

발효촉진제를 첨가하여 제조한 오징어 조미료의 품질특성

최승화 · 김상무*

강릉원주대학교 해양식품공학과

Quality Properties of Fermented Squid Seasoning Manufactured with Fermentation Accelerator

Seung Hwa Choi and Sang Moo Kim*

Department of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University

Abstract Squid was fermented with fermentation accelerators to develop a natural complex seasoning. The quality properties of fermented squid were determined at different fermentation periods. Squid fermented with 10% *Aspergillus oryzae koji* for 10 days had the highest amino-N, acidity, and total viable cell content during fermentation periods, whereas volatile basic nitrogen content and pH were the lowest. Based on the amino-N content, squid with 10% *koji* fermented for 10 days was selected for further analyses. The inosine and glutamic acid contents of the fermented squid were highest innucleotide composition, their related compounds, and free amino acids, respectively. The IC₅₀ values of the fermented squid on DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging and α -glucosidase inhibitory activities were 6.20 and 4.41 mg/mL, respectively. Based on the results of a sensory evaluation, the fermented squid seasoning was similar to other natural complex seasonings such as anchovy, cowmeat, and fisheries seasonings.

Keywords: accelerator, *Aspergillus oryzae koji*, fermentation, natural seasoning, squid

서 론

찌개 및 국을 즐겨먹는 우리나라에서는 맛을 내기 위해 다양한 조미료를 사용하고 있으나 일부 화학조미료의 폐해가 보고됨에 따라 소비자들은 화학조미료를 기피하고 천연조미료를 선호하고 있다. 따라서 식품 관련 산업에서는 천연조미료의 중요성이 대두되고 있으며 이와 관련된 다양한 연구 및 개발이 이루어지고 있다(1-3). 특히, 동해안의 대표 어종의 하나인 오징어는 예부터 우리나라 사람들이 좋아하는 대표적인 수산물이며, 저칼로리 식품으로서 정미 아미노산, 타우린 및 콜라겐을 다량 함유하고 있어 간장의 해독, 당뇨병, 고혈압, 심장병등의 성인병 예방에 도움을 주고 피부 미용에도 효과가 있는 식품으로서 다양한 생리활성을 갖는 기능성 천연 조미료의 원료로 적합하다고 판단된다(4-7).

최근 국내 오징어 어획량이 2005년 270,298 M/T에서 2008년 367,940 M/T(8)로 급증함에 따라 동해안에서는 어획량이 풍부한 오징어를 이용한 식품가공 산업이 활발히 이루어지고 있다. 그러나 대부분이 조미 오징어 등 2차 산업에 국한되어 있으며, 이러한 가공 산업에서 발생하는 내장, 귀, 다리, 껍질 등 영양가 풍부한 대량의 가공부산물들은 사료로 사용되거나 가공공정 중 폐기

되어 환경오염을 일으키고 있는 실정이다(9). 이에 따라, 오징어의 미래지향적인 활용을 위하여 오징어의 부산물이나 오징어를 이용하여 껍질 유래 collagen(10), 내장 첨가 식품(11), 내장 유래 지질(9) 및 효소(12), 연골 유래 chitosan(13) 등이 연구되었다.

본 연구에서 발효촉진제로 사용한 *Aspergillus oryzae*(*Asp. oryzae*) *koji*는 단백질 분해능이 매우 강한 효소를 분비하고 일반적인 단백질 육으로부터 맛을 향상시키는 정미 아미노산을 생성하는 능력이 뛰어나며 상대적으로 쓴맛을 내는 고미 아미노산을 적게 생성시키기 때문에(14), 예로부터 청국장, 된장 등의 전통 발효식품의 발효에 이용되어 왔다(15,16). 또한, 수산동물의 내장에 분포하는 활성이 높은 단백질 분해효소는 어육의 자가소화를 촉진하는 역할을 담당하며(17), 수산발효식품(젓갈, 어간장 등)에 있어서는 가공수단으로 이용되기까지 하므로(18), *Asp. oryzae koji* 및 내장의 첨가는 오징어 육의 발효 중 향과 맛의 향상에 있어 우수한 발효촉진제라 판단되어 본 연구에 사용하였다(19).

따라서 본 연구에서는 오징어 육에 가공부산물인 오징어 내장 및 *Asp. oryzae koji*를 발효촉진제로써 첨가하여 발효 효율성을 증대시키고, 발효기간 중의 품질특성을 측정하였으며, 오징어 육 발효생성물을 제조하여 이에 대한 특성 및 생리활성을 측정하였다. 또한 오징어 육 발효생성물을 첨가한 천연조미료를 제조하여 시판중인 조미료와 비교분석 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

동해안 특산 어종의 하나인 오징어는 -20°C에서 동결보관된 것을 구입(수협, 주문진)하여 사용하였다. 발효촉진제로 사용한 오징어 내장은 원료 오징어에서 분리하여 사용하였으며, *Asp.*

*Corresponding author: Sang Moo Kim, Department of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Gangwon 210-702, Korea
Tel: 82-33-640-2343
Fax: 82-33-640-2882
E-mail : smkim@gwnu.ac.kr
Received February 8, 2011; revised March 10, 2011; accepted April 14, 2011

*oryzae koji*는 충무발효(Busan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. L-Leucine trinitrobenzene(TNBS), adenosine-triphosphate(ATP), adenosine-diphosphate(ADP), adenosine-monophosphate(AMP), inosine-monophosphate(IMP), inosine, hypoxanthine, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(*p*NPG), *Saccharomyces cerevisiae* α -glucosidase, acarbose, α -tocopherol은 Sigma 사(St. Louis, MO, USA)에서, 균수 측정에 사용한 plate count agar 등의 배지는 Difco 사(Detroit, MI, USA)에서 구입하여 사용하였다.

오징어 육의 발효

본 연구의 오징어 육의 발효조건은 다음과 같다. 동결상태의 오징어를 4°C 이하에서 해동시킨 뒤 내장을 제거하고 15분간 자연탈수하였다. 탈수 오징어 육은 폭 0.5-1.0 cm 간격으로 썰은 뒤 중량당(w/w) 50%의 물을 첨가하여 blender(Waring, Torrington, CT, USA)로 2분간 마쇄하였다. 마쇄 오징어 육에 중량당(w/w) 식염 5% 및 물 50%를 첨가하고 *Asp. oryzae koji*(2.5, 5, 10%) 및 오징어 내장(2.5, 5%)을 각각 혼합한 뒤 거저로 윗부분을 밀봉한 용기를 사용하여 20±3°C에서 25일간 발효하였다.

아미노질소(amino-N)

아미노질소의 분석은 Adler-Nissen의 방법(20)을 이용하여 측정하였다. 즉, 증류수를 이용하여 농도별로 희석한 오징어 육 발효액 250 μ L와 2 mL의 0.2125 M sodium phosphate buffer(pH 8.2)와 0.01% trinitrobenzene(TNBS) 1 mL를 넣고 50°C에서 60분간 반응하였다. 이 후 0.1 N HCl 용액 4 mL를 첨가하여 반응을 종결하고 10초간 교반한 뒤에 340 nm에서 흡광도 값을 측정하여 L-leucine을 이용한 표준곡선에서 농도를 구하였다.

휘발성 염기질소(Volatile Basic Nitrogen, VBN)

휘발성 염기질소량은 Microdilution method(21)를 수정하여 측정하였다. 즉, 오징어 육 발효액 10 g에 증류수 30 mL를 가하고 30분간 교반한 뒤 20% trichloroacetic acid(TCA)용액 20 mL를 넣어 단백질을 침전하였다. 이 후 100 mL로 정용하고 원심분리(4°C, 8000 \times g, 10 min)하여 상층액을 0.45 μ m syringe filter(ADVATEC, Tokyo, Japan)로 여과하였다. Conway 외실에 여과액 1 mL와 포화 K₂CO₃ 1 mL, 내실에는 0.01 N H₂SO₄ 용액 1 mL를 각각 넣고 37°C에서 1시간 반응한 다음 내실에 Brumswisk(0.07% methyl red, 0.03% methylen blue) 지시약을 1-2방울 첨가 한 뒤 0.01 N NaOH로 적정하여 휘발성 염기질소량을 구하였다. Blank는 시료 대신 20% TCA 용액을 사용하였으며, 시료 중의 휘발성 염기질소량은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{휘발성염기질소량} = 0.14 \times (V_1 - V_0) \times F \times D \times 100/S$$

V₁: 시료의 0.01 N NaOH 용액의 적정소비량

V₀: Blank의 0.01 N NaOH 용액의 적정소비량

F: 0.01 N NaOH의 역가

D: 희석배수

S: 시료의 채취량

0.14: 0.01 N H₂SO₄ 1 mL에 상당하는 휘발성 염기질소량

pH 및 산도

pH는 시료 10 g을 채취하여 pH meter(Istek, Seoul, Korea)로 측정하였고 산도는 오징어 육 발효액 5 g에 증류수 45 mL를 넣고 원심 분리(10,000 \times g, 15 min)한 후 10 mL를 취하여 페놀프탈레인

의 변색점인 pH 8.3에 도달할 때까지 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 이때의 NaOH 소요량을 lactic acid(mg%) 양으로 환산하였다(22).

미생물균수

생균수는 각각의 오징어 육 발효액을 10진 희석법을 사용하여 단계희석하고 plate count agar(Difco)를 사용하여 pour plate한 뒤 35±0.5°C에서 48±3 h 배양한 다음 배양된 집락을 계수하여 총균수를 측정하였다. 총 균수는 colony forming unit(CFU/g)으로 표시하였다(23).

오징어 발효 생성물의 제조

아미노질소량은 수산발효식품의 향미와 매우 깊은 관련이 있기 때문에 중요한 품질 지표로 인식되고 있다. *Asp. oryzae koji* 10%에 10일간 발효시킨 오징어 육 발효액의 아미노질소량이 가장 높았으며, 이를 100°C에서 10분간 자숙하여 미생물 및 효소 활성을 제거하고 동결건조(Clean vac 8, Hanil Sci. Ind., Incheon, Korea)하여 발효생성물을 제조, 차후 연구에 사용하였다.

일반성분

일반성분은 AOAC(2002)의 방법에 따라 분석하였다(22). 즉, 수분은 상압가열건조법, 조희분은 직접회화법, 조단백은 Microkjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 탄수화물은 가감법을 사용하였다.

핵산관련물질

발효생성물 중의 핵산관련물질은 Ryu 등(24)의 방법을 수정하여 측정하였다. 즉, 발효생성물 10 g에 10% perchloric acid 25 mL를 가하여 마쇄한 후 5000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하고, 침전물은 같은 방법으로 3회 처리하여 상층액을 합하였다. 합한 상층액은 5 N KOH 용액으로 pH 6.5로 조정하고 10,000 rpm에서 10분간 원심분리한 뒤 perchloric acid를 이용하여 100 mL로 정용하고 0.45 μ m syringe filter(ADVATEC)로 여과하였다. 이 여과액을 high-performance liquid chromatography (HPLC, Agilent 1100 HPLC Chemstation, Agilent, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였으며 분석조건은 다음과 같다. 컬럼은 bondapak C₁₈(ϕ 39 \times 300 mm)를 사용하였으며 이동상은 1% triethylamine/phosphate(pH, 6.5)를 사용하였고 flow rate는 0.8 mL/min, O.D. 254 nm에서 검출하였고, 0.001-1.0 M 농도의 핵산관련물질(ATP, ADP, AMP, IMP, inosine, hypoxanthine)로 표준 검량선을 작성하고 이를 활용하여 각 시료용액의 peak 면적을 환산하여 시료 중의 핵산관련물질량을 산출하였다.

구성 및 유리 아미노산

구성 아미노산 조성은 다음과 같이 분석하였다. 발효생성물 100 mg에 6 N HCl을 20 mL 가하여 105°C 정온건조기에서 24시간 분해하였다. 분해한 시료를 감압농축기(R-114, Büchi, Flawil, Switzerland)로 농축 한 다음 25 mL로 정용하여 amino acid analyzer(L-8800, Hitachi, Tokyo, Japan)로 분석하였다. 유리 아미노산은 시료 1 g에 75% ethanol 40 mL를 가하여 24시간 교반한 뒤 원심분리(10,000 \times g, 15 min)하여 상층액과 고형분을 분리한 다음 24시간 교반한 뒤 원심분리(10,000 \times g, 15 min)하여 상층액과 고형분을 분리하며, 3회째부터는 1시간 단위로 교반, 원심분리 과정을 상층액이 무색에 가까워질 때까지 반복하였다. 상층액을 감압농축기(Büchi)로 농축하여 3차 증류수 25 mL로 정용한 후 amino acid analyzer(L-8800)로 분석하였다(19).

항산화 활성(DPPH radical scavenging activity)

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거능은 Blois(25)의 방법을 수정하여 측정하였다. 즉, 농도별로 조정된 발효생성물 50 μ L와 0.15 mM DPPH 용액 200 μ L을 혼합하여 실온에서 30분간 반응한 다음 microplate reader(Biotek, Winooski, VT, USA)로 515 nm에서 흡광도를 측정하였고, 양성대조군으로 사용한 α -tocopherol은 ethanol을 사용하여 0.01-0.1 mg/mL로 농도를 조정하여 사용하였으며, DPPH radical 소거능은 다음식에 의하여 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity} = (C - (S - SB)) / C \times 100$$

C (Control): 시료 미첨가구

S (Sample): 시료 첨가구

SB (Sample blank): DPPH 용액과 같은 용량의 ethanol에 시료 첨가구

α -Glucosidase 저해능

α -Glucosidase 저해능은 Kim 등(26)의 방법을 다소 수정하여 사용하였다. 즉, 0.01 M phosphate buffer(pH 7.0) 2.2 mL에 농도별로 조정된 발효생성물 0.1 mL와 같은 buffer에 녹인 3 mM pNPG 0.1 mL 및 α -glucosidase 0.1 mL를 첨가한 뒤 37°C에서 60분간 반응하였다. 0.1 M Na_2CO_3 1.5 mL를 가하여 반응을 정지한 다음 405 nm에서 흡광도를 측정하였고, 양성대조군으로 사용한 acarbose는 증류수를 사용하여 0.1-1.0 mg/mL로 농도를 조정하여 측정하였으며, α -glucosidase의 저해능은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\alpha\text{-Glucosidase inhibitory activity} = (C - (S - SB)) / C \times 100$$

C (Control): 시료 미첨가구

S (Sample): 시료 첨가구

SB (Sample blank): 3.9 mL의 10 mM phosphate buffer에 시료 첨가구

오징어 조미료의 제조

오징어 조미료는 오징어 발효생성물 15 g에 천일염 10 g, 핵산 2.5 g, 포도당 5 g, 고춧가루 2.5 g, 양파분말 0.5 g, 생강분말 0.25 g, 마늘분말 1 g, 된장분말 1.5 g을 혼합하여 제조하였다(2).

관능검사

관능검사는 물 70 mL에 오징어 조미료를 30 g 첨가하여 5분간 끓는 물에 조리한 뒤 사용하였으며 식품학을 전공하는 대학원생 및 학부생 중 20대 남자 6인, 여자 4인 총 10인의 관능검사요원을 구성하여 맛, 냄새, 색 및 전체적 기호도의 4가지 항목에 한하여 5단계 평점법(5점: 매우 좋다, 4점: 좋다, 3점: 보통이다, 2점: 나쁘다, 1점: 매우나쁘다)으로 측정하였다(27). 대조구로는 시판 소고기조미료, 멸치조미료, 해물복합조미료를 같은 조건으로 조리하여 비교평가하였으며, 모든 실험은 3회 반복하여 실시하였다.

통계분석

검사결과에 대한 통계적인 유의성 검정은 Statistical Packages for Social Science(SPSS, Chicago, IL, USA)를 이용하여 Duncan's multiple range test로 유의수준 5% 이내($p < 0.05$)로 각 평균값에 대한 유의적 차이를 조사하였다. 데이터는 각 실험치의 평균값과 표준편차로 나타내었다.

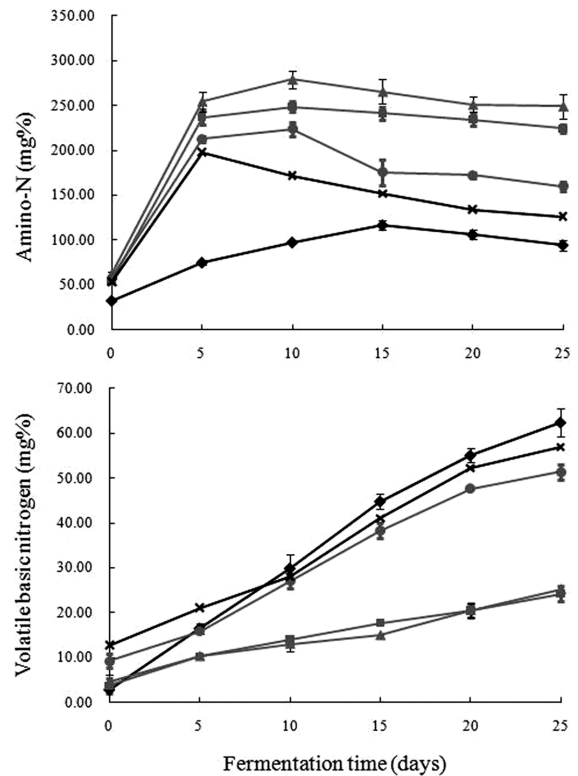


Fig. 1. Changes in amino-N and volatile basic nitrogen contents of squid at different fermentation periods. The ratio of *Asp. oryzae koji*/squid viscera concentrations (w/w): \blacklozenge -, 0/0% (control); \blacksquare -, 5/0%; \blacktriangle -, 10/0%; \bullet -, 2.5/2.5%; \times -, 0/5%

결과 및 고찰

아미노질소(amino-N)

오징어 육 발효기간 중 아미노질소량의 변화는 Fig. 1(a)과 같다. 아미노질소량은 수산발효식품의 향미와 깊은 관련이 있을 뿐만 아니라 수산발효식품의 숙성도 지표로도 이용되고 있기 때문에 발효식품에서 중요한 품질지표로 인식되고 있다(28). 대조군과 발효촉진제 첨가군 모두 발효기간이 증가함에 따라 아미노질소량이 증가하다가 서서히 감소하였다. 대조군은 15일까지 증가하였다가 서서히 감소하였으며, 발효촉진제 첨가군 중 내장 5% 첨가군은 5일까지, *Asp. oryzae koji* 단독 및 내장 혼합 첨가군은 10일까지 증가하였다가 서서히 감소하였다. Kim 등(29)은 수산발효식품에 대한 연구에서 숙성 10일까지는 아미노질소량이 급격하게 증가하다가 10일 이후에는 완만한 증가경향을 보인다고 하였으며, Cha 등(30)은 명태를 이용한 수산발효식품에 대한 연구에서 아미노질소량은 10일까지 급격하게 증가하다가 이후로 완만하게 증가하였다고 보고하였는데 본 연구결과와 유사하였다. 발효촉진제 첨가군 중 내장첨가군 보다 *Asp. oryzae koji* 첨가군의 아미노질소 함량이 높았다. 이는 어류의 장기에 분포하고 있는 활성이 높은 단백질 분해효소는 trypsin 및 chymotrypsin 유사 효소로써 사후단백질의 자가소화에 가장 큰 영향을 미치는데 trypsin 및 chymotrypsin은 최적 pH가 8인 단백질 분해효소로 본 오징어 육 발효생성물의 pH 환경(pH 5-6.5)이 최적 pH와 상이하여 trypsin의 분해능이 떨어진 것으로 판단된다(17). 따라서 *Asp. oryzae koji*가 10% 첨가된 오징어 육을 10일간 발효시킨 발효생

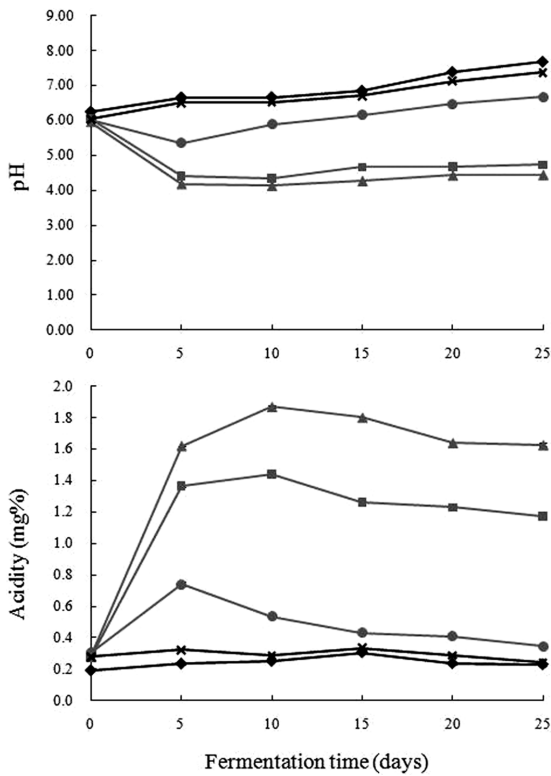


Fig. 2. Changes in pH and acidity of squid at different fermentation periods. The ratio of *Asp. oryzae koji*/squid viscera concentrations (w/w): -◆-, 0/0% (control); -■-, 5/0%; -▲-, 10/0%; -●-, 2.5/2.5%; -X-, 0/5%

성분이 아미노질소량이 가장 높아 차후 연구에 활용하는 것이 좋다고 보여진다.

휘발성 염기질소(VBN)

오징어 육 발효기간 중 휘발성 염기질소 함량의 변화는 Fig. 1(b)과 같다. 휘발성 염기질소량은 어육 등의 선도 판정에 대한 중요한 지표로써 많이 쓰이는데, 발효기간이 증가함에 따라 대조군 및 내장 5% 및 혼합 첨가군은 아주 급격하게, *Asp. oryzae koji* 첨가군은 비교적 완만하게 증가한 것으로 보아 식품안전성 면에서 *Asp. oryzae koji*가 오징어 내장 보다 발효촉진제로써 우수하다고 판단되나, 휘발성 염기질소량과 발효식품의 품질 및 저장에 관련된 보충연구가 필요하며, 휘발성 염기질소량이 발효식품에 관련된 품질이나 저장성에 미치는 영향에 대하여는 아직 보고된 것이 없다(28). Oh 등(31) 및 Cha 등(32)은 저염 수산발효 식품에 관한 연구에서 저염 수산발효식품의 휘발성염기질소량은 저장기간의 경과에 따라 비교적 일정하게 증가하는 경향이었는데 이는 본 연구와 유사하였다. 내장이 첨가된 오징어 육 발효생성물은 발효 초기 휘발성 염기질소량이 대조군 및 *Asp. oryzae koji* 첨가군에 비하여 증가하였는데 이는 수산동물의 위와 창자에는 섭취한 먹이와 소화정도에 따라 소화된 소화물이 다량 존재하고 있으며, 이로 인하여 휘발성 염기질소량이 증가하였기 때문이라 판단된다(33).

pH 및 산도(acidity)

오징어 육 발효기간 중 pH 및 산도의 변화는 Fig. 2와 같다. 육 발효 중의 pH는 대조군과 내장 5% 첨가군이 발효가 진행됨

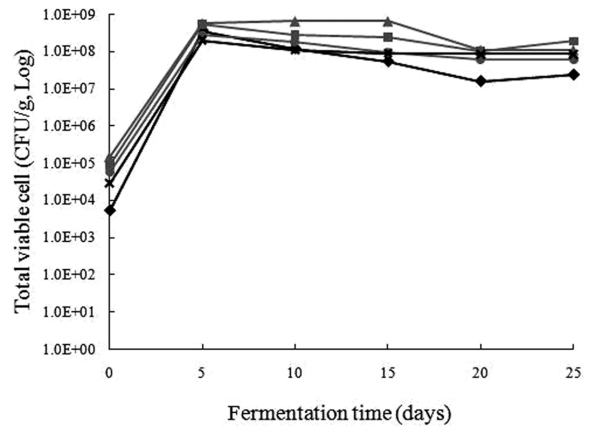


Fig. 3. Changes in total viable cell counts of fermented squid at different time points. The ratio of *Asp. oryzae koji*/squid viscera concentrations (w/w): -◆-, 0/0% (control); -■-, 5/0%; -▲-, 10/0%; -●-, 2.5/2.5%; -X-, 0/5%

에 따라 서서히 증가하였으며, *Asp. oryzae koji* 및 내장 혼합첨가군은 감소하다가 서서히 증가하였다. 한편, *Asp. oryzae koji* 첨가군은 pH가 급격히 감소하다가 일정한 pH를 유지하였다. pH 변화는 대조군 및 내장첨가군보다 *Asp. oryzae koji* 첨가군이 더 급격하게 변하였는데 이는 촉진제로 첨가된 *Asp. oryzae koji*에 의하여 발효 초기에 유기산을 다량 생산하였기 때문이라 판단되며, Lee와 Lee(34)는 soybean yogurt의 단백질분해효소에 관한 연구에서 *Asp. oryzae koji*에서 추출한 단백질분해효소 처리군이 비처리군에 비하여 pH가 저하되고 산도는 상승한다고 보고하였는데 본 연구결과와 유사하였다. 산도는 대조군과 발효촉진제 첨가군에 대하여 pH와 반대의 경향을 보이는데, 이는 숙성 중 생성된 유기산류가 pH를 낮추고 산도를 상승시키기 때문인 것으로 판단된다(35).

미생물 균수

오징어 육 발효기간 중 미생물 균수의 변화는 Fig. 3과 같다. 오징어 육에 발효촉진제를 첨가하였을 때 총 균수는 5.5×10³-1.5×10⁵ CFU/g의 범위였으며, 대조군 및 발효촉진제 첨가군 모두 발효 시작 후 발효 5일째 급격히 증가하다가 그 후 서서히 감소하였다. Koo 등(36)은 백합식해 발효의 미생물학적 특성연구에서 총균수가 발효 9일째까지 급격하게 증가하였다가 15일째부터 감소하였다고 보고 하였으며, Kim 등(37)은 오징어 식해 발효의 미생물학적 특성 연구에서 발효 10일째까지는 급격하게 증가하였다가 이후 완만하게 감소한다고 보고하였는데 이는 본 연구와 유사하였다. 오징어 발효 과정 중에 가장 큰 변화를 보이는 성분은 질소 화합물이며, 원료 어패육 중의 단백질이 자가소화 등 일련의 효소적 가수분해과정을 거쳐 펩타이드, 아미노산, 아민류 및 암모니아 등과 같은 각종 저급 질소화합물로 변하게 되는데, 이러한 성분들이 발효물 특유의 물성과 풍미 및 냄새 형성과 밀접한 관련이 있다. 그러므로 이러한 발효식품의 어패육을 분해하여 적절한 기호도를 나타내게 하는 것이 일반적으로 미생물과 밀접한 관계가 있다(38). 따라서 자가분해효소를 활용하는 내장첨가군보다 *Asp. oryzae koji* 첨가군을 활용하는 것이 좋다고 판단된다.

발효 최적조건 및 발효생성물의 일반성분

오징어 육 발효 중 발효식품의 중요한 품질 지표인 아미노질소량을 가장 빨리 증가하게 하였던 *Asp. oryzae koji* 10%에 10일

Table 1. Proximate composition of fermented squid

Proximate composition	(%)
Moisture	6.8±0.2
Crude protein	56.1±0.1
Crude lipid	6.0±0.4
Crude ash	11.2±0.3
Carbohydrate	19.9±0.4

Table 2. The contents of compositional and free amino acid of fermented squid

Compositional amino acid	Content (%)	Free amino acid	Content (%)
Aspartic acid	9.5	Aspartic acid	9.3
Threonine	3.5	Threonine	4.7
Serine	2.3	Serine	3.5
Glutamic acid	3.0	Glutamic acid	16.3
Glycine	5.4	Glycine	9.9
Alanine	11.1	Alanine	8.2
Valine	7.7	Valine	6.6
Cystein	0.6	Cystein	0.7
Methionine	7.2	Methionine	4.0
Isoleucine	9.1	Isoleucine	6.5
Leucine	18.6	Leucine	10.8
Tyrosine	0.3	Tyrosine	2.4
Phenylalanine	9.2	Phenylalanine	5.0
Lysine	8.7	Lysine	5.4
Histidine	3.6	Histidine	3.0
Arginine	0.2	Arginine	3.8
Total	100.0	Total	100.0

Table 3. Nucleotides and their related compounds of fermented squid

Compound	($\mu\text{mol/g}$)
ATP	-
ADP	-
AMP	-
IMP	13.40
Inosine	19.41
Hypoxanthine	4.85

간 발효한 발효생성물이 가장 우수한 것으로 판단되었고 이를 동결건조하여 차후 연구에 사용하였다. 오징어 육 발효생성물의 일 반성분 분석결과 crude protein이 56.1±0.1%로 가장 높았으며, carbohydrate, crude ash, moisture 및 crude lipid 순이었고, 함량은 각각 19.9±0.4, 11.2±0.3, 6.8±0.2 및 6.0±0.4%이었다(Table 1).

구성 및 유리아미노산 조성

오징어 육 발효생성물의 구성 및 유리 아미노산 조성은 Table 2와 같다. 오징어 육 발효생성물의 구성 아미노산은 leucine이 가장 많았고 alanine, aspartic acid, phenylalanine 및 isoleucine 순으로 함량이 많았으며, 이들 아미노산이 전체 아미노산 조성의 48.4%를 구성하였고, 함량은 각각 18.6, 11.1, 9.5, 9.2 및 9.1% 였다. 유리 아미노산은 것갈의 향미에 가장 중요한 영향을 미치는 단백질의 분해산물로서 발효 시에 중요한 품질지표로 활용되고 있으며 유리 아미노산 중 threonine, serine, glycine, alanine 및

lysine은 단맛을, aspartic acid, glutamic acid 및 cystein은 감칠맛을, methionine, isoleucine, leucine, valine 및 histidine과 같은 소수성 아미노산은 쓴맛에 관여한다(39). 오징어 육 발효생성물의 유리아미노산 조성은 glutamic acid가 가장 많았고 leucine, glycine 및 aspartic acid 순으로 함량이 많았으며 이들 아미노산이 전체 유리 아미노산 조성의 46.3%를 구성하였다. 오징어 육 발효생성물의 전체 아미노산 중 58.0%가 맛과 관련하여 양호하였으며, 쓴맛과 관련된 소수성 아미노산 함량은 약 30.8%로 쓴맛을 내는데 큰 영향을 미치지 않았다. 따라서 본 연구결과에 따라 생성된 오징어 육 발효생성물은 식품 정미 소재로써 사용하기에 적합하다고 판단된다.

핵산관련물질의 함량

오징어 육 발효생성물 중 핵산관련물질의 함량은 Table 3과 같다. 핵산관련물질 중 IMP는 열에 비교적 안정하고 nucleotide 중 맛 성분으로 알려져 있으며, 특히 아미노산 중 glutamic acid와 공존하면 상승작용에 의하여 강한 감칠맛을 나타내는 것으로 밝혀져 있다. 그리고 AMP도 그 자체는 거의 감칠맛을 나타내지 않지만 glutamic acid와 공존할 때 상승효과를 나타낸다(40). 오징어 육 발효생성물에서 ATP, ADP 및 AMP는 검출되지 않았으며 IMP, inosine 및 hypoxanthine만 검출되었는데 이들의 함량은 각각 13.40, 19.41 및 4.85 $\mu\text{mol/g}$ 이었다. 오징어 육 발효생성물의 핵산관련물질은 inosine이 가장 많았는데, 이는 오징어가 핵산관련 물질 중 ATP에서 inosine까지는 분해속도가 매우 빠르고 inosine 및 hypoxanthine이 대부분을 차지하는 어종이기 때문이다. 또한, 척추동물의 근육 ATP는 ATP-ADP-AMP-IMP-HxR(inosine)-Hx(hypoxanthine)의 경로로 분해되나, 무척추동물은 다른 경로인 ATP-ADP-AMP-AdR(adenosine ribose)-HxR-Hx의 경로로 분해되기 때문에 IMP가 나타나지 않는다고 보고되어 있으나(32) 오징어 육 발효생성물에서 IMP가 검출되었는데, 이는 오징어의 근육에는 IMP가 없으나 각육에서 미량으로 검출되기 때문이며 Nakamura 등(41)은 오징어의 저장성 연구에서 오징어 육 내에서 미량의 IMP를 검출하였다고 보고하였는데 본 연구결과와 유사하였다. 따라서, 본 연구에서 제조한 오징어 육 발효생성물은 쓴맛을 내는 hypoxanthine보다 IMP의 함량이 높아 식품 정미 소재로써 사용하기에 적합하다고 판단된다.

항산화 활성(DPPH radical scavenging activity) 및 α -glucosidase 저해활성

오징어 육 발효생성물의 DPPH radical scavenging activity 및 α -glucosidase 저해활성은 Table 4와 같다. DPPH는 항산화물질로부터 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하는 전자공여능 활성이 있다. 이러한 항산화물질은 free radical에 전자나 수소를 공여하여 복합체를 만들고, 전자공여능은 시료에 대한 항산화 작용의 지표로 알려져 있다. 발효생성물의 DPPH 활성은 2-10 mg/mL의 농도에서 농도 의존적으로 증가하였으나 positive control로 사용한 α -tocopherol 보다는 활성이 낮았다. 이는 대부분의 항산화활성을 갖는 단백질 분해산물은 저분자 peptide 및 histidine, methionine, proline 등의 소수성 아미노산으로 오징어 육 발효생성물은 저분자로 정제된 물질이 아니며 유리 아미노산 중 소수성 아미노산의 함량이 낮았기 때문에 활성이 낮은 것으로 판단된다(42). α -Glucosidase는 소장에서 분비되는 탄수화물 분해효소로써, 탄수화물은 소장에서 α -glucosidase에 의하여 포도당과 같은 단당으로 분해되어 흡수되는데 당뇨병 환자의 경우 α -glucosidase를 저해함으로써 소장벽을 통한 포도당의 흡수를 지

Table 4. The DPPH radical scavenging and α -glucosidase inhibitory activities of the fermented squid

Concentration (mg/mL)	DPPH radical scavenging activity(%)	IC ₅₀ (mg/mL)	Concentration (mg/mL)	α -Glucosidase inhibitory activity(%)	IC ₅₀ (mg/mL)
2	20.17±0.54		2.0	8.20±0.91	
4	35.36±0.25		3.0	11.68±1.48	
6	50.42±0.71	6.20	3.5	24.44±2.36	4.14
8	64.00±0.60		4.0	46.04±2.38	
10	73.28±1.56		5.0	98.04±0.09	
α -Tocopherol	-	0.06	Acarbose	-	0.42

Table 5. Sensory evaluation of the fermented squid complex seasoning

Complex seasoning	Taste	Odor	Color	Overall
Squid	3.2±1.1 ^{a1)}	3.4±1.0 ^a	2.9±0.7 ^a	3.2±0.7 ^a
Cow meat	3.6±0.8 ^a	3.2±0.6 ^a	3.0±0.9 ^a	3.3±0.3 ^a
Anchovy	3.1±1.0 ^a	2.9±0.7 ^a	3.3±0.7 ^a	3.1±0.4 ^a
Seafood	3.3±1.1 ^a	2.9±1.2 ^a	3.5±0.5 ^a	3.2±0.5 ^a

¹⁾Means with the same letter within row are not significantly different ($p < 0.05$)

연시켜 당뇨병 환자의 식후 고혈당을 예방할 수 있다(43). 오징어 육 발효생성물의 α -glucosidase 저해활성은 농도 의존적으로 증가하였으나 50%를 저해하는 값인 IC₅₀은 4.14 mg/mL로써 positive control로 사용한 acarbose보다는 활성이 낮았다. 이에 따라, 오징어 육 발효생성물은 항산화 및 항당뇨 기능성 소재로서의 활용에 대한 가능성은 있으나 보충연구가 필요하다고 보여진다.

관능검사

오징어 육 발효생성물로 천연조미료를 제조하여 관능검사를 실시한 결과는 Table 5와 같다. 오징어 육 발효조미료의 맛, 색 및 향을 비교하고 산업적 적용가능성을 검토하기 위하여 시판되는 조미료 중 쇠고기 복합조미료, 멸치 복합조미료, 해물 복합조미료를 각 1종씩 선정하여 연구에 활용하였다. 가장 높은 점수를 얻은 제품은 쇠고기 복합조미료였으며, 가장 낮은 점수를 얻은 제품은 멸치 복합조미료였다. 맛과 색은 소고기 복합조미료와 해물 복합조미료보다 떨어졌지만 유의적인 차이는 없었으며($p < 0.05$), 향은 조제한 조미료가 가장 우수한 평가를 받았다. 전체적인 평가 면에서는 오징어 육 발효생성물로 제조한 조미료는 다른 시판조미료와 유의적으로 차이가 없어($p < 0.05$) 오징어 육 발효생성물은 천연조미료 등 식품첨가제로써 활용이 가능하다고 판단된다.

요 약

본 연구는 오징어 육에 발효촉진제를 첨가하여 발효한 오징어 조미료 소재 개발을 목적으로 하며 결과를 요약하면 다음과 같다. *Asp. oryzae koji*를 10%첨가하여 발효하였을 때 아미노질소량이 가장 높았고 휘발성 염기질소량이 가장 낮았으며, pH의 감소량이 크고 산도가 높아 발효에 가장 알맞은 조건이었으며, 10일간 발효하였을 때 아미노질소량이 가장 높아 발효생성물을 제조하기에 가장 적합하였다. *Asp. oryzae koji* 10%의 농도에 10일간 발효한 오징어 육 발효생성물의 유리 아미노산 조성은 감칠맛을 내는 아미노산인 glutamic acid의 함량이 가장 많았고 핵산관련물질 중 감칠맛을 내는 IMP가 쓴맛을 내는 hypoxanthine보다 많아 식품

정미소재로 이용하기에 적합하였다. 항산화 및 α -glucosidase 저해활성은 농도 의존적으로 증가하였으며, 항산화 및 소장에서 단당류의 생성을 억제하여 혈당을 낮출 수 있는 가능성이 있는 기능성 소재로서의 활용가능성도 있다고 보여진다. 오징어 발효생성물에 부재료를 첨가하여 조미료를 제조한 결과 시판 천연조미료와 비교하여 관능적으로 큰 차이가 없었다. 이상의 결과를 고려할 때 오징어 육 발효생성물은 기능성 소재로의 활용에 대하여는 추가연구가 필요하지만, 천연조미료 등 식품 정미 소재로써 활용이 가능하다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지방기술혁신사업(RTI05-01-02)지원으로 수행되었음. 최승화는 교육과학기술부 2단계 BK21핵심사업의 수혜학생임을 밝히며 사의를 표합니다.

문 헌

- Kim JH, Lee YM, Joo NM, Choi KS, Sohn CM, Park SH, Chung CS, Do HJ, Ryou HJ. Development and application of a novel tomato sauce using natural seasoning. Korean J. Food Cookery Sci. 26: 138-145 (2010)
- Kim SK, Byun HG, Jeon YJ, Joo DS, Kim JB. Deveolopement of natural seasoning using desalinated tuna boiled extract. J. Korean Fish Soc. 32: 75-82 (1999)
- Kim EJ, Cha YJ. Development of functional seasoning agents from skipjack preparation by- product with commercial protease: Processing of hydrolysate from skipjack processing by product with protease treatment. J. Korean Soc. Food Nutr. 25: 608-616 (1996)
- Cho SY, Joo DS, Park SH, Kang HJ, Jeon JK. Change of taurine content in squid meat during squid processing and taurine content in the squid processing waste water. J. Korean Fish Soc. 33: 51-54 (2000)
- Kwon MC, Qadir SA, Kim HS, Ahn JH, Cho NH, Lee HY. UV protection and whitening effects of collagen isolated from outer layer of the squid *Todarodes pacificus*. J. Korean Fish Soc. 41: 7-12 (2008)
- Lee JS, Kim YS. Baking characteristics of taurine supplemented bread and cookies and its effect on blood alcohol concentrations. Korean J. Food. Nutr. 22: 479-484 (2009)
- Jeon YS, Kang SM. Influence of collagen intake upon facial-skin dermis and pigmentation. J. Korean Soc. Cosm. 15: 745-756 (2009)
- MFAFF. Food, Agriculture, Forestry and Fisheries Statistical Yearbook. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Seoul, Korea. pp. 280-317 (2009)
- Lee SM, Lim YS, Lee JK, Park SR. Effects of supplemental squid meal, attractant, herb of lecithin in the formulated diets on growth performance in juvenile abalone (*Haliotis discushamai*). J. Korean Fish Soc. 32: 290-294 (1999)
- Nam KA, You SG, Kim SM. Molecular and physical characteristics of squid (*Todarodes pacificus*) skin collagens and biological

- properties of their enzymatic hydro-lysates. *J. Food Sci.* 73: 249-255 (2008)
11. Seo SH, Jeong YJ. Quality characteristics for *doenjang* using squid internal organs. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 89-93 (2001)
 12. Kim HS, Kim JS, Heu MS. Fractionation of endoprotease from viscera of the argentine shortfin squid *Illex argentinus*. *J. Korean Fish Soc.* 41: 176-181 (2008)
 13. Choi GP, Kim SM, Shin IS. Antimicrobial activity of squid pen β -chitosan. *J Chitin Chitosan* 8: 149-155 (2003)
 14. Kim YM, Koo JG, Lee CY, Kim DS. Study on the use of sardine meal *koji* and autolysates from sardine meat in rapid processing of sardine sauce. *Bull. Korean Fish Soc.* 23: 169-177 (1990)
 15. Lee GG, Lee HD, Lee CH. Changes in sensory characteristics during salt aging of *doenjang* (fermented soybean paste) made by different starters. *Food Eng. Prog.* 7: 13-19 (2003)
 16. Oh HI, Eom SM. Changes in microflora and enzyme activities of *cheonggukjang* prepared with germinated soybeans during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 56-62 (2008)
 17. Pyeun JH, Heu MS, Cho DM, Kim HR. Proteolytic properties of cathepsin L, chymotrypsin and trypsin from the muscle and viscera of anchovy, *Engraulis japonica*. *J. Korean Fish Soc.* 28: 557-568 (1995)
 18. Pyeun JH, Lee DS, Kim DS, Heu MS. Activity screening of the proteolytic enzymes responsible for post-mortem degradation of fish tissues. *J. Korean Fish Soc.* 29: 296-308 (1996)
 19. Kim WJ, Kim SM. The chemical and microbial characteristics of northern sand lance, *Ammodytes personatus*, sauce manufactured with fermentation accelerating agents. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 447-454 (2003)
 20. Nissen JA. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J. Agr. Food Chem.* 27: 1256-1262 (1979)
 21. Chae SK. *Standard Food Analysis*. Jiju Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 637-640 (1998)
 22. AOAC. *Official Methods of Analysis*. 11th ed. Method 986.25 Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (2002)
 23. KFDA. *Food Code*. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 94-104 (2000)
 24. Ryu KY, Shim SL, Kim W, Jung MS, Hwang IM, Kim JH, Hong CH, Jung CH, Kim KS. Analysis of the seasonal change of the proximate composition and taste components in the conger eels (*Conger myriaster*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1069-1075 (2009)
 25. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200 (1958)
 26. Kim KY, Nam KA, Kurihara H, Kim SM. Potent α -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. *Phytochemistry* 69: 2820-2825 (2008)
 27. Lee WJ, Jung JK. Quality characteristics and preparation of noodles from brown rice flour and colored rice flour. *Korean J. Culinary Res.* 8: 267-278 (2002)
 28. Park JH, Kim SM. Property changes of the salt-sea-seasoned and fermented the broken roes of alaska pollock stuffed into cellulose casing. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 220-224 (2002)
 29. Kim SM, Baek OD, Lee KT. The development of squid (*Todarodes pacificus*) *sikhae* in Kangnung district: 4. The effects of red pepper and grain contents on the properties of squid *sikhae*. *Bull. Korean Fish Soc.* 27: 366-372 (1994)
 30. Cha YJ, Kim SJ, Keong EJ, Kim H, Cho WJ, Yoo MY. Studies on taste compounds in alaska pollack *sikhae* during fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 1515-1521 (2004)
 31. Oh SC, Cho JS, Nam HY. Changes of the volatile basic nitrogen and free amino acids according to the fermentation of low salt fermented squid. *Korean J. Soc. Food Sci.* 16: 173-181 (2000)
 32. Cha YJ, Park HS, Cho SY, Lee EH. Studies on the processing of low salt fermented sea foods: 4. Processing of low salt fermented anchovy. *Bull. Korean Fish Soc.* 16: 363-367 (1983)
 33. Lee WD, Chang DS, Koh BH, Lee MS, Jeong ET. Quality analysis of viscera of alaska pollack treated on vessel for raw materials of *changranjeotgal*. *J. Korean Fish. Soc.* 30: 271-276 (1997)
 34. Lee JE, Lee SY. Growth characteristics of *Bifidobacteria* and quality characteristics of soy yogurt prepared with different proteolytic enzymes and starter culture. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 603-610 (2001)
 35. Kim YA, Kang ST, Kang JG, Kang JY, Yoo UH, Oh KS. Processing and quality characteristics of low-salt fermented ascidian *Halocynthia roretzi*. *J. Korean Fish Soc.* 39: 283-291 (2006)
 36. Koo JG, Yoo JH, Park KS, Kim SY. Biochemical and microbiological changes of hard clam *sikhae* during fermentation. *Korean J. Fish Aquat. Sci.* 42: 569-573 (2009)
 37. Kim SM, Cho YJ, Lee KT. The development of squid (*Todarodes pacificus*) *sikhae* in Kangnung district: 2. The effect of fermentation temperatures and periods on chemical and microbial changes and the partial purification of protease. *Bull. Korean Fish Soc.* 27: 223-231 (1994)
 38. Oh KH, Lee KE, Kim JM, Lee SC. Characteristics of whelk internal organ *jeotgal* with the addition of bromelain. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 78-83 (2001)
 39. Son DH, Kwon OJ, Choi UK, Kwon OJ, Lee SI, Im MH, Kwon KI, Kim SH, Chung YG. Taste characteristics of *ganjang* made with barley bran. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 45: 18-24 (2002)
 40. Kim SK, Baek HC, Hyun HG, Kang OJ, Kim JB. Biochemical composition and antioxidative activity of marine microalgae. *J. Korean Fish Soc.* 34: 260-267 (2001)
 41. Nakamura K, Shikma SI, Kimoto K, Mizuno Y. Change in freshness of Japanese common squid during cold storage. *Bull. Tokai Reg. Fish Res. Lab.* 118: 45-49 (1985)
 42. Sheih IC, Wub TK, Fang TJ. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems. *Bioresource Technol.* 100: 3419-3425 (2009)
 43. Toller M. α -Glucosidase inhibitors in diabetes: Efficacy in NIDDM subjects. *Eur. J. Clin. Invest.* 24: 31-35 (1994)