hepten-2-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	0.1	0.175

Peak No.	RT	RI	Compound Name	MP	FW	Area(%)	ng/kg
72	43.600	1486	(E)-Di-2-propenyl disulfide	C ₆ H ₁₀ S ₂	146	8.12	14,183
73	44.242	1496	3-Ethyl-1,2-dithi-5-ene - β -elemene	C ₆ H ₁₀ S ₂	146	2.55	4,445
74	44.333	1497	α -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.21	0,367
75	44.537	1500	α -Copaene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.43	0,752
76	44.793	1504	2-Acetylfuran	C ₆ H ₆ O ₂	110	0.04	0,071
77	45.950	1522	Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	152	0.28	0,498
78	46.025	1523	2-Nonanol	C ₉ H ₂₀ O	144	0.31	0,547
79	46.208	1526	Diethyl mercaptole acetone	C ₇ H ₁₆ S	164	0.18	0,307
80	46.545	1531	Methyl propyl trisulfide	C ₄ H ₁₀ O ₃	154	0.05	0,148
81	46.886	1536	(E)-2-Nonenal	C ₉ H ₁₆ O	140	0.08	0,148
82	47.060	1539	4-Methylpentyl sothiocyanate	C ₇ H ₁₃ NS	143	0.03	0,058
83	47.777	1550	Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.81	1,413
84	48.457	1560	(E)- β -Bergamotene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.16	0,277
85	48.940	1567	2-Butyl-1,3-dioxolane	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.25	0,433
86	49.257	1571	(E)- β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.2	0,343
87	49.807	1579	Dimethyl sulfoxide	C ₂ H ₆ OS	78	0.18	0,323
88	50.187	1584	Bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.41	0,715
89	50.608	1590	β -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	2.06	3,595
90	50.725	1592	Methyl-2-propenyl trisulfide	C ₄ H ₈ S ₃	152	1.42	2,489
91	50.993	1596	2-Undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.92	1,598
92	51.326	1600	4-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.35	0,605
93	51.545	1604	α -Pinene oxide	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.14	0,247
94	52.147	1614	β -Bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.06	0,110
95	52.393	1618	β -Cyclocitral	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.01	0,025
96	52.871	1626	1,2-Ethanediol	C ₂ H ₆ O ₂	62	0.28	0,489
97	53.067	1630	1-Hydroxy-2-propanone	C ₃ H ₆ O ₂	74	0.04	0,072
98	53.474	1636	α -Humulene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.38	0,670
99	53.703	1640	(E)-2-Decenal	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.24	0,411
100	53.899	1643	Safranal	C ₁₀ H ₁₄ O	150	0.15	0,254

지 상 강 좌 2

Peak No.	RT ^a	RI	Compound Name	MF ^b	FW ^c	Area(%)	ng/kg
101	54.132	1647	Junipene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.25	0.445
102	54.400	1652	(E)- β -Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.1	0.168
103	54.618	1655	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.09	0.161
104	54.907	1660	Citronellyl acetate	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	198	0.62	0.084
105	55.196	1665	3-Methylbutanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	1.11	1.931
106	55.583	1671	Crptone	C ₉ H ₁₄ O	138	0.43	0.747
107	55.810	1674	Aromadrene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.15	0.254
108	56.266	1682	(Z)-Citral	C ₁₀ H ₁₆ O	152	2.74	4.791
109	26.592	1687	Acoradiene	C ₁₀ H ₂₄	204	0.1	0.180
110	56.904	1692	β -Himachlene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.62	2.821
111	57.223	1696	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.33	2.316
112	57.588	1703	Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.42	2.484
113	57.858	1708	Germacrene D	C ₁₅ H ₂₄	204	0.11	0.196
114	58.058	1712	Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	240	0.1	0.168
115	28.193	1714	δ -Selinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.12	0.201
116	58.800	1726	α -Zingibirene	C ₁₅ H ₂₄	204	11.3	19.732
117	59.787	1745	Valencene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.21	0.366
118	59.963	1748	α -Cedrene	C ₁₀ H ₁₄ O	204	0.57	1.002
119	60.480	1758	(E,E)- α -Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	204	2.96	5.173
120	60.601	1760	Geranyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.83	1.455
121	60.897	1766	ν -Cadinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.16	0.276
122	61.071	1769	δ -Cadinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.84	1.463
123	61.425	1775	Methyl salicylate	C ₈ H ₈ O ₃	152	1.07	1.866
124	62.000	1786	α -Curcumene	C ₁₅ H ₂₂	202	5.68	9.926
125	62.100	1788	Cuminaldehyde	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.08	0.134
126	62.415	1793	Diallyl trisulfide	C ₆ H ₁₀ S ₃	178	1.49	0.607
127	62.533	1795	Myrtenol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.12	0.204
128	62.533	1795	Nerol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.22	0.388
129	62.701	1798	2-Tridecanone	C ₁₃ H ₂₆ O	198	0.17	0.298
130	63.106	1808	3-Methylbutyl decanoate	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	0.02	0.028

Peak No.	RT ^a	RI	Compound Name	MP ^b	FW ^c	Area(%)	mg/kg
131	63.292	1812	Undecanol	C ₁₁ H ₂₄ O	172	0.03	0.056
132	64.003	1892	β -Cedren oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.4	0.702
133	64.237	1835	(E)-2-Decen-1-ol	C ₁₀ H ₂₀ O	156	0.14	0.239
134	64.363	1838	Calamenene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.12	0.209
135	64.771	1847	Hexanoic acid	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	116	0.8	0.391
136	65.070	1854	Geraniol	C ₆ H ₁₈ O	154	0.26	0.459
137	65.347	1861	(E)Geranyl acetone	C ₁₃ H ₂₂ O	194	0.09	0.160
138	65.596	1867	4,5-dehydro-isolongifolene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.33	0.573
139	65.905	1874	3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol acetate	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	198	0.61	1.058
140	66.073	1878	2-Methyl-2-phenylundecane	C ₁₈ H ₃₀	246	0.15	0.263
141	66.073	1878	2-Methyl-2-phenylundecane	C ₁₀ H ₂₀ O ₃	188	0.03	0.058
142	66.843	1911	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.09	0.153
143	67.698	1919	1-Ethoxy-1-(cis-hex-3-enoxy)-ethane	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	0.75	1.315
144	68.056	1929	4,4-Dimethyltricyclo-6,3,2,0-(2,5)-trideca-8-en-1-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.05	0.080
145	68.282	1935	1-Cyclopentyl-1-propanol	C ₈ H ₁₆ O	128	0.21	0.360
146	68.644	1946	β -Ionone	C ₁₃ H ₂₀ O	192	0.13	0.230
147	68.892	1953	2-Ethylhexanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	0.03	0.046
148	68.947	1954	Heptanoic acid	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	0.1	0.166
149	69.517	1970	1-phenyl-1,2-ethanediol	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	0.02	0.036
150	69.623	1973	2-Acetylpyrrole	C ₆ H ₇ NO	109	0.07	0.126
151	70.176	1989	2-Pyrrolidinethione	C ₄ H ₇ NS	101	0.05	0.079
152	70.392	1995	Butanenitrile	C ₄ H ₇ N	69	0.03	0.046
153	70.562	1999	β -Ionone epoxide	C ₁₃ H ₂₀ O	208	0.05	0.093
154	70.884	2008	Methyl pentadecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O	256	0.23	0.396
155	71.845	2033	(E)-Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.68	1.184
156	72.196	2043	Ethyl tetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.44	0.773
157	72.500	2051	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	0.47	0.821

Peak No.	RT	FI	Compound Name	MP ^a	FW ^b	Area(%)	ng/kg
158	73,364	2073	Elemol	C15H16O	222	0.29	0,513
159	74,420	2100	Veridiflorol	C15H26O	222	0.19	0,326
160	74,930	2122	Tetradecanol	C14H30O	214	0.77	1,341
161	75,050	2128	4-(Methylthio)-butanenitrile	C5H9NS	115	0.60	1,042
162	75,300	2138	Levomenol	C15H26O	222	0.03	0,045
TOTAL						97.04	165,064

식해의 생리활성효과

자유기생(·) (DPPH) 측정

산화과정 중 생성하는 free radical은 근본적으로 자기방어 기구인 생체내 제거기작에 의해 대부분 소멸되지만, 조직의 방어능을 초월한 free radical의 생성은 최근 성인병이라 불리는 류마티스성 관절염, 심장병, 파킨슨씨병, 순환기장애 뿐만 아니라 암 등과 같은 여러 질환의 원인이 되고 있다³²⁾. 이러한 free radical의 소거능을 알아보기 위하여 식해의 메탄올 추출물을 용매 분획하여 얻은 각 분획물의 전자공여능을 측정된 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 200 M DPPH radical을 50% 환원시키는데 필요한 SC50 값이 헥산과 물층에서는 효과가 나타나지 않았으며, ethylacetate 층은 310.64 g/mL, butanol 층은 1096.49 g/mL으로 나타나ethylacetate 층에서 높은 free radical 소거능을 보였다. 유와 조³³⁾가 보고한 고추의 매운맛 capsaicin이 생체내 실험에서 간 마이크로솜에서 지질의 과산화를 억제한다는 결과를 미루어 보아 식해에서 메탄올 추출물의 항산화성을 갖는 이유 중의 하나는 고추의 capsaicin에 의한 것으로 생각된다.

Table 2. Electron donating abilities of traditional Kyungsando squid sikhe extracts

Sample	SC50* (g/mL)
Hexane	-
Ethylacetate	310.64
Butanol	1096.49
Water	-

*SC₅₀ notes the concentration which is required to scavenging 50% of 200 μ M DPPH radicals

결론 및 고찰

식해의 각 분획별 ACE 저해효과를 실험한 결과로 Table 3에서 보는 바와 같다. 식해의 저해효과는 헥산과 물분획물에서는 전혀 효과를 보이지 않았으며 ethylacetate 층에서는 IC₅₀가 1.623mg/mL, butanol 층에서는 1.303mg/mL의 저해효과를 나타내었다.

최근 성인병으로 많은 문제가 야기되고 있는 고혈압 치료 내지는 예방을위하여 이 특정 효소의 작용 메카니즘에 관한 연구가 지대한 관심사로 되어 오고 있으며, 특히 이 효소 활성도를 억제하기 위한 효소 저해제의 개발에 많은 노력이 투입되고 있는 실정이다. 이렇듯 고혈압 현상과 직접 연관된 요인은 다양하고 복잡하나 그 중에서도 신장기능과 renin-angiotensin계의 활성화에 의한 요인이 가장 중요시 된다³⁴⁾. ACE 저해제는 일반 식품 중에 쌀단백질, 정어리의 근육단백질, 난백알부민, 탈지크림유 및 대두단백질 7S에 존재하는 것으로 알려져 있다³⁵⁾. 따라서 angiotensin I, decapeptide로부터 강력한 혈압상승제 angiotensin II, octapeptide를 생성하는 ACE의 조절 기능에 대한 연구는 장기적인 혈압조절 내지는 혈압 강하작용을 도모하는데 경상도 마른고기 식해로부터 얻은 추출물들이 커다란 기여를 할 것으로 생각된다.

Table 3. The inhibitory effects of angiotensin converting enzyme by traditional Kyungsando squid sikhe extracts

Sample	IC50 (mg/mL)
Hexane	-
Ethylacetate	1.623
Butanol	1.303
Water	-

Xanthine oxidase 저해효과

Xanthine oxidase와 xanthine, hypoxanthine과 같은 기질과의 반응은 일반적인 라디칼 형성 반응으로 알려져 있다. xanthine/xanthine oxidase cytochrome c 반응계에서 측정되는 superoxide anion radical에 대한 소거효과는 어떤 물질에 의해 반응계 자체가 억제될 경우, 즉 xanthine oxidase의 활성이 저해되는 경우 그 물질의 실제 라디칼 소거효과보다 높은 활성으로 나타나게 된다. 통풍을 일으키는 원인 물질인 요산은 hypoxanthine과 xanthine에서 xanthine oxidase의 촉매로 산화되어 요산이 되며 요산 생성 효소인 xanthine oxidase는 Mo와 Fe를 함유하는 flatoprotein이다. 요산이 혈장내에 증가되면 낮은 용해성으로 인하여 혈액 및 세포조직에 축적되어 통풍을 유발할 뿐만 아니라 신장에 침착되어 신장질환을 일으키기도 한다. 이러한 요산을 생성하는 xanthine oxidase에 대한 활성저해능을 측정한 결과 Table 4에서 나타난 것과 같이 xanthine oxidase의 활성을 50% 저해하는 농도 IC50은 ethylacetate 층은 3.591mg/mL, butanol 층은 2.083mg/mL로 나타났다.

김 등³⁶⁾이 보고한 해조류 추출물의 xanthine oxidase 저해작용에서 밝힌 감태 메탄올 추출물이 400 ppm 농도에서 53.1%로 나타나 오징어 식해의 저해율과 유사하게 나타났다.

Table 4. The inhibitory effects of xanthine oxidase by traditional Kyungsando squid sikhe extracts

Sample	IC50(mg/mL)
Hexane	-
Ethylacetate	3,592
Butanol	2,083
Water	-

요 약

경상도 전통마른오징어 식해를 제조하여 GC와 GC/MS를 이용하여 향기성분의 원 인물을 분석, 동정하였다. 식해에서 동정된 물질 중에서 α -zingibirene이 19.73 mg/kg으로 전체 상대농도에서 가장 높았으며 (Z)-Di-2-propenyl disulfide, α -curcumene, methyl allyl disulfide, (E, E)- α -farnesene, pentanol, z-citral, 3-ethyl-1, 2-dithi-5-ene- β -elemene, β -Elemene, acetic acid 및 β -phellandrene의 함량 순으로 동정 되어 이러한 성분들이 식해의 주요성분으로 나타났다. 식해의 향기성분은 hydrocarboney류가 49종, 알데히드류가 15종, 알콜류가 33종, 케톤류 및 에스테류 11종을 포함하여 총 162종을 동정하였다. 식해의 메탄올 추출물을 용매 분획하여 얻은 각 분획물의 전자공여능을 측정된 결과 200 μ M DPPH radical을 50% 환원시키는데 필요한 SC50 값이 헥산과 물층에서는 효과가 나타나지 않았으며, ethylacetate 층은 310.64 μ g/mL, butanol 층은 1096.49 μ g/mL으로 나타났다. 혈압상승 억제효과를 살펴 본 결과 헥산과 물 분획물에서는 전혀 효과가 없었으며 ethylacetate 층에서는 IC50이 1.623mg/mL, butanol 층에서는 1.303mg/mL의 저해효과를 나타내었으며, xanthine oxidase에 대한 IC50은 ethylacetate 층은 3,591mg/mL, butanol 층은 2,083mg/mL로 나타났다.

참고문헌

1. 이성우 : 고려이전의 한국식생활연구. 향문사. p.179-182. 서울 (1978).
2. 이성우 : 한국식품문화사. 교문사. p.141-163. 서울 (1984).
3. 이성우 : 한국식품문화사. 향문사. 서울. p.136 (1990).

4. 이성우 : 아시아속의 한국어장문화에 관한 연구. 한국식문화학회지. 1 :371-382 (1986).
5. 이미영, 이호지 : 문헌에 기록된 식해의 분석적 고찰. 한국식문화학회지.4 : 39-43 (1989).
6. 임찬삼 : 우리나라 전통발효식품의 연구개발동향. 한국식문화학회지. 4. 265-289 (1989).
7. 윤숙경 : 안동지역의 제례에 따른 음식문화. 한국식문화학회지. 11. 439-454 (1996).
8. 이성우 : 한국전통발효식품의 역사적 고찰. 한국식문화학회지 3 : p.331-339 (1988).
9. 이철호 : 젓갈과 식해. 한국음식오천년. 유림문화사. p.52-54. 서울 (1998).
10. 이철호, 조태숙, 임무현, 강주희, 양한철 : 가자미 식해에 관한 연구. 한국산업미생물학회지. 11 : 53-59 (1983).
11. 무사 수안네, 김영배, 이철호 : 가자미식해 발효에 관여하는 미생물에 관한 연구. 한국산업미생물학회지. 15 : 150-155 (1987).
12. 정해숙, 이수학, 우강용 : 함경도 지방의 전통 가자미식해의 소금첨가 수준에 따른 숙성중 맛 성분의 변화에 관한 연구. 한국식품과학회지. 24 : 59-64 (1992).
13. 김상무, 정인학, 조영제 : 강릉지방의 오징어 식해 개발에 관한 연구. 1. 숙성온도 및 기간에 따른 성분변화. 한국수산학회지. 27 : 215-220 (1984).
14. 김상무, 조영제, 이근태 : 강릉지방의 오징어 식해 개발에 관한 연구. 2.미생물 변화 및 단백질 분해효소의 정제. 한국수산학회지 27 :223-231 (1994).
15. 채영석 : 강릉식해의 상품화 증진을 위한 연구. 한국식품개발연구원 (1990).
16. 이남혁, 오세욱, 김영명 : 오징어 식해 숙성 중 단백질 화학적 변화. 한국식품과학회지. 28 : 292-297 (1996).
17. Kim, Sang-Moo, Hee-Yun, Choi, Sung-Hee : Quality characteristics of Myung-Tae(Alaska Pollack) sikhae during fermentation. Food Sci. Biolecgnol, 9 : 5-9 (2000).
18. Thomas, H. S., Robert, A. F., Richard, M., Sue, B. E. and Roy, T. : Isolation of volatile components from a model system. J. Argic. Food Chem, 25 : 446 (1977).
19. Schultz, T. H., Flath, R. A., Mon, T. R., Enggling, S. B. and Teranishi, R. :

- Isolation of volatile components from a model system. *J. Agric. Food Chem.* 25 : 446-449 (1977).
20. Robert P.A.: Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured publishing corporation.(1995).
 21. Stehagen, E., Abrahamsson, S. and Malafferty, F. W. : The Wiley / NBS registry of mass spectral data, N.Y. : John Wiley and Sons (1974).
 22. Davies, N. W.: Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J. Chromatography.* 503 : 1-24 (1990).
 23. Blois, M. S. : Antioxidant determination by use of a stable free radical. *Nature.* 26 : 1198-1204(1958).
 24. Cushman, D. W. and Ondetti, M. A. : Inhibitors of angiotensin convertingenzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacology.* 29 : 1871-1877 (1980)
 25. Strip, F. and Corte, E. D. : The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* 244 : 3855-3859(1969).
 26. Nikerson, G. B. and Likens, S. T. : Gas chromatography evidence for the occurrence of hop Oil components in beer. *J. Chromatography.* 21 : 1-5 (1966).
 27. Karahadian, C. and Johnson, K.A. Analysis of headspace volatiles and sensory characteristics of fresh corn tortillas made from fresh dough and spray-dried masa flour. *J. Agric. Food Chem.* 41 : 791-799(1995).
 28. Maga, J. A. Cereal volatiles-A review. *Cereal Chem.* 26 : 175-178(1978).
 29. Yajima, T., Yanai, T., Nakamura, M., Sakakibara, H. and Habu, T. Volatile flavor components of cooked rice. *Agric. Biol. Chem.* 42 : 1229-1234(1978).
 30. Kim, J. H., Kim, K .R., Kim, J. J. and Oh, C. H. Comparative sampling procedures for the volatile flavor components of *codonopsis lanceolata*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 24 : 171-176(1992).
 31. Han, O. K., Cho, C. H. and Chae, J. C. Identification and evaluation of flavor components and their difference among wheat varieties. *Korean J. Breed.* 30 : 273-282(1998).
 32. Halliwell, B. : Drug antioxidant effects. *Drugs.* 42 : 569-605 (1991).

33. 유와 조 : 전통안동식혜의 제조공정 확립에 관한 연구. 한국식품과학지. 22 : 724-730 (1990).
34. 이현재 : Angiotensin 전환효소의 작용 메카니즘과 혈압조절, 국내외 한국과학기술자 학술회의 논문집. 한국과학기술자 총연합회. p.89 (1992).
35. 박관화 : 새로운 기능성 성분에 대한 이해와 이용. 인제대학교 식품 과학연구소. 제 2회 인제식품과학포럼. p.171 (1994).
36. Kim, O. K., Lee, T. G., Park, Y. B., Park, D. C., Lee, Y. W., Yeo, S. G., Kim, I. S., Park, Y. H. and Kim, S. B. : Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extract, J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 25 : 1069-1073 (1996).