KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 46, No. 6, pp. 689~693 (2014)
http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2014.46.6.689

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

천연 항균 추출물의 첨가가 가자미 식해의 품질 및 저장성에 미치는 영향

한호준 · 김덕기 · 한대원[1] · 조순영*
강릉원주대학교 식품가공유통학과, [1]강릉원주대학교 동해안해양생물자원연구센터

Effect of Natural Antimicrobial Extracts on Shelf-life Extension and Quality Improvement of the Flounder *Sikhe*

Ho Jun Han, Deog Gi Kim, Dae Won Han[1], and Soon Yeong Cho*
Department of Food Processing and Distribution, Gangneung-Wonju National University
[1]*East Coastal Marine Bioresources Research Center, Gangneung-Wonju National University*

Abstract Flounder *sikhe* is one of the traditional Korean fermented foods. Because honey, fucoidan, propolis, aronia berry, and horseradish are well known to have natural antimicrobial properties, we investigated their antimicrobial effects on improving the quality of flounder *sikhe*. Ethanol extracts of propolis inhibited the growth of *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus,* and *Listeria monocytogenes.* The extracts of aronia berry showed similar effects against *Salmonella* Typhimurium. We also assessed the total polyphenol and total flavonoid content and 2,2-diphenyl-2-picrythydrazyl (DPPH) radical scavenging activity in the extracts obtained from these natural materials. The contents of polyphenols and flavonoids were the highest in propolis, which also showed a high DPPH radical scavenging activity. Therefore, addition of propolis 0.5% to flounder *sikhe* showed optimal improvement, with a storage stability of 15 days at pH 5.39, volatile basic nitrogen (VBN) content at 24.73 mg/100 g, and total bacterial count at 1.81×10 colony forming unit (CFU)/g.

Keywords: antimicrobial activity, antimicrobial extract, flounder *sikhe*, fermentation condition, quality improvement

서 론

식해는 어육 등의 주 원료에 통상적으로 7-10% 내외의 소금을 가하여 익힌 곡류와 고춧가루, 채소 등 각종 조미 부재료를 혼합하여 숙성시킴으로서 젖산균을 비롯한 미생물과 생성된 유기산에 의한 부패방지는 물론 식용에 적합한 풍미와 조직감이 생성되는 전통 수산발효식품이다(1). 또한 식해는 가열살균 처리를 하지 않은 생원료육에 소금만을 침장원으로 이용하여 숙성발효시킨 것으로 원료육에 존재하는 단백질 분해능력이 있는 자가소화 효소와 호염성 미생물의 단백질 분해효소 작용에 의해 육성분이 분해되는 과정에서 원료육의 비린내 등 불쾌취가 소멸하고 바람직한 풍미성분이 생성되며 육질은 식용에 적합한 상태로 연화 분화되게 된다(2). 어패육이 염지 및 숙성 중에 적당히 분해되는 동시에 발효된 부원료 성분이 여기에 침투하여 독특한 풍미를 가진다. 김치와 발효원리가 같고 첨가되는 부재료가 유사하여 김치에서와 유사한 생리 기능적 특성(고춧가루에 의한 항돌연변이 효과와 유산균, 식이섬유소 및 마늘에 의한 항암효과)이 기대되는 전통발효식품으로서 우리의 입맛에 잘 맞을 뿐만 아니라 영양학적 측면이나, 시장성 측면에서도 장점이 많다. 그러나 식해는 경험적인 제조방법에 의존하기 때문에 생산된 제품 품질의 재현성이 낮고 지나치게 염도가 높으며 비위생적 생산 유통으로 인해 유통 중 품질 안정화를 기대하기 어렵다(3).

최근 소비자의 건강 지향적 성향과 함께 천연물에 대한 요구가 높아지고 있고 합성보존료가 첨가된 식품의 사용을 꺼리고 있으며 이와 같은 경향으로 인하여 식품산업계에서도 인공합성보존제의 사용을 될 수 있는 한 제한하려는 추세이다. 이런한 문제를 보안하기 위하여 합성보존료가 아닌 천연 보존료로 대체 가능한 천연 식자재를 찾고자 하였다. 현재 알려진 천연 식자재 중 프로폴리스는 160가지 이상의 화학성분을 함유하며 다양한 천연 자원으로부터 벌에 의해 벌집에서 얻어지는 천연 수지성, 점착성, 고무상의 물질로, 고대에는 민간의약품으로 널리 이용되었다(4). 후코이단은 콜레스테롤의 배설을 도와 혈중 콜레스테롤 수치를 낮추며 혈관 질환을 예방할 수 있고 비만이 성인병으로 연결되는 것을 미리 예방하여 준다. 아로니아 베리는 다량의 안토시아닌과 그밖에 다른 플라보노이드류 성분은 항산화 효과, 위보호 효과(5), 항염증 효과(6), 항당뇨 효과(7), 면역조절기능 활성(8) 등 다양한 생리적 기능이 있는 것으로 알려져 있다. 고추냉이는 매운맛의 주성분인 allylisothiocyanate는 대장균, 세균, 효모 등 미생물의 성장을 억제하는 효과가 있으며 식품의 맛을 향상시켜 주고, 최근에는 항산화 활성, 충치예방 효과, 혈소판 응집의 억제 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(9,10). 이러한 항균 활성, 항산화 활성 및 여려가지 기능성을 가진다고 알려진 천연 식자재인 꿀, 프로폴리스, 후코이단, 아로니아베리, 고추냉이를 에탄올추출하여 병원성균에 대한 항균 활성 및 항산화성을 확인하고 가자미 식해에 첨가하여 그 저장기간 중의 품질특성을 확인하고자 하였다.

*Corresponding author: Soon Young Cho, Department of Food Processing and Distribution, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Gangwon 210-702, Korea
Tel: 82-33-640-2335
Fax: 82-33-648-3831
E-mail: csykang@gwnu.ac.kr
Received September 24, 2014; revised November 12, 2014; accepted November 12, 2014

재료 및 방법

재료

본 연구의 식해에 제조에 사용한 가자미(*Verasper moseri Jordan et Gilberu*)는 강릉수산시장에서 세절된 물가자미를 구하여 사용하였다. 천일염(Salt, Haepyo, Gangneung, Korea), 고춧가루(Nonghyup, Gangneung, Korea), 마늘(Nonghyup, Gangneung, Korea), MSG (Monosodium glutamate, Daesang, Seoul, Korea), 생강(Nonghyup, Gangneung, Korea), 무(Nonghyup, Gangneung, Korea), 좁쌀(Nonghyup, Gangneung, Korea)은 강릉시 소재 농협 하나로마트에서 각각 구입하여 사용하였다.

추출에 사용된 천연 식자재 꿀(Choroc, Gangneung, Korea), 프로폴리스(Choroc, Gangneung, Korea)는 강릉시 소재 초록마을, 후코이단(MSC, Yangsan, Korea), 아로니아베리(Nonghyup, Gangneung, Korea)와 고추냉이(Nonghyup, Gangneung, Korea)는 강릉시 소재 농협 하나로마트에서 구입하였다. 추출에 사용된 용매로 에탄올 99.5% (Daejung, Siheung)를 구매하여 사용하였다.

가자미 식해 제조

세절된 물가자미에 천일염을 원물대비 20%를 첨가하여 24 h 염장 후 깨끗이 2-3회 세척 후 1 h 탈수하여 가자미육의 염도는 4.60%로 맞춘 후 고춧가루 16.80%, 마늘 7.21%, 미원 2.96%, 생강 3.70%, 무 10.12%, 좁쌀 13.72% 첨가하여 용기에 저장하고나서 숙성온도 15°C, 숙성기간 14일 발효 숙성하여 제조하였다. 숙성이 완료된 가자미 식해는 각각의 천연 식자재 에탄올 추출물을 10,000 mg/L 농도로 희석하여 가자미 식해 무게 대비 0.5% 분주하여 제조하였다.

천연 식자재 추출액을 제조

꿀, 프로폴리스, 아로니아베리, 푸코이단을 70% 에탄올에 1:5 (시료: 70% 에탄올) 비율로 교반 후 sonication (JAC4020, Kodo, Hwaseong, Korea)을 이용하여 50°C에서 1 h동안 초음파추출을 하였다. 추출한 1:5 (시료:에탄올) 용액을 감압여과하여 여액을 회전식농축증발기(R200A, Buchi, Flawil, Switzerland)로 50°C에서 감압농축하여 에탄올이 완전 증발할 때까지 농축시킨다.

Paper disc법을 이용한 항균성 측정

세균에 대한 항균력 측정은 paper disc method를 이용하였다. Table 1의 각 균주를 1백금이 취하여 10 mL의 lactose broth에 접종하고 30-37°C에서 48 h 배양하여 활성화시켰다. 이 활성된 각 균주 100 μL를 lactose agar 배지에 도말하였다. 균이 흡수되면 paper disc (8.0 mm, Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 배지 위에 올리고 농도별로 조제한 시료를 각각 흡수시켜서 24 h 동안 배양하였다. 그 후 disc 주위의 inhibition zone의 직경(mm)을 측정하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Tawada 등(11)에 방법을 일부 변형하여 비색 정량하였다. 각각의 추출물을 10 ppm의 농도로 만든 후, 시료 0.4 mL에 증류수 3 mL, Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA) 0.2 mL을 넣은 후 saturated sodium carbonate 0.4 mL를 첨가하여 혼합한 후, 실온에서 1 h 정치한 뒤 분광광도계(JP/V-550, Jasco, Tokyo, Janpan)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 이용한 표준곡선은 gallic acid (Sigma-Aldrich)를 증류수에 녹여 최종농도가 0, 10, 20, 40, 60, 100, 150 mg/L 용액이 되도록 조제하고 이를 일정량 취하여 위와 같은 방법으로 725 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 추출물의 총 폴리페놀 함량은 표준검량선으로부터 계산하였다.

Table 1. Indicator strains and growth condition

	Indicator strains	Media	Temp (°C)
Gram (+)	*Staphylococcus aureus* ATCC 144458	LB	37
	Listeria monocytogenes ATCC 19111	LB	30
	Bacillus cereus ATCC 14579	LB	30
Gram (–)	*Escherichia coli* ATCC 25922	LB	37
	Salmonella Typhimurium KCTC 1925	NA	37

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드는 Moreno 등(12)의 방법에 따라 추출물 0.5 mL에 10% aluminum nitrate (Daejung, Siheung, Korea) 0.1 mL, 1 M potassium acetate (Daejung, Siheung) 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고 실온에서 40 min 정치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin (Sigma-Aldrich)을 표준물질로 하여 0-100 μg/mL 농도 범위에서 얻어진 표준 검량선으로부터 추출물의 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

DPPH radical 소거능 측정

전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Ozgen 등(13)의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료 용액 100 mL에 0.15 mM 에탄올로 희석한 2,2-diphenyl-2-picrythydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich) 용액 100 mL을 넣고 교반한 후 30 min 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도값(optical density, O.D.)으로 나타내었다. 대조군으로는 gallic acid를 사용하였다.

총균수 및 pH 측정

숙성 중 가자미 식해의 미생물 총균수는 시료 10 g에 멸균식염수 90 mL를 혼합 분쇄하여 10진법으로 희석하였다. 각각의 희석액 1 mL를 각각의 3M Petrifilm Aerobic Count Plate (3M, St. Paul, MN, USA)에 접종한 다음 37°C에서 48 h 배양하여 형성된 colony를 계측하여 시료 g당 colony forming units (CFU/g)로 나타내었다. pH 측정은 시료 5 g에 증류수 45 mL를 가해 균질화시킨 후 pH meter (S-20K, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland)로 측정하였다.

휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

휘발성염기질소(VBN)의 함량은 마쇄한 가자미 식해를 사용하여 conway unit을 사용하는 micro diffusion method(14)로 시료 2 g에 20% trichloroacetic acid용액 2 mL와 증류수 16 mL를 혼합한 뒤 homogenizer로 마쇄 후 여과하여 conway에 주입 후 37°C에서 80 min 방치 후 0.01 M hydrochloric acid (HCl)로 적정하여 측정하였다.

통계분석

검사결과에 대한 통계적인 유의성 검정은 Statistical Packages for Social Science (SPSS Statistics 18, 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.

결과 및 고찰

첨가 항균후보물질의 대장균 및 식중독균에 대한 항균성 확인

꿀, 아로니아베리, 고추냉이, 프로폴리스, 후코이단 등의 에탄올추출액에 대한 *E. coli, L. monocytogenes, Salmonella* Typhimurium, *S. aureus, B. cereus* 대한 항균성을 paper disc 법을 이용하여 확인한 결과를 Table 2에 제시하였다. 대조군은 추출액 희석에 사용한 95% 에탄올을 사용하였으며, 꿀은 프로폴리스첨가군의 대조군으로서 사용하여 실험을 실시하였다. 대조군을 포함한 고추냉이, 꿀, 후코이단첨가 시료군에서는 모든 균에 대해서 항균 활성이 나타나지 않았다. 아로니아베리에서는 *Salmonella* Typhimurium에 대해서 15 mm의 항균성 환이 나타나 생육억제 효과가 나타났으며, 다른 균에서는 항균성이 나타나지 않았다. 프로폴리스 추출액에서는 *B. cereus* 14 mm, *S. aureus* 13 mm, *L. monocytogenes* 15 mm 정도의 생육저해가 나타났으며, *E. coli*, *S.* Typhimurium에서는 항균 활성이 나타나지 않았다. 프로폴리스의 항균 활성을 보면 그램양성균들에 대해 생육저해가 나타나는 반면 그램음성균들에서는 나타나지 않은 것을 보았을 때, 프로폴리스의 항균 활성이 그램음성균들 보다 양성균들에서 더 우수하다고 보고하는 논문들과 비교하여 볼 때, 본 연구와 비슷한 경향을 나타내는 것으로 보인다.

상기의 결과로 볼 때 고추냉이, 꿀, 푸코이단 추출물에서는 항균 활성이 나타나지 않았으며, 아로니아베리 추출물에서는 *S.* Typhimurium에서만 나타났다. 반면에 프로폴리스에서는 그램양성균 *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*에서 항균 활성을 나타났다.

폴리페놀, 플라보노이드함량 및 DPPH radical 소거능 확인

본 연구에서는 상기의 꿀, 아로니아베리, 고추냉이, 프로폴리스, 푸코이단의 항균 활성을 확인 한 후 항산화성을 확인하기 위해 각각의 실험을 진행하였다. 폴리페놀 및 플라보노이드는 phenolic hydroxyl을 2개 이상 갖고 있는 방향족 화합물로 우리 몸에 있는 활성산소를 중화시키고, 항암, 항산화, 항균 활성과 같은 생리 활성 기능을 가지는 물질로 보고되고 있다(15,16). 본 실험에는 ethanol 추출물을 이용하여 각각의 폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거능을 Table 3에 나타내었다. 상기와 항균성실험과 같이 대조군으로는 모든 에탄올 추출물 희석에 이용한 95% 에탄올을 사용하였으며, 꿀은 프로폴리스의 대조군으로 사용하였다. 각각의 꿀, 프로폴리스, 고추냉이, 아로니아베리, 후코이단 에탄올추출액을 1,000 ppm으로 희석하여 517 nm에서 분광광도계(JP/V-550, Jasco, Tokyo, Janpan)로 측정한 결과 꿀에서는 폴리페놀함량이 0.58 μg/mL 가장 낮에 나타났고, 후코이단 또한 5.00 μg/mL 이하로 낮게 나타났다. 고추냉이 에탄올 추출물에서는 폴리페놀이 검출되지 않았다. 이에 반해 상기의 항균성 실험에서 식중독균에 대한 생육억제가 나타났던, 아로니아베리는 61.20 μg/mL 그리고 프로폴리스는 91.18 μg/mL로 가장 높은 폴리페놀함량을 나타냈다. 식물에 널리 분포되어 있는 플라보노이드 역시 최근 많은 연구에서 밝혀지고 있다. 꿀에서는 플라보노이드 함량이 대조군 보다 낮게 나타나 거의 존재하지 않는 것으로 나타났으며 고추냉이 또한 플라보노이드가 검출되지 않았다. 후코이단은 플라보노이드 함량이 151.28 μg/mL 정도로 나타났고, 폴리페놀이 높았던 아로니아베리와 프로폴리스도 각각 197.00, 457.09 μg/mL로 높은 플라보노이드 함량을 나타냈는데, 그 중에서도 프로폴리스가 월등히 높은 플라보노이드 함량을 나타냈다. 전자공여능은 항산화 측정에 대표적으로 쓰이는 방법이다. DPPH는 항산화 활성을 측정하기 위한 기질로 사용되고, 페놀, 플라보노이드와 같은 페놀성 물질에 대한 항산화작용의 지표라고 알려져 있으며, 유리 라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방산화를 억제하고 인체 내 노화를 억제시키는 작용을 한다. 각 추출물의 DPPH radical 소거능은 Table 3과 같다. 꿀에서는 대조군 보다 DPPH radical 소거능이 더 낮게 나타났으며, 항산화효과가 거의 없는 것으로 확인되었다. 이에 반해 프로폴리스 ethanol 추출액의 DPPH radical 소거능은 0.65 O.D.로 높은 항산화 소거능을 나타내었다. 결과적으로 프로폴리스의 항산화 활성이 가장 뛰어

Table 2. Antibacterial activity of natural extracts using paper disc method (Unit: mm)

Sample	Diameter (mm) of inhibitory clear zone				
	B. cereus	*S. aureus*	*Salmonella* Typhimurium	*L. monocytogenes*	*E. coli*
Control (70% ethanol)	ND	ND	ND	ND	ND
Honey	ND	ND	ND	ND	ND
Aronia berry	ND	ND	15	ND	ND
Wasabi	ND	ND	ND	ND	ND
Propolis	14	13	ND	15	ND
Fucoidan	ND	ND	ND	ND	ND

ND: not detected.

Table 3. Contents of total phenol and flavonoid, and DPPH free radical scavenging activity

Sample	Polyphenol (μg/mL)	Fravonoid (μg/mL)	DPPH radical (O.D.)
Control (70% ethanol)	0.10±0.04[a]	0.10±0.01[a]	2.38±0.00[d]
Honey	0.58±0.04[a]	0.00±0.00[a]	2.46±0.00[f]
Aronia berry	61.20±1.63[c]	197.00±10.54[d]	0.35±0.00[a]
Wasabi	ND	ND	ND
Propolis	91.18±1.35[d]	457.09±2.67[e]	0.65±0.00[b]
Fucoidan	4.09±0.13[b]	151.28±1.81[c]	2.30±0.00[c]

ND: not detected.
[a-f]Means with different letters in the same column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

났는데, 이와 같이 프로폴리스가 다양한 생리 활성을 가지는 주된 이유는 cinnamic acid와 cafferic acids ester를 비롯한 많은 플라보노이드에 의한 것으로 입증되었다고 하는 내용과 유사한 결과로 보여진다(17).

가자미 식해의 저장 중 pH 변화

에탄올, 꿀, 아로니아베리, 고추냉이, 프로폴리스, 후코이단 에탄올 추출물을 가자미 식해에 각각 첨가하여 14일간 숙성 후 15 ºC에서 15일 저장기간 동안 pH 변화는 Table 4와 같다. 일반적으로 수산발효식품은 pH 5 이하가 되면 악취와 더불어 풍미에 악영향을 미치고, 유기산을 생성하여 상품성이 없다고 보고되어 있다(18). 저장 3일차부터 각각 시료에 pH 값에 유의적인 차이가 나타났다. 대조군인 에탄올을 첨가한 가자미 식해의 pH가 5.99로 가장 낮았으며, 다른 시료에서는 6.00-6.08로 pH 값의 유의적인 차이를 나타내었으나, 수치상 큰 차이는 나타나지 않았다. 저장 9일부터 저장 15일까지 폴리페놀, 플라보노이드함량이 높고, DPPH radical 소거능이 가장 좋았던 프로폴리스의 pH 변화가 6.04에서 5.39로 가장 적게 나타났고, 두 번째로 좋았던 아로니아베리가 6.06에서 5.32로 적은 pH의 변화를 나타내었다. 후코이단 또한 저장 15일까지 6.00에서 5.30으로 아로니아베리와 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 대조군, 꿀, 고추냉이에서는 pH 변화가 다른 시료들에 비하여 크게 나타났다. 이것으로 볼 때, 항산화 활성이 높은 시료들에서 낮은 pH 변화를 나타내는데, 항산화 작용이 부패균이나 유기산을 억제하여 나타나는 현상으로 사료된다.

가자미 식해의 저장 중 VBN 함량의 변화

대부분의 어패류는 어획 후 선도가 저하되면 어육 내 인지질 등의 지질 성분의 산화, 어육 중에 존재하는 환원계 효소나 세균의 작용에 의해 TMAO (trimethylamineoxide)가 환원되어 생성되는 TMA (trimethylamine) 등의 저급 염기성물질의 생성, 세균의 증식에 의해 단백질이 분해되어 생성되는 암모니아 질소 등에 의해 VBN의 함량이 증가하게 된다. 일반적으로 신선한 어패류의 육에는 VBN이 미량 함유되어 있으나 어획 후 시간이 경과할수록 증가하는 것으로 보고되어 VBN의 측정은 어패류의 선도판정법으로 널리 이용되고 있다(19).

15ºC에서 저장 15일 동안 가자미 식해의 VBN 함량은 Table 5와 같다. 천연 추출물을 분주 후 저장 3일부터 시료 간의 VBN 함량의 유의적인 차이가 나타났다. 3일차에 에탄올과 꿀에서 각각 17.57, 17.23 mg/100 g으로 가장 높게 나타났으며, 저장 15일차까지도 높은 30.28-30.37 mg/100 g 정도로 다른 시료들에 비해 높은 함량을 나타냈다. 반면에 아로니아베리, 고추냉이, 프로폴리스, 후코이단 첨가 가자미 식해에서 대조군과 비교해 볼 때, 부패억제 효과를 나타내었다. 아로니아베리, 고추냉이, 후코이단은 저장 15일에 VBN 함량은 각각 27.99, 26.24, 25.46 mg/100 g으로 서로 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그 중에서도 pH 에서의 결과와 마찬가지로 pH 변화가 가장 적었던, 프로폴리스에서 저장 15일까지도 24.73 mg/100 g으로 가장 낮은 VBN 함량을 나타내었으며, 이는 병원성미생물에 대한 항균효과와 높은 항산화 활성으로 인한 것으로 사료된다.

가자미 식해의 저장 중 총균수의 변화

가자미 식해의 저장 중 총균수의 변화는 Table 6과 같다. 각각의 시료는 3일차까지 10 CFU/g으로 시료간의 총균수의 차이는 크게 나타나지 않았다. 저장 6일차부터 15일차까지 시료간의 유의적인 차이가 나타나기 시작하였고, 그 중 저장성이 가장 좋았던, 프로폴리스가 저장 15일에 1.81×10 CFU/g으로 가장 낮은 총균수를 나타내었다. 대조군은 6.24×10 CFU/g으로 가장 높은 총균수를 나타내었으며, 꿀을 첨가한 가자미 식해 또한 대조군과 거의 비슷한 수준의 총균수를 나타내었다. 프로폴리스첨가 외 시료들도 대조군과 비슷한 10 CFU/g을 나타내었으나 약간의 총균수의 감소를 나타내었다. 이것으로 보아 항산화 활성이 가장 높고 *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* 병원성균에 대한 항균력이 있었던, 프로폴리스가 저장성 향상에 가장 높은 것으로 사료된다. 하지만 프로폴리스의 항균력은 특정 균에 대한 항균력이지, 가자미 식해의

Table 4. Changes of pH of the flounder *sikhae* during storage at 15ºC for 15 days (pH)

Sample	Storage days				
	3	6	9	12	15
Control (70% ethanol)	5.99±0.00^{a}	6.09±0.00^{d}	5.34±0.01^{a}	5.16±0.02^{a}	4.53±0.01^{a}
Honey	6.05±0.00^{d}	5.82±0.01^{a}	5.75±0.00^{b}	5.58±0.01^{b}	4.98±0.01^{b}
Aronia berry	6.06±0.01^{d}	6.07±0.01^{cd}	5.97±0.00^{d}	5.77±0.04^{c}	5.32±0.00^{d}
Wasabi	6.08±0.00^{e}	6.03±0.01^{c}	5.87±0.02^{c}	5.75±0.02^{c}	5.04±0.00^{c}
Propolis	6.04±0.00^{c}	6.06±0.00^{cd}	5.85±0.00^{c}	5.85±0.00^{d}	5.39±0.00^{e}
Fucoidan	6.00±0.00^{b}	5.96±0.02^{b}	6.03±0.01^{d}	5.82±0.01^{d}	5.30±0.00^{d}

$^{a-d}$Means with different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 5. Changes of VBN of the flounder *sikhae* during storage at 15ºC for 15 days (mg/100 g)

Sample	Storage days				
	3	6	9	12	15
Control (70% ethanol)	17.57±1.11^{c}	18.02±0.41^{bc}	19.51±0.39^{b}	25.02±0.08^{c}	30.28±0.22^{c}
Honey	17.23±0.84^{bc}	19.19±0.53^{c}	21.52±0.04^{c}	26.18±0.58^{c}	30.37±0.16^{c}
Aronia berry	14.52±1.90^{a}	15.72±0.71^{a}	19.23±0.33^{c}	21.12±0.16^{a}	27.99±0.17^{b}
Wasabi	14.85±0.75^{ab}	15.65±0.64^{a}	17.43±0.19^{a}	21.15±0.31^{a}	26.24±0.32^{b}
Propolis	13.66±1.06^{a}	16.97±0.76^{ab}	17.99±0.63^{a}	22.39±1.68^{b}	24.73±0.55^{a}
Fucoidan	15.06±0.76^{abc}	15.94±1.12^{a}	21.65±1.14^{c}	23.56±1.35^{b}	25.46±0.85^{b}

$^{a-c}$Means with different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table. 6 Changes of total viable cell contents of the flounder *sikhae* during storage at 15°C for 15 days (Unit: CFU/g)

Sample	Storage days				
	3	6	9	12	15
Control (70% ethanol)	5.31×10	4.47×10	6.31×10	2.27×10	6.24×10
Honey	6.12×10	1.75×10	5.20×10	7.21×10	5.28×10
Aronia berry	3.22×10	7.81×10	3.80×10	3.21×10	1.52×10
Wasabi	3.28×10	6.90×10	1.65×10	5.21×10	1.66×10
Propolis	2.24×10	4.05×10	8.25×10	2.81×10	1.81×10
Fucoidan	4.22×10	6.15×10	3.15×10	3.21×10	4.05×10

여러 종류의 미생물의 대한 항균력이 아니기 때문에 상기 3가지 종류의 균의 항균력으로 저장성 향상의 key compound로 단정 지을 수 없다. 추가적인 연구를 통하여 정확한 총균수 억제 및 저장성향상의 key compound를 찾아내야 될 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 꿀, 아로니아베리, 고추냉이, 프로폴리스, 후코이단 에탄올 추출물에 대한 항균・항산화 효능 실험과 가자미 식해에 추출물을 첨가했을 때 나타나는 저장성 변화에 대하여 확인한 결과는 다음과 같다. 다른 추출물들과는 달리 프로폴리스 에탄올 추출물은 *B. cereus, S. aureus, L. monocytogenes*에서 생육저해가 나타났고, 폴리페놀과 플라보노이드와 같은 항산화물질이 각각 91.18, 457.09 μg/mL로 가장 많이 함유하면서 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다. 또한 저장성에서도 저장 15일까지 pH 변화가 6.04-5.39로 가장 적었으며, VBN 함량 24.73 mg/100 g 및 총균수까지 가장 낮게 나타나 가장 우수한 저장성을 나타내었다. 이것으로 볼 때, 병원성균에 대한 항균성 및 항산화성이 가자미 식해의 저장성에 큰 영향을 미치는 것으로 판단된다. 아로니아베리, 고추냉이, 후코이단에서 또한 대조군과 비교해 볼 때 저장성 효과가 나타났다. 하지만 아로니아베리에서 *Salmonella* Typhimurium에서의 항균력이 나타났으며, 폴리페놀 함량 및 플라보노이드 함량이 각각 61.20, 197.00 μg/mL로, 고추냉이 및 후코이단에 비해 높은 함량을 나타내었는데 저장 15일까지의 pH 변화와 VBN 함량 및 총균수를 비교 분석한 결과 유의적으로 큰 차이를 나타내지 않았다. 이것으로 보아 항균성 및 항산화성이 저장성 향상과 관련되어 있긴 하지만, 에탄올 추출물들의 추출용매의 종류나 추출 방법, 유기산에 미치는 영향이나 단백질 변성, 발효에 미치는 영향 등 다른 기작으로 인하여, 저장성 향상에 영향을 줄 수도 있다고 판단되며, 현재 아로니아베리나 고추냉이의 저장성에 대한 자료가 적은 상황이며, 추후 추가적인 연구를 통하여 각각의 저장성 향상에 영향을 미치는 천연 식자재 에탄올 추출물들의 key compound를 찾아낸다면, 천연 보존료로서의 산업적 활용에 큰 도움이 될 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 기술개발과제(311056-3. 2014년도)에 의해 수행된 결과입니다. 이에 감사드립니다.

References

1. Cha YJ, Kim SJ, Jeong EJ, Kim H, Cho WJ, Yoo MY. Studies on taste compounds in Alaska Pollack *sikhae* during fementation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33: 1515-1521 (2004)
2. Jo YJ. Study on the antioxidative and antimicrobial activities of wasabi (wasabia koreana, cruciferae) extracts. PhD thesis, Sungshin Women's University, Seoul, Korea (2008)
3. Choi C, Lee HD, Choi HJ. A study on quality characteristics and establishment of fermentation process for traditional Kyungsando squid *sikhae*. Korean J. Dietary Culture 16: 118-127 (2001)
4. Greenaway W, May J, Scaysbrook T, Whatley FR. Identification by gas chromatography-mass spectroscopy of 150 compounds in propolis. Z. Naturforsch. C 46: 111-121 (1991)
5. Niedworok J, Jankowska B, Kowalczyk E, Charyk K, Kubat Z. Antiulcer activity of anthocyanin from *Aronia melanocarpa* Elliot. Herba Pol. 43: 222-227 (1997)
6. Ohgami K, Ilieva I, Shiratori K, Koyama Y, Jin XH, Yoshida K, Kase S, Kitaichi N, Suzuki Y, Tanaka T, Ohno S. Anti-inflammatory effect of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. Invest. Ophth. Vis. Sci. 46: 275-281 (2005)
7. Jankowski A, Niedworok J, Jankowska B. The influenceof aronia melanocarpa elliot on experimental diabetes in the rats. Herba Pol. 45: 345-353 (1999)
8. Gasiorowski K, Brokus B, Tabaka H. Evaluation of the immunomodulatory activity of four compounds exerting antimutagenic effects on human lymphocytes *in vitro*. Cell. Mol. Biol. Lett. 5: 469-481 (2000)
9. Park KN, Lee SH. Antimicrobial activity of pine needle extract and horseradish on the growth of *vibrio*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 185-190 (2003)
10. Morimitsu Y, Hayashi K, Nakagawa Y, Fuii H, Horio F, Uchida K, Osawa T. Antiplatelet and anticancer isothiocyanates in Japanese domestic horseradish, wasabi. Mech. Ageing Dev. 12: 125-134 (2000)
11. Kim SM, Back OD, Lee KT. The development of squid (*Todarodes pacificus*) *sik-hae* in the Kang-Nung district. 4. The effects of red pepper and grain contents on the properties of squid sikhae. Bull. Korean Fish. Soc. 27: 366-372 (1994)
12. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J. Ethnopharmacol. 71: 109-114 (2000)
13. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
14. Tomohisa. Preservation and measurement of processed meat products. Food Ind. 18: 105-107. (1975)
15. Durkee AB. Polyphenols of the bran-aleurone fraction of buckwheat seed (*Fagopyrum sagitatum*, Gilib). J. Agr. Food Chem. 25: 286-287 (1997)
16. Ahmad S, Kitchin KT, Cullen WR. Arsenic species that cause release of iron from ferritin and generation of activated oxygen. Arch. Biochem. Biophys. 382: 195-202 (2000)
17. Kalogeropoulos N, Konteles SJ, Troullidou E, Mourtzinos I, Karathanos VT. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Food Chem. 116: 452-461 (2009)
18. Park JH, Kim SM. Property changes of the salt-seasoned and fermented the broken roes of alaska pollock stuffed into cellulose casing. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 220-224 (2002)
19. Song HN, Lee DG, Han SW, Yoon HK, Hwang IK. Quality changes of salted and semi-dried mackerel fillets by UV treatment during refrigerated storage. Korean J. Food Cook. Sci. 21: 662-668 (2005)