J Korean Soc Food Sci Nutr
42(5), 721~729(2013)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.5.721

천연식물추출물을 첨가한 저염 오징어젓갈의 품질특성, 유통기한 및 생리활성

홍원준 · 김상무†

강릉원주대학교 해양식품공학과

Quality Characteristics, Shelf-life, and Bioactivities of the Low Salt Squid *Jeot-gal* with Natural Plant Extracts

Won Jun Hong and Sang Moo Kim†

Dept. of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangwon 210-702, Korea

Abstract

To improve the quality and functionality of the low salt squid *Jeot-gal*, extracts from three types of medicinal and edible plants (bay leaf, green tea, pine needle) were added. The quality characteristics, bioactivities, and shelf-lives of these preparations were determined at three different fermentation temperatures. The pH decreased more rapidly at higher temperatures, while the amount of volatile basic nitrogen (VBN), total viable cells, and amino nitrogen (NH_2-N) increased. The shelf-lives of *Jeot-gal* with natural plant extracts at 10°C were 34~35 days, similar to the control. The major free and compositional amino acids of *Jeot-gal* were glutamic acid, proline, and alanine, while the major nucleotides (and related compounds) were hypoxanthine and inosine. In bioactivity assays, samples supplemented with plant extracts showed higher bioactivities than the control. The DPPH radical scavenging activity of ethanol extracts from *Jeot-gal* were stronger than the water extracts; in contrast, the water extracts were stronger for hydrogen peroxide scavenging activity. However, superoxide dismutase (SOD)-like activity and β-glucuronidase inhibitory activity were moderately low at 20 mg/mL. Based on sensory evaluation results, the quality of low salt squid *Jeot-gal* with natural plant extracts is similar to the control. Therefore, low salt squid *Jeot-gal* with natural plant extracts can be commercialized as a functional fermented food.

Key words: fermented seafood, *Jeot-gal*, natural plant extracts, shelf-life, squid

서 론

젓갈은 어패류에 식염을 가하고 자가소화효소 및 미생물 작용에 의하여 숙성 및 발효시킨 염장발효식품이며(1), 단백질뿐만 아니라 탄수화물, 지방질, 유기산 및 기타 성분들이 분해되고 어울려 진한 감칠맛을 나타내므로 반찬으로 식용하기도 하지만 김치의 부원료나 조미료로도 이용되고 있으며 맛이 좋을 뿐만 아니라 아미노산 및 무기성분이 풍부하고, 소화 흡수율도 양호한 식품이다. 젓갈은 보존성을 높이기 위해 전통적으로 고농도의 식염을 사용하여 왔다(1). 최근 식생활의 변화와 고혈압 등 건강문제로 저염 젓갈을 생산하고 있으나, 식염의 농도가 낮을수록 젓갈의 유통기한이 짧아지는 문제가 대두되었다. 이에 따라 명란젓의 pH 조정(1) 및 보존제 첨가(2), 창란젓의 chitosan 및 oligochitosan 첨가(3), 송지를 이용한 젓갈류의 유통기한 연장을 위한 연구(4) 등이 보고되고 있고, 천연식물을 이용한 연구는 찾기가 힘든 실정이다. 월계수잎은 주로 향신료로 이용되며, 여러 가지 항산화 물질의 성분을 포함하고 있고(5), 솔잎은 약리적 효능이 있어 오늘날 부가가치 및 응용가치가 매우 높은 천연물로써 항산화 및 항균효과가 있는 것으로 보고되고 있으며(6), 녹차는 성인병 및 암 예방에 관계하는 항산화, 항돌연변이, 혈중 콜레스테롤 저하 등의 생리활성 기능이 뛰어난 물질로 밝혀지고 있다(7).

따라서 본 연구에서는 항균 및 항산화 활성이 있다고 알려진 천연식품 첨가물로써 월계수, 솔잎, 녹차를 저염 오징어젓갈에 첨가하여 저장 중의 이화학적 및 미생물학적 변화, 생리활성, 유통기한 등을 측정하여 기능성 저염 젓갈제품으로 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용한 시료는 (주)정이푸드빌(Sokcho, Korea)에서 제조 직후의 저염 오징어젓갈(염농도 4.3%)을 사용하였다. 월계수잎은 (주)정우당(Seoul, Korea)에서 건조잎을 구입하였고, 녹차는 (주)보성녹차마을(Gwangju, Korea)의

†Corresponding author. E-mail: smkim@gwnu.ac.kr
Phone: 82-33-640-2343, Fax: 82-33-640-2850

가루녹차를 사용하였으며, 솔잎은 2012년 5월경 강릉시 인근 야산에서 채취, 수세한 후 데친 뒤에 음건하여 사용하였다.

천연식물추출물의 제조

월계수, 녹차 및 솔잎 20 g을 80°C 증류수 400 mL에 넣은 다음 15분간 교반 후, 감압여과하여 동결건조 하였다.

기능성 저염 오징어젓갈 제조

기능성 저염 오징어젓갈의 제조는 월계수, 녹차 및 솔잎 추출물을 원료 중량당 0.1%(w/w)의 비율로 첨가하여 각각 10, 20 및 30°C에 저장하였다.

일반성분

일반성분은 AOAC의 방법(8)에 따라 분석하였다. 수분은 상압가열건조법, 회분은 직접회화법, 조단백은 Micro-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 탄수화물은 가감법으로 측정하였다.

pH

pH는 시료 10 g을 마쇄하고 증류수로 10배 희석한 후, 원심분리(10,000×*g*, 15 min)한 다음 pH meter(Istek, Seoul, Korea)로 측정하였다.

젖산

상기 방법으로 제조한 시료액에 0.1% phenolphtalein 지시약을 2~3 방울 가한 다음 pH가 8.3에 도달할 때까지 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 NaOH 소모량을 젖산 함량(%)으로 환산하였다.

아미노질소(NH_2-N)

아미노질소의 분석은 Adler-Nissen의 방법(9)을 수정하여 사용하였다. 즉 2 mL의 0.2125 M sodium phosphate buffer(pH 8.2), 0.01% trinitrobenzene sulfonic acid(TNBS) 1 mL 및 증류수로 희석한 시료 0.125 mL를 시험관에 혼합하여 50°C에서 30분간 반응 후 0.1 M Na_2SO_3 용액 2 mL를 첨가하여 반응을 종결시키고 10초간 교반한 뒤에 420 nm에서 O.D. 값을 측정하여 L-leucine을 이용한 표준곡선에서 농도를 구하였다.

휘발성염기질소(volatile base nitrogen, VBN)

휘발성 염기질소량은 Microdilution method(10)를 수정하여 측정하였다. 즉 마쇄한 시료 10 g에 7% TCA 90 mL를 가하고 30분간 방치하여 단백질을 침전시킨 후 0.45 sylinge filter(Advantec, Tokyo, Japan)로 여과하여 사용하였다. Conway unit 외실에 시료 1 mL 및 포화 K_2CO_3 1 mL, 내실에는 0.01 N H_2SO_4 용액 1 mL를 각각 넣고 37°C에서 1시간 반응 후, 내실에 Brumswisk(0.07% methyl red, 0.03% methylen blue) 지시약을 1~2 방울 첨가한 다음 0.01 N NaOH로 적정하여 휘발성 염기질소량을 구하였다. 공시험은 시료 대신 20% TCA 용액을 사용하였으며, 시료 중의 휘발성 염기질소량은 다음 식에 의하여 계산하였다.

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

V_1: 시료의 0.01 N NaOH 용액의 적정소비량
V_0: 공시험의 0.01 N NaOH 용액의 적정소비량
F: 0.01 N NaOH의 역가
D: 희석배수
S: 시료의 채취량
0.14: 0.01 N H_2SO_4 1 mL에 상당하는 휘발성 염기질소량

총균수

총균수는 standard plate count agar(Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였으며, Pour plate법으로 제작한 평판배지를 37°C에서 48시간 배양하여 나타난 집락수를 계측하였다.

최적발효기한 및 유통기한

최적발효기한 및 유통기한은 Arrhenius equation(11)을 이용하여 설정하였다. 즉 10, 20 및 30°C에서 amino-N 함량이 110 mg%가 되는 시점을 기준으로 최적발효기한을 설정하였고, pH 값이 5.1이 되는 시점을 기준으로 유통기한을 설정하였다.

구성 및 유리아미노산

젓갈의 구성아미노산 조성은 Shinha 등(12)의 방법으로 측정하였다. 시료 100 mg에 6 N HCl 20 mL를 가하여 105°C에서 24시간 분해한 후, 감압농축기(R-114, Büchi, Flawil, Switzerland)로 농축한 다음 25 mL로 정용하여 아미노산 자동분석기(L-8800, Hitachi, Tokyo, Japan)로 분석하였다. 유리아미노산은 Kim과 Kim(13)의 방법으로 측정하였다. 즉 시료 1 g에 75% ethanol 40 mL를 가하여 24시간 교반 뒤 원심분리(10,000×*g*, 15 min) 하여 상층액과 고형분을 분리하였고 이 과정을 3회 반복하였다. 3회째부터는 상층액이 무색에 가까워질 때까지 1시간 단위로 교반, 원심분리 과정을 반복하였다. 상층액을 감압농축기로 농축한 증류수 25 mL로 정용한 다음 아미노산 자동분석기로 분석하였다.

핵산 관련 물질

핵산 관련 물질은 Choi와 Kim(14)의 방법을 수정하여 측정하였다. 즉 젓갈시료 10 g에 10% perchloric acid 25 mL를 가하여 마쇄한 후 원심분리(10,000×*g*, 15 min) 하여 상층액을 분리하고, 침전물은 같은 방법으로 3회 처리하여 상층액을 합하였다. 합한 상층액은 5 N KOH 용액으로 pH 6.5로 조정 후, 원심분리 한 다음 10% perchloric acid를 이용하여 100 mL로 정용하고 0.45 μm syringe filter(ADVATEC, Tokyo, Japan)로 여과하였다. 이 여과액을 high-performance liquid chromatography(HPLC, Agilent 1100, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였으며, 칼럼은 bondapak C_{18} (39×300 mm), 이동상은 1% triethylamine/phosphate(pH 6.5), flow rate는 0.6 mL/min, O.D. 254 nm의 분석조건에서 표준물을 이용한 검정으로 시료 중의 핵산 관련 물질량을 산출하였다.

항산화활성

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거능: Wang과 Li(15)의 방법을 수정하여 측정하였다. 즉 농도별로 조정한 시료 0.05 mL와 0.15 mM DPPH 용액 0.2 mL를 혼합한 후, 실온에서 30분간 반응한 다음 microplate reader(Biotek, Winooski, VT, USA)로 515 nm에서 흡광도를 측정하였으며, DPPH radical 소거능은 다음 식에 의하여 계산하였다.

DPPH radical 소거능(%)={C－(S－SB)}/C×100

C(Control): 시료미첨가군

S(Sample): 시료첨가군

SB(Sample blank): DPPH 용액과 같은 용량의 ethanol에 시료첨가군

Hydrogen peroxide radical 소거능: Müller(16)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 0.1 M phosphate buffer(pH 5.0)에 용해한 용액 0.1 mL와 hydrogen peroxide 0.02 mL를 96 microwall plate에 첨가한 후 37°C에서 5분간 반응하였다. 그 후 1.25 mM 2,2′-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, ABTS) 0.03 mL와 peroxidase(1 unit/mL) 0.03 mL를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응한 다음 microplate reader(Biotek)로 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, hydrogen peroxide radical 소거능은 다음 식에 의하여 계산되었다.

Hydrogen peroxide radical 소거능(%)=
{C－(S－SB)}/C×100

C(Control): 시료미첨가군

S(Sample): 시료첨가군

SB(Sample blank): DPPH 용액과 같은 용량의 ethanol에 시료첨가군

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성: Superoxide dismutase 유사활성 측정은 Marklund와 Marklund(17)의 방법을 수정하여 측정하였다. 즉 각각의 시료 0.2 mL에 Tris-HCl buffer 3.0 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치한 후, 1 N HCl 1 mL로 반응을 종결시켜 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 다음 식에 의하여 계산하였다.

SOD 유사활성(%)={C－(S－SB)}/C×100

C(Control): 시료미첨가군

S(Sample): 시료첨가군

SB(Sample blank): DPPH 용액과 같은 용량의 ethanol에 시료첨가군

β-Glucuronidase 저해활성: β-Glucuronidase 저해활성은 Kim 등(18)의 방법을 수정하여 사용하였다. 즉 농도별로 조정한 시료 0.1 mL에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0) 2.2 mL와 20 U/mL β-glucuronidase 0.1 mL를 가하여 37°C에서 5분간 반응하였다. 그런 다음 10 mM pNPG 0.1 mL를 가하여 37°C에서 30분간 반응한 후, 1.0 M Na_2CO_3 1.5 mL를 가한 다음, 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. β-Glucuronidase 저해능은 다음 식에 의하여 계산하였다.

β-Glucosidase 저해활성(%)={C－(S－SB)}/C×100

C(Control): 시료미첨가군

S(Sample): 시료첨가군

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

관능검사

최적발효기한에서 제조한 오징어젓갈을 관능검사 시료로 사용하였으며, 식품학을 전공하는 대학원생 및 학부생 총 20명(20대 여성 8명 및 남성 12명)의 관능검사요원을 구성하여 맛, 냄새, 색 및 전체적 기호도의 4가지 항목에 한하여 5단계 평판법(5점, 매우 좋다; 4점, 좋다; 3점, 보통이다; 2점, 나쁘다; 1점, 매우 나쁘다)으로 측정하였다(19).

통계분석

실험결과에 대한 통계적 유의적 분석은 Statistical Packages for Social Science(ver. 10.0, SPSS, Chicago, IL, USA)를 이용하여 Duncan's Multiple range test로 유의수준 5% 이내($p<0.05$)로 각각 평균값에 대한 유의적 차이를 조사하였다. 실험 결과는 실험치의 평균값과 표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

일반성분, 최적발효기한 및 유통기한 설정

본 연구에 제조한 기능성 저염 오징어젓갈의 일반성분, 유통기한 및 최적발효기한은 Table 1과 같다. 대조구 오징어젓갈의 수분함량, 조단백질, 조지방, 회분 및 탄수화물의 함

Table 1. Proximate composition, the shelf-life and optimum fermentation period of squid *Jeot-gal*

Jeot-gal	Proximate composition (%)[1]					Shelf-life (days)			Optimum fermentation period (days)		
	Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Carbohydrate	10°C	20°C	30°C	10°C	20°C	30°C
Control[2]	71.1±0.4	18.3±0.3	1.4±0.0	4.8±0.0	4.1±0.0	–	–	–	–	–	–
Control[3]	69.7±0.6	17.7±0.4	1.5±0.0	6.2±0.8	4.9±0.0	34	12	4	28	10	4
Bay leaf[3]	68.4±1.3	17.5±0.4	1.6±0.1	6.9±0.7	5.7±0.1	35	12	5	29	10	4
Green tea[3]	67.7±0.8	17.7±0.6	1.6±0.1	6.5±0.3	6.5±0.0	34	12	4	30	10	4
Pine needle[3]	67.5±0.6	17.6±0.5	1.6±0.1	6.5±0.5	6.8±0.2	34	11	4	29	10	4

[1]Determined on [2]0 day and [3]40 days of fermentation in proximate composition.

량은 각각 71.1±0.4, 18.3±0.3, 1.4±0.0, 4.8±0.0 및 4.1±0.0%이었다. 저장 6주 이후 대조구, 월계수, 녹차 및 솔잎첨가군의 수분함량은 각각 69.7±0.6, 68.4±1.3, 67.7±0.8 및 67.5±0.6%로 감소하였고, 조단백질, 조지방 및 회분의 함량은 17.5±0.4~17.7±0.6, 1.5±0.0~1.6±0.1 및 6.2±0.8~6.9±0.7%로 모든 시료에서 큰 변화가 없었으며, 대조구에 비해 추출물 첨가군은 탄수화물의 함량이 높았는데, 이는 각 처리구 시료들의 영향으로 간주된다. Park 등(20)은 저염 젓갈 및 식해의 숙성 중 일반성분 함량이 큰 변화가 없다고 보고하였는데, 이는 본 연구와 유사하였다. 일반성분 결과를 종합하면 본 연구에서 제조한 기능성 저염 오징어젓갈은 저장기간 동안 탄수화물을 제외한 일반성분 함량의 변화는 큰 차이가 없었다. 유통기한은 관능검사 결과 신맛과 불쾌취가 감지되었던 pH 5.1을 기준으로, 최적발효기한은 신맛과 불쾌취가 감지되기 이전의 아미노질소량 110 mg%를 기준으로 Arrhenius equation(11)을 이용하여 유통기한과 유통기한의 범위 내에서 젓갈의 최적숙성을 위하여 최적발효기한을 산출하였다. 대조구의 유통기한은 10, 20 및 30°C에서 34, 12 및 4일이었고, 월계수첨가군은 35, 12 및 5일, 녹차첨가군은 34, 12 및 4일, 솔잎첨가군은 34, 11 및 4일이었다. 대조구와 첨가군 사이의 유통기한은 유의적인 차이가 없었으며, 월계수첨가군은 10 및 30°C에서 유통기한이 1일 연장되었고, 솔잎첨가군의 경우 대조구에 비해 20°C에서 1일 감소되었다. 최적발효기한은 대조구는 10, 20 및 30°C에서 각각 28, 10 및 4일이었고, 월계수첨가군은 29, 10 및 5일, 녹차첨가군은 30, 10 및 4일, 솔잎첨가군은 29, 10 및 4일이었다.

pH 및 젖산함량의 변화

저장온도 및 기간에 따른 pH 및 젖산함량의 변화는 각각 Fig. 1과 같다. 일반적인 수산발효식품은 pH 5 이하가 되면 악취와 더불어 풍미에 악영향을 미치며 유기산을 생성하여 상품성이 없기 때문에, pH는 수산발효식품의 품질특성에 중요한 영향을 미치는 인자이다(21). 대조구 및 첨가군의 pH는 저장기간 동안 4.96~5.86의 범위였고 온도가 높을수록 급격히 감소하였으며, 산도는 증가하였다. 저장초기에는 각각의 첨가군이 대조구에 비해 높은 pH와 낮은 산도를 나타내었으나 저장말기에는 20 및 30°C에서 대조구에 비해 다소 pH가 낮아졌고 산도는 높았는데, 이는 추출물 첨가에 의한 발효촉진 및 각 첨가군 시료들이 나타내는 영양성분 때문으로 간주되며 추가 연구가 필요하다고 판단된다. Kim 등(22)은 명태식해 연구에서 숙성 후 온도가 높을수록 pH는 감소하고 산도는 증가한다고 하였는데, 이는 본 연구의 결과와 일치하였다. 이에 따라 고온발효 및 유통은 젓갈의 품질을 급속히 저하시키기 때문에 10°C 이하의 저온발효 및 유통이 바람직하다고 판단된다.

아미노질소 및 휘발성염기질소의 변화

저장온도 및 기간에 따른 아미노질소 및 휘발성염기질소의 변화는 Fig. 2와 같다. 아미노질소는 젓갈숙성도의 지표로 사용될 뿐만 아니라 향미와 깊은 관련이 있기 때문에 중요한 품질 지표로 인식되고 있다(23). 본 연구에서 기능성 저염 오징어젓갈의 아미노질소량은 저장기간 동안 75~162 mg/100 g의 범위로 변화하였고 저장온도가 높을수록 급격히 증가하였으며, 첨가군은 대조구에 비해 저장초기 아미노질소의 생성량이 다소 낮았으나 말기엔 거의 비슷하였다. Oh 등(23)은 저장온도가 높을수록 아미노질소량의 증가속도는 빠르다고 하였으며, Kim과 Kim(3)은 chitosan 및 oligochitosan을 첨가한 창란젓의 숙성 중 성분변화에 관한 연구에서 숙성 2주까지는 시료간에 뚜렷한 차이는 나타나지 않았으나 그 이후로 첨가군은 대조구에 비해 낮은 증가율을

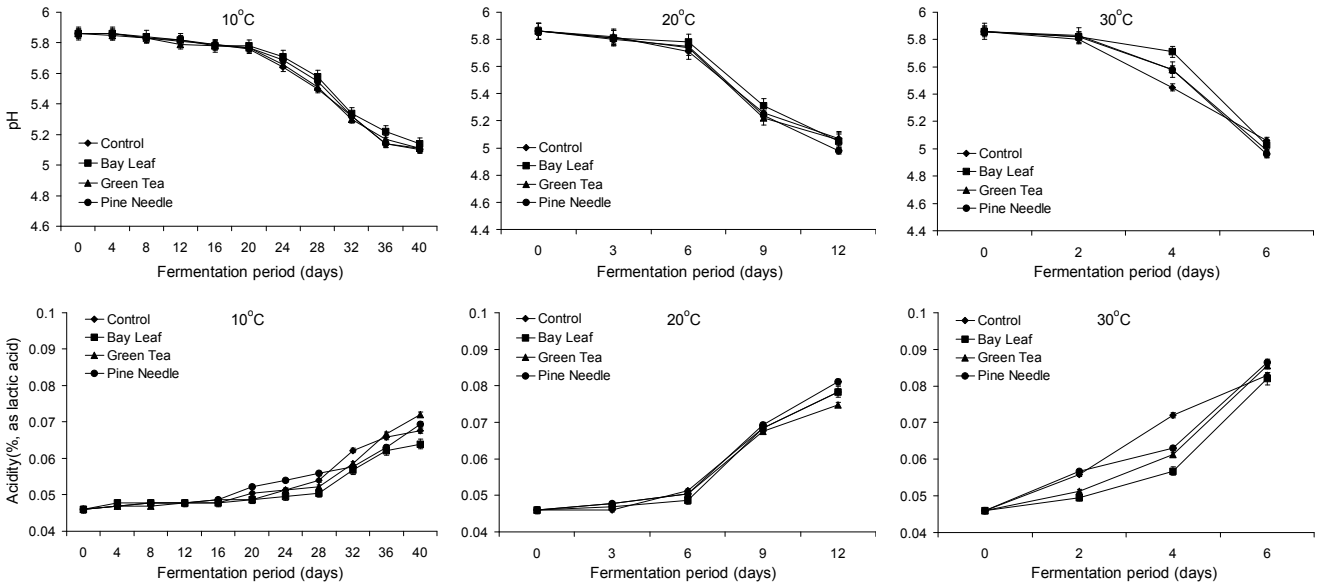

Fig. 1. Changes in pH and acidity of squid *Jeot-gal* at different fermentation temperatures and periods.

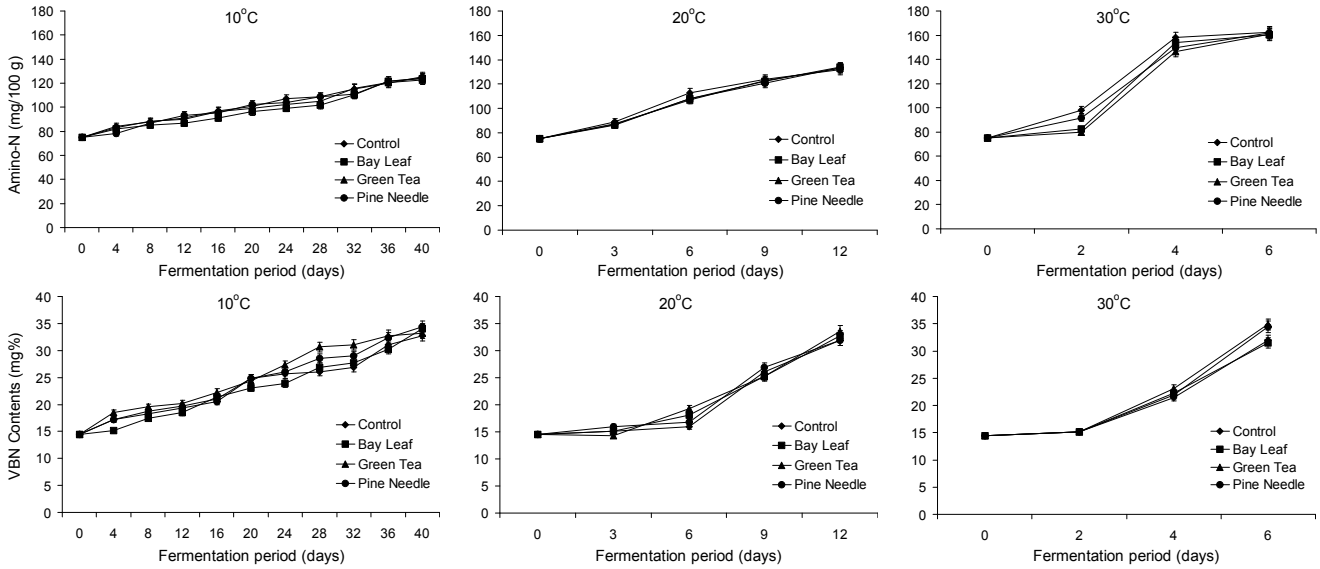

Fig. 2. Changes in amino-N and VBN content of squid *Jeot-gal* at different fermentation temperatures and periods.

나타내었고 뚜렷한 차이도 없다고 하였는데 이는 본 연구와 유사하였으며, 최적발효기한 설정의 경우 아미노질소 함량이 높다 하더라도 pH와 젖산에 의한 풍미저하가 일어나기 때문에 관능검사를 병행하여 설정하는 것이 바람직하다고 판단된다. 휘발성염기질소(VBN)는 일반적으로 식품단백질의 선도판정법으로 사용되며 수산발효식품의 품질특성에 간접적으로 영향을 미치는 지표이다(21). 본 연구에서 기능성 저염 오징어젓갈의 휘발성염기질소는 저장기간 동안 15~35 mg%의 범위로 변화하였고, 저장온도가 높을수록 휘발성염기질소의 함량이 급격히 증가하였으며, 대조구와 첨가군 사이에 뚜렷한 차이는 없었다. Kim 등(24)은 저염 오징어젓갈 숙성연구에서 VBN 양의 변화는 저장온도에 따라 차이가 분명하였으며 전반적으로 저장온도가 높을수록 증가하였다고 하였는데, 이는 본 연구와 일치하였다. 따라서 저염 오징어젓갈의 휘발성염기질소의 억제는 저온저장 및 유통이 바람직하다고 판단된다.

총균수

저장온도 및 기간에 따른 총균수의 변화는 Fig. 3과 같다. 총균수는 첨가군에 상관없이 저장온도가 높을수록 급격히 증가하였고, 저장초기엔 대조구에 비하여 첨가군이 미생물수가 다소 낮거나 비슷하게 유지되었으나 말기엔 대조구 및 첨가군의 미생물수는 뚜렷한 차이는 없었다. Choi 등(25)은 chitosan 및 oligochitosan 첨가에 의한 창란젓의 숙성 중 미생물상 변화 연구에서 첨가군은 숙성 중 미생물의 성장이 억제되었으나 뚜렷한 차이는 없었다고 하였는데 이는 본 연구 결과와 유사하였으며, 저염 오징어젓갈의 천연식물추출물 첨가에 따른 균 억제는 저장초기에는 효과가 있으나, 저장기간이 길어질수록 천연식물추출물의 항균효과가 서서히 감소되므로 말기엔 대조구와 미생물수가 비슷해지는 것으로 판단된다.

구성 및 유리아미노산

구성 및 유리아미노산의 조성은 Table 2와 같다. 대조구의 구성아미노산은 glutamic acid(20.2%), aspartic acid (9.9%), leucine(7.9%), arginine(7.5%), lysine(7.4%) 순으로 많았고, 월계수첨가군은 glutamic acid(20.9%), aspartic acid(9.3%), arginine(8.5%), glycine(7.3%), leucine(7.0%) 순으로 많았으며, 녹차첨가군은 glutamic acid(20.9%), aspartic acid(9.0%), lysine(7.8%), leucine(7.7%), arginine (7.5%), 솔잎첨가군은 glutamic acid(19.2%), aspartic acid (9.5%), leucine(7.8%), lysine(7.7%), arginine(7.7%) 순으로

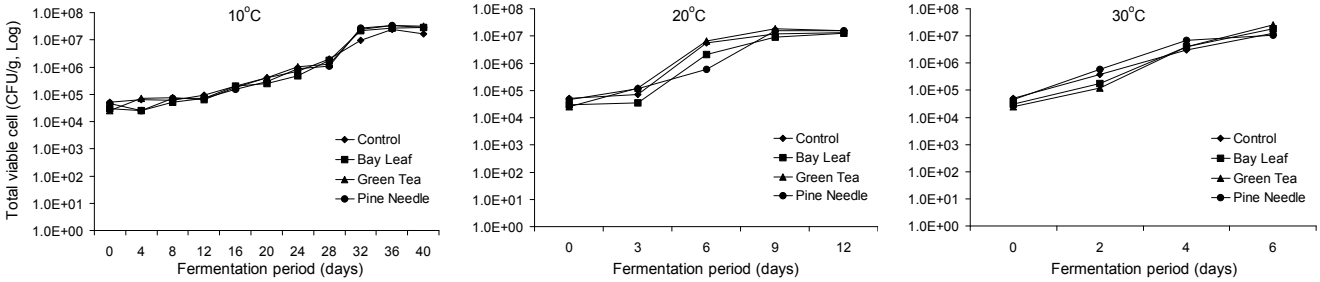

Fig. 3. Changes in total viable cell count of squid *Jeot-gal* at different fermentation temperatures and periods.

Table 2. The compositional and free amino acids of low salt squid *Jeot-gal*

Amino acid content (%)	Control		Bay leaf		Green tea		Pine needle	
	Compositional	Free	Compositional	Free	Compositional	Free	Compositional	Free
Ser	5.2	2.1	5.7	1.6	5.5	2.0	5.4	2.0
Gly	5.2	1.9	7.3	1.9	5	1.8	5.1	1.8
Ala	5.8	5.8	6.3	5.9	6.3	5.7	7.4	5.8
Pro	5.3	7.9	6.8	8.2	5.2	8.0	5.1	8.0
Asp	9.9	3.5	9.3	3.5	9.0	3.6	9.5	3.6
Glu	20.2	50.1	20.9	51.2	20.9	50.9	19.2	50.9
Lys	7.4	3.4	5.8	3.4	7.8	3.4	7.7	3.4
Val	4.2	1.3	3.8	1.0	4.1	1.0	4.1	1.0
Met	1.5	2.4	0.9	2.1	0.9	2.0	1.2	2.1
Leu	7.9	4.5	7.0	3.9	7.7	3.9	7.8	4.0
Phe	4.2	3.7	3.3	2.5	4.2	2.5	4.1	2.5
His	2.1	1.2	1.9	1.3	2.3	1.2	2.2	1.3
Thr	5.1	1.6	5.5	1.7	5.7	1.7	5.4	1.7
Cys	1.2	2.7	1.1	2.5	1.3	2.5	1.2	2.6
Ile	4.5	2.5	3.9	2.0	4.3	2.0	4.3	2.0
Tyr	2.8	0.0	2.2	1.6	2.5	1.6	2.6	1.6
Arg	7.5	5.6	8.5	5.8	7.5	6.0	7.7	5.8
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Table 3. Nucleotides and their related compounds of low salt squid *Jeot-gal* (mM/g)

Nucleotides and their related compounds[1)]	Control	Bay leaf	Green tea	Pine needle
IMP	0.24±0.06	0.28±0.14	1.68±0.00	2.26±0.07
Inosine	7.92±0.18	8.09±0.07	8.06±0.55	7.80±0.78
Hypoxanthine	8.11±0.20	8.31±0.08	8.28±0.59	7.99±0.86

[1)]ATP, ADP and AMP were not detected.

각각 아미노산 전체의 52.9, 53.0, 52.9 및 51.9%를 구성하였다. 유리아미노산은 젓갈의 향미에 중요한 영향을 미치는 단백질의 분해산물로써 중요한 품질지표로 활용되고 있으며(22), 유리아미노산의 조성은 다음과 같다. 대조구는 glutamic acid(50.1%), proline(7.9%), alanine(5.8%), arginine (5.6%), leucine(4.5%) 순으로 많았고, 월계수첨가군은 glutamic acid(51.2%), proline(8.2%), alanine(5.9%), arginine (5.8%), leucine(3.9%), 녹차첨가군은 glutamic acid(50.9%), proline(8.0%), arginine(6.0%), alanine(5.7%), leucine(3.9%), 솔잎첨가군은 glutamic acid(50.9%), proline(8.0%), arginine(5.8%), alanine(5.8%), leucine(4.0%) 순으로 각각 아미노산 전체의 73.9, 75.0, 74.6 및 74.4%를 구성하였다. 맛과 아미노산 조성을 살펴보면 단맛을 내는 glycine, alanine, serine, proline의 함량은 대조구, 월계수, 녹차 및 솔잎첨가군 순으로 17.6, 17.6, 17.6 및 17.7%이었고, 감칠맛과 신맛, 짠맛을 내는 glutamic acid, aspartic acid, lysine 함량은 각각 56.9, 58.1, 58.0 및 57.9%이었으며, 쓴맛과 관련이 있는 valine, methionine, leucine, phenylalanine, arginine 및 histidine 등의 소수성 아미노산의 함량은 각각 16.4, 15.3, 15.4 및 15.4%로 시료간의 큰 차이는 없었다. 일반적으로 단백질의 효소가수분해 과정에서 발생되는 쓴맛은 소수성 아미노산의 함량과 깊은 관계가 있는데(26), 본 연구에서는 소수성 아미노산의 함량은 감칠맛과 단맛을 내는 아미노산에 비해 상대적으로 함량이 적기 때문에, 기능성 저염 오징어젓갈은 맛에서 우수하다고 판단된다.

핵산 관련 물질

최적발효기한에서 제조한 기능성 저염 오징어젓갈의 핵산 관련 물질 함량은 Table 3과 같다. 핵산 관련 물질 중 IMP는 강한 정미력을 가지고 있고 비교적 열에 안정하며, AMP는 거의 감칠맛을 나타내지 않으나 glutamic acid와 공존 시 상승효과를 나타낸다(27). 대조구 및 첨가군에서 ATP, ADP, AMP는 검출되지 않았고 IMP, inosine, hypoxanthine만 검출되었으며, 함량은 대조구 0.24±0.06, 7.92±0.18, 8.11±0.20 mM/g, 월계수첨가군 0.28±0.14, 8.09±0.07, 8.31±0.08 mM/g, 녹차첨가군 1.68±0.00, 8.06±0.55, 8.28±0.59 mM/g, 솔잎첨가군 2.26±0.07, 7.80±0.78, 7.99±0.86 mM/g으로 hypoxanthine 및 inosine이 주성분이었는데, 오징어는 핵산 관련 물질 중 ATP에서 inosine까지는 분해속도가 아주 빠르고 inosine 및 hypoxanthine이 대부분을 차지하는 어종이기 때문이다(14). Hypoxanthine의 경우 냉장하여 품질이 저하한 어류의 쓴맛 성분이라고 알려져 있으나, hypoxanthine 자체의 쓴맛은 그리 강하지 않다고 알려져 있다(28). 따라서 최적발효기한에서 제조한 기능성 저염 오징어젓갈은 유리 아미노산 등의 기타 정미성분들의 상쇄작용으로 인해 hypoxanthine의 역할은 크지 않을 것이라 생각된다.

항산화활성

젓갈 추출물의 DPPH radical 소거능은 Table 4와 같다.

Table 4. Antioxidant activities of the water and ethanol extract from the squid *Jeot-gal*

Jeot-gal	Inhibitory activities (%)[1]					
	DPPH radical		Hydrogen peroxide radical		Superoxide anion radical	
	Ethanol extract	Water extract	Ethanol extract	Water extract	Ethanol extract	Water extract
Control	89.90±0.43^{cd}	78.56±0.62^{d}	26.84±1.35^{d}	71.02±0.32^{bcd}	7.90±0.82^{d}	18.75±0.10^{c}
Bay leaf	90.57±0.66^{c}	82.56±0.14^{c}	44.20±0.77^{a}	80.44±4.97^{a}	12.24±0.24^{a}	31.60±0.07^{a}
Green tea	92.70±0.38^{a}	88.24±0.27^{a}	43.30±1.29^{ab}	71.47±0.44^{bc}	8.98±0.72^{b}	16.70±0.50^{d}
Pine needle	91.45±0.21^{b}	85.43±0.16^{b}	36.95±1.00^{c}	73.16±3.17^{ab}	8.95±0.08^{bc}	19.82±0.65^{b}
α-Tocopherol[2]	19.67±0.20		85.83±0.25		445.34±0.54	

[1]At 20 mg/mL. [2]Positive control was expressed as IC_{50} value (μg/mL).
[a-d]The mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($p<0.05$).

DPPH는 짙은 자색을 띄는 비교적 안정한 free radical로써 항산화 물질과 반응하면 환원되어 노란색으로 탈색되어 쉽게 측정이 가능하여 기본적인 항산화활성 측정방법으로 쓰이고 있다. 젓갈 추출물의 DPPH radical 소거능의 저해율은 대조구, 월계수, 녹차 및 솔잎첨가군의 에탄올추출물이 각각 89.90±0.43, 90.57±0.66, 92.70±0.38 및 91.45±0.21 mg/mL의 범위였고, 냉수추출물은 78.56±0.62, 82.56±0.14, 88.24±0.27 및 85.43±0.16 mg/mL로 에탄올추출물이 냉수추출물에 비해 활성이 좋았으며, 녹차첨가군은 대조구와 비교하였을 때 유의적으로 활성이 높았지만 양성대조구인 α-tocopherol보다 활성이 낮았다. Kim 등(29)은 솔잎 및 녹차추출물의 항산화성 및 아질산염 소거작용 연구에서 에탄올추출물이 냉수추출물보다 활성이 높다고 하였는데 이는 본 연구와 일치하였으며, 대조구에 비해 첨가군이 활성이 높은 것은 오징어육의 저분자 peptide 및 소수성 아미노산 외에 천연식물추출물의 폴리페놀 및 플라보노이드 화합물의 활성으로 간주된다.

Hydrogen peroxide radical 소거능 및 superoxide dismutase(SOD) 유사활성은 Table 4와 같다. Hydrogen peroxide radical은 그 자체는 독성이 강하지 않지만 산화되어 강한 활성산소인 hydroxyl radical을 생성하며, superoxide dismutase(SOD)는 활성산소 중 가장 강한 superoxide anion radical을 산소와 과산화수소로 전환시키는 작용을 한다. 20 mg/mL 농도에서 hydrogen peroxide 소거능과 SOD 유사활성능을 비교하면 에탄올추출물은 26.84±1.35~44.20±0.77%, 7.9±0.82~12.24±0.24%의 범위였고, 냉수추출물은 71.02±0.32~80.44±4.97%, 16.7±0.5~31.60±0.07%로 냉수추출물이 에탄올추출물보다 활성이 높았다. 추출물첨가군은 대조구에 비하여 활성이 높았고 hydrogen peroxide에서 월계수첨가군은 대조구에 비해 활성이 높았으며, SOD 유사활성능에서 솔잎첨가군은 대조구에 비해 활성이 높았으나 양성대조구에 비해 활성이 낮았다. 결과를 종합해보면, 천연식물추출물을 첨가한 기능성 저염 오징어젓갈 용매추출물의 DPPH radical 소거능은 녹차첨가군에서, hydrogen peroxide radical 소거능은 냉수추출물에서 기능성 소재로서 활용 가능성이 있다고 판단되며, 이에 대한 보충연구가 필요하다고 판단된다.

Table 5. β-Glucuronidase inhibitory activity of the water and ethanol extract from the squid *Jeot-gal*

Jeot-gal	Inhibitory activities (%)[1]	
	Ethanol extract	Water extract
Control	14.57±0.65^{cd}	18.30±0.97^{d}
Bay leaf	16.06±1.07^{bc}	28.90±3.02^{a}
Green tea	16.18±0.27^{b}	20.97±0.29^{c}
Pine needle	17.90±0.43^{a}	25.93±1.42^{ab}

[1]At 20 mg/mL.
[a-d]The mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($p<0.05$).

β-Glucuronidase 저해활성

젓갈 추출물의 β-glucuronidase 저해활성은 Table 5와 같다. β-Glucuronidase는 간에서 생성되는 유독성 물질이 glucuronic acid conjugate 등으로 무독화 될 때 장에서 이 무독성 물질을 분해하여 발암원을 재생성하여 대장암을 일으키므로 항대장암 활성의 지표로 사용이 된다(19). 20 mg/mL의 농도에서 냉수추출물은 18.30±0.97~28.90±3.02%, 에탄올추출물은 14.57±0.65~17.90±0.43%의 범위로 냉수추출물이 에탄올추출물보다, 첨가군이 대조구에 비하여 활성이 높았지만 IC_{50}값이 계산되지 않았으므로 항대장암 관련 기능성 소재로의 활용에 대한 보충연구가 필요하다고 판단된다.

관능검사

최적발효기한에서 제조한 기능성 저염 오징어젓갈의 관능검사 결과는 Table 6과 같다. 천연식물추출물 첨가 기능성 저염 오징어젓갈의 제품화 가능성을 검토하기 위하여 미첨가 저염 오징어젓갈과 월계수, 녹차, 솔잎추출물을 넣은 젓갈의 맛, 향, 색 및 전체적인 기호도를 비교하였다. 관능검사 결과 대조구의 맛, 향 및 색은 각각 4.0±0.8, 3.9±0.7 및 4.0±1.1이었고 월계수첨가군은 4.1±0.8, 4.0±0.7 및 3.8±0.8,

Table 6. Sensory evaluation of squid *Jeot-gal* with natural plant extracts

Jeot-gal	Taste	Odor	Color	Overall
Control	4.0±0.8^{NS}	3.9±0.7^{NS}	4.0±1.1^{NS}	3.9±0.9^{NS}
Bay leaf	4.1±0.8	4.0±0.7	3.8±0.8	4.0±0.7
Green tea	4.0±0.8	3.8±0.7	3.7±0.9	3.8±0.8
Pine needle	3.9±0.7	3.9±0.6	3.6±0.8	3.8±0.7

NS: not significant.

녹차첨가군은 4.0±0.8, 3.8±0.7 및 3.7±0.9이었으며, 솔잎첨가군은 3.9±0.7, 3.9±0.6 및 3.6±0.8로 월계수첨가군이 맛, 향에서 가장 우수한 평가를 받았고, 색은 대조구가 가장 우수하였다. 전체적인 기호도는 대조구, 월계수, 녹차 및 솔잎첨가군이 각각 3.9±0.9, 4.0±0.7, 3.8±0.8 및 3.8±0.7이었으며, 본 연구에서 제조한 기능성 저염 오징어젓갈은 추출물 특유의 색으로 인해 오징어의 육색이 다소 어두워짐에 따라 추출물 첨가량을 0.1%(w/w)로 조정하여 첨가하였기 때문에 전체적인 평가에서 대조구와 첨가군 사이의 큰 차이는 없었지만, 최근 소비자들은 광범위하게 웰빙 등 시대의 변화에 맞춰 고급화된 식품을 선호하므로 본 연구는 천연식물추출물 첨가 기능성 저염 오징어젓갈의 고급화 및 부가가치 창출이 가능하다고 생각된다.

요 약

본 연구는 염농도의 저하에 따른 저염 오징어젓갈의 유통기한 감소에 대하여 유통기한의 연장과 기능성 제품화의 가능성을 검토하기 위하여 천연식물추출물 첨가에 따른 저장기간별 품질특성, 최적발효기한, 유통기한 설정 및 생리활성을 연구하였으며, 그 결과는 다음과 같다. 첨가군 모두 저장온도가 증가할수록 pH는 급격히 감소하였고, 아미노질소, 휘발성염기질소의 함량은 급격히 증가하였으며, 총균수 역시 증가하였다. 유통기한 및 최적발효기한은 Arrhenius equation의 결과에 따라 10℃에서 대조구 34 및 28일, 월계수첨가 35 및 29일, 녹차첨가 34 및 30일, 솔잎첨가 34 및 29일 저장한 것이었다. 구성 및 유리아미노산은 첨가군 모두가 glutamic acid, glycine, alanine 등의 감칠맛, 단맛을 내는 아미노산의 함량이 대부분을 차지하여 맛에서 우수하다고 판단되었고, 핵산관련물질은 첨가군 모두 쓴맛을 나타내는 hypoxanthine이 대부분을 차지하였으며, 그 뒤 inosine 및 정미성분인 IMP 순이었다. 관능검사결과 월계수첨가군이 종합적으로 가장 뛰어났다. 생리활성은 첨가군이 대조구에 비해 활성이 높았으며, 기능성 제품으로서의 상업화가 가능하다고 판단된다. 그러므로 천연식물추출물을 첨가한 저염 오징어젓갈은 웰빙 등 시대의 변화에 맞추어 현대인의 식기호에 적합한 식품으로 이용 가능하며, 젓갈의 고급화 및 부가가치 창출이 가능하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구논문은 중소기업 지원청(기업부설사업 2-2004-033308-9)의 지원에 의해 수행되었으며, 시료를 제공해준 (주)정이푸드빌(속초)에게 감사를 드립니다.

문 헌

1. Kim SM, Lee GT. 1991. The shelf-life extension of low-salted Myungran-jeot. 1. The effects of pH control on the shelf-life of low-salted Myungran-jeot. *J Korean Fish Soc* 30: 459-465.
2. Kim SM, Lee GT. 1997. The shelf-life extension of low-salted *Myungran-jeot*. 2. The effects of commercial preservatives on the shelf-life of low-salted *Myungran-jeot*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 456-461.
3. Kim WJ, Kim SM. 2000. Property changes of salted-fermented alaska pollack tripe during fermentation. *J Chitin Chitosan* 5: 25-28.
4. Cho HR, Park UY, Chang DS. 2002. Studies on the shelf-life extension of *jeotkal*, salted and fermented seafood. *Korean J Food Sci Technol* 34: 652-660.
5. Lee OH, Lee HB, Lee JS, Son JY, Rhee SK, Kim HD, Kim YC, Lee BY. 2005. Chemical properties of olive and bay leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 503-508.
6. Sung KC. 2004. Characteristics and analysis of natural pine-needles extract. *J Korean Oil Chemists' Soc* 21: 320-326.
7. Nha YA, Park JN. 2003. Effect of dried powders of pine needle, pine pollen, green tea and horseradish on preservation of Kimchi-yangnyum. *Korean J Culinary Res* 9: 179-190.
8. AOAC. 2002. *Official methods of analysis*. 11th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 17.
9. Adler-Nissen J. 1979. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzene-sulfonic acid. *J Agric Food Chem* 27: 1256-1262.
10. Chae SK. 1998. *Standard food analysis*. Jiju Publishing Co, Seoul, Korea. p 637-640.
11. Taoukis PS, Koutsoumanis K, Nychas GJ. 1999. Use of time-temperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions. *Int J Food Microbiol* 53: 21-31.
12. Sinha R, Radha C, Prakash J, Kaul P. 2007. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chem* 101: 1484-1491.
13. Kim WJ, Kim SM. 2003. The chemical and microbial characteristics of northern sand lance, *ammodytes personatus*, sauce manufactured with fermentation acceleration agents. *Korean J Food Sci Technol* 35: 447-454.
14. Choi SH, Kim SM. 2001. Quality properties of fermented squid seasoning manufactured with fermentation accelerator. *Korean J Food Sci Technol* 43: 334-340.
15. Wang KJ, Li N. 2008. Norlignan derivatives from *Curculigo crassifolia* and their DPPH radical scavenging activity. *Arch Pharm Res* 31: 1313-1316.
16. Müller HE. 1985. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS peroxidase medium. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A* 259: 151-154.
17. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
18. Kim KY, Choi KS, Kurihara H, Kim SM. 2008. β-Glucuronidase inhibitory activity of bromophenols purified from *Grateloupia elliptica*. *Food Sci Biotechnol* 17: 1110-1114.
19. Lee GK, Kim SM. 2012. Quality changes in low-salted squid *Jeot-gal* during fermentation and determination of shelf-life. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 687-694.
20. Park SM, Park CK, Lee KT, Kim SM. 1998. Changes in taste compound of low salt fermented pollack tripe during controlled freezing point aging. *Korean J Food Sci Technol*

30: 49-53.
21. Cho WI, Kim SM. 2012. The biofunctional activities and shelf-life of low-salt squid *sikhae*. *Korean J Food Sci Technol* 44: 61-68.
22. Kim SM, Kim HY, Choi SH. 2000. Quality characteristics of *Myung-Tae* (*Alaska pollack*) *Sikhae* during fermentation. *Food Sci Biotechnol* 9: 5-9.
23. Oh SC, Cho JS, Nam HY. 2000. 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.
24. Kim DS, Kim YM, Koo JG, Lee YC, Do JR. 1993. A study on shelf-life of seasoned and fermented squid. *Bull Korean Fish Soc* 26: 13-20.
25. Choi KP, Kim WJ, Kim SM. 2000. Microflora changes of salt-fermented alaska pollack tripe with chitosan and oligochitosan. *J Chitin Chitosan* 5: 70-73.
26. Choi SH, Kim SM. 2011. Quality properties of fermented squid viscera product with *Aspergillus oryzae* koji and its seasoning. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 94-101.
27. Kim SK, Baek HC, Byun HG, Kang OJ, Kim JB. 2001. Biochemical composition and antioxidative activity of marine microalgae. *J Korean Fish Soc* 34: 260-267.
28. Cha YJ, Kim SJ, Jeong EJ, Kim H, Cho WJ, Yoo MY. 2004. Studies on taste compounds in Alaska pollack *sikhae* during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1515-1521.
29. Kim SM, Cho YS, Sung SK, Lee IG, Lee SH, Kim DG. 2002. Antioxidative and nitrite scavenging activity of pine needle and green tea extracts. *Korean J Food Sci Ani Resour* 22: 13-19.

(2013년 1월 23일 접수; 2013년 2월 27일 채택)