

발 간 등 록 번 호

11-1541000-001741-01

한식소재인 전통젓갈의 기능성 규명연구
(Material of Korean food Jeotgal
fuctional investigation study)

경성대학교

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “한식소재인 전통젓갈의 기능성 규명연구”에 대한 최종보고서로 제출합니다.

2012년 12 월 29 일

연구기관명 **경성대학교**
아이케이사이언스(주)
강릉원주대학교

연 구 진

연구기관명 : 경성대학교

연구책임자 : 최 종 원

책임연구원 : 최 종 원

연 구 원 : 정 명 희

연 구 원 : 이 민 수

연 구 원 : 김 주 희

연구기관명 : 아이케이사이언스(주)

책임연구원 : 김 종 복

연 구 원 : 정 찬 호

연 구 원 : 노 인 혜

연 구 원 : 허 진 선

연 구 원 : 최 민 영

연구기관명 : 강릉원주대학교

책임연구원 : 조 순 영

연 구 원 : 나 경 민

연 구 원 : 임 미 진

연 구 원 : 최 성 미

연 구 원 : 김 소 라

연 구 원 : 한 대 원

요 약 문

I. 제 목: 한식소재인 전통젓갈의 기능성 규명연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

한식소재인 전통젓갈의 제조방법 및 미생물 동정 등의 표준화 및 과학화과정을 거친 젓갈의 그 기능성을 규명코자 함.

III. 연구개발 내용 및 범위

제 1 장 연구개발과제의 개요 : 연구개발의 목적 및 필요성

제 2 장 국내외 시장현황 및 연구 개발현황 : 젓갈의 국내외 시장현황 및 연구개발 현황

제 3 장 연구 개발 수행 내용 및 결과: 젓갈의 표준화, 젓갈의 과학화, 동물실험을 통한 젓갈의 기능성 규명검증 및 과학화 검증

IV. 연구개발결과

대표적인 젓갈(오징어, 창난, 멸치, 새우 젓갈)의 양념이나 그 제조방법에 따른 특허는 많았으나 관련 미생물 및 재료의 표준화에 대한 관련 특허출원은 미비한 상황이며, 기능성 관련 경우도 젓갈의 재료 및 배합에 의하여 나타나는 기능성에 초점을 맞추거나 균주 자체의 기능성에 대한 연구는 많았다. 본 실험에서는 시판되는 젓갈 및 표준화작업을 통한 젓갈 본래 재료 및 주정 및 잔사추출물에 대하여 초점을 맞추어 기 발표된 자료들을 바탕으로 대사증후군에 효과가 있을 것이라 착안, 고지혈증 및 비만 그리고 이로 인한 파킨슨병 및 치매에 이르는 기능성 탐색을 살펴보았다.

1. 젓갈의 표준화

1-1. 멸치 젓갈 및 새우젓갈: 발효기간이 적어도 6개월~2년에 이르는 상당히 긴 시간이 필요함에 따라 각지에서 시판되는 젓갈에 대하여 문헌조사 및 데이터를 수집하여 그 최적조건을 살펴 본 결과, 멸치젓갈은 적정 pH의 경우 5.33~6.28, 염 농도가 높을수록 아미노태 질소 함량이 적었으며, 18개월 20℃로 숙성한 멸치젓갈에서 휘발성 염기 질소 함량이 가장 적절하였고, 우점균의 경우 *micrococcus*속 *Bacillus*속 등 다양하게 나타났다. 새우젓은 총 균 및 곰팡이 수가 초기 18%식염농도에서 적당한 미생물 생육 환경을 이루었고 pH는 7.97~8.97로, 휘발성 염기질소 함량은 25mg%이상으로 함량이 많아질수록 기호도가 높았다. 미생물은 *Pediococcus*, *Halobacterium*등 이었다.

1-2. 오징어 젓갈 및 창난젓갈: 오징어 젓갈은 최적숙성온도 8℃에서 9일~12일차에 숙성 적정기간이었으며, 식염농도의 경우 6%에서 가장 미생물의 활성이 좋았으나 여러 인자들을 분석 후 결론적으로 2%, 4%로 조절 하였다. 창난젓갈 또한 최적숙성온도가 8℃로 9일~12일 차 숙성기간이 가장 적정하다고 사료된다.

종균 및 항균활성 탐색 결과 숙성적기의 종균은 유산균으로 API 50 CHL Kit로 측정결과 *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*로 나타났고, 이들의 항균성은 병원성 균인 *Bacillus cereus* 및 *Salmonella typhi*균에도 항균활성을 나타내 그 기능성을 입증하였다.

2. 젓갈의 과학화

멸치, 새우, 오징어, 창난젓갈의 원재료, 에탄올 추출물 및 잔사 추출물의 구성아미노산 및 유리아미노산을 분석하였다. 그 결과 구성아미노산의 glutamic acid는 오징어젓갈 원재료에서, 필수 아미노산(EAA)는 새우 EtOH추출물에서, 함황아미노산(SAA)의 함량은 멸치 젓갈 모든 처리군에서 높은 함량을 나타냈으며, 방향족 아미노산의 경우 저염 농도군에서 더 높은 함량을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 유리아미노산의 경우 멸치 및 새우젓갈에서 오징어 및 창난젓갈보다 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다.

동물실험을 통한 젓갈의 기능성의 과학화는 아래와 같이 각 chapter별로 생체시료를 분석 및 바이오마커를 분석하였다.

3. 젓갈의 기능성 규명검증 및 과학화 검증

3-1. 고지혈증 및 비만 유도 흰쥐에 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

고지방식이를 섭취한 군의 체중 증가가 두드러졌으며 복강주위 지방의 경우 정상군에 비하여 3배 이상 증가하였으나, 젓갈시료 투여로 군 전체 지방함량이 억제되었다.

Serumm의 생화학적 검사결과 Total cholesterol 및 HDL-, LDL-cholesterol 함량의 경우 젓갈 시료 중 원재료 시료 섭취 군에서, phospholipid 및 지방조직에서 분비하는 체지방을 일정하게 유지하기 위한 호르몬인 Leptin 농도의 경우 저염의 오징어젓갈 및 창난 젓갈 군에서 유효성을 나타내었다. 이는 간조직의 항산화 효소계인 catalase 및 SOD 실험결과 또한 EtOH 및 잔사 추출물에 비하여 젓갈 원재료를 처리한 군들에서 높은 활성을 나타냈으며, glutathione peroxidase 및 reductase실험에도 비슷한 결과를 얻었다. 복부지방의 H&E 염색을 통하여 지방구를 살펴볼 때 크기, 분포 및 형태 등도 앞선 내용을 뒷받침하였다.

따라서 에탄올추출물 및 잔사 추출물 처리군 보다는 젓갈원재료 섭취 군에서, 식염의 염도 농도가 4% 보다는 2% 섭취 군에서 고지방 및 비만에 긍정적인 효과를 나타냈다.

3-2. 파킨슨병 유도 흰쥐에 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)로 파킨슨병을 유발한 mouse에 젓갈시료를 투여하여 신경독성의 운동효과에 대해 살펴본 결과 오징어 및 창난젓갈에 비하여 발효기간이 상대적으로 긴 멸치 및 새우 젓갈에서 현수법 및 경사관법, 회전봉법에서 전체적으로 우수한 결과를 얻었으며 이는 실제 파킨슨병 환자치료에 있어 기존 치료제인 selegiline과 유의한 결과를 나타내었다.

3-3. 치매 유도 흰쥐에서 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

Scopolamine투여한 후 기억 및 학습장애를 유발하여 실험동물의 학습수행 개선과 관련 효소의 억제에 미치는 효과를 규명하고자 행동실험인 Morris water maze test결과 인지훈련이 반복될수록 멸치 및 새우젓갈의 원재료 투여 군에서 escape latency 시간이 감소하였으며, 명시적 기억능력검사 또한 시료의 원재료를 투여한 군들의 경우, 건강기능식품인 BF-7투여 군과 유의하게 향상된 결과를 보였다. 이는 뇌조직의 ACHE 효소활성 및 Acetylcholine함량에서도 대조군에 비하여 젓갈 시료 투여 군들 전체에서 합성능력이 증가하는 경향을 보였다. 뇌조직의 GABA함량 또한 멸치젓갈 원재료, 에탄올추출물 및 잔사군 전체적으로 높았으며 염의 농도가 4%군보다 2%로 조절된 군에서 더 유의성 있는 결과를 나타내었다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

(1) 학술대회 발표(6건)

한국실험동물학회 2012년 하계학술대회(1건), 대한약학회 2012년 추계학술대회(3건)

한국실험동물학회 2013년 동계학술대회(예정, 2013. 02.)

(2) 특허(1건 예정- 2013. 01 출원 예정)

특허제목: 오징어젓갈 숙성조건 표준화

본 연구는 전통수산물발효식품의 과학적 숙성 발효의 조건의 설정을 위하여 숙성조건에서 가장 중요한 인자인 숙성 온도와 식염 농도를 다르게 하여 오징어 젓갈을 제조하고 식염 농도와 숙성 온도 및 숙성기간별 품질특성을 측정하여 최적숙성조건을 설정하여 젓갈의 제조공정에 대한 과학적 자료를 제공하고자 수행되었다.

(3) 논문(3건 예정: 2013년 기능성 관련 투고예정)

2. 성과활용 계획

특허 관련 기술이전 예정 및 효능관련 논문발표 및 교육예정

(강릉원주대학교 속초웰빙젓갈명산품육성 RIS사업단의 네트워크를 통한 산업체 연관 홍보·교육지도 예정).

SUMMARY

(영문요약문)

This study was purposed to investigated the effect of Korean food *Jeotgal*, especially *anchovy, shrimp, squid and changnan Jeotgal* standardization, scientification and fuctional investigation study.

First. Korean traditional food *Jeotgal* standardization.

Anchovy and shrimp Jeotgal, fermentation period is so long(6 month~2years). So we investegated journal and reference and so on. *Anchovy Jeotgal* optical pH is 5.33~6.28 and the temperature is 20°C. The starter microbial species is *Micrococcus* and *Bacillus* species. And *shrimp Jeotgal* is the similar like *anchovy Jeotgal* optimalization. the temperature and fermentation period. But optical pH is 7.97~8.97, because of composition of shrimp body. The starter microbial species is *Periococcus, Halobacterium* and so on. *Squid and changnan Jeotgal* is one of the traditional salt-fermented food in Korea. We tried to evaluate the optimalization of conditions for desirable quality-controlled squid and *changnan Jeotgal* with analyses of physiochemical properties, microbiological species, and organoleptic tests. Also, we tried to screen the superior starer for the fermented *squid* and *changnan Jeogal*. Among several *squid* and *changnan Jeotgal* process steps, the optical fermentation temperature and sun-dried sea salt concentration and fermentation period for acceptable quality squid and changnan Jeotgal were 8°C, 6% and 9~12days, respectively. The starter microbial species in *squid* and *changnan Jeotgal* showed *Lactobacillus brevis, Leuconostoc mesenteroides spp, Leuconostoc lactis, Lactobacillus fermentum, Pediococcus pentosaceus*. The *Lactobacillus brevis* and *Pediococcus pentosaceus* strain also inhibited the cell growth of three food-borne pathogens such as *B. cereus, Salmonella typhi.* and *S. aureus*.

Second. Korean traditional food *Jeotgal* scientification.

We investigated *Jeotgal* amino acid composition. A total of 17 amino acids were detected in all abalone samples, most of which had high levels of aspartic acid, glutamic acid,

glycine, and arginine, and low amounts of cysteine, methionine, and histidine. Glutamic acid was the most abundant of all amino acids. The content of free amino acids was related to taste score. The major free amino acids were taurine, alanine, and arginine, of which taurine was the most abundant, and was present at higher levels in *shrimp and anchovy Jeotgal* natural material.

Third. Korean traditional food *Jeotgal* functional investigation study.

We investigated the effect of Korean food *Jeotgal* treated hyperlipidemia rats. Sprague-Dawley rats were divided into 15 groups and fed 40% beef-tallow based diets. After rats were induced hyperlipidemia, then they were fed *anchovy, shrimp, Squid and changnan Jeotgal* for 4 weeks. Body weight gain and adipose tissue (retroperitoneal and epidymal fat pad) were significantly increased in control group (rats fed a hyperlipidemic diet) as compared with normal group, but were decreased in *Jeotgal natural material* group more than ethanol extract group and residue on evaporation group.

Serum analysis of triglyceride, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-cholesterol), low density lipoprotein cholesterol (LDL-cholesterol) contents in rats plasma showed to decrease all *Jeotgal* treated group especially. In histopathological examination, abdominal aorta showed no critical lesions with *Jeotgal* on rats were the inhibition of cholesterol synthesis and acceleration of cholesterol catabolism in the liver.

These results suggest that use of the Korean traditional food *Jeotgal* may lead to the higher activity in treatment of hyperlipidemia and obesity.

And then we study to investigate the effect of *Jeotgal* against neurotoxicity induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in mice. In order to demonstrate neuroprotective activity of mice were administered orally with *Jeotgal* (anchovy, shrimp, squid, and changnan natural material, ethanol extract, residue on evaporation 100 mg/kg, 200 mg/kg, once/day) for 14 days and MPTP (30 mg/kg) was injected i.p into the mice for 5 days from the beginning 1 hr before *Jeotgal* treatment.

Motor disturbance increased such as rota-rod, holding reflex and tilted platform in mice treated with MPTP (30 mg/kg) only. But treatment of mice with *Jeotgal* were improved capacity for locomotion similar like positive control (selegiline) especially low salt concentration *squid and changnan Jeotgal*.

Composition amino acids and free amino acids concentration was produced best result of *Jeotgal* natural material especially anchovy and Shrimp which fermentation period is long. This protective effect of *Jeotgal* might be estimated the result from the enhancement of antioxidant defense ability than the cooperative action of its inhibitory effect on neurotoxicity in mice. We investigated the effect of *Jeotgal* on learning and memory impairments induced by scopolamine (2mg/kg,i.p.). a passive avoidance, morris water maze tests. Oral treatment of rats with of BF-7(200mg/kg) and *Jeotgal* significantly mitigate d scopolamine - induced memory deficts in passive avoidance test. In the morris water maze test, oral treatment of *Jeotgal* significantly a meliorated scopolamine induced memory deficits showing the formation of long-term and/or short-term spatial memory. Moreover, *Jeotgal* significantly inhibited acetylcholinesterase activity by as much as amnesic activity in *in vivo* through acetylcholinesterase inhibition and GABA concentration.

CONTENTS

(영 문 목 차)

Chapter 1. Objectives and needs of research

Chapter 2. Review of previous research

Chapter 3. Contents and results fo research

Chapter 4. Pans for research and development results and utilization

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 한식소재인 전통젓갈의 기능성 규명연구			
	(영문) Material of Korean food Jeotgal functional investigation study.			
연 구 기 관	경성대학교	연	구	(소속) 경성대학교
참 여 기 관	아이케이사이언스(주) 강릉원주대학교	책	임	자 (성명) 최종원
연 구 비	계	190,000,000원	총 연 구 기 간	2011. 12. 01.~2012. 12. 29(1년)
참 여 연 구 원	15 명 (연구책임자: 1 명, 책임연구원: 2 명, 연구원: 8 명, 연구보조원 4 명)			

○ 연구개발 목표 및 내용

- 연구개발 목표: 한식소재인 전통젓갈의 기능성 규명
- 연구내용

제 1 장 연구개발과제의 개요 : 연구개발의 목적 및 필요성

제 2 장 국내외 시장현황 및 연구개발현황 : 젓갈의 국내외 시장현황 및 연구개발 현황

제 3 장 연구 개발 수행 내용 및 결과: 젓갈의 표준화, 젓갈의 과학화, 젓갈의 기능성
규명검증 및 과학화 검증

○ 연구결과

1. 젓갈의 표준화: 미생물 분리, 동정, 최적생산공정 확립
2. 젓갈의 과학화: 생리활성물질 및 기능성 물질 분리 및 탐색
3. 젓갈의 기능성 규명: 항비만, 항고지혈증, 항치매, 항파킨슨병을 유도 식염 및 숙성기간
을 보완한 젓갈의 유효성 물질의 메카니즘 규명

○ 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

(1) 학술대회 발표(6건)

한국실험동물학회 2012년 하계학술대회(1건), 대한약학회 2012년 추계학술대회(3건)

한국실험동물학회 2013년 동계학술대회(2건 예정, 2013. 02. 21)

(2) 특허(1건 예정: 2013년 1월 출원 예정)

(3) 논문(3건 예정: 2013년 기능성 관련 투고예정)

2. 성과활용 계획 : 특허 관련 기술이전 예정 및 효능관련 논문발표 및 교육예정

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절. 연구개발의 목적

젓갈은 일반적으로 어패류의 근육, 내장, 생식소등을 원료로 하여 다량의 식염을 가해 어체 내 존재하는 단백질 분해효소에 의한 단백질, 펩타이드 등의 분해와 숙성 중 관여하는 미생물에 의한 풍미생성 등에 의해 제조되는 우리나라 전통 발효 식품이다. 그러나 젓갈자체의 발효산물의 성분 및 발효 기작이 다양해 기능성물질 및 발효기질 주요 기작 등이 완전히 규명되지 않았으며, 다량의 식염을 사용하는 공정 및 그 특유의 풍미 등으로 인해 자칫 한식의 대표적인 조미소재인 젓갈의 우수성 및 기능성을 저평가 받고 있는 실태이다.

또한 타 발효식품(장류)와 같이 그 재료와 지역마다 특색 있는 제조기술등이 다양해 품질평가의 기준 또한 모호한 실정이다. 이에 본 연구는 한식소재인 전통젓갈에 의한 현대 대사증후군증 하나인 고지혈증 및 비만의 유효성 평가를 시행하며, 젓갈의 발효 미생물에 의해 발효된 대표적인 부산물인 GABA를 통한 치매 및 뇌기능 효능의 기능성 규명하고자 한다.

제2절. 연구개발의 필요성

현재 젓갈자체의 발효산물의 성분 및 발효 기작이 다양해 기능성물질 및 발효기질 주요 기작 등이 완전히 규명되지 않았으며, 다량의 식염을 사용하는 공정 및 그 특유의 풍미 등으로 인해 자칫 한식의 대표적인 조미소재인 젓갈의 우수성 및 기능성을 저평가 받고 있는 실태이다. 특히 현대사회 젊은 층에게는 장류와 더불어 풍미 등에 의해 기피하는 음식 중 하나라고 할 수 있다. 하지만, 김치부터 모든 한식에 기초가 되는 재료로 간과하면 안 되는 전통식품 중 하나이다. 어패류의 경우 풍부한 아미노산, 비타민, 무기질의 보고로 알려져 있으며 이를 염장으로 인해 자연 발효된 젓갈의 경우 몸에 흡수하기 좋은 형태의 생리활성물질들이 다량으로 존재하고 있다. 하지만 생리활성물질들에 대한 학문적인 연구 및 보고 등은 아직 많이 미약한 실정이며, 각 지역마다의 젓갈을 담그는 방법 및 종류, 특색이 다양하여 음식의 표준화가 어려운 실정이다.

이에 본 연구는, 우리나라 전통식품으로 김치 및 다른 음식의 조미재료로 널리 쓰이는 젓갈의 기능성을 입증함으로써 그 가치를 인정받고, 발효에 관여하는 미생물에 의한 현대 비만 및

고지혈증의 유효성 평가를 시행하며 젓갈의 발효 미생물에 의해 발효된 대표적인 부산물인 γ -Aminobutyric acid(GABA)를 통한 치매 및 뇌기능 효능의 기능성 규명하여 한식의 우수함을 알릴 수 있는 계기가 될 것이라 기대한다. 또한 향후 우리나라의 각 지역마다 특색 있는 명품 젓갈로의 디딤돌이 되어 그 기능성과 가치를 활용한 명품젓갈 상품화에도 기여할 것이라 사료된다.

제 2 장 국내외 시장현황 및 연구개발현황

제 1절. 짓갈의 국내외 시장현황

1. 국내 제품생산 및 시장 현황

표 1. 품목별 짓갈 생산량의 추이

(단위 : 톤)

구 분	2009	2010	2011
멸치젓	10,701	14,951	10,999
새우젓	19,753	6,910	4,864
오징어젓	2,792	2,245	1,945
조개젓	472	395	896
굴(어리굴젓)	657	516	623
성게젓	4	2	4
명란젓	2,167	5,003	4,643
창난젓	631	553	522
황석어젓	783	424	385
식해 등 기타	3,174	4,316	2,347
합 계	41,134	35,315	27,228

자료: 농림수산식품부 통계연보, 2011

2. 국외 제품생산 및 시장 현황

표 2. 짓갈산업의 국내·외 시장 현황

(단위 : 백만원)

시장규모 \ 년도	2009	2012	2017
세계 시장 규모	1,050,000	1,500,000	2,800,000
국내 시장 규모	210,000	250,000	400,000
국내 시장 \ 년도	2008	2009	2010
수출 규모	72,938	54,748	68,478
수입 규모	125,266	59,699	73,218

2010년 한국무역협회 무역통계, 관세청 무역통계

제 2절. 젓갈의 연구개발 현황

1. 특허분석에 따른 연구개발 현황

가. 젓갈 제조기술에 따른 특허현황

- 1) 저식염 냉동 명란젓갈의 제조방법
- 2) 젓갈양념 및 그 제조방법
- 3) 해양심층수를 이용한 창난젓갈의 제조방법 및 상기방법에 의하여 제조된 창난젓갈
- 4) 해양심층수를 이용한 젓갈 및 그의 제조
- 5) 저염의 어패류 발효 젓갈의 제조방법

나. 기능성 관련 특허현황

- 1) 향산화 및 콜레스테롤 저하기능성의 양념 젓갈 및 그 제조방법

2. 논문분석에 따른 연구개발 현황

가. 젓갈 제조기술에 따른 논문현황

- 1) 황석어젓갈의 숙성과정 중 품질변화와 향산화 작용에 관한 연구
- 2) 저염 우렁챙이 젓갈의 휘발성 성분
- 3) 저식염 오징어 젓갈의 숙성 중 품질변화 및 최적 유통기한 설정

나. 기능성 관련 논문현황

- 1) Inhibitory effects of garlic and other pices on biogenic amine production in Myeolchi-jeot, Korean salted and fermented anchovy product.
- 2) 장류 및 젓갈 분리 균주 추출물의 비만세포 매개 항염증 효과

3. 특허 및 논문 분석

대표적인 젓갈(오징어, 창난, 멸치, 새우 젓갈)의 양념이나 그 제조방법에 따른 특허는 많았으나 미생물 발효조건에 따른 표준화에 대한 관련 특허출원은 미비한 상황이었다.

기능성 관련 특허 및 논문의 경우도 젓갈의 재료 및 배합에 의하여 나타나는 기능성에 초점

을 맞춘 것이 대부분이었고, 균주 자체의 기능성에 대한 논문도 발표되었다.

본 실험에서는 시판되는 젓갈 및 표준화작업을 통한 젓갈 본래 재료 및 주정 및 잔사추출물에 대하여 초점을 맞추었으며 기 발표된 자료들을 바탕으로 대사증후군에 효과가 있을 것이라 착안, 고지혈증 및 비만 이로 인한 파킨슨병 및 치매에 이르는 기능성 탐색을 통하여 한식의 우수성을 알리고자 한다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절. 젓갈의 표준화

1. 시료제조 및 저장 조건

가. 재료

본 실험에서 사용한 멸치 젓갈은 기장특산물영어조합법인(부산, 기장군)의 소금 농도 4%, 발효기간이 12개월 된 멸치 젓갈을 사용하였으며, 새우 젓갈은 서해수산(충남 보령시)에서 시판 농도의 발표기간 약 12개월 된 새우 젓갈을 실험에 사용하였다.

창난은 속초시 (주)정이푸드빌에서 구입하였으며, 부재료인 고춧가루, 천일염 등은 강릉시 농협에서 구입하였다. 오징어는 강릉시 수산시장에서 구입하였으며, 부재료인 고춧가루, 천일염 등은 강릉시 농협에서 구입하였다. 항균활성 탐색을 위한 사용균주는 KCTC(생명자원센터)에서 구입하여 사용하였다.

나. 시료조제

오징어 젓갈의 경우, 온도를 다르게 하여 숙성한 오징어 육을 12시간 이상 염장, 당침한 뒤 소금, 고춧가루, 설탕, 마늘, 생강 등의 부재료를 넣어 버무린 뒤 향온 향습기에 넣어 숙성하였다. 식염 농도를 다르게 하여 제조한 오징어 젓갈은 염도계를 사용하여 염도를 맞춘 뒤, 앞의 방법과 동일하게 제조하였다.

마찬가지로 창난젓갈의 경우도 온도를 다르게 하여 숙성한 창난 육을 12시간 이상 염장한 뒤, 12시간 이상 당침하고, 소금, 고춧가루, 설탕, 마늘, 생강, 참깨 등의 부재료를 넣어 버무린 뒤 향온향습기에 넣어 숙성하였다. 식염 농도를 다르게 하여 제조한 창난 젓갈은 염도계를 사용하여 염도를 맞춘 뒤, 앞의 방법과 동일하게 제조하였다.

다. 발효 조건

식염 농도를 달리하여 제조한 오징어 젓갈은 8℃, 습도 100%의 향온향습기(TH-ME-100, JEIO Tech, Korea)에서 숙성하였으며, 온도별에 따른 오징어 젓갈은 위와 같은 방법으로 4℃,

8℃, 12℃로 온도만 다르게 하여 숙성하였다.

라. 항균활성 탐색을 위한 사용 균주

본 실험에는 그람 양성 세균 3가지, 그람 음성 세균 2종을 사용하였다. 균주들은 각각의 선택 배지에 접종하여 적정 온도에서 2회 반복하여 전 배양을 행한 후 사용하였다. 사용한 균주와 배지 및 배양온도는 Table1에 나타내었다.

Table 1. Indicator strains and growth condition

	Indicator strains	Media	Temp(℃)
Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 144458	NA	37
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	NA	30
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	NA	30
Gram (-)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	LB	37
	<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925	NA	37

2. 분석방법

가. pH

시료 5g에 증류수 45 mL를 가하여 homogenizer(T25B, Ika works(Asia) Sdn. Bhd., Malaysia)로 균질화한 후 membrane filter(No.2, Hyundai Micro Co., Ltd, Korea)로 여과한 여액을 pH meter(Mettler Toledo, SevenEasy pH, Swizerland)로 측정하였다.

나. 휘발성염기질소(VBN)

시료 2g에 증류수 16 mL와 20% Trichloroacetic acid 용액 2mL를 가하고 homogenizer(T25B, Ika works(Asia) Sdn. Bhd., Malaysia)로 균질하여 10분방치 후 membrane filter(No.2, Hyundai Micro Co., Ltd, Korea)로 여과하여 시료용액을 제조하였다. Conway unit 내실에 붕산흡수제 1 mL, 외실에 시료용액 1 mL를 넣어 뚜껑을 2/3 정도 덮고 다시 외실에 포화탄산칼륨수용액 1 mL를 넣은 후 뚜껑을 덮고 외실액을 혼합하였다. 37℃ 배양기에서 80분간 반응시킨 후 0.01N HCl로써 적정하였다. 바탕실험은 상기 조건의 방법에 외실액에 시료용액 대신에 20% TCA 용액을 가하였다.

$$\text{휘발성 염기 질소(mg/100g)} = \frac{0.14 \times (A - B) \times 20 \times F \times 100}{S}$$

0.14 : 0.01 N HCl 1 mL = 0.14 mg VBN

A : 본 실험에 소비된 0.01 N HCl의 소비량(mL)

B : 바탕 실험에 소비된 0.01 N HCl의 소비량(mL)

F : 0.01 N HCl 용액의 역가

S : 시료 채취량(g)

다. 아미노태 질소(NH₂-N)

포르몰 적정법에 따라 시료 5g에 증류수로서 200mL로 정용한 후 memberane filter(No.2, Hyundai Micro Co., Ltd, Korea)로 여과한 여액 중 100 mL를 취하여 0.1N NaOH 용액으로

중화하였다. 여기에 중성 Formalin 용액 20 mL를 가한 후 pH 8.4로 될 때까지 0.1 N NaOH 용액으로 적정하였으며, 적정에 소비된 0.1 N NaOH 용액량에 질소계수 1.4를 곱하여 아미노태 질소함량(mg/100g)으로 나타내었다.

$$\text{아미노질소(mg/100g)} = \frac{1.4 \times (A - B) \times F \times D}{S} \times 100$$

1.4 : 0.1 N NaOH 1mL = 1.4 mg 아미노태질소

A : 본 실험에 소비된 0.1N NaOH 의 소비량 (mL)

B : 바탕 실험에 소비된 0.1N NaOH 의 소비량 (mL)

F : 0.1N NaOH 용액의 역가(factor값)

D : 희석배수

S : 시료채취량(g)

라. Thiobarbituric acid(TBA) value

Tuner 등의 방법에 따라 시료 20g에 4℃로 냉각된 20% trichloroacetic acid in 2M phosphoric acid 용액 50mL를 가하여 homogenizer(T25B, Ika works(Asia) Sdn. Bhd., Malaysia)로 균질화한 후 증류수로서 100 mL로 정용하고 membrane filter(No.2, Hyundai Micro Co., Ltd, Korea)로 여과하였다. 여액 중 50 mL를 취해서 15,000 rpm에서 10분간 원심 분리(Mega 21R, Hanil Science Industrial, Korea)한 후 상층액 5 mL를 취하여 syringe filter(0.45 μm)로 여과하고 0.005 M 2-TBA in 50% acetic acid 용액 5 mL를 가하여 혼합한 후 상온의 암소에서 15시간 방치하였다. 발색된 액을 분광광도계(JP/V-550, Jasco, Japan)를 이용하여 530 nm에서 흡광도를 측정하였다.

마. 미생물 균수 측정

식품 공전에 따라 시료 10g을 멸균생리식염수를 이용하여 10배 단계 희석하였으며 총 균수, 효모 및 대장균은 각각의 Petrifilm(Aerobic count plate, Yeast and Mold count plate, 3M Microbiology, U.S.A)을 이용하여 각각의 적정온도에서 배양한 뒤, 콜로니를 계수하였다. 유산균은 BCP plate count agar(Eiken Chemical Co., LTD., Japan)를 이용하여 적정온도에서 배양한 후 colony를 계수하였다.

바. 유산균 종균분리 및 동정

유산균은 시료 10 g을 취하여 멸균생리식염수를 이용하여 10배 단계 희석하였으며 MRS agar(Difco)에서 혐기조건으로 24~48시간 배양하였다. MRS agar에서 우윳빛과 연분홍빛의 colony를 유산균을 분리하였고 균들의 동정은 그람 염색을 통하여 양성인 균주들을 대상으로 API 50 CHL Kit(BioMerieux, France)를 이용하여 실시하였다. 분리한 균주를 액체 순수 배양하였으며 이를 각종 기질이 들어있는 ample에서 30°C의 온도에서 24~48시간 혐기 배양하여 기질소비 여부와 산 생성 여부를 측정하여 동정표에 의하여 동정하였다.

사. 그람염색

순수 배양한 균의 colony를 슬라이드 글라스에 열로 고정시킨 뒤, 크리스탈 바이올렛(crystal violet)으로 염색하고 3% 요오드 용액(iodine/potassium iodine)으로 처리한 후, 알코올로 세척하고 사프란인(safranin O)으로 대조염색을 한다. 염색의 결과로 자줏빛이 나는 그람 양성균과 핑크빛의 그람음성균으로 분류하였다.

아. 항균활성 검색

항균활성 검색을 위하여 MRS 액체배지에 분리균주를 접종하고 혐기조건에서 24~48시간 배양하였으며, 배양액 5 mL를 취하여 멸균된 test tube에 옮긴 후 원심분리(12,000 rpm, 4°C, 5분) 한 후 상층액 1 mL를 조심스럽게 취하였다. 항균활성은 멸균된 agar 배지를 적당히 식힌 후 예비실험을 통해 결정된 O.D.값을 사용하여 indicator 균주 배양액을 각각의 O.D.값이 되도록 키운 다음 페트리 디쉬에 100 μ L씩 분주하여 굳힌 후 건조를 위하여 37°C에서 1시간 배양하였다. 건조된 indicator plate에 8 mm의 blank disc를 얹은 후 추출한 상층액을 60 μ L 점적하여 indicator 균주의 생육 적정온도에서 12~24시간 배양 후 투명 환의 형성 여부를 판단하여 항균활성을 검색하였다.

자. 통계처리

실험결과는 SPSS 18.0을 이용하여 평균값(mean) \pm 표준편차(standard deviation)로 표시하였고, 분산분석법(ANOVA)를 이용하여 Duncan법으로 $p < 0.05$ 수준에서 평균간 유의성을 검정하였다.

3. 젓갈의 표준화에 따른 실험결과

가. 멸치젓의 표준화 설계

(1) 미생물학적 품질

Kim 등이 연구, 보고한 시판 멸치젓의 주요 미생물은 *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp.*로 나타났고 그 수는 *Staphylococcus sp.*가 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL, *streptococcus sp.*는 $10^2 \sim 10^4$ CFU/mL, *Enterococcus sp.*는 $0 \sim 10^4$ CFU/mL로 총 균수는 $10^3 \sim 10^5$ CFU/mL로 나타났다고 하였다. 오광수가 보고한 연구에서는 저장기간이 경과함에 따라 호기성 및 혐기성 세균 모두 감소하는 경향을 보였다고 하였다.

(2) pH

Jang 등과 Kim 등이 연구, 보고한 시판 멸치젓의 pH는 5.33~6.28로 제품마다 다양하게 나타났으며, 모두 일본국립민족학박물관 연구보고서에서 보고된 바 있는 pH 5.3~6.7의 범위에 포함되었다. Cho 등이 연구, 보고한 18개월 동안 20°C로 숙성한 멸치액젓의 pH의 변화는 서서히 감소하여 초기 5.85에서 5.38로 모두 섭취 가능한 수치로 나타났다.

(3) 아미노태 질소

전통식품 품목별 품질기준의 아미노태질소의 함량은 600mg% 으로, Jang 등이 연구, 보고한 시판 새우젓의 아미노태 질소 함량은 346.47~1166.66mg% 으로 매우 다양하게 나타났고, 이러한 함량차이는 염수타기, 유사액젓의 혼합, 잔사의 반복적인 가공추출물의 회석 등으로 인한 것으로 보인다.

Chang 등이 연구, 보고한 염의 농도, 종류를 달리한 멸치젓의 숙성 중 아미노태 질소 함량의 변화 결과를 보면 식염 농도가 높을수록 아미노태질소의 함량이 적었고 천일염을 쓴 멸치젓에서 함량이 높게 나타난 것으로 보아 천일염이 아미노태 질소의 형성을 촉진시킨다고 하였다.

(4) 휘발성염기질소(VBN)

Jang 등이 연구한 시판 멸치젓의 휘발성 염기 질소 함량은 59.57~225.40mg%로 다양하게 나타났는데, 이는 액젓은 숙성단계를 거쳐 제조되므로 원료어의 선도가 제조원에 따라 다르고 숙성조건 등에 영향을 받기 때문에 일정하지 않을 뿐 아니라 가공 중 액젓의 회석 및 자숙처리로 인한 휘발성 염기성분의 소실 등이 주요한 요인일 것이라 생각된다고 하였다.

Cho 등이 연구, 보고한 18개월 동안 20°C로 숙성한 멸치액젓의 휘발성염기질소 함량은 숙성

기간이 길어짐에 따라서 점차 증가하여, 18개월 후에는 302.3mg%까지 나타내었고 조단백질 함량도 비례 증가하여 합질소 화합물의 증가를 의미하였다.

(5) 멸치젓의 숙성 중 미생물 탐색

Kim 등이 저자한 ‘한국의 젓갈’에서는 멸치젓의 숙성 1개월 전후에서는 *Pseudomonas*, *Halobacterium*이, 2개월경에는 총균수, *Pediococcus*, *Sarcina*등이 왕성하게 자라며, 2,5개월 이후에는 효모의 생육이 왕성한 것으로 알려져 있다고 하였다.

또한, 숙성이 진행됨에 따라 일부 미생물은 사멸하여 없어지기도 하나 *Halobacterium cutrubrum*, *Micrococcus Morrhuae*, *Sarcino litoralis*, *Pediococcus cereviniae* 등은 숙성발효의 전 기간에 걸쳐 증식 또는 잔존한다는 보고도 있다고 하였다.

그러나 Kim 등이 보고한 연구에서는 *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp.*가 우세한 균으로 나타났고, 오광수가 보고한 연구에서는 *Micrococcus*속, *Bacillus*속 및 *Vibrio*속 등이 우세균으로 나타나 멸치젓의 미생물 탐색에 관한 연구가 활발히 이루어져야 할 것으로 나타났다.

나. 시판 새우젓, 염 농도를 달리하여 숙성한 새우젓의 표준화 설계 자료

(1) 총 균, 젖산균, 효모 및 곰팡이 수

Cho 등이 연구, 보고한 시판 새우젓의 미생물 수는 총균수가 $10^2 \sim 10^4$ CFU/g, 젖산균은 $10^1 \sim 10^3$ CFU/g 정도로 낮은 미생물 농도를 나타냈으며 효모 및 곰팡이는 몇 개의 제품에서만 검출되었다. Mok 등은 식염 농도를 3~30%로 달리하여 새우를 숙성하면서 미생물의 변화를 조사하였는데, 3, 8, 30%에서 세균과 효모는 발효기간에 따라 감소하는 경향을 보였으나 18% 식염 농도에서는 초기수준을 유지하거나 증가하는 경향을 보여 새우젓 숙성에 관련된 미생물 생육에 가장 적합한 환경을 제공하는 것으로 나타났다.

(2) pH

시판 새우젓의 pH를 측정한 결과, 7.97~8.97로 합격품은 8.2~8.5의 범위 내에 모두 포함되었고 관능검사와의 상관계수는 0.1645로 낮게 나타나 품질 평가 기준으로 설정하기에는 무리가 있는 것으로 생각된다고 Lee 등은 보고하였다. 일반적인 젓갈의 경우 일반적인 pH는 5.5~6.5이나 게, 새우 등 갑각류의 젓은 아민 때문에 pH값이 다소 높은 편이라고 알려져 있다. Cho 등은 식염 농도를 달리하여 새우젓의 숙성 중 pH변화를 조사하였는데 숙성 중 새우젓의 pH는 8.16~8.72로 앞의 Lee 등이 조사, 연구한 내용과 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. Cho 등의 연구에서 8%의 저염 조건의 새우젓은 발효가 진행되면서 pH가 계속 감소하였으나, 18 및 28%의 새우젓은 숙성 초기에는 소폭으로 감소한 뒤, 숙성이 계속 진행되면서 pH가 증가하였다고 보고했다. 새우젓의 pH는 숙성 초기에는 약간 감소하다가 숙성이 진행되면서 서서히 증가하는 것으로 보고된 바 있는데, 8%의 식염농도로 제조한 새우젓의 경우는 pH가 계속 감소하여 8 밑으로 떨어져 숙성이 아닌 부패의 단계로 접어든 것으로 판단된다. 따라서 8%와 같은 낮은 식염 농도의 조건의 새우젓은 부적합한 것으로 판단된다.

(3) 아미노태 질소

Lee 등이 연구, 보고한 시판 새우젓의 아미노태 질소의 함량은 30~265 mg%로 다양하게 나타났다으며, 30.24 mg%의 제품은 숙성이 거의 일어나지 않은 상태로 판단되었다. 관능검사와 비교해보면 합격품의 경우 아미노태 질소의 함량이 154~291mg%로 아미노태 질소의 함량이 높을수록 관능검사 결과도 높았고 관능검사 결과와의 상관계수가 0.9138로 가장 높게 나타나 제품의 품질평가에 가장 적합한 실험 항목으로 사료된다고 하였다. 일반적으로 식염 농도가 낮을수록 초기 증가속도가 높으며, 염도가 낮을수록 아미노태 질소 함량은 높은 값을 나타낸다고 알려져 있는데 Mok 등의 연구보고에서도 식염 농도가 낮을수록 초기 증가율이 높았으

며, 발효기간 전반에 걸쳐 낮은 식염 농도에서 높은 값을 보였다고하였다.

(4) 휘발성염기질소(VBN)

Lee 등이 조사, 연구한 시판 새우젓의 휘발성 염기 질소 함량은 15~68mg%로 불합격품 시료의 휘발성 염기질소의 함량이 가장 낮게 나타났다고 하였으며 합격품은 휘발성 염기질소 함량이 25mg% 이상으로 함량이 많을수록 기호도가 높았다고 하였다. 새우젓에서의 휘발성 염기 질소의 함량도 아미노태 질소의 함량과 마찬가지로 관능검사 결과와 높은 상관관계(0.7607)가 있는 것으로 제품의 품질평가에 적합한 것으로 판단이 되었다고 하였다. Cho 등의 연구에서는 식염 농도가 낮을수록 휘발성 염기질소의 함량이 급격히 증가한다고 하였으며, 식염 농도가 낮은 8%와 같은 새우젓에서는 숙성 초기에 급격한 증가가 일어났는데 이는 숙성이 아닌 부패로 사료된다고 하였다. 이로 보아, 저염 조건은 숙성 초기에 휘발성 염기질소의 함량을 급격히 증가시켜 식염 농도 조건에 걸맞지 않는 것으로 판단된다. 이와 반대로 식염 농도 18%의 새우젓은 숙성 30일 이후부터 완만히 증가한 후 감소하여 낮은 값을 나타내었으며, 28% 식염 농도의 새우젓은 숙성 기간 전반에 걸쳐 낮은 값을 나타내 안정적인 식염 농도로써 사료된다.

(5) 새우젓의 숙성 중 미생물 탐색

이경행 등은 새우젓의 숙성 초기에는 *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Micrococcus denitrificans* 같은 해양세균이 분리된다고 하였고, 김영명 외 등이 저자한 '한국의 젓갈'에서는 숙성 초기에는 *Achromobacter aquamarinus*, *Pseudomonas halestoraga*, *Micrococcus halodenitrificans* 등의 해양유래 저염세균들은 숙성 1~2개월을 전후하여 점차 사라지는 경향을 보인다고 하여 동일한 내용을 나타내었다. 6주 이후부터는 이들 세균이 거의 분리되지 않는 반면 호염성세균인 *Halobacterium*, *Pediococcus*, *Sarcina*, *Micrococcus morrhuae* 및 효모류인 *Saccharomyces spp.* 와 *Torulopsis spp.*가 우세하게 나타나는 것으로 알려져 있다고 이경행 외 등은 보고하였고 김영명 외 등이 저자한 '한국의 젓갈'에서는 숙성 중기부터는 *Pediococcus*, *Halobacterium* 등 호염성 세균 및 *Saccharomyces*, *Tolulopsis* 등 효모류들의 번식이 모두 왕성해진 후 서서히 세력이 약화되나 숙성 전 기간에 걸쳐 생육 검출되며, 향미가 양호한 시점에서의 세력이 우세한 미생물들은 *Pediococcus*, *Halobacterium*, *Saccharomyces* 및 *Toluopsis* 등으로 알려져 있다고 하였다.

이를 종합해본 결과, 숙성 적기의 새우젓의 미생물은 *Pediococcus*, *Halobacterium*, *Saccharomyces spp.*, *Toluopsis spp.*, *Micrococcus morrhuae*, *Sarcina* 라고 판단되었다.

다. 오징어, 창난젓갈의 표준화 설계

(1) 오징어, 창난젓갈의 발효숙성 중 종균 분리

8℃에서 숙성하면서 숙성 적기에 도달한 식염 농도 2%, 6%, 10%의 오징어 젓갈과 창난 젓갈을 10진 희석하여 양념젓갈의 종균으로 알려져 있는 *Bacillus spp*, *yeast*, 유산균을 목표로 하여 각각의 선택배지에 분주하여 각각의 최적온도에서 24~48시간 배양한 뒤, 관찰한 결과 *bacillus spp*와 *yeast*는 관찰되지 않았다. 유산균은 10⁸까지 관찰되어 숙성 적기 젓갈의 종균은 유산균으로 판단되었다. MRS agar에서 우윳빛, 연분홍빛으로 형성된 colony를 크기와 형태를 광학현미경으로 관찰한 뒤, 형태학적으로 분류하였다. 분리한 colony에 대해 그람 염색을 실시한 결과 그람양성으로 나온 균들에 대해 API 50 CHL kit를 통한 분리균주의 대사능 실험 결과 *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*와 90%가 넘는 높은 유사성을 나타내어 숙성 적기의 오징어 젓갈과 창난젓갈의 우점종은 *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*로 관찰되었다.

(2) 오징어와 창난젓갈의 발효숙성 적기 종균의 항균활성 검색

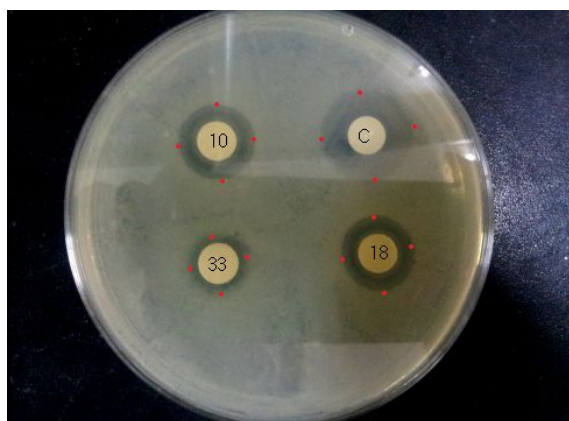
8℃에서 숙성하면서 숙성 적기에 도달한 오징어와 창난젓갈의 종균들을 대상으로 병원성 미생물에 대해 항균활성을 실험한 결과는 Table 2와 같다. 항균 활성을 띤 유산균은 *Pediococcus pentosaceus*와 *Lactobacillus brevis*로 이 유산균들은 일반적으로 젖산과 아세트산과 같은 유기산, 과산화수소 그리고 bacteriocin과 같은 항균성물질 등 다양한 대사물질을 생산하여 장내부패균 및 유해한 병원성 세균의 생육을 저해하고 있는 것으로 알려져 있다.(12) 또한, 식품첨가물로서 미국식품의약품안전청(USA Food and Drug Administration)의 승인을 받은 GRAS(generally recognized as safe)균주이며,(13) 대조구로 사용된 citric acid는 병원성 세균에 항균물질로 알려져 있는 물질(14)로 3%의 농도로 희석하여 사용하였다. *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *E. coli*, *Salmonella typhi*. 총 5가지의 병원성세균에 대해 *Pediococcus pentosaceus*와 *Lactobacillus brevis*균주의 항균활성 검색을 한 결과, *S. aureus*, *B. cereus*, *Salmonella typhi*에 대해 항균활성을 나타냈다. 특히, *B. cereus*균에 있어서 *Lactobacillus brevis*는 18mm의 높은 clear zone을 나타냈으며 *S. aureus*균에 있어서는 대조구와 같은 16mm의 clear zone을 나타냈다. *Salmonella typhi*균에 있어서는 *Lactobacillus brevis*균은 16mm의 clear zone을 나타내 14mm의 clear zone을 나타낸 대조구와 비교해 더 높은 항균활성을 나타냈다.

*Pediococcus pentosaceus*는 *B. cereus*균과 *S.aureus*균에 대해 6mm의 clear zone을 나타내었으며 *salmonella typhi*.균은 4mm의 clear zone을 나타내어 *Lactobacillus brevis*보다는 낮지만 항균활성을 가지는 것으로 나타났다.

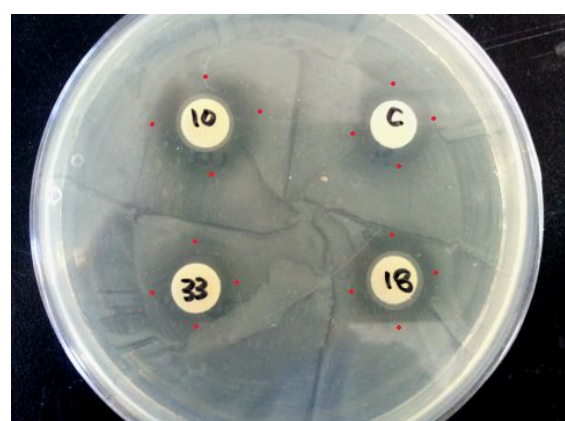
Table 2. Antimicrobial activities of *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus* against pat

Strain	Diameter(mm) of inhibitory clear zone			
	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>B. cereus</i>	<i>L. mon</i>
Citric acid (positive control)	16	14	22	
<i>Lactobacillus brevis</i>	16	14	18	
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	14	12	14	

*Not Detected



B. cereus



S. aureus

C: Citric acid 10, 18: *Lactobacillus brevis* 33: *Pediococcus pentosaceus*

라. 창난 짓갈의 표준화

(1) 창난 짓갈의 발효숙성 중 pH변화

숙성 온도에 따른 창난 짓갈의 pH변화는 Table 3과 같다. 4℃와 8℃에서 숙성한 오징어의 경우 pH가 서서히 감소하였으며, 12℃에서 숙성한 경우는 급격히 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이는 온도가 높을수록 미생물의 활성 증가에 따른 유기산의 증가로 인해 pH가 감소한 것으로 보여진다. 12℃에서 숙성한 창난 짓갈은 숙성 전 6.15에서 숙성 6일차에 5.74, 12일차에 4.87로 관능검사와 병행한 결과, 산패취가 나며 섭취가능하지 않는 것으로 나타났다.

식염 농도를 달리하여 8℃에서 숙성한 창난 짓갈의 pH변화는 Table 4와 같다. 식염 농도 2%의 창난 짓갈은 숙성 전 5.99에서 숙성 12일차에 4.86, 18일차에 4.49로 급격히 감소하였으며, 관능검사와 병행한 결과, 숙성 12일차에는 섭취가능하지 않은 것으로 나타났다. 식염 농도 4%의 창난 짓갈은 숙성 전 5.99에서 숙성 15일차에 5.44, 18일차에 4.88로 산패취가 나며 섭취가능하지 않은 것으로 나타났고, 서서히 감소하다가 숙성 18일차에 급격히 감소하는 것을 볼 수 있었다. 식염 농도 6%의 창난 짓갈은 숙성 전 5.96에서 12일차에 5.84, 18일차에 5.41로 서서히 감소하였으며, 관능검사와 병행한 결과, 숙성 전 구간 섭취 가능했다. 8%와 10% 식염농도의 창난 짓갈은 매우 서서히 감소하여 숙성 18일차까지 큰 변화가 없었다.

Table 3. Changes of pH of salted Alaska Pollack Tripe during fermentation at 4°C, 8°C and 12°C

Temperature	Fermentation days				
	0	3	6	9	
4°C	6.13±0.02 ^{Ba}	6.11±0.01 ^{Aa}	6.04±0.01 ^{Ab}	6.0±0.01 ^{Ac}	5.98
8°C	6.18±0.01 ^{Aa}	6.13±0.03 ^{Ab}	6.04±0.01 ^{Ac}	5.97±0.02 ^{Ad}	5.80
12°C	6.15±0.01 ^{Ca}	5.84±0.02 ^{Bb}	5.74±0.03 ^{Bc}	5.44±0.02 ^{Cd}	4.87

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

Table 4. Changes of pH of the different salinity salted Alaska Pollack Tripe during fermentation

Salt rate	Fermentation days				
	0	3	6	9	12
2%	5.99±0.01 ^{Aa}	5.90±0.01 ^{Cb}	5.87±0.01 ^{Cc}	5.4±0.01 ^{Ed}	4.86±0.01 ^{De}
4%	5.99±0.01 ^{Aa}	5.92±0.01 ^{Bb}	5.87±0.01 ^{Cc}	5.77±0.01 ^{Dd}	5.56±0.01 ^{Ce}
6%	5.96±0.05 ^{Aa}	5.92±0.01 ^{Bbc}	5.88±0.01 ^{CBcd}	5.86±0.02 ^{Cde}	5.84±0.01 ^{Cef}
8%	6.00±0.01 ^{Aa}	5.93±0.01 ^{Bb}	5.89±0.01 ^{Bc}	5.87±0.01 ^{Bd}	5.85±0.01 ^{Be}
10%	5.99±0.01 ^{Aa}	5.98±0.01 ^{Aa}	5.98±0.01 ^{Aa}	5.95±0.01 ^{Ab}	5.94±0.01 ^{Ab}

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

(2) 창난 짓갈의 발효숙성 중 휘발성염기질소(VBN) 함량의 변화

온도를 달리한 창난 짓갈의 숙성 중 휘발성염기질소 함량의 변화는 Table 5과 같다. 4℃와 8℃에서 숙성한 창난 짓갈의 경우, 숙성 전 구간에서 서서히 증가하였으며 휘발성염기질소 함량 또한 별 차이가 없는 것으로 나타났다. 12℃에서 숙성한 창난 짓갈의 경우는 숙성 전 12.4mg%/100g에서 숙성 3일차에 24.54로 급격히 증가하였으나 9일차에 27.37로 서서히 증가하였고 그 이후에 다시 급격히 증가하였다. 12℃에서 숙성한 창난 짓갈은 숙성 12일차에 휘발성염기질소 함량이 37.1mg/100g로 관능검사와 병행한 결과, 산패취가 나며 섭취가능하지 않은 것으로 나타났다.

식염 농도를 달리하여 숙성한 창난 짓갈의 휘발성염기질소 함량 변화는 Table 6와 같다. 모든 식염 농도의 창난 짓갈은 서서히 증가하다가 숙성 12일차에 급격히 증가하는 경향을 보였으나 6%, 8%, 10%의 창난 짓갈은 그 이후에는 서서히 증가하여 숙성 전 구간에서 섭취 가능하였다. 2% 식염 농도의 창난짓갈의 경우, 관능검사와 병행한 결과, 숙성 12일차에 35.29mg%/100g 으로 산패취가 나며 섭취가능하지 않은 것으로 나타났다. 4%의 식염 농도의 창난 짓갈은 숙성 15일차에 36mg%/100g으로 산패취가 나며, 섭취가능하지 않은 것으로 나타났다.

Table 5. Changes of volatile basic nitrogen(VBN) of salted Alaska Pollack Tripe during fermentation for 15 days

Temperature	Fermentation days				
	0	3	6	9	
4°C	12.2±0.58 ^{A_c}	15.53±0.55 ^{B_b}	16.96±0.76 ^{B_b}	16.65±0.60 ^{B_b}	17.02
8°C	12.5±0.42 ^{A_c}	17.75±1.05 ^{B_b}	17.29±1.21 ^{B_b}	18.24±0.58 ^{B_b}	18.2
12°C	12.4±0.51 ^{A_e}	24.95±2.54 ^{A_d}	26.62±1.96 ^{A_c}	27.37±1.18 ^{A_c}	37.1

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

Table 6. Changes of volatile basic nitrogen(VBN) of the different salinity salted Alaska Pollack 8°C for 18 days

Salt rate	Fermentation days				
	0	3	6	9	12
2%	13.57±0.16 ^{Aa}	14.26±0.39 ^{Aa}	16.91±0.37 ^{Ab}	17.01±0.85 ^{Ab}	35.29±0.77 ^{Ac}
4%	13.25±0.28 ^{Aa}	14.27±0.76 ^{Ab}	15.0±0.52 ^{Bbc}	15.85±0.53 ^{Bc}	27.65±0.62 ^{Bd}
6%	13.34±0.26 ^{Aa}	14.96±0.44 ^{Ab}	15.0±0.43 ^{Bb}	15.38±0.56 ^{Bb}	27.24±0.48 ^{Bc}
8%	13.11±0.27 ^{Aa}	13.98±0.48 ^{Aab}	14.8±0.79 ^{Bb}	14.92±0.22 ^{Bb}	26.15±0.47 ^{Cc}
10%	13.43±0.39 ^{Aa}	14.14±0.79 ^{Aab}	14.64±0.56 ^{Bab}	14.77±0.69 ^{Db}	21.50±0.93 ^{Dc}

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

(3) 창난 짓갈의 발효숙성 중 아미노태 질소(NH₂-N) 함량의 변화

숙성 온도를 달리한 창난 짓갈의 아미노태 질소 함량의 변화는 Table 7와 같다. 일반적으로 아미노태 질소의 함량은 온도가 높을수록 식염 농도가 낮을수록 증가가 빠르게 일어나는 것으로 알려져 있으며, 본 연구에서도 동일하게 나타났다. 모든 온도에서 창난 짓갈의 아미노태 질소 함량은 숙성 3일차에 급격히 증가하는 경향을 보였으며, 4℃와 8℃에서 숙성한 창난 짓갈은 그 이후에 서서히 증가하였으나 12℃에서 숙성한 창난 짓갈은 숙성 9일차부터 빠르게 증가하는 경향을 보였다.

식염 농도를 달리한 창난 짓갈의 아미노태 질소 함량의 변화는 Table 8과 같다. 2%와 4%의 저염 조건의 창난 짓갈의 경우, 아미노태 질소 함량은 숙성 12일차부터 급격히 증가하는 경향을 보였으며, 6% 식염 농도의 창난 짓갈은 15일차까지 4% 식염 농도의 창난 짓갈과 별 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 7. Changes of amino nitrogen(NH₂-N) of salted Alaska Pollack Tripe during fermentation days

Temperature	Fermentation days				
	0	3	6	9	
4°C	30.32±1.09 ^{Ad}	46.52±1.95 ^{Bc}	48.63±0.42 ^{Ab}	50.4±0.33 ^{Ba}	50.28
8°C	30.07±0.48 ^{Ad}	46.52±0.68 ^{Bc}	50.05±2.38 ^{Ab}	50.42±1.45 ^{Bb}	56.22
12°C	30.28±0.74 ^{Af}	48.66±0.62 ^{Ae}	51.13±0.07 ^{Ad}	59.5±0.11 ^{Ac}	69.99

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

Table 8. Changes of amino nitrogen(NH₂-N) of the different salinity salted Alaska Pollack Tri for 18 days

Salt rate	Fermentation days				
	0	3	6	9	12
2%	48.79±0.72 ^{Aa}	53.35±0.81 ^{Ab}	64.67±0.68 ^{Ac}	67.08±0.83 ^{Ad}	78.21±0.75 ^{Ae}
4%	48.96±0.71 ^{Ba}	52.29±0.41 ^{Bb}	61.92±0.61 ^{Bc}	64.31±0.25 ^{Bd}	69.47±0.22 ^{Be}
6%	48.78±0.31 ^{Ca}	49.5±0.22 ^{Da}	54.09±0.51 ^{Bb}	64.28±0.63 ^{Bc}	69.23±0.25 ^{Bd}
8%	48.89±0.66 ^{Ca}	49.66±0.38 ^{Ca}	56.39±0.67 ^{Cb}	59.79±0.82 ^{Cc}	65.64±0.49 ^{Cd}
10%	48.83±0.25 ^{Ca}	49.99±0.30 ^{Eb}	50.45±0.41 ^{Cb}	59.48±0.13 ^{Cc}	65.26±0.56 ^{Cd}

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

(4) 창난젓갈의 발효숙성 중 총 균수, 효모, 대장균 수의 변화

온도를 달리하여 숙성한 창난 젓갈의 총 균수의 변화는 Table 9과 같다. 12℃에서 숙성한 창난젓갈의 경우, 숙성 9일차에 총 균수가 10^7 까지 증가하였고 12일차에는 10^9 까지 급격히 증가하여 부패의 위험이 매우 크게 나타났다. 반면, 4℃와 8℃에서 숙성한 창난젓갈의 경우는 숙성 15일차까지 총 균수가 10^6 까지 자라 비교적 부패의 위험에서 안전한 것으로 나타났다. 효모는 12℃에서 숙성한 창난에서 숙성 후기에 나타나는 것을 확인하였으며, 4℃와 8℃에서 숙성한 창난 젓갈에서는 발견되지 않았다. 대장균은 전 구간 확인되지 않았다.

식염 농도를 달리하여 제조한 창난 젓갈의 숙성 중 총 균수의 변화는 Table 10과 같다. 2%의 저 염 조건으로 제조한 창난 젓갈의 경우 숙성 9일차에 균수가 10^7 까지 증가했고 12일차엔 10^8 까지 나타나 부패의 위험이 매우 크게 나타났으며 4% 식염 농도로 제조한 창난젓갈 역시 숙성 15일차에 10^7 까지 나타나 미생물의 증식이 빠르게 증가하는 것을 볼 수 있었다. 6%, 8%, 10%로 제조한 오징어젓갈의 경우는 숙성 18일차까지 총 균수가 10^6 , 10^5 으로 나타나 비교적 부패의 위험에서 안전한 것으로 나타났다. 효모는 2%, 4%의 식염 농도로 제조한 창난 젓갈에서 숙성 후기에 발견되었으며, 대장균은 전 구간 확인되지 않았다.

Table 9. Changes of total viable cells of salted Alaska Pollack Tripe during fermentation at 4°C

Temperature	Fermentation days				
	0	3	6	9	12
4°C	4.65×10^3	7.5×10^4	1.02×10^5	5.63×10^5	9.0
8°C	4.52×10^3	6.13×10^4	1.16×10^5	7.66×10^5	1.2
12°C	4.63×10^3	1.16×10^6	7.86×10^6	1.16×10^7	1.0

Table 10. Changes of total viable cells of the different salinity salted Alaska Pollack Tripe during 18 days

Salt rate	Fermentation days					
	0	3	6	9	12	
2%	3.6×10^3	4.9×10^5	4.76×10^5	4.8×10^7	3.16×10^8	6.6
4%	3.3×10^3	3.36×10^5	3.33×10^5	3.3×10^6	9.46×10^6	1.8
6%	3.5×10^3	9.53×10^4	1.41×10^4	1.04×10^5	1.26×10^4	3.1
8%	3.7×10^3	6.6×10^4	1.12×10^4	8.43×10^4	6.66×10^4	8.5
10%	3.6×10^3	6.7×10^4	3.1×10^4	8.66×10^4	5.63×10^4	5.1

(5) 창난 젓갈의 발효숙성 중 유산균 수 변화

온도를 달리하여 숙성한 창난 젓갈의 유산균 수의 변화는 Table 11와 같다. 유산균은 젓산발효로 인해 생성되는 젓산으로 병원성미생물과 유해미생물의 생육을 억제하고, 젓갈의 주요 종균으로 알려져 있다. 모든 온도에서 유산균 수는 초기에 급격히 증가한 뒤, 서서히 증가하는 경향을 보였으며 12℃에서 숙성한 창난 젓갈은 숙성 6일차에 유산균의 수가 10^7 까지 증가해 숙성이 매우 빠르게 되는 것으로 판단되었다. 반면, 4℃에서 숙성한 창난 젓갈의 경우는 숙성 15일차까지 유산균의 수가 10^5 까지 증가하지 않아 숙성이 매우 느린 것으로 나타났다.

식염 농도를 달리하여 숙성한 창난젓갈의 유산균 수의 변화는 Table 12과 같다. 2%의 식염농도로 제조한 창난 젓갈은 유산균 수의 증가가 빨라 숙성이 매우 빨리 되는 것으로 판단이 되었고 8%와 10% 식염 농도의 창난 젓갈은 유산균 수의 증가가 매우 느려 숙성이 매우 더딘 것으로 나타났다.

Table 11. Changes of total viable lactic acid bacteria of Squid Jeot-gal during fermentation days

Temperature (°C)	Fermentation (days)				
	0	3	6	9	
4°C	4.2×10^3	3.4×10^4	6.2×10^5	7.4×10^5	1.4
8°C	4.1×10^3	1.0×10^6	3.8×10^6	1.1×10^7	4.1
12°C	4.3×10^3	1.2×10^8	4.5×10^8	6.2×10^8	1.2

Table 12. Changes of total viacells lactic acid bacteria of the different salinity Squid Jeot-g for 18 days

Salinity (%)	Fermentation (days)					
	0	3	6	9	12	
2%	6.43×10^4	1.15×10^8	6.26×10^8	9.53×10^8	1.96×10^9	1.9
4%	6.58×10^4	5.80×10^7	8.8×10^8	9.56×10^8	1.6×10^9	1.5
6%	6.53×10^4	8.56×10^5	5.56×10^6	9.5×10^6	3.96×10^7	8.3
8%	6.62×10^4	5.63×10^5	2.03×10^6	5.73×10^6	9.4×10^6	3.3
10%	6.65×10^4	4.53×10^5	1.91×10^6	4.46×10^6	7.53×10^6	1.0

마. 오징어 젓갈의 표준화

(1) 오징어 젓갈의 발효숙성 중 pH 값의 변화

오징어 젓갈의 숙성 온도에 따른 저장 중 pH의 변화를 조사한 결과는 Table 13와 같다. 숙성 중 오징어젓갈의 pH는 서서히 감소하는 경향을 보였는데 이는 Kim 등이 보고한 젓갈의 숙성 중 온도가 높을수록 미생물의 활성 증가에 따른 유기산의 증가로 인해 pH가 감소하였다고 하였는데, 이는 본 연구와 유사하였다. 4℃에서 숙성한 오징어젓갈의 저장 전 pH가 5.64에서 6일차에 5.50, 12일차에는 5.39, 15일차에는 5.37정도로 서서히 감소하였다. 8℃에서 숙성한 오징어 젓갈은 저장 전 pH는 5.61에서 3일차에 5.64로 4℃에서 숙성한 오징어 젓갈과 유의하지 않았으며 9일차에 5.36, 15일차에 5.06으로 4℃에서 숙성한 오징어 젓갈보다는 다소 빠르지만 서서히 감소하였다. 12℃에서 숙성한 오징어 젓갈은 저장 전 pH가 5.61에서 6일차에 4.88, 12일차에 4.43, 15일차에 4.29로 다른 실험 구에 비해 pH가 급격히 감소하는 경향을 보였다. 12℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우, 숙성 9일차에 이미 부패가 시작되었고, 4℃에서 숙성한 오징어 젓갈은 숙성온도가 낮아 숙성의 속도가 너무 느려 최적 숙성온도는 8℃로 결정하였다.

식염 농도와 숙성 기간에 따른 오징어 젓갈의 8℃숙성 중 pH변화는 Table 14과 같다. 식염 농도 10%, 8%로 숙성한 오징어젓갈의 경우는 18일차까지 감소의 폭이 매우 적었으나 식염 농도 2%, 4%의 저 염 조건에서는 pH 5 이하로 급격히 감소하는 경향을 보였다. 식염 농도에 따른 오징어 젓갈의 pH변화폭은 염도가 높을수록 적었으며, 식염 농도 10%, 8%의 경우는 저장 18일차 까지도 pH가 각각 5.53, 5.41로 안정적이었다. 식염 농도 6%로 숙성한 오징어젓갈의 경우는 숙성 15일차까지 5.33으로 안정적이었으나 18일차에 5.02로 크게 감소하였으나 관능검사에서는 섭취 가능한 것으로 나타났다. 식염농도 2% 오징어젓갈의 경우는 숙성 6일차부터 4.14 으로 크게 감소였고, 식염농도 4%의 오징어 젓갈은 9일차에 4.37로 관능검사에서도 악취가 나며, 조직 감이 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 13. Changes of pH of Squid Jeotgal during fermentation at 4°C, 8°C and 12°C for 15 d

Temperature (°C)	Fermentation (days)				
	0	3	6	9	
4°C	5.65±0.03 ^{Aa}	5.64±0.01 ^{Aa}	5.50±0.03 ^{Bb}	5.48±0.02 ^{Ab}	5.39
8°C	5.61±0.02 ^{Ab}	5.63±0.01 ^{Aa}	5.58±0.01 ^{Ac}	5.36±0.01 ^{Bd}	5.27
12°C	5.61±0.01 ^{Aa}	5.56±0.01 ^{Bb}	4.88±0.01 ^{Cc}	4.63±0.03 ^{Cd}	4.43

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

Table 14. Changes of pH of the different salinity Squid Jeotgal during fermentation at 8°C for

Salinity (%)	Fermentation (days)				
	0	3	6	9	12
2%	5.68±0.01 ^{Aa}	5.15±0.02 ^{Cb}	4.14±0.01 ^{Ed}	4.12±0.01 ^{Ee}	4.10±0.01 ^{Ef}
4%	5.66±0.02 ^{Aa}	5.58±0.01 ^{Bb}	4.47±0.01 ^{Dc}	4.37±0.01 ^{Dd}	4.36±0.01 ^{De}
6%	5.65±0.03 ^{Aa}	5.65±0.02 ^{Aa}	5.56±0.01 ^{Cb}	5.49±0.01 ^{Cc}	5.48±0.01 ^{Cc}
8%	5.67±0.01 ^{Aa}	5.60±0.01 ^{Bb}	5.59±0.01 ^{Bb}	5.59±0.01 ^{Ab}	5.54±0.01 ^{Bc}
10%	5.68±0.01 ^{Aa}	5.63±0.01 ^{Bb}	5.62±0.01 ^{Ab}	5.57±0.01 ^{Bc}	5.57±0.01 ^{Ade}

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

(2) 오징어 젓갈의 발효숙성 중 휘발성 염기질소(VBN)함량의 변화

오징어 젓갈의 숙성 온도에 따른 저장 중 휘발성염기질소 함량변화를 조사한 결과는 Table 15와 같다. 숙성 온도를 다르게 한 오징어젓갈의 휘발성염기질소 함량은 각 온도 구간별로 유의적인 차이를 보였고, 저장 온도가 높을수록 휘발성 염기질소의 양이 증가하는 경향을 보였다. 이는 온도가 상승할수록 미생물에 의한 단백질 및 아미노산의 분해가 빨라져 휘발성 염기질소의 생성량이 증가(7)하기 때문으로 사료된다. 4℃와 8℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우 휘발성염기질소 함량이 매우 서서히 증가하였으며, 숙성 9일차부터 15일차까지는 그 변화가 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 반면, 12℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우 숙성 전 휘발성염기질소 함량 4.39mg/100g 에서 3일차에 16.86mg/100g, 6일차에 26.11mg/100g로 급격한 증가를 보였으며, 숙성 9일차에 32.11mg/100g, 12일차에 37.23mg/100g, 15일차에 42.03mg/100g 로 숙성기간이 경과함에 따라 서서히 증가하였다. Oh 등(8)은 오징어 젓갈 숙성 연구에서 저장온도에 따라 휘발성 염기질소량의 차이가 분명하게 나타났고, 전반적으로 저장온도가 높을수록 휘발성 염기질소의 양이 증가하는 현상을 보였다고 하였는데, 이는 본 실험과 유사하였다.

식염 농도와 숙성 기간에 따른 오징어 젓갈의 8℃숙성 중 휘발성염기질소 함량 변화는 Table 16와 같다. 식염 농도를 다르게 한 오징어젓갈의 휘발성염기질소 함량은 숙성 3일차까지는 각 식염 농도 구간별로 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 숙성 마지막 날인 18일차에는 모든 염도 구간별로 유의적인 차이가 나타났다. 식염 농도 2%와 4%의 저 염 농도의 오징어 젓갈은 숙성 6일차에 26.69mg/100g, 21.63mg/100g로 관능검사에서 가장 숙성이 잘된 것으로 나타났으며, 숙성 15일차에는 식염 농도2% 오징어젓갈 33.67mg/100g, 식염 농도4%는 32.53mg/100g로 관능 검사에서 악취가 나며, 섭취가능하지 않은 것으로 나타났다. 식염농도 6% 오징어 젓갈은 숙성 6일차까지 휘발성 염기질소 함량이 식염농도 8%, 10%의 오징어 젓갈과 유의적인 차이나지 않았으며, 숙성 9일차에 16.75mg/100g로 관능검사와 병행해서 실험한 결과 가장 숙성이 잘 된 것으로 나타났다. 식염농도 8%, 10%의 고염 농도의 오징어 젓갈은 저장 숙성 전 구간에서 휘발성염기질소 함량이 크게 증가하지 않았으며, 숙성 15일차가 되어서야 16.93mg/100g, 15.74mg/100g로 관능검사에서 가장 숙성이 잘 것으로 나타나 숙성기간이 매우 오래 걸리는 현상을 보였다.

Table 15. Changes of volatile basic nitrogen(VBN) of Squid Jeotgal during fermentation at 4

Temperature (°C)	Fermentation (days)				
	0	3	6	9	
4°C	4.25±0.53 ^{Ad}	7.55±0.43 ^{Cc}	10.52±0.47 ^{Cb}	14.16±0.50 ^{Ca}	14.84
8°C	4.39±0.48 ^{Ad}	10.31±0.41 ^{Bc}	12.54±0.42 ^{Bb}	17.49±0.53 ^{Ba}	17.67
12°C	4.30±0.65 ^{Af}	16.86±0.81 ^{Ae}	26.11±0.85 ^{Ad}	32.11±0.65 ^{Ae}	37.23

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

Table 16. Changes of volatile basic nitrogen(VBN) of the different salinity Squid Jeot-gal d 18 days

Salinity (%)	Fermentation (days)				
	0	3	6	9	12
2%	3.80±0.31 ^{Aa}	11.37±0.35 ^{Ab}	26.69±0.66 ^{Ac}	32.64±0.65 ^{Ad}	33.14±1.01 ^{Ad}
4%	3.78±0.25 ^{Aa}	10.95±0.53 ^{Ab}	21.63±0.57 ^{Bc}	31.65±0.74 ^{Bd}	32.81±0.82 ^{Ad}
6%	3.82±0.33 ^{Aa}	11.52±0.27 ^{Ab}	11.73±0.42 ^{Cb}	16.75±0.62 ^{Cc}	16.84±0.53 ^{Bc}
8%	3.84±0.28 ^{Aa}	11.42±0.23 ^{Ab}	11.39±0.07 ^{Cb}	13.68±0.30 ^{Dc}	14.31±0.12 ^{Cd}
10%	3.80±0.26 ^{Aa}	11.36±0.41 ^{Ab}	11.54±0.02 ^{Cb}	13.19±0.13 ^{Dc}	14.02±0.66 ^{Cc}

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

(3) 오징어 젓갈의 발효숙성 중 아미노태 질소(NH₂-N)함량의 변화

오징어 젓갈의 숙성 온도에 따른 저장 중 아미노태 질소의 변화를 조사한 결과는 Table 17와 같다. 아미노태 질소는 발효식품의 숙성도를 판정하는 중요한 성분으로 숙성 온도(4℃, 8℃ 및 12℃)를 다르게 한 오징어젓갈의 아미노태 질소 함량은 Table 6과 같다. 일반적으로 숙성 온도가 높을수록 아미노태 질소의 함량은 높다고 알려져 있는데 이는 본 연구도 동일하게 나타났다. 4℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우 저장 전 아미노태 질소 함량은 31.87mg/100g에서 6일차에 58.60mg/100g, 15일차에 67.14mg/100g로 서서히 증가하는 경향을 보였으며 8℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우 숙성 3일차에 52.30mg/100g으로 4℃에서 숙성한 오징어 젓갈과 유의하지 않았으며 9일차에 62.1mg/100g, 15일차에 70.03mg/100g으로 또한 서서히 증가하는 경향을 보였다. 12℃에서 숙성한 오징어젓갈의 아미노태 질소 함량은 숙성 전 32.17mg/100g, 6일차에 65.59mg/100g, 9일차에 71.81mg/100g, 15일차에 101.36mg/100g로 급격한 증가를 보였으며 VBN함량과 비교 검토해 보았을 때 비례적으로 상승하는 경향을 보였다. 12℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우 숙성 9일차에 아미노태 질소 함량 84.81mg/100g로 매우 빠르게 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

식염 농도와 숙성 기간에 따른 오징어 젓갈의 8℃숙성 중 아미노태 질소 변화는 Table 18과 같다. 식염 농도 2%와 4%의 저염 농도의 오징어젓갈의 아미노태 질소 함량은 숙성 9일차에 83.66mg/100g, 82.61mg/100g로 유의하지 않았으며, 숙성 15일차에 110.65mg/100g, 102.98mg/100g로 급격히 증가하는 경향을 보였다. 이는 가자미식해의 발효에 관여하는 미생물에 대한 연구에서 식염의 농도가 낮을 경우, 단백질 가수분해균의 성장이 왕성해지면서 이들이 암모니아 생성 발효를 일으킨다는 보고 등으로 미루어 본 연구에서도 이러한 균의 성장이 아미노태 질소량을 증가시킨 것으로 추정된다.

식염 농도 6%의 오징어젓갈의 아미노태 질소 함량은 숙성 3일차에 61.18mg/100g, 12차에 69.04mg/100g로 식염 농도 9%의 오징어 젓갈과 유의한 차이를 보이지 않았으며 18일차에 81.22mg/100g로 비교적 서서히 증가하는 경향을 보였다. 식염 농도 8%, 10%의 오징어젓갈의 아미노태 질소 함량은 숙성 3일차에 54.09mg/100g, 59.42mg/100g에서 9일차에 66.50mg/100g, 62.34mg/100g, 18일차에 75.47mg/100g, 71.82mg/100g으로 매우 서서히 증가하였으며 아미노태 질소량은 숙성온도가 높을

수록, 식염 농도는 낮을수록 아미노태 질소량이 증가한다는 내용과 유사한 결과였다.

Table 17. Changes of amino nitrogen(NH₂-N) of Squid Jeotgal during fermentation at 4°C, 8°C, and 12°C.

Temperature (°C)	Fermentation (days)				
	0	3	6	9	
4°C	31.87±1.05 ^{Ad}	53.35±2.37 ^{Bc}	58.60±0.55 ^{Cb}	57.22±0.65 ^{Cb}	67.14
8°C	32.30±0.85 ^{Ad}	52.18±0.18 ^{Bc}	62.85±0.67 ^{Bb}	62.1±0.75 ^{Bb}	71.54
12°C	32.17±0.79 ^{Af}	57.33±0.67 ^{Ae}	65.59±0.56 ^{Ad}	84.81±0.43 ^{Ac}	94.76

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

Table 18. Changes of amino nitrogen(NH₂-N) of the different salinity Squid Jeotgal during days

Salinity (%)	Fermentation (days)				
	0	3	6	9	12
2%	47.65±0.17 ^{Aa}	60.41±0.06 ^{Ab}	80.56±0.92 ^{Ac}	83.66±0.98 ^{Ac}	90.76±0.50 ^{Ad}
4%	47.67±0.19 ^{Aa}	62.61±0.40 ^{Ab}	78.47±0.81 ^{Bc}	82.61±0.61 ^{Ad}	82.16±0.43 ^{Bd}
6%	47.70±0.21 ^{Aa}	61.18±0.59 ^{Ab}	65.10±0.81 ^{Cc}	67.32±0.71 ^{Bd}	69.04±0.98 ^{Ce}
8%	47.66±0.17 ^{Aa}	54.09±0.96 ^{Ab}	63.96±0.67 ^{Cc}	66.50±0.38 ^{Bd}	69.83±0.89 ^{Ce}
10%	47.76±0.03 ^{Aa}	59.42±0.88 ^{Ab}	58.43±0.31 ^{Bb}	62.34±0.76 ^{Cc}	62.66±0.61 ^{De}

Values are mean±SD (n=3).

Different lowercase letters within the same row are significantly different (P<0.05).

Different capital letters within the same column are significantly different (P<0.05).

(4) 오징어 젓갈의 발효숙성 중 총 균수 및 효모, 대장균수 변화

온도를 달리하여 숙성한 오징어젓갈의 숙성 중 총 균수의 변화는 Table19와 같다. 숙성 온도(4℃, 8℃, 12℃)를 젓갈의 총 균수는 숙성 초기에 빠르게 증가하다가 숙성 후기에 서서히 증가하는 경향을 보였다. 4℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우 숙성 전 3.3×10^4 CFU/g에서 숙성 6일차에 3.4×10^6 CFU/g, 12일차에 6.3×10^7 CFU/g, 15일차에 8.8×10^7 CFU/g로 증가하는 추세를 보였고 8℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우 숙성 전 3.6×10^4 CFU/g에서 숙성 6일차에 1.1×10^7 CFU/g, 12일차에 3.1×10^8 CFU/g, 15일차에 3.5×10^9 CFU/g로 4℃에서 숙성한 오징어 젓갈에 비하여 총 균수가 다소 빠르게 증가하였다. 8℃에서 숙성한 오징어 젓갈은 숙성 전 3.7×10^4 CFU/g에서 3일차에 2.4×10^7 CFU/g으로 폭발적으로 증가하였고 6일차에 7.6×10^8 CFU/g, 12일차에 3.1×10^9 CFU/g, 15일차에 3.5×10^{10} CFU/g으로 증가하는 속도가 느려지는 것을 볼 수 있었다.

효모는 당으로부터 알코올을 생성하고 숙성과정에서 유기산과 ester화되어 향기성분을 생성하기도 하지만, 저장·숙성 과정에서 가스를 발생시켜 품질저하의 원인이 되는데 온도를 달리하여 숙성한 오징어젓갈의 숙성 중 효모의 변화는 숙성 초기에는 잘 발견 되지 않았으며 후기에 발견되어 주로 부패에 관여하는 것으로 사료된다. 대장균과 대장균군은 숙성 전 구간에서 발견되지 않았다.

식염 농도를 달리하여 8℃에서 숙성한 오징어젓갈의 숙성 중 총 균수의 변화는 Table 20와 같다. 식염 농도 2%, 4%의 저 염 농도의 총 균수의 변화는 숙성 전 3.42×10^5 CFU/g에서 숙성 6일차에 6.26×10^8 CFU/g, 8.8×10^8 CFU/g로 12일차에 1.99×10^9 CFU/g, $1.61.99 \times 10^9$ CFU/g, 15일차에 $1.051.99 \times 10^9$ CFU/g, $1.291.99 \times 10^9$ CFU/g로 숙성 초기에는 급격히 증가하다가 후기에는 거의 변화가 없는 것으로 나타났다. 식염 농도 6%의 오징어젓갈은 숙성 전 6.53×10^5 CFU/g에서 숙성 6일차에 5.56×10^6 CFU/g, 12일차에 3.96×10^7 CFU/g, 18일차에 9.3×10^7 CFU/g로 서서히 증가하였으며 이는 식염 농도 8%, 10%와 큰 차이가 없었다. 식염 농도 8%, 10%의 총 균수는 숙성 전 6.62×10^5 CFU/g, 6.65×10^5 CFU/g에서 6일차에 2.03×10^6 CFU/g, 1.91×10^6 CFU/g, 15일차에 6.0^7 CFU/g, $3,14^7$ CFU/g로 저 염 농도의 오징어 젓갈과 비교해본 결과, 식염 농도가 높을수록 총 균수의 증가가 느린 것으로 나타났다. 온도를 달리하여 숙성한 오징어젓갈의 숙성 중 효모의 변화는 온도를 달리하여 숙성

한 오징어 젓갈과 같이 숙성 초기에는 잘 발견되지 않고, 숙성 후기에 발견되었으며, 식염 농도가 낮을수록 많이 나타나는 경향을 보였다. 대장균과 대장균군은 숙성 전 구간에서 발견되지 않았다.

Table 19. Changes of total viable cells of Squid Jeotgal during fermentation at 4°C, 8°C and 12°C

Temperature (°C)	Fermentation (days)			
	0	3	6	9
4°C	3.3×10^4	7.7×10^5	3.4×10^6	1.6×10^7
8°C	3.6×10^4	3.6×10^6	1.1×10^7	1.9×10^8
12°C	3.7×10^4	2.4×10^7	7.6×10^8	3.2×10^9

Table 20. Changes of total viable cells of the different salinity Squid Jeotgal during fermentation

Salinity (%)	Fermentation (days)					
	0	3	6	9	12	
2%	3.42×10^5	3.1×10^8	5.93×10^8	9.23×10^8	1.67×10^9	1.5×10^9
4%	3.37×10^5	6.56×10^7	5.76×10^8	9.0×10^8	1.50×10^9	1.2×10^9
6%	3.74×10^5	1.03×10^6	9.4×10^6	1.01×10^7	3.86×10^7	8.2×10^7
8%	3.66×10^5	9.4×10^5	3.53×10^6	8.66×10^6	1.20×10^7	3.2×10^7
10%	3.54×10^5	8.66×10^5	6.06×10^5	1.07×10^6	3.9×10^6	6.3×10^6

(5) 오징어 젓갈의 발효숙성 중 유산균수 변화

숙성 온도(4℃, 8℃, 12℃)를 달리한 오징어 젓갈의 숙성 중 유산균수의 변화는 Table 21와 같다. 오징어 젓갈의 숙성 중 유산균 수는 총 균수와 마찬가지로 숙성 초기에 빠르게 증가하다가 숙성 후기에는 서서히 증가하는 경향을 보였다. 4℃에서 숙성한 오징어 젓갈은 숙성 전 4.2×10^3 CFU/g에서 숙성 6일차에 6.2×10^5 CFU/g, 12일차에 15일차에 4.1×10^6 CFU/g로 8℃에서 숙성한 오징어 젓갈은 숙성 전 4.1×10^3 CFU/g에서 숙성 6일차에 3.8×10^6 CFU/g, 15일차에 3.5×10^8 CFU/g으로 총 균수와 비례하여 증가하는 경향을 나타냈다. 12℃에서 숙성한 오징어젓갈의 유산균 수 또한 총 균수와 비례하여 증가하는 경향을 보였으며 숙성 6일차에 4.5×10^8 CFU/g, 15일차에 1.1×10^{10} CFU/g로 숙성 온도가 높을수록 유산균 수의 증가가 빠른 것으로 나타나 숙성이 매우 빨리 일어나는 것으로 판단되었다.

식염 농도(2%, 4%, 6%, 8%, 10%)를 달리한 오징어젓갈의 숙성 중 유산균수의 변화는 Table 22과 같다. 식염 농도 2%, 4%의 저염 농도 조건의 오징어젓갈의 유산균수는 숙성 3일차에 급격하게 증가하여 그 이후에는 서서히 증가하였고 6%, 8%, 10%의 식염 농도의 오징어젓갈의 비하여 많은 양의 유산균 수가 계측되었다. Morisshita 등은 시중 오징어 젓갈에서 젓산균인 *Lactobacillus farciminis*, *L. plantanum*, *Lactobacillus spp.* 등을 분리하였다고 하여 저염 오징어젓갈 중 젓산균이 우점균이라고 하였는데, 본 연구내용과 경향을 같이하였다. 식염 농도 6%, 8% 및 10%의 오징어 젓갈은 숙성 전 구간 유산균 수가 서서히 증가하는 경향을 보였다.

Table 21. Changes of total viable lactic acid bacteria of Squid Jeotgal during fermentation days

Temperature (°C)	Fermentation (days)				
	0	3	6	9	
4°C	4.2×10^3	3.4×10^4	6.2×10^5	7.4×10^5	1.4
8°C	4.1×10^3	1.0×10^6	3.8×10^6	1.1×10^7	4.1
12°C	4.3×10^3	1.2×10^8	4.5×10^8	6.2×10^8	1.2

Table 22. Changes of total viacells lactic acid bacteria of the different salinity Squid Jeotg for 18 days

Salinity (%)	Fermentation (days)					
	0	3	6	9	12	
2%	6.43×10^4	1.15×10^8	6.26×10^8	9.53×10^8	1.96×10^9	1.9
4%	6.58×10^4	5.80×10^7	8.8×10^8	9.56×10^8	1.6×10^9	1.5
6%	6.53×10^4	8.56×10^5	5.56×10^6	9.5×10^6	3.96×10^7	8.3
8%	6.62×10^4	5.63×10^5	2.03×10^6	5.73×10^6	9.4×10^6	3.3
10%	6.65×10^4	4.53×10^5	1.91×10^6	4.46×10^6	7.53×10^6	1.0

4. 고찰 및 결론

본 실험은 우리나라에서 대표되는 멸치젓, 새우젓, 오징어젓 및 창난젓의 표준화를 확립하기 위하여 여러 환경을 다르게 하여 숙성적지를 살펴보고 이에 따른 품질변화를 관찰하여 각 젓갈별 표준화를 확립하기 위한 단계이다.

첫째. 멸치 젓갈과 새우젓갈의 경우, 그 발효기간이 적어도 6개월~2년에 이르는 상당히 긴 시간이 필요함에 따라 각지에서 시판되는 젓갈에 대하여 문헌조사 및 데이터를 수집하여 그 최적조건의 시료를 과학화 및 기능성을 규명하였다.

시판되는 멸치젓갈의 경우 적정 pH는 5.33~6.28로 저장기간이 경과함에 따라 호기성 및 혐기성 세균 모두 감소하는 경향을 보였으며, 염 농도가 높을수록 아미노태 질소의 함량이 적었고 천일염을 쓴 멸치젓에서 함량이 높게 나타났으며(천일염이 아미노태 질소의 형성을 촉진시킴), 18개월 20℃로 숙성한 멸치액젓에서 휘발성 염기질소 함량이 가장 적절하였으며 길어질수록 302.3mg%까지 나타나 조단백질 함량 및 합질소 화합물도 증가한 것을 확인할 수 있었다. 멸치젓은 *micrococcus* 속, *Bacillus*속 및 *Vibrio*속 등이 우세균으로 다양하게 나타나 향후, 멸치젓의 미생물 탐색에 관한 연구가 활발히 이루어져야 할 것으로 나타났다.

시판되는 새우젓의 총균 및 호모 곰팡이의 수는 18% 식염 농도에서는 초기수준을 유지하거나 증가하는 경향을 보여 새우젓 숙성에 관련된 미생물 생육에 가장 적합한 환경을 제공하는 것으로 나타났다.

pH의 경우, 7.97~8.97로 일반적인 젓갈의 경우 일반적인 pH는 5.5~6.5이나 게, 새우 등 갑각류의 젓은 아민 때문에 pH값이 다소 높은 편이라 8%와 같은 낮은 식염 농도의 조건의 새우젓은 부적합한 것으로 판단된다. 식염 농도가 낮을수록 아미노태 질소 초기 증가율이 높았으며, 발효기간 전반에 걸쳐 낮은 식염 농도에서 높은 값을 보였으며, 새우젓의 휘발성 염기 질소 함량은 15~68mg%로 불합격품 시료의 휘발성 염기질소의 함량이 가장 낮게 나타났다고 하였으며 합격품은 휘발성 염기질소 함량이 25mg% 이상으로 함량이 많을수록 기호도가 높았다. 숙성 적기의 새우젓의 미생물은 *Pediococcus*, *Halobacterium*, *Saccharomyces spp.*, *Toluopsis spp.*, *Micrococcus morrhuae*, *Sarcina*라고 판단된다.

둘째. 숙성온도, 식염 농도를 다르게 하여 오징어젓갈의 숙성적기를 알아보고, 품질변화를 알아보기 위하여 15일에서 18일 동안 이화학 및 미생물 변화를 측정하여 각각의 조건이 오징어젓갈의 숙성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보았다. 숙성 발효 중 pH를 측정한 결과 4℃와 8℃에서 숙성한 오징어 젓갈의 경우는 저장 기간이 증가함에 따라 서서히 감소하는 경향을 보였으며, 12℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우는 숙성 6일차부터 급격히 낮은 수치를 보여 숙성 9일차에는 조직감이 큰 폭으로 떨어지고, 악취가 나 섭취 불가능한 것으로 나타나 숙성 온도로 부적합한 것으로 나타났다. 이는 젓갈의 숙성 중 온도가 높을수록 미생물의 활성 증가에 따른 유기산의 증가로 인한결과로 사료된다. VBN함량은 저장기간이 증가함에 따라 서서히 증가하였으며 4℃와 8℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우에는 숙성 9일차에서 15일차까지 VBN함량의 변화가 거의 없었으나 12℃에서 숙성한 오징어 젓갈은 숙성 12일차에 37.23mg/100g의 함량을 나타내어 부패의 속도가 빠른 것으로 나타났다.

아미노태 질소함량, TBA가, 총 균수 또한 4℃와 8℃에서 숙성한 오징어젓갈의 경우에는 숙성기간이 증가함에 따라 서서히 증가하였으며 12℃에서 숙성한 오징어젓갈은 숙성 전 구간에서 급격히 증가하는 것으로 나타났다. 이와 같이 12℃와 같은 냉장온도보다 높은 고온에서의 숙성은 젓갈의 품질을 급속히 저하시키기 때문에 저온에서 이루어져야 될 것으로 판단되었다. 반면에, 4℃에서의 숙성은 숙성속도가 지나치게 더디게 진행되어 장기간 숙성을 행해야 한다는 문제점 때문에 오징어 젓갈의 최적온도는 8℃인 것으로 판단하였다.

그리고 8℃에서 숙성한 오징어 젓갈은 이화학적, 미생물적, 관능적인 모든 실험의 결과 9일차에서 12일차를 숙성 적정기간으로 판단하였다. 식염 농도를 2%, 4%로 한 저염 조건의 오징어젓갈의 발효숙성 중 pH의 변화는 숙성 초기부터 매우 급격하게 감소하였으며 6%, 8%, 10% 식염 농도 오징어젓갈의 경우는 서서히 감소하는 경향을 나타냈다. VBN과 아미노태질소의 함량 또한 2%, 4% 식염 농도의 오징어젓갈의 경우 빠르게 증가하여 금방 부패하는 경향이 있었으나 6%, 8%, 10% 식염 농도의 오징어 젓갈의 경우는 서서히 증가하는 경향을 나타냈다.

Kim 등은 육단백질을 분해하는 자가분해효소를 비롯한 각종 미생물들은 염의 농도가 높으면 그들의 분해 능력이 떨어지게 되고 분해 작용도 저해를 받는다고 하였는데 이 때문인 것으로 사료된다.

TBA가는 식염 농도를 달리한 오징어젓갈의 숙성 과정에서 유의한 차이를 나타나

지 않았으며, 총 균수와 유산균 수는 염도가 높을수록 서서히 증가하는 것을 볼 수 있었다. 관능 면에서는 4%와 6% 식염 농도의 오징어 젓갈이 가장 높은 점수를 받았으나 4% 식염농도의 오징어 젓갈은 부패가 빨리 일어난다는 점에서 6% 식염 농도를 오징어젓갈의 최적 식염 농도로 판단하였다.

셋째, 창난젓갈의 경우도 오징어 젓갈과 마찬가지로 발효 중 pH를 측정된 결과 4℃와 8℃에서 숙성한 오징어 젓갈의 경우는 저장 기간이 증가함에 따라 서서히 감소하는 경향을 보였으며, 12℃에서 숙성한 창난젓갈의 경우는 숙성 6일차부터 급격히 낮은 수치를 보여 숙성 12일차에는 원내가 나며, 조직감이 떨어지고 섭취 불가능한 것으로 나타나 숙성 온도로 부적합한 것으로 나타났다. VBN함량은 4℃와 8℃에서 숙성한 창난 젓갈의 경우, 저장기간이 증가함에 따라 서서히 증가하였으며 4℃와 8℃에서 숙성한 VBN함량이 유의한 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. 12℃에서 숙성한 창난 젓갈은 12일차에 휘발성염기질소 함량이 37.1mg/100g로 다른 시료에 비해 부패의 위험 가능성이 높은 것으로 나타났다. 아미노태 질소함량, TBA가, 총 균수 또한 4℃와 8℃에서 숙성한 창난 젓갈의 경우에는 숙성기간이 증가함에 따라 서서히 증가하였으며 12℃에서 숙성한 창난 젓갈은 숙성 전 구간에서 급격히 증가하는 것으로 나타났다. 이와 같이 12℃와 같은 냉장온도보다 높은 고온에서의 숙성은 젓갈의 품질을 급속히 저하시키기 때문에 숙성은 4℃와 8℃저온에서 이루어져야 될 것으로 판단되었다. 반면에, 4℃에서의 숙성은 숙성속도가 지나치게 더디게 진행되어 장기간 숙성을 행해야 한다는 문제점 때문에 창난 젓갈의 최적온도는 8℃인 것으로 판단하였다. 그리고 8℃에서 숙성한 창난 젓갈은 이화학적, 미생물적, 관능적인 모든 실험의 결과 9일차에서 12일차를 숙성 적정기간으로 판단하였다. 식염 농도를 2%, 4%로 한 저염 조건의 창난 젓갈의 발효숙성 중 pH의 변화는 숙성 초기부터 매우 급격하게 감소하였으며 6%, 8%, 10% 식염 농도 창난 젓갈의 경우는 서서히 감소하는 경향을 나타냈다. VBN과 아미노태질소의 함량 또한 2%, 4% 식염 농도의 오징어젓갈의 경우 빠르게 증가하여 부패의 위험성이 컸으나, 6% 8%, 10% 식염 농도의 창난 젓갈의 경우는 서서히 증가하는 경향을 나타냈다. TBA는 식염 농도를 달리한 창난 젓갈의 숙성 과정에서 유의한 차이를 나타나지 않았으며, 총 균수와 유산균 수는 염도가 높을수록 서서히 증가하는 것을 볼 수 있었다. 관능 면에서도 6% 식염 농도의 창난 젓갈이 가장 높은 점수를 받아 6%

식염 농도가 가장 적당한 것으로 판단하였다.

정리해볼 때, 식염 농도를 2%, 4%, 6%, 8% 및 10%로 다르게 하여 제조한 오징어 젓의 숙성 적기를 알아보고, 품질변화를 알아보기 위하여 18일 동안 이화학 및 미생물 변화를 측정하여 각각의 조건이 오징어젓갈의 숙성에 어떠한 영향을 미치는지 살펴 본 결과, 식염 농도를 2% 및 4%로 제조한 젓의 발효숙성 중 pH변화는 숙성 초기부터 매우 급격하게 감소하여 숙성 6일차에 이미 4이하로 급격히 감소하였고, 6%, 8% 및 10%로 제조한 경우는 숙성 18일차까지 pH5를 이상으로 나타나 염도가 높을수록 pH의 변화폭이 적은 것을 확인할 수 있었다. 숙성 중 휘발성염기질소의 변화는 pH와 비슷한 경향을 나타내어 2% 및 4%로 제조한 오징어젓은 숙성 9일차에 30mg%를 넘어섰고 관능검사와 병행한 결과, 9일차에 신미와 신미취가 발생하여 섭취하기 부적합한 것으로 나타났다. 아미노태 질소의 변화는 염도가 높을수록 함량의 증가가 빠르게 나타났고 지질의 산패도를 측정하는 척도인 TBA가는 염도의 변화가 크게 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 숙성 중 세균수의 수는 2% 및 4%로 제조한 오징어젓은 숙성 3일차에 10^8 을 넘어서 부패에 대한 위험이 매우 큰 것으로 나타났고, 6%, 8% 및 10%로 제조한 경우에는 숙성 18일까지 10^8 이하로 나타나는 것을 확인 할 수 있었다. 숙성 중 오징어젓의 우점종은 유산균으로 확인되었으며, 유산균의 증가는 세균 수 변화와 매우 비슷한 경향을 나타내었다.

앞선 결과를 정리해 볼 때, 식염 농도를 2%, 4%, 6%, 8% 및 10%로 다르게 하여 제조한 창난 젓을 18일 동안 숙성하여 품질변화를 알아보기 위하여 이화학 및 미생물 변화를 측정한 결과는 다음과 같다. 숙성 중 pH의 변화를 알아본 결과, 2%로 제조한 창난 젓의 경우는 숙성 12일차에, %로 제조한 창난 젓은 숙성 18일차에 pH5이하로 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 관능검사 결과 신미가 나며 섭취가 부적합한 것으로 나타났다. 6%, 8%, 및 10%로 제조한 창난 젓의 휘발성 염기질소 함량은 서서히 증가하였으며 숙성 18일 동안 그 함량이 크지 않은 것으로 나타났고 식염 농도 2%와 4%로 제조한 경우에는 각각 12일, 15일차에 함량이 30mg%를 크게 넘어섰고 관능검사 결과, 신미가나며 섭취가 부적합한 것으로 나타났다. TBA가와 아미노태질소 함량은 오징어젓과 동일한 결과를 나타내었다. 세균 수는 2% 및 4%로 제조한 경우 증식이 매우 빨라 부패의 위험이 큰 것으로 나타났고 유산균 또

한 저염 조건에서 더욱 빠르게 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

따라서 2% 및 4% 식염 농도로 제조한 오징어젓, 창난 젓의 경우는 세균의 번식, 휘발성염기질소함량, pH의 변화가 숙성 초기에 빠르게 증가하여 부적합한 것으로 나타났다. 식염 농도 6%로 제조한 오징어젓, 창난 젓은 이화학 및 미생물 실험결과, 숙성 18일차까지 수치가 양호하게 나타났고 관능검사 면에서도 제일 높은 점수를 받아 6%를 가장 적합한 식염 농도로 설정하였다.

이경행 등이 보고한 시판젓갈의 염도는 평균 7.84로 나타났고, 6%이하의 염도로 제조한 양념젓갈의 관한 연구 자료는 현재까지 거의 보고되지 않았다. 젓갈이 염도가 높은 식품이란 인식이 많은데 6%의 식염농도로 제조한 오징어 젓갈은 50g섭취 시, 3g의 나트륨의 섭취를 하게 되며 이 섭취량은 WHO의 나트륨 권장량의 절반에 지나지 않는다. 이에 따라 본 연구에서 결정된 6% 저염 젓갈은 사람들의 인식 개선을 할 수 있을 것으로 생각된다.

오징어 젓갈 및 창난 젓갈의 종균 및 항균활성 탐색 결과 숙성적기의 오징어 젓갈과 창난젓갈의 종균은 유산균으로 나타났으며, API 50 CHL Kit로 동정한 결과, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*으로 나타났다. 식염 농도가 낮을수록 유산균의 수는 많이 나타났으나 낮은 식염 농도의 젓갈의 경우는 다른 잡균의 오염도 그만큼 많이 나타남을 확인할 수 있었다. 이 종균들을 대상으로 Paper disc test를 실시해 항균활성을 알아 본 결과, *Lactobacillus brevis*와 *Pediococcus pentosaceus*가 *B. cereus*와 *Salmonella typhi.*, *S. aureus*의 병원성 세균에 항균활성을 나타냈다. 특히, *Lactobacillus brevis*의 항균활성이 높게 나타났고, *Salmonella typhi.*, *S. aureus*균에 대해서는 대조구인 citric acid에 비교해도 뒤지지 않는 항균활성을 나타내 그 기능성을 입증하였다.

Lactobacillus, *Lactococcus*, *Leuconostoc* 그리고 *Pediococcus*와 같은 유산균은 대부분 식품첨가물로서 미국식품의약품안전청(USA Food and Drug Administration)의 승인을 받은 GRAS (generally recognized as safe)균주이다. 이들 유산균이 생산하는 1차 대사산물인 과산화수소와 유기산 등이 병원균의 생육을 억제하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 대부분의 유산균은 다양한 bacteriocin 항균물질을 생산하여 장내 부패균 및 유해한 병원성 세균의 생육을 저해하고 있는 것으로 알려져

있다.

Bacteriocin이란 미생물이 생산하는 천연의 무독성 방부제로 단백질 또는 단백질과 탄수화물의 복합체로 구성 되어 있는 항균성단백질이다. 단백질로 구성되어 있기 때문에 인체에 섭취되면 소화기관의 단백질 가수 분해 효소에 의해 분해됨으로써, 인체에 무독하고 잔류성이 없다는 점에서 식품 등에서의 천연 방부제로서 효용성이 증대되고 있다.

본 연구에서 양념젓갈의 우점종은 유산균으로 나타났는데, 그 중 항균활성을 가지는 균주는 *Pediococcus pentosaceus*와 *Leuconostoc mesenteroides*로 나타났다. *Pediococcus*속 균주 중 *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* 및 *P. parvulus* 등이 *Pediocin*을 생산하며, *Leuconostocmesenteroides*는 *mesentericon*의 bacteriocin을 생성하는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서 *S.aureus*, *salmonella*, *B.cereus*에 대해 항균활성을 나타낸 것은 유산균이 분비하는 bacteriocin에 의한 것으로 사료된다.

5. 참고문헌

1. 조영제, 임영선, 박희열, 최영준. 2000. 숙성기간에 따른 멸치액젓의 성분변화. J. Korean Fish. Soc. 33(1), 9~15
2. 장백경, 이혜수. 1986. 멸치젓에 사용한 염의 종류와 농도가 지질의 산화와 맛성분에 미치는 영향. Korean J. Soc.. Food Sci. Col 2. No. 1. August.
3. 김재현, 류기형, 안현주, 이경행, 이현자. 변명우. 2000. 시판 멸치액젓의 품질평가 방법에 관한 연구. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr, 29(5), 837~842.
4. 오광수. 1995. 멸치액젓의 품질 비교 및 품질 지표성분에 관한 연구. Korean J. Food. Sci. Technol Vol. 27, No 4, 487~494.
5. 조희숙, 김경희. 새우젓 발효 중 이화학적 특성 및 색도 변화. 2010. J. East Asian Soc Dietary Life. 20(1): 69~76.
6. 이경행, 김재훈, 차보숙, 김정옥, 변명우. 1999. 시판 젓갈류의 품질평가 방법에 관한 연구. Konean J. Food Sci. Technol Val. 31, No. 6, 1427~1433.
7. 목철균, 이주연, 송기태, 김선영, 임상빈, 우건조. 2000. 염농도를 달리한 새우젓 발효중 이화학적 특성 변화. Korean J. Food Sci. Techonol. Vol 32.. No. 1, 187-191.
8. 목철균, 이주연. 박종현. 염농도를 달리한 새우젓 발효 중 미생물 변화. 2000. Korean J. Food Sci. Technol. Vol. 32, No. 2, 444-447.
9. Lee K.H. Kim J.H, Cha B.S, Kim J.O, Byun M.w (1999) Quality Evaluation of Commercial Salted and Fermented Seafoods. *Kor J Food Sci Technol* 31: 1427-1433
10. Kim Y.J, Lee E.H (1989) Studies on the processing of rapid fermented Anchovy prepared with low salt contents by adapted microorganism. Korean fish Soc. 22:363-369.
11. Oh S.C, Cho J.S, Nam H.Y. (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 Technol 16:173~181.
12. Kim Y.M, Jeong Y.M, Hong J.H (1993) Processing conditions for low-salted squid Jeotkal. Bull Korean Fish Soc 26: 312-320.

13. Kim S.Y, Kim J.D, Son J.S, Lee S.K, Park K.J, Park M.S (2011) Biochemical and Molecular Identification of Antibacterial Lactic Acid Bacteria Isolated from KimChi. Korean J. Food SCI. Technol vol43. No.4, 446~452.
14. Park J.H, Kim S.M (2002) Changes in taste compound of low salt fermented pollack tripe during controlled freezing point aging. Korean J. Food SCI. 21:662~668
15. Lee K.G, KIM S.M (2012) Quality Changes in Low-Salted Squid Jeot-gal during Fermentaion and Determination of Shelf-life. Korean J Soc Food Sci Nutr 41(5), 687~694.
16. K.shimada, R. baba. (1932)The relation between the chemical changes and the salt-content in ripening of "Ikashiokara". Bull. Jap. Soc. Fish. 1(6)
17. ouane M, Kim Y.B, Lee C.H (1987). Mictobial characterization of Gajami Sik-hae germentation. Kor.J.Appl Micobiol Bioeng. 15:150~157
18. Oh, J.Y.,Kim, Y.S., Shin, D.H. Change in microoranisms and enzyme activities of low-salted kochujang added with horseradish powder during fermentation. (2005) Korea J. Food Sci Tec. 37. 463-467.
19. Morishita, K. Otasaka, W. yamazaki, K. Kawai (1994) Chemical microbiological characteristecs og commercial "Shiokara". Rep. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 45(3), 100
20. Diep D.B, Godager L, Brede D and Nes I.F(2006) Dataming and chacterization of a novel pediocin-like bacteriocin system from the genome of *Pediococcus pentosaceus* ATCC 25745. Microbiology 152: 1649~1659
21. Cowri, S. and Asit, R. G. (2010) *Pediococcus* spp. - A potential probiotic isolated from Khadi (an Indiam fermented food) and identified by 16S rDNA sequence analysis. Afr. J. Food. Sci. 4, 592-602
22. Kim Y.D, Kim Y.J, Oh S.W, Kang Y.J, Lee Y.C (1999) Antimicrobial Activities of Solvent Extracts from Citrus sudachi Juice and Peel. Korean J. Food SCI. Technol vol31, No6 1613~1618.
23. 김동수, 이현옥, 이성갑, 이성 (2001) 굴 조미 젓갈 제품의 숙성 중 품질 변화에

- 관한 연구, J. Korea Soc. Agric. Cchem. Biotechnol. 44(2)81~87.
24. Lee M.K, Park W.S, Kang K.H (1996) Selective Media for Isolation and Enumeration of Lactic Acid Bacteria from Kimchi. Korea J. Food Sci. Nutr. 25(5). 754~760.
 25. Tuner FW. Paynter WD, Montie EJ, Bessert MW, Struck GM and Olson FC. Use of the 2-thiobarbituric acid reagent to measure rancidity in frozen pork. Food Technol. 8. 1954. 326.
 26. Park K.G, Hei S.R (1986) Effect of the kind and concentration of salt on Oxidation of lipids and on fermentation of Flavor Components in Fermented Anchovies, Korean. j. SOC. Food SCI. vol2.
 27. Shin H.J, Choi H.J, Kim D.W, Ahn C.S, Lee Y.G, Jeong Y.K, Joo W.H (2012) Probiotic Potential of *Pediococcus pentosaceus* BCNU 9070. Journal of Life Science. vol22. No9. 1194~1200.

제 2절. 젓갈의 과학화

1. 젓갈의 아미노산 조성 분석

가. 재료

실험에 사용된 멸치젓갈은 기장특산물영어로조합법인(부산, 기장군)의 발효기간이 12개월 된 시판농도의 멸치젓갈을 사용하였으며, 새우젓갈은 서해수산(충남 보령시)에서 시판 농도의 발효기간 12개월 된 새우젓갈을 실험에 사용하였다.

오징어젓갈 및 창난젓갈의 경우, 최종제품의 염농도가 2%, 4%(시판 중인 젓갈) 농도로, 표준화과정을 거쳐 담은 7일 숙성된 젓갈을 사용하였으며 강릉원주대학교에서 공급받았다.

나. 구성아미노산 분석

구성아미노산은 Lim등의 방법에 따라 시료 0.5g을 정밀히 취하여 시험관에 넣고 6N HCl 5-10ml를 가하여 약 1분간 질소가스로 충전 후 감압밀봉 한 후 110°C의 dry oven에서 2 시간 이상 동안 산 가수분해 시켰다. 실온에서 방냉 후 HCl 제거를 위해 55~58°C water bath에서 감압농축 한 다음, 농축된 시료를 0.02N HCl 10ml로 녹인 후 초음파 용해를 한다.농도에 따라 5~10배 희석한 다음 0.45 μ m syringe filter에 여과 한 시료액을 아미노산자동분석기(L-8900 Hitachi, Japan)로 분석하였다.

다. 유리아미노산 분석

유리 아미노산은 Lim등의 방법에 따라 시료 2g에 70% ethanol 30mL를 넣고 2시간 shake 후 10분간 방치 한 후, 15,000rpm, 15분간 원심분리 상등액을 농축플라스크로 옮긴 후 남은 침전물에 70% ethanol 25ml을 넣고 2시간 shake 후 10분간 방치 한 후 15,000rpm, 15분간 원심분리 상등액을 농축플라스크로 옮기는 과정을 2회 반복하였다. 농축플라스크에 모은 추출액을 진공 농축한 다음 증류수를 사용하여 5~20배로 희석하였다. 이후 0.45 μ m syringe filter에 여과한 후 시료액을 아미노산자동분석기(L-8900 Hitachi, Japan)로 분석하였다.

2. 젓갈의 기능성 규명에 따른 생화학적 분석

(젓갈의 기능성 규명 부분 결과 첨부)

가. 혈청의 생화학적 활성 측정

혈액을 원심 분리하여 얻은 혈청을 아이케이사이언스(주)의 혈청생화학기(Cobas C-111, Rochu)로 AST, ALT, Total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-choelsterol, Triglyceride, Phospholipid를 분석 하였다.

나. 바이오마커 측정

고지혈증 실험의 경우 혈청 및 간장에서 항산화효과를 탐색하였으며, 치매실험에 서는 Acetylcholine concentration, Acetylcholinesterase, Acetylcholinesterase inhibition을 측정하였으며, SD-rat의 brain에서 GABA(gamma-aminobutyric acid)를 분석하였다.

3. 젓갈의 분석에 따른 결과

가. 아미노산 조성 분석

(1) 구성아미노산 함량

아미노산은 화학구조에 따라 여러 형태로 존재하며, 주로 단백질을 구성하고 있는 것과 유리된 형태로 존재한다. 또한 아미노산의 결합 형태에 따라 여러 개가 연결된 펩타이드, 당 또는 지질과 결합되어 있는 복합단백질 등의 형태로도 미량 존재한다. 아미노산은 영양성분 뿐만 아니라 맛 성분에도 기여하는데, 특히 유리아미노산이 핵산관련성분과 함께 생선의 맛에 중요한 역할을 한다. 유리아미노산은 생리활성 물질의 구성 성분일 뿐만 아니라 어류의 정미성분으로 중요하며, 수산물에 있어 아미노산의 증가는 맛을 상승시키는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

구성아미노산 함량에 대한 결과는 Table 23과 같으며, 총 18개의 구성아미노산이 분석되었다. 주요 구성아미노산으로 aspartic acid, glutamic acid, alanine, leucine, Lysine등이 확인되었고, cystine, histidine등의 함량은 낮았다. 주요성분 중에서 가장 높은 함량을 나타낸 glutamic acid는 맛 관련 성분 중 감칠맛을 내는 아미노산으로 오징어젓갈 원재료 및 잔사 추출물에서 45.93, 46.25 %로 나타내었다.

필수아미노산 (EAA: threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine, lysine, arginine)의 총 함량은 57.56%로 새우 ethanol추출물에서 가장 높은 함량을 보였다.

Cystine, methionine과 같이 체내에서 분해중에 sulfur group을 생성함으로써 간장의 해독작용 등을 하는 함황아미노산(SAA:methionine, cystine)함량은 멸치젓갈 및 새우젓갈 모든 군에서 높은 함량을 나타내었다. 또한 뇌의 신경전달 물질의 원료로 사용되는 방향족 아미노산(FRAA:phenylalanine, tyrosine)의 함량은 각 시료별 원재료에서 높은 함량을 보였다. 염 농도의 경우 낮은 함량에서 더 높은 함량을 보이는 것을 확인할 수 있었다.

Table 23. Analysis of amino acid composition of Korean traditional *Jeotgal*(mg/g) .

Amino acid	멸치 젓갈			새우젓갈			오징어 젓갈 (2%)*			오징어젓갈 (4%)			원재료
	원재료	EtOH 추출물	잔사 추출물	원재료	EtOH 추출물	잔사 추출물	원재료	EtOH 추출물	잔사 추출물	원재료	EtOH 추출물	잔사 추출물	
Asp	28.12	1.65	24.44	25.13	4.01	23.95	33.65	0.53	34.00	33.72	0.47	32.47	30.27
Thr	12.92	5.47	10.27	10.51	7.34	9.06	13.18	0.56	12.94	13.35	0.58	13.85	14.52
Ser	12.94	2.49	10.08	10.90	4.64	9.92	15.66	0.69	15.39	15.63	0.84	14.03	17.62
Glu	40.80	11.72	39.55	33.92	9.63	27.40	45.93	0.89	46.25	42.89	1.08	45.49	40.70
Gly	16.61	7.90	18.22	16.42	14.67	14.78	15.06	1.43	14.23	15.54	1.39	14.52	32.33
Ala	21.51	23.21	24.12	18.06	19.28	17.01	21.57	1.34	21.48	22.63	1.51	19.45	22.34
Cys	3.61	9.52	7.64	4.30	0.00	4.28	3.11	0.59	2.76	2.90	0.35	2.40	3.45
Val	11.90	17.75	12.66	9.61	17.60	7.21	7.98	1.53	7.78	8.14	1.58	11.99	12.56
Met	5.44	2.98	4.66	4.55	9.15	3.34	5.86	0.44	6.70	6.11	0.52	7.81	7.26
Ile	9.46	10.05	10.81	7.42	17.08	5.14	7.71	1.16	7.59	7.89	1.18	12.89	11.00
Leu	20.51	15.80	19.63	17.91	38.53	12.43	22.84	2.42	23.10	23.02	2.47	24.71	21.13
Tyr	7.39	1.14	8.89	6.96	2.61	7.71	7.75	0.30	7.94	7.81	0.34	8.29	8.10
Phe	11.33	11.72	10.85	10.98	13.19	9.17	11.91	1.24	11.98	11.80	1.43	12.20	11.29
Lys	21.23	10.97	21.88	19.81	18.32	16.00	21.89	3.10	21.22	22.20	3.55	22.95	17.52
NH3	3.86	11.81	3.19	3.05	4.06	2.22	3.87	1.26	3.77	3.72	1.56	3.57	3.43
His	9.29	4.57	7.19	4.94	3.33	4.01	6.82	0.16	6.73	6.67	0.32	6.96	5.89
Arg	13.42	2.25	8.472	23.53	25.28	18.63	24.36	0.35	23.99	23.98	0.86	23.19	24.64
Pro	12.45	16.87	11.94	14.74	19.75	8.78	16.46	5.03	16.23	15.96	4.26	15.60	20.74

(2) 유리아미노산 함량

젓갈의 유리아미노산 함량은 Table 24 에 나타내었다. 유리아미노산은 생체활성 물질의 구성성분으로 중요할 뿐 아니라 그자체가 특징 있는 맛을 식품에 부여하고 있으며, glycine, alanine, glutamic acid, serine, threonine 등이 주로 단맛과 감칠맛을 내는 정미성분으로 알려져 있다.

Taurine은 근육 및 피로회복, 당뇨병 예방, 신경안정, 고혈압, 고지혈증과 같은 성인병을 예방한다고 알려져 있으며, 면역증강작용, 해독작용 및 각종의 흥분성 조절에 대한 생리적 효과가 있다고 보고되어 있다.

Table 24에서 확인할 수 있듯이 tarurine의 경우 새우 젓갈 원재료에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, 멸치젓갈 새우 젓갈에서 전체적으로 오징어 젓갈 및 창난젓갈보다 유리아미노산 함량이 높게 나타났다.

Table 24. Analysis of free amino acid of Korean traditional *Jeotgal*(mg/g) .

Free amino acid	멸치 젓갈			새우젓갈			오징어 젓갈 (2%)*			오징어젓갈 (4%)			원재료
	원재료	EtOH 추출물	잔사 추출물	원재료	EtOH 추출물	잔사 추출물	원재료	EtOH 추출물	잔사 추출물	원재료	EtOH 추출물	잔사 추출물	
Tau	3.31	2.84	4.55	8.93	12.56	6.97	2.69	0.23	2.46	2.21	0.99	2.02	0.59
PEA	-	-	-	-	-	-	-	0.76	0.00	0.00	0.66	0.00	0.00
Urea	-	0.27	0.00	1.01	0.58	0.70	0.00	13.34	0.00	0.00	0.66	0.00	0.00
Asp	7.90	0.36	13.14	4.29	0.92	4.60	1.75	1.25	1.80	1.64	0.31	1.61	2.20
Thr	4.71	4.93	5.62	3.40	6.72	2.74	0.54	0.24	0.47	0.46	0.51	0.39	0.47
Ser	3.98	1.51	4.71	3.62	3.87	3.26	0.58	0.06	0.53	0.51	0.33	0.51	0.70
Glu	15.318	2.76	25.40	9.43	2.56	11.99	1.64	0.08	1.50	0.96	0.12	0.82	1.13
Sar	0.18	0.06	0.18	0.26	0.11	0.08	0.09	0.00	0.09	0.07	0.10	0.14	0.00
a-AAA	0.62	0.08	0.83	0.68	0.00	0.55	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Gly	3.17	3.44	6.49	9.96	11.08	9.32	0.56	0.06	0.52	0.45	0.21	0.42	0.40
ala	8.35	20.62	13.72	7.14	17.06	4.79	1.75	0.91	1.63	1.40	1.84	1.20	0.72
Cit	4.53	2.94	5.19	0.00	0.43	0.35	0.03	0.00	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00
A-ABA	0.33	3.83	1.85	0.22	0.04	0.19	0.09	0.00	0.07	0.07	0.00	0.00	0.00
Val	5.39	14.67	8.54	4.05	14.51	2.18	0.76	0.53	0.63	0.67	1.32	0.52	0.66
Cys	0.19	0.03	0.77	0.18	0.28	0.15	1.14	0.04	0.99	0.93	0.17	0.87	0.10
Met	1.66	2.55	4.35	2.79	8.21	1.32	0.54	0.03	0.61	0.48	0.65	0.40	0.36
Cysthi	0.18	0.30	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00	0.16	0.00	0.15	0.00	0.00
Ile	4.63	9.06	8.56	3.51	15.19	1.72	0.64	0.41	0.54	0.54	1.15	0.38	0.47

Leu	8.90	15.15	15.34	7.74	35.81	3.54	1.15	1.03	0.95	1.03	2.79	0.66	0.61
Tyr	3.09	2.22	4.64	3.10	3.61	3.78	0.54	0.18	0.43	0.48	0.57	0.33	0.47
Phe	4.26	12.52	7.07	3.85	13.95	2.37	0.76	0.37	0.59	0.71	1.04	0.40	0.50
β-Ala	0.08	0.16	0.20	0.09	0.17	0.06	0.14	0.05	0.24	0.14	0.18	0.20	0.13
β-AIBA	0.12	0.00	0.23	0.05	0.10	0.04	0.07	0.00	0.06	0.08	0.06	0.05	0.00
γ-ABA	0.07	0.12	0.04	0.03	0.09	0.01	0.29	0.12	0.29	0.29	0.40	0.26	0.25
EOHNH2	0.19	0.64	0.14	0.46	1.76	0.23	0.09	0.06	0.03	0.08	0.09	0.00	0.07
NH3	1.08	6.145	1.17	0.41	0.95	0.19	0.29	0.25	0.24	0.26	0.72	0.17	0.25
Hyllys	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Orn	1.22	1.24	4.07	0.42	0.45	0.32	0.08	0.00	0.07	0.08	0.01	0.03	0.01
Lys	9.08	9.74	16.82	9.37	15.41	7.69	0.70	0.01	0.57	0.64	0.19	0.53	0.54
His	3.89	3.02	3.95	1.54	2.61	0.99	0.96	0.03	0.74	0.81	0.23	0.62	0.11
3 Methis	0.11	0.24	0.12	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00
Ans	2.84	0.19	1.33	0.84	0.61	0.41	0.34	0.00	0.16	0.36	0.00	0.00	0.00
Car	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Arg	2.63	1.85	25.19	11.26	2.51	11.26	2.51	0.14	2.27	2.35	1.08	2.06	1.31
Pro	2.00	10.07	14.45	2.59	5.05	2.59	5.05	4.46	4.83	4.06	6.71	3.00	0.57

3. 고찰 및 결론

제 1세부과제인 강릉원주대학교에서 표준화 한 멸치, 새우 및 오징어, 창난젓갈의 원재료, EtOH추출물 및 잔사추출물을 동물실험에 사용하기 전 시료자체의 구성아미노산 및 유리 아미노산을 분석한 결과는 아래와 같다.

1. 구성아미노산의 주요성분 중에서 가장 높은 함량을 나타낸 glutamic acid는 맛 관련 성분 중 감칠맛을 내는 아미노산으로 오징어젓갈 원재료 및 잔사 추출물가장 높았으며, 필수아미노산 (EAA: threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine, lysine, arginine)의 새우 ethanol추출물에서 가장 높은 함량을 보였다.
2. Cystine, methionine과 같이 체내에서 분해 중에 sulfur group을 생성함으로써 간장의 해독작용 등을 하는 황 함유 아미노산(SAA:methionine, cystine)함량은 멸치젓갈 및 새우젓갈 모든군에서 높은 함량을 나타냈다. 방향족 아미노산(FRAA:phenylalanine, tyrosine)의 함량은 각 시료별 원재료에서 높은 함량을 보였으며, 저염 농도에서 더 높은 함량을 보이는 것을 확인할 수 있었다.
3. 유리아미노산의 경우 멸치젓갈 및 새우 젓갈에서 전체적으로 오징어 젓갈 및 창난젓갈보다 함량이 높았다.

4. 참고문헌

1. Kim S. J., Seo H. J., Lee H. M., Yeom J.U., Kim G. H., Jang E. S., Baeg Y. H. and Jeon B. H. 2003. The effect of exercise and taurine supplementation and body weight, blood glucose, insulin and cholesterol levels in streptozotocin induced diabetic rats. Korean J. Exercise Nutr., 7, 257-263.
2. Yoon H. D., Byung H. S. Kim S. B. and park Y. H. 1986. Lipid composition of purple whell and abalone. Bull. Korean Fish. Soc., 19, 446-452.
3. A. O. A. C. 2005. Official methods of analysis of AOAC international 18th ed. AOAC International , Washington, D. C.
4. Folch. J., Lees M. and Sloane stanley G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues J. Biol. Chem., 226, 497-509.
5. Japan. Foods Industy Association. 1984. Method of food analysis . Kouring , Tokyo, Japan. p 491-5089.
6. Ohta, S. 1976. Food seasoning. Saiwaisyobow, Tokyo, Japan, p. 146-187.

제 3절. 젓갈의 기능성 규명검증 및 과학화 검증

1. 고지방 식이로 유발한 고지혈증 및 비만 유도 흰쥐에서 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

가. 시약 및 실험방법

(1) 시약 및 기구

시약 중 thiobarbituric acid, sodium dodecyl sulfate, reduced glutathione, oxidized glutathione, NADPH, Kynuramine, 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoli n-6-sulfonic-acid), Kynuramine, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, Cytochrome C는 Sigma 사로부터 구입하였으며 sulfosalicylic acid, sodium azid는 Katayama사, sodium dihydrogenphosphate, disodium hydrogenphosphate는 Junsei사, malondiald-ialdehyde는 Aldrich사, hydro tyramine은 Fluka사, Dosium octan sulfonic acid는 Acros사로부터 구입하였으며 Kit 시약으로는 Aspartate aminotransferase와 Alanin-e aminotransferase를 아산제약으로부터 공급받았으며 그 외 시약은 특급 또는 일급시약을 사용하였다.

AST, ALT, Total cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-colesterol, Phospholipid kit시약을 Rochu를 사용하였다. 실험에 사용한 기구는 제2세부과제 담당인 아이케이사이언스(주)의 혈청생화학기(Cobas C-111, Rochu)를 사용하였으며, 그 외 경성대학교 약학대학교의 UV-spectrophotometer, glass teflon homogenizer(Chang shin scientific Co.), spectrophotometer(Shimadzu UV-1201), high centrifuge(Hanil HMR-1610V), ultra centrifuge(Hitachi, 695-7), water bath(Jeio tech Co.)를 사용하였다.

(2) 실험동물 및 처치

본 시험에 사용한 Sprague-Dawley(SD)계 체중 180±10g 흰쥐(male), 효창사이언스(대구)로부터 분양받아 경성대학교 약학대학교 동물사에서 일주일간 검역과 순화·사육을 거친 건강한 동물로 사육환경을 온도 22±3℃, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(07:00~19:00)로 설정하여 실시하였다. 사료는 실험동물용 고품사료를 사용하였으며 고지방식은 AIN-76A diet (중앙실험동물, 서울)을 음수는 자유 섭취시켰다. 해부 전 24시간 동안에는 물만 주고 절식하

였다. 이때 효소활성의 일중변동을 고려하여 실험동물을 일정시간(오전 10:00-12:00) 내에 처치하였다.

(3) 검액의 제조

한식소재인 진통젓갈을 원재료, EtOH 추출물, 잔사로 처리하여 생리식염수에 용해한 후 실험동물에 투여하였다. 투여용량은 투여 직전 체중의 변화에 따라 산출하였다.

대조군은 동일 량의 상기의 용매를 사용하였다. 투여용량과 기간은 예비실험을 행한 후, 본 실험에 효과가 있는 것으로 사료되는 각 시료 100, 200 mg/kg 및 positive control로 사용된 simvastatin 20mg/kg으로 하루에 한번, 28일간 각각의 실험군에 경구용 needle zonde을 사용하여 투여하였다(Table 25).

Table 25. Compare of group design.

시험군		Dose(mg/kg)	처치
1	Normal		saline
2	Control		AIN-76A diet
3	Positive control (Simvastatin)	20	Simvastatin
4	Anchovy Jeotgal natural material	100	멸치젓갈
5		AN	
6	Anchovy Jeotgal ethanol extract	100	원재료, EtOH추출물 및
7		AE	
8	Anchovy Jeotgal residue on evaporation	100	잔사
9		AR	
10	Shrimp Jeotgal natural material	100	새우젓갈
11		SN	
12	Shrimp Jeotgal ethanol extract	100	원재료, EtOH추출물 및
13		SE	
14	Shrimp Jeotgal residue on evaporation	100	잔사
15		SR	
16	Low salt-Squid Jeotgal natural material	100	저염(2%)
17		LSQN	
18	Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	100	오징어젓갈 원재료, EtOH추출물 및
19		LSQE	
20	Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	100	잔사
21		LSQR	
22	High salt-Squid Jeotgal natural material	100	고염(4%)
23		HSQN	
24	High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	100	오징어젓갈 원재료, EtOH추출물 및
25		HSQE	
26	High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	100	잔사
27		HSQR	
28	Low salt-Sauced intestine natural material	100	저염(2%)
29		LSIN	
30	Low salt-Sauced intestine ethanol extract	100	창난젓갈 원재료, EtOH추출물 및
31		LSIE	
32	Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	100	잔사
33		LSIR	
34	High salt-Sauced intestine natural material	100	고염(4%)
35		HSIN	
36	High salt-Sauced intestine ethanol extract	100	창난젓갈 원재료, EtOH추출물 및
37		HSIE	
38	High salt-Sauced intestine residue on evaporation	100	잔사
39		HSIR	

(4) 혈청 및 조직 분리

실험식이 투여 4주 후 최종일에 실험동물을 12시간 이상 절식시킨 후, CO₂로 마취시켜 복부 대동맥으로부터 채혈하였다. 얻어진 혈액은 약 30분간 실온에서 방치시킨 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻어 혈청생화학분석에 사용하였다. 분리된 혈액 상층액은 제 2세부과제 아이케이사이언스(주)에서 분석하였으며, 혈청생화학기(Rochu Ltd., Basel, Switzerland)를 통해 AST, ALT, Total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, phospholipid을 분석하였다. Leptin은 전용 kit를 사용하여 분석하였으며, 간은 관류하여 적출한 후, 냉각된 0.9% 생리식염수로 충분히 세척하고 물기를 제거한 다음 지방 등을 깨끗하게 정리하여 무게를 측정하고, 조직 검사에 사용하였다.

(5) 체중

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 투여개시 직전(1일)과 투여 후 일주일마다 측정하였다.

(6) 생화학적 검사 및 효소원의 조제

시료투여가 끝난 실험동물을 CO₂로 가볍게 마취시키고 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하였고, 간장은 0.9% 생리식염수로 관류시켜 조직 내 혈액을 제거하고 적출하여 생리식염수에 씻은 후 여지로 가볍게 압박하여 남아 있는 혈액 및 생리식염수를 제거하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후 3000rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하고 혈청 중 AST, ALT, Total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, Leptin, Phospholipid를 측정하였다. 간장 조직은 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 빙냉 하에 glass teflon homogenizer를 사용하여 10% 마쇄액을 만들었다. 이 마쇄액을 homogenate 분획으로 하였으며, 이것을 600×g에서 10분간 원심 분리하여 핵 및 미 마쇄 세포 부분을 제거하고 다시 10,000×g에서 20분간 원심 분리하여 그 침전물에 일정량의 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하고 현탁 시켜 mitochondria 분획으로 하고 상정액을 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초 원심 분리하여 얻은 상정액을 cytosol 분획으로, 그 침전물에 동일한 양의 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 현탁시킨 액을 microsome 분획으로 하였다. 이렇게 얻어진 homogenate 분획에서는 lipid peroxide 및 glutathione 함량을 측정하였고, cytosol 분획은 xanthine oxidase, aldehyde oxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase 활성 측정에 사용하였으며, mitochondria 분획은 catalase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다.

(7) 혈청 중 효소활성의 측정

생화학적 바이오마커의 측정

혈액을 원심분리하여 얻은 혈청을 아이케이사이언스(주)의 혈청생화학기(Cobas C-111, Rochu)로 AST, ALT, Total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Triglyceride, Phospholipid를 분석하였다.

(8) 간장 조직 중 lipid peroxide 함량의 측정

Ohkawa et al.(1979)의 방법을 변경하여 신장 조직 1g 당 10배량의 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가해 마쇄하였다. 이 10% 마쇄액에 동일한 buffer를 동량 가하여 3시간 preincubation 시킨 후 8.1% sodium dodecyl sulfate와 20% acetate buffer(pH 3.5) 및 발색의 목적으로 0.8 thiobarbituric acid를 가한 후 95°C에서 1시간 동안 반응시켜 실온에서 냉각 후에 n-BuOH : pyridine(15:1)을 첨가하여 15분간 원심분리하여 생성된 홍색의 n-BuOH : pyridine 층을 취하여 파장 532nm에서 그 흡광도를 측정하여 표준 곡선에서 그 함량을 신장 조직 1g 당 malondialdehyde nmole로 표시하였다.

(9) 간 조직 중 glutathione 함량의 측정

Ellman(1959)의 방법에 준하여 신장 조직 homogenate 0.5mL에 4% sulfosalicylic acid 0.5mL를 가하고 2500rpm에서 10분간 원심분리한 후 상정액 0.3mL를 취하여 disulfide reagent 2.7mL를 넣고 20분간 방치한 후 412nm에서 흡광도를 측정하고 표준 검량선에 준하여 산정하였다.

(10) 간 효소 활성의 측정

(가) Superoxide dismutase(SOD) 활성의 측정

Marklund와 Marklend(1974)의 방법에 준하여 0.2M potassium phosphate buffer(200μM cytochrome C, 100μM EDTA 함유 pH 8.6) 1.0mL에 효소액 0.2mL를 가하여 ice bath 상에서 20분간 방치하고 test에는 alkaline dimethyl sulfoxide(DMSO)용액 0.5mL, blank에는 non-alkaline DMSO 용액 0.5mL를 각각 가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 파장 550nm에

서 감소되는 cytochrome C의 흡광도를 측정하여 alkaline DMSO-mediated cytochrome C reduction을 50% 억제하는 enzyme 량을 1unit 로 산정하여 활성도를 표시하였다.

(나) Catalase 활성의 측정

Aebi(1974)의 방법에 준하여 50mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)중에 기질인 10mM H₂O₂의 환원되는 정도를 파장 240nm에서 흡광도의 변화를 읽고 분자흡광계수 0.041mM⁻¹cm⁻¹를 이용하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분당 1mg protein이 분해하는 hydrogen peroxide의 양을 μ mole로 표시하였다.

(다) Glutathione peroxidase 활성의 측정

Paglia와 Balentine(1967)의 방법에 준해 hydrogen peroxide 및 glutathione이 함유된 0.1mM tris buffer(pH 7.2) 중에서 효소액을 가하여 파장 340nm에서 흡광도를 측정하고 표준 검량선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소 활성의 단위는 1분당 1mg protein이 생성하는 NADP의 양을 nmole로 표시하였다.

(라) Glutathione reductase 활성의 측정

Charles와 Robert(1962)의 방법에 준해 10 μ mole EDTA, 1.63 μ mole GSSG, 0.1 μ mole NADPH가 함유된 300 μ mole tris buffer(pH 7.5) 중에서 효소액을 가하여 22 $^{\circ}$ C, 파장 340nm에서 흡광도의 변화를 읽고 분자흡광계수 6.22mM⁻¹cm⁻¹를 이용하여 활성도를 환산하였다. 효소 활성의 단위는 1분당 1mg protein이 분해하는 NADPH의 양을 nmole로 표시하였다.

(마) Glutathione S-transferase 활성의 측정

Habig et al.(1974)의 방법에 준하여 0.1M potassium phosphate buffer(pH 6.5)에 40mM reduced glutathione 75 μ L를 가한 후 효소액 10 μ L를 넣고 25 $^{\circ}$ C에서 5분간 preincubation 한 뒤 기질로서 2,4-dinitrochlorobenzene 25 μ L를 가하여 2분간 반응시켰다. 그 후 20% trichloroacetic acid를 가하여 반응을 완료시키고 시료를 원심분리하여 얻은 상정액을 파장 340nm에서 흡광도를 측정한 후 2,4-dinitrochlorobenzene의 mole 흡광계수 9.6mM⁻¹cm⁻¹를 이용하여 활성도를 산정하였다.

(11) 단백질 정량 및 통계처리

단백질의 함량은 Lowry *et al.*(1951)의 방법에 준하여 bovine serum albumin(Sigma, USA)을 표준품으로 하여 측정하였다. 본 실험에서 얻어진 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

(12) 지방 조직 검사

지방조직을 적출한 다음 10% formalin에 넣어 조직을 고정한 후 수세하고 60%에서 100% alcohol로 순차적으로 탈수하여 파라핀에 포매하고 block을 만들었다. 이것을 rotary microtome을 사용 하여 5 μ m의 두께로 조직절편을 만들어 hematoxylin-eosin으로 염색 한 후 광학현미경(Nikon Co., Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

(13) 통계학적 방법

통계적 검정은 SPSS통계 프로그램을 이용하여 수행하였으며, $p<0.05$ 이하일 경우 통계적으로 유의한 것으로 검정하였다. 각 항목에 대한 유의한 차이를 나타내는지의 비교분석은 student's t-test one-way ANOVA(Turkey's multiple comparison test)를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

나. 짓갈이 고지혈증 및 비만 유도 흰쥐에 미치는 결과

현대인의 다양한 생활환경과 식생활의 변화로 인하여 질병의 형태에 있어서도 많은 변화를 가져왔으며 특히 대사성 질환이 증가되어 있는 실정이다. 우리나라도 국민의 식생활 양상의 변화에 의하여 비만증 및 심혈관계 질환이 선진국 수준으로 증가하고 있는 추세이다. 심혈관계 질환을 예방하는 방법에는 열량의 과다 섭취를 피하고 섭취지방의 양과 종류를 제한하는 다양한 방법이 제시되고 있으나, 근래에 와서는 전통식품의 적절한 섭취를 통한 대사성 질환 감소에 크게 기대하고 있다. 고지혈증은 혈장 내에 cholesterol과 중성지방등과 같은 지질이 비정상적으로 증가된 상태를 말하는데 고지혈증, 특히 고 콜레스테롤혈증은 죽상동맥경화증을 고중성지방증은 췌장염을 유발하기 때문에 임상적으로 문제가 되고 있다. 또한 간에서는 광범위하게 퍼진 지방증(steatosis)으로 인해 간경화(cirrhosis), 간암(hepato cellular carcinoma) 및 간부전(liver failure)으로 이어지는 전단계인 Non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD)를 일으킨다. 순환계 심장질환으로 인한 사망률 역시 체내 지방축적과 깊은 관련이 있다. 본 연구에서는 고지방 식이를 급여하여 식이성 고지혈증/비만을 유발시킨 실험 동물에서 한식소재인 짓갈이 가진 지질저하 기능을 확인하고, 실험동물의 간에서 일어나는 지질과산화가 감소하는 경향을 살펴보았으며, 실험동물의 혈액과 간장 중의 바이오마커 및 항산화체계를 분석하여 이의 영향에 대해 평가해보고자 연구를 수행하였다.

(1) 체중 및 조직무게

고지방식이로 유도한 흰쥐에서 체중에 미치는 영향을 관찰한 성적이 Table 26이다. 고지방식이 섭취군 및 일반식이 섭취군 모두 기간에 따른 체중이 증가하였지만, 고지방식이 섭취군의 증가가 두드러졌으며, 전통젓갈을 투여한 모든 시료 군들에서 체중의 효과가 있는 것을 확인할 수 있었다.

지방조직의 경우, 대조군인 고지방식이 섭취군의 경우 총복강의 지방무게가 3.01mg/kg로 정상식이군 1.23mg/kg에 비해 약 3배 증가하였다. 이러한 결과는 특히, 부고환 지방조직 보다 복강주위 조직의 지방함량의 변화로 고지방식이에서 정상군에 비하여 현저히 증가되던 것이 전통젓갈의 투여로 총복강의 지방함량이 억제되는 경향을 보였다(Figure 1).

Table 26. Body weight gain, relative retroperitoneal weight, relative epididymal weight.

시험군		Dose (mg/kg)	Body weight gain(g)	Relative retroperitoneal weight(g)	Relative epididymal weight(g)
Normal		-	96.87	1.23	1.34
Control		-	158.04	3.01	2.36
Positive control (Simvastatin)		20	149.40	1.92	1.88
Anchovy Jeotgal natural material	AN	100	152.69	2.16	2.07
		200	160.84	2.29	2.18
Anchovy Jeotgal ethanol extract	AE	100	136.68	2.41	2.29
		200	156.10	2.46	2.27
Anchovy Jeotgal residue on evaporation	AR	100	143.47	2.30	2.54
		200	148.06	2.22	2.28
Shrimp Jeotgal natural material	SN	100	129.33	2.35	1.94
		200	102.33	2.49	2.33
Shrimp Jeotgal ethanol extract	SE	100	163.11	2.43	2.37
		200	188.84	2.34	2.02
Shrimp Jeotgal residue on evaporation	SR	100	143.49	2.15	2.03
		200	151.07	1.98	2.01
Low salt-Squid Jeotgal natural material	LSQN	100	242.32	1.74	1.87
		200	171.18	1.48	1.55
Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	LSQE	100	221.78	1.68	1.64
		200	201.60	1.62	1.74
Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	LSQR	100	253.82	1.57	1.73
		200	343.88	2.29	2.18
High salt-Squid Jeotgal natural material	HSQ N	100	216.82	1.69	1.77
		200	270.40	1.78	1.94
High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	HSQE	100	163.18	1.45	1.58
		200	259.75	1.91	1.90
High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	HSQR	100	214.67	1.54	1.71
		200	290.74	1.77	1.98
Low salt-Sauced intestine natural material	LSIN	100	149.75	1.24	1.57
		200	135.35	1.41	1.56
Low salt-Sauced intestine ethanol extract	LSIE	100	161.32	1.53	1.61
		200	134.65	1.49	1.47
Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	LSIR	100	257.66	2.00	1.90
		200	290.90	2.00	2.19
High salt-Sauced intestine natural material	HSIN	100	179.80	1.43	1.64
		200	135.52	1.47	1.48
High salt-Sauced intestine ethanol extract	HSIE	100	173.23	1.73	1.81
		200	167.20	1.51	1.63
High salt-Sauced intestine residue on evaporation	HSIR	100	100.00	1.11	1.36
		200	146.80	1.18	1.54

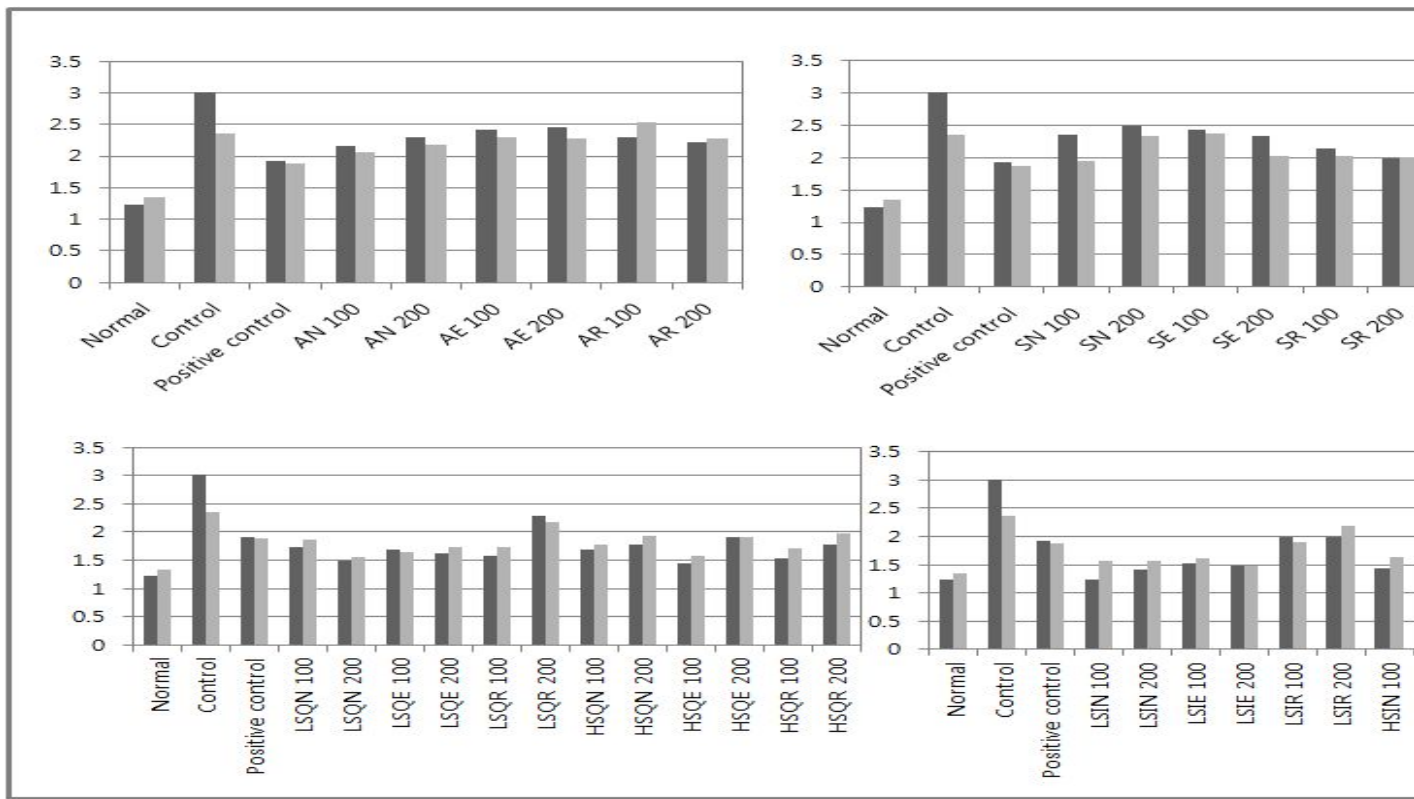


Figure 1. Relative retroperitoneal weight and relative epididymal weight.

(2) 혈청 생화학적 검사

고지혈증을 유도한 흰쥐에 멸치, 새우, 오징어, 창란 젓갈의 각 분획물을 투여하고 혈중 AST, ALT, Total cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Phospholipid 및 Leptin에 미치는 영향을 Table 27에 나타내었다.

AST와 ALT의 경우 모두 정상 범위 내에 들었으며 군간 유의성은 크게 없었다. 그러나 Total cholesterol 및 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol의 경우, 멸치 젓갈과 오징어젓갈 및 창란젓갈 원재료에서 전체적으로 좋은 양상을 보였으며, HDL-cholesterol의 경우 고염보다는 저 염군에서 높아지는 경향을 보였다(Figure 2).

이는 Phospholipid와 Leptin의 경우도 TC와 비슷한 경향을 보였다. Phospholipid의 경우 저 염의 오징어젓갈 및 창란 젓갈에서 낮게 나타났으며, Leptin의 경우도 전체적으로 시료 원재료 투여군에서 낮게 나타나는 경향을 보였다.

Leptin이란 지방 세포에서 분비되는 식욕 억제 단백질로 1994년 미국 록펠러 대학의 제프리 프리드먼 교수팀은 생쥐 실험을 통해, 이 단백질을 만드는 유전자에 돌연변이가 발생하면 뚱뚱해진다는 사실을 처음 발견했다. 현재 렙틴은 지방 조직에서 분비된 후에 뇌에 작용하여 식욕을 억제하고 체내 대사를 활발하게 함으로써, 체중을 감소시키는 호르몬으로, 젓갈의 섭취로 인하여 고지혈증 및 비만을 유도한 흰쥐의 혈액의 지표들이 상당히 효과가 있는 것을 본 결과로 살펴 볼 수 있었다(Figure 3).

Table 27. Effect of Joetgal on the concentration of serum AST, ALT in rats fed a hyperlipidemic diet.

시험군	Dose (mg/kg)	ALT		AST
		U/L		
Normal	-	53.67±5.23 ^a		105.98±8.17 ^{ab}
Control	-	43.47±9.57 ^d		119.10±14.59 ^d
Positive control (Simvastatin)	20	43.12±7.32 ^{bc}		101.17±12.56 ^{bc}
AN	100	45.82±5.61 ^a		101.77±5.78 ^{ab}
	200	38.28±6.38 ^{bc}		87.17±9.11 ^{bc}
AE	100	48.55±9.43 ^a		106.95±3.21 ^a
	200	39.65±7.07 ^{bc}		100.75±3.31 ^a
AR	100	49.32±6.20 ^a		98.80±8.13 ^{bc}
	200	41.98±3.27 ^{bc}		90.98±9.34 ^{bc}
SN	100	38.85±11.43 ^{bc}		77.63±4.48 ^a
	200	35.78±3.08 ^{bc}		80.40±4.56 ^a
SE	100	38.14±2.52 ^{bc}		72.70±6.22 ^a
	200	43.88±1.45 ^{ab}		87.43±14.42 ^d
SR	100	38.92±5.90 ^{bc}		90.68±13.97 ^{cd}
	200	41.26±1.17 ^{bc}		93.24±14.94 ^{cd}
LSQN	100	39.40±5.05 ^{bc}		95.48±1.12 ^a
	200	39.00±2.89 ^{bc}		110.23±9.47 ^{ab}
LSQE	100	33.43±2.24 ^d		101.63±7.08 ^{ab}
	200	33.68±5.66 ^d		94.62±9.95 ^{bc}
LSQR	100	37.20±5.97 ^{bc}		99.25±18.45 ^{bc}
	200	32.43±4.30 ^d		101.22±8.57 ^{ab}
HSQN	100	36.30±0.99 ^{bc}		104.85±0.60 ^a
	200	39.45±8.84 ^{bc}		97.82±16.82 ^d
HSQE	100	35.32±8.25 ^{bcd}		82.72±18.34 ^d
	200	35.17±6.51 ^{bc}		97.07±20.74 ^d
HSQR	100	34.28±5.34 ^{bc}		89.45±15.14 ^{cd}
	200	36.00±9.73 ^{bc}		83.70±13.01 ^{cd}
LSIN	100	36.35±3.70 ^{bc}		129.60±15.21 ^d
	200	43.30±6.26 ^{bc}		115.82±7.46 ^{bc}
LSIE	100	31.50±6.69 ^d		117.03±17.82 ^d
	200	31.30±4.82 ^d		112.75±4.66 ^a
LSIR	100	34.56±1.82 ^{bc}		102.06±7.76 ^{ab}
	200	36.28±2.99 ^{bc}		115.80±18.50 ^{cd}
HSIN	100	37.54±6.74 ^{bc}		126.94±12.20 ^{cd}
	200	32.00±5.09 ^d		116.02±14.42 ^{cd}
HSIE	100	34.00±3.58 ^{bc}		125.15±14.15 ^{cd}
	200	36.63±8.80 ^{bc}		96.53±13.91 ^{bc}
HSIR	100	30.43±4.85 ^d		86.92±13.93 ^{bc}
	200	29.07±2.54 ^d		84.62±13.58 ^{bc}

Table 28. Effect of Joetgal on the concentration of serum Total chotesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-choelsterol in rats fed a hyperlipidemic diet.

시험군	Dose (mg/kg)	Total	Triglyceride	HDL	LDL
		cholesterol	mg/dL		
Normal	-	96.80±1.41 ^a	230.87±7.36 ^a	79.71±3.04 ^a	5.85±0.25 ^a
Control	-	125.92±3.49 ^d	703.56±38.43 ^c	42.76±3.30 ^a	26.62±0.86 ^a
Positive control (Simvastatin)	20	62.35±1.64 ^a	613.51±80.65 ^d	39.18±1.64 ^b	7.92±0.60 ^a
AN	100	71.80±3.96 ^{ab}	605.56±95.06 ^d	49.83±6.65 ^b	5.90±0.55 ^a
	200	76.75±1.71 ^{bc}	780.47±30.42 ^c	39.23±3.98 ^b	7.79±1.08 ^b
AE	100	87.98±6.87 ^{bc}	424.72±8.64 ^{bc}	60.30±1.25 ^b	7.01±0.69 ^a
	200	72.14±2.81 ^{ab}	604.71±6.03 ^{bc}	39.17±3.90 ^b	2.541±0.22 ^a
AR	100	109.62±2.80 ^{cd}	258.07±4.57 ^{bc}	63.54±3.86 ^{cd}	13.67±0.40 ^a
	200	84.07±8.25 ^{bc}	215.33±5.05 ^{bc}	58.35±3.80 ^{cd}	14.83±0.65 ^a
SN	100	90.85±2.65 ^{bc}	202.47±10.40 ^{bc}	59.39±4.88 ^{cd}	16.44±0.46 ^a
	200	79.17±9.33 ^{bc}	146.45±9.16 ^{bc}	58.19±6.92 ^{cd}	17.71±1.98 ^b
SE	100	75.42±8.89 ^{cd}	260.78±2.84 ^{bc}	49.88±4.02 ^d	12.59±0.41 ^a
	200	90.17±5.13 ^{cd}	424.78±1.45 ^{bc}	53.10±1.92 ^b	17.53±0.53 ^a
SR	100	83.40±12.02 ^{cd}	180.97±4.84 ^{bc}	59.48±2.28 ^b	16.05±0.64 ^a
	200	127.48±1.76 ^d	481.57±6.83 ^{cd}	65.72±1.39 ^b	13.46±0.48 ^a
LSQN	100	92.81±2.68 ^{ab}	495.71±14.93 ^a	79.91±1.93 ^b	26.61±0.77 ^a
	200	99.92±2.40 ^{cd}	473.92±14.36 ^a	90.01±1.10 ^b	15.85±1.76 ^b
LSQE	100	87.33±2.34 ^{ab}	474.47±13.69 ^a	77.41±1.38 ^b	15.90±2.13 ^{bc}
	200	79.86±1.41 ^{ab}	475.49±9.76 ^{cd}	70.92±9.51 ^{cd}	14.15±2.38 ^{bc}
LSQR	100	81.10±8.96 ^{ab}	465.52±15.95 ^{cd}	72.94±5.34 ^{cd}	14.95±2.28 ^{bc}
	200	73.91±4.17 ^{ab}	499.74±29.32 ^d	67.69±3.48 ^d	11.21±0.57 ^a
HSQN	100	73.09±2.27 ^{ab}	477.26±3.79 ^{cd}	73.86±7.04 ^{cd}	13.91±2.73 ^{bc}
	200	81.17±6.98 ^{bcd}	478.30±10.61 ^a	72.61±5.41 ^d	12.70±2.55 ^{bc}
HSQE	100	87.96±6.43 ^{bcd}	487.60±1.70 ^a	77.41±1.38 ^b	15.90±2.13 ^{bc}
	200	74.46±6.09 ^{bcd}	487.91±23.24 ^d	70.92±9.51 ^{cd}	14.15±2.38 ^{bc}
HSQR	100	76.16±1.37 ^{bcd}	578.59±9.43 ^a	68.67±6.88 ^d	12.03±1.95 ^b
	200	70.33±2.46 ^{ab}	472.25±4.87 ^{cd}	61.60±9.82 ^d	14.41±3.56 ^c
LSIN	100	102.53±1.57 ^{cd}	480.67±7.08 ^{cd}	89.17±9.28 ^d	20.68±2.91 ^{bc}
	200	93.67±9.91 ^{bcd}	507.08±21.48 ^d	78.60±5.29 ^d	17.72±4.12 ^c
LSIE	100	102.37±4.94 ^{cd}	518.14±5.56 ^{cd}	87.73±2.53 ^b	17.04±2.24 ^{bc}
	200	94.12±0.57 ^{bcd}	519.89±9.52 ^{cd}	81.60±0.18 ^b	15.80±1.11 ^{bc}
LSIR	100	100.63±4.31 ^{cd}	489.73±5.54 ^{cd}	87.361±9.92	17.14±2.85 ^{bc}
	200	93.51±7.33 ^{bcd}	474.90±9.22 ^a	82.75±3.95 ^{cd}	16.15±3.79 ^c
HSIN	100	94.20±8.56 ^{cd}	509.40±29.65 ^d	79.40±4.51 ^{cd}	9.56±2.09 ^{bc}
	200	83.78±9.88 ^{ab}	537.98±4.83 ^a	74.72±3.08 ^{cd}	11.41±1.09 ^b
HSIE	100	79.80±5.22 ^{bc}	493.07±5.53 ^{cd}	70.16±1.51 ^b	11.04±1.80 ^b
	200	75.66±9.82 ^{bc}	467.55±33.14 ^b	65.52±2.74 ^b	11.31±4.33 ^c
HSIR	100	79.67±4.88 ^{bc}	501.82±19.71 ^a	70.06±1.73 ^b	11.37±4.07 ^c
	200	59.53±9.08 ^a	478.25±25.32 ^d	52.70±6.09 ^d	8.24±1.82 ^b

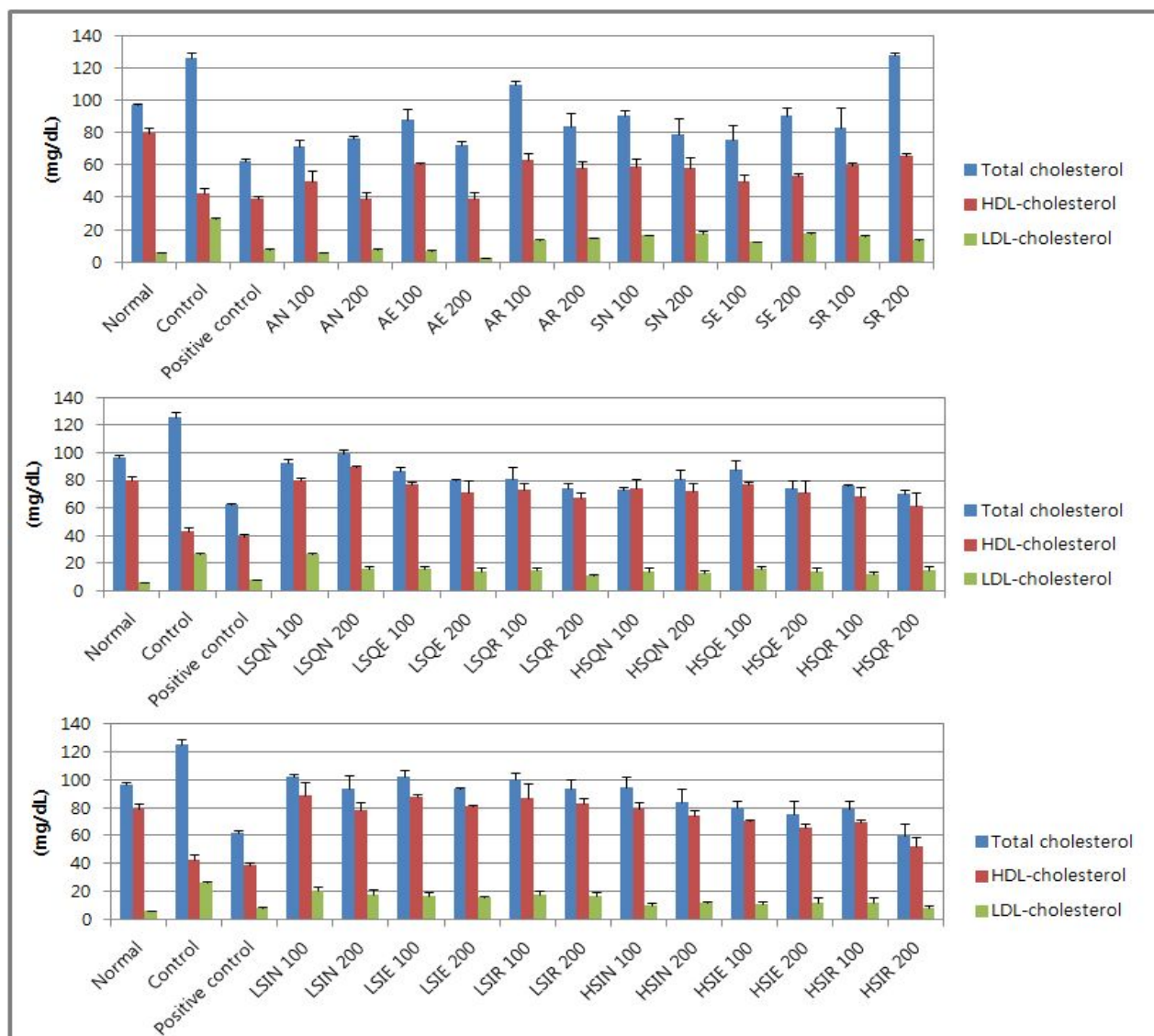


Figure 2. Effect of Joetgal on the concentration of serum Total cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol in rats fed a hyperlipidemic diet.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.D. for three experiments.

Table 29. Effect of Joetgal on the concentration of serum phospholipid, Leptin in rats fed a hyperlipidemic diet.

시험군	Dose (mg/kg)	Phospholipid	Leptin
		U/L	ng/mL
Normal	-	92.67±1.58 ^a	4.80±1.26 ^b
Control	-	216.67±9.00 ^d	24.58±4.00 ^d
Positive control (Simvastatin)	20	118.40±7.13 ^c	17.05±0.84 ^a
AN	100	170.50±1.57 ^a	14.73±1.20 ^b
	200	208.83±3.83 ^a	14.54±3.15 ^c
AE	100	220.83±1.87 ^a	21.58±1.04 ^b
	200	194.83±7.73 ^{cd}	14.94±1.26 ^b
AR	100	169.83±6.92 ^{cd}	16.32±1.02 ^b
	200	194.67±9.61 ^d	12.13±1.09 ^b
SN	100	167.17±7.87 ^{cd}	14.30±1.10 ^b
	200	178.33±2.11 ^{ab}	14.52±1.33 ^b
SE	100	175.33±5.70 ^b	16.43±0.42 ^a
	200	188.67±5.90 ^b	13.13±1.75 ^b
SR	100	227.33±6.12 ^b	10.48±5.80 ^d
	200	257.17±9.66 ^d	11.96±0.01 ^a
LSQN	100	148.50±5.57 ^{bc}	14.80±0.71 ^a
	200	147.83±1.65 ^a	12.38±0.23 ^a
LSQE	100	125.50±5.83 ^{bc}	12.71±2.99 ^c
	200	123.17±3.41 ^{ab}	12.95±0.96 ^a
LSQR	100	116.00±8.05 ^{bc}	13.55±1.63 ^b
	200	122.00±1.24 ^a	14.31±0.76 ^a
HSQN	100	117.00±6.69 ^{bc}	14.37±0.93 ^a
	200	114.20±7.40 ^{bc}	11.94±0.53 ^a
HSQE	100	108.33±2.13 ^{ab}	11.84±2.04 ^c
	200	117.00±6.69 ^{cd}	11.82±1.98 ^b
HSQR	100	102.00±4.64 ^{bc}	12.87±1.36 ^b
	200	133.17±5.55 ^{bc}	13.05±0.10 ^a
LSIN	100	127.67±7.63 ^{bc}	16.33±1.38 ^b
	200	138.83±1.60 ^a	12.88±0.72 ^a
LSIE	100	121.83±9.83 ^d	13.86±0.78 ^a
	200	146.17±6.72 ^{cd}	10.38±0.35 ^a
LSIR	100	148.60±9.30 ^d	14.35±0.92 ^a
	200	141.00±10.85 ^d	13.38±0.73 ^a
HSIN	100	143.40±5.92 ^{bc}	14.12±0.82 ^a
	200	134.00±11.92 ^d	13.29±0.82 ^a
HSIE	100	124.75±2.57 ^a	15.02±0.08 ^a
	200	140.67±4.79 ^{bc}	12.51±0.48 ^a
HSIR	100	136.83±10.61 ^d	13.73±0.76 ^a
	200	116.20±8.87 ^{cd}	13.34±1.01 ^b

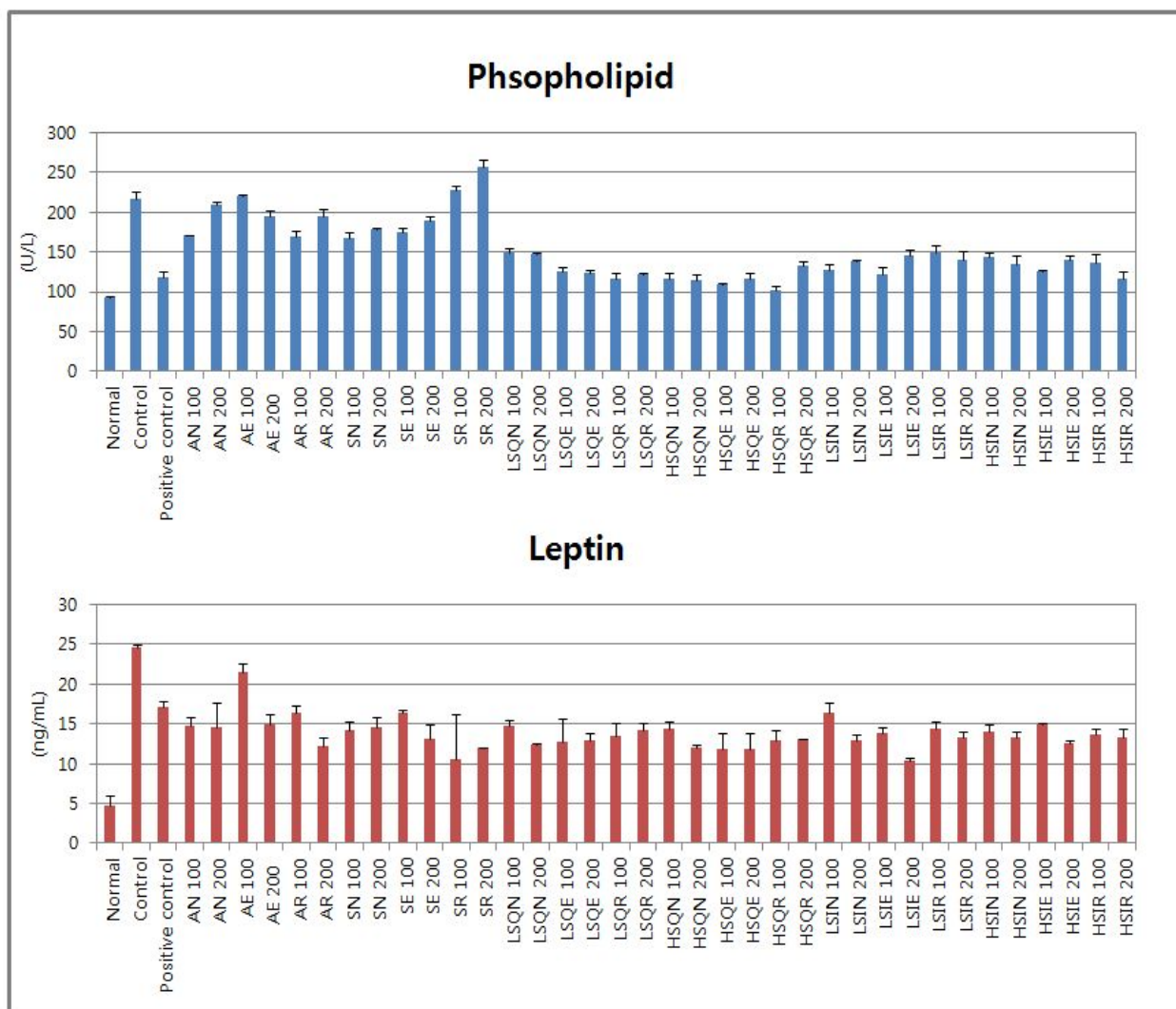


Figure 3. Effect of Joetgal on the concentration of serum phospholipid, Leptin in rats fed a hyperlipidemic diet.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.D. for three experiments.

(3) 활성 산소의 해독계에 미치는 영향

고지방식이로 유도한 고지혈증 실험동물의 간조직의 항산화 효소계에 미치는 영향을 관찰한 성적이 Table 30 이다. SOD와 Catalase의 경우 전체적으로 시료 투여군 들에서 positive control과 비슷한 결과를 보였으며, SOD의 경우 멸치 및 새우 젓갈에서 Catalase의 경우 새우 젓갈 투여군에서 높은 활성을 보였다. Glutathione-peroxidase 및 reductase에서도 전체적으로 시료 투여군들에서 positive control수준으로 회복되는 것을 확인할 수 있었으며, 멸치 젓갈군이 활성산소 해독계 전체 실험 결과 가장 회복율이 높은 것을 확인할 수 있었다(Table 30, Figure 4).

Table 30. Effect of Joetgal on the concentration of Liver SOD, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in rats fed a hyperlipidemic diet.

시험군	Dose (mg/kg)	SOD	Catalase	Glutathione peroxidase	Glutathione reductase
		unit/mg protein/min			
Normal		8.320±0.551 ^{bc}	0.080±0.0013 ^a	2.260±0.757 ^{cd}	1.023±0.544 ^{cd}
Control		4.254±0.267 ^a	0.047±0.0018 ^{ab}	0.715±0.626 ^{bc}	0.310±0.189 ^{ab}
Positive control	20	6.488±0.949 ^d	0.070±0.0011 ^a	1.432±0.685 ^{bc}	0.889±0.278 ^a
AN	100	6.369±0.610 ^{bc}	0.057±0.0018 ^{ab}	1.313±0.039 ^{ab}	0.688±0.266 ^a
	200	6.637±0.504 ^b	0.068±0.0025 ^{cd}	1.685±0.099 ^{cd}	0.773±0.516 ^{cd}
AE	100	5.109±0.494 ^b	0.069±0.0022 ^d	1.492±0.568 ^{bc}	0.494±0.344 ^{cd}
	200	6.049±0.590 ^{cd}	0.056±0.0013 ^a	1.650±0.051 ^{ab}	0.457±0.279 ^a
AR	100	5.135±0.714 ^{cd}	0.055±0.0010 ^{ab}	1.229±0.291 ^{bc}	0.494±0.347 ^{cd}
	200	4.035±0.851 ^{cd}	0.052±0.0022 ^d	1.182±0.966 ^{cd}	0.444±0.229 ^a
SN	100	5.899±0.017 ^a	0.067±0.0018 ^{ab}	1.163±0.768 ^{bc}	0.420±0.059 ^{ab}
	200	4.769±0.562 ^b	0.079±0.0013 ^a	1.446±0.448 ^{ab}	0.467±0.399 ^c
SE	100	7.137±0.694 ^{cd}	0.074±0.0014 ^{ab}	1.415±0.480 ^{bc}	0.415±0.043 ^{ab}
	200	5.753±0.242 ^a	0.068±0.0013 ^a	1.545±0.744 ^{bc}	0.509±0.150 ^{ab}
SR	100	3.819±0.374 ^a	0.069±0.0012 ^a	1.993±0.455 ^{ab}	0.433±0.358 ^{cd}
	200	3.236±0.193 ^a	0.064±0.0009 ^{ab}	1.449±0.002 ^a	0.460±0.430 ^{cd}
LSQN	100	5.120±0.628 ^{cd}	0.071±0.0013 ^a	1.840±0.343 ^{ab}	0.350±0.041 ^{ab}
	200	6.334±0.236 ^a	0.068±0.0009 ^{ab}	1.165±0.927 ^{cd}	0.443±0.047 ^{ab}
LSQE	100	5.755±0.996 ^d	0.068±0.0016 ^{cd}	1.339±0.781 ^{cd}	0.345±0.052 ^{ab}
	200	4.849±0.398 ^b	0.072±0.0020 ^d	1.339±0.781 ^{cd}	0.467±0.321 ^{cd}
LSQR	100	4.003±0.308 ^b	0.072±0.0014 ^{cd}	1.691±0.657 ^{cd}	0.100±0.492 ^{cd}
	200	3.420±0.868 ^{cd}	0.072±0.0012 ^a	0.817±0.154 ^{bc}	0.079±0.057 ^c
HSQN	100	3.629±0.936 ^d	0.070±0.0010 ^a	1.939±0.013 ^a	0.547±0.266 ^c
	200	6.569±0.978 ^d	0.060±0.0016 ^{ab}	1.375±0.195 ^{cd}	0.403±0.366 ^c
HSQE	100	5.426±0.478 ^b	0.064±0.0009 ^a	1.077±0.015 ^a	0.382±0.432 ^{cd}
	200	4.391±0.613 ^{cd}	0.061±0.0009 ^a	1.147±0.763 ^{cd}	0.367±0.043 ^{ab}
HSQR	100	3.668±0.040 ^a	0.060±0.0013 ^{ab}	1.074±0.461 ^{ab}	0.402±0.067 ^{ab}
	200	3.721±0.548 ^{cd}	0.0658±0.0019 ^{ab}	1.573±0.249 ^{ab}	0.361±0.204 ^c
LSIN	100	4.243±0.563 ^{cd}	0.070±0.0012 ^a	1.481±0.763 ^{bc}	0.856±0.070 ^{ab}
	200	5.495±0.750 ^{cd}	0.068±0.0012 ^{ab}	1.170±0.009 ^a	1.087±0.541 ^{cd}
LSIE	100	4.777±0.416 ^b	0.076±0.0013 ^{ab}	1.466±0.340 ^{ab}	0.236±0.437 ^{cd}
	200	5.326±0.588 ^{cd}	0.067±0.0013 ^{ab}	1.009±0.327 ^{ab}	0.284±0.021 ^a
LSIR	100	3.322±0.517 ^{cd}	0.060±0.0014 ^{ab}	1.830±0.728 ^{cd}	0.331±0.235
	200	2.803±0.557 ^{cd}	0.057±0.0010 ^{ab}	1.053±0.935 ^{cd}	0.223±0.026 ^a
HSIN	100	5.603±0.563 ^{cd}	0.068±0.0018 ^{ab}	1.139±0.678 ^{cd}	0.377±0.221 ^c
	200	6.472±0.128 ^a	0.066±0.0024 ^d	1.339±0.209 ^{ab}	0.396±0.187 ^a
HSIE	100	3.756±0.281 ^a	0.061±0.0008 ^a	1.889±0.074 ^a	0.571±0.149 ^{ab}
	200	4.274±0.444 ^{cd}	0.073±0.0012 ^a	1.985±0.347 ^{ab}	0.264±0.120 ^{ab}
HSIR	100	4.368±0.066 ^a	0.066±0.0014 ^{ab}	1.656±0.445 ^{ab}	0.428±0.199 ^{ab}
	200	4.997±0.693 ^{cd}	0.060±0.0020 ^d	0.551±0.054 ^{bc}	0.136±0.101 ^{ab}

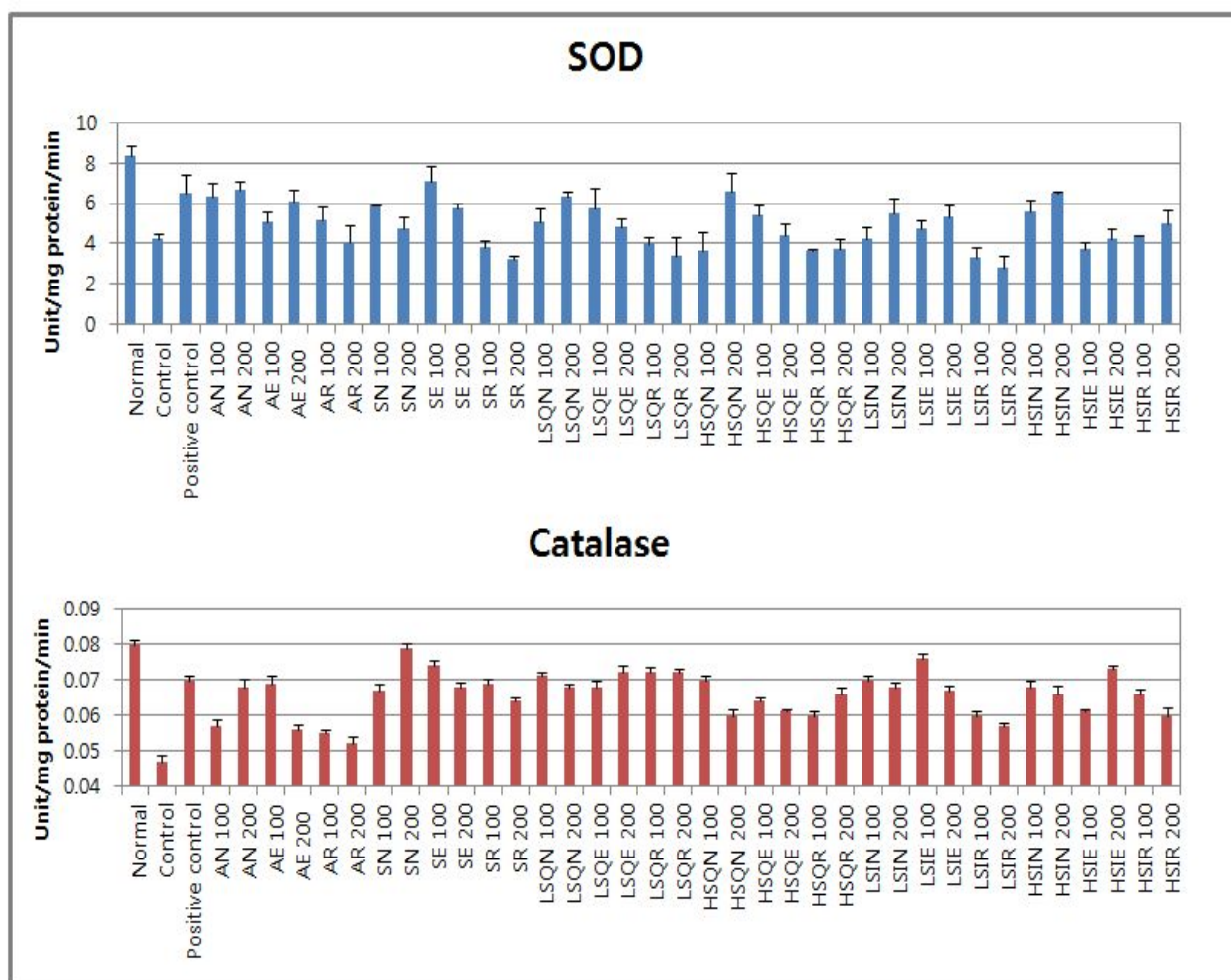


Figure 4. Effect of Joetgal on the concentration of Liver SOD, catalase, in rats fed a hyperlipidemic diet.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.D. for three experiments. Values followed by the same letter are not significantly different($p < 0.05$).

* SOD (superoxide dismutase)one unit of SOD was defined as the which inhibited the reduced of alkaline DMSO-medicated cytochrome C by 50%.

* Catalase: decreased hydrogen peroxide nmole/mg protein/min

(4) 복부지방 조직병리학적 검사

복부지방을 H&E염색결과를 Figure 5-1 및 Figure 5-2에 나타내었다. 멸치 및 새우젓갈 시료 투여군은 100, 200mg/kg 투여한 모든 군을 관찰하였으며, 오징어 젓갈 및 창난젓갈의 경우 고농도, 저농도별 지방구세포 크기 및 그 분포를 관찰하였다.

Lard가 포함된 고지방 식이를 섭취한 Control군의 경우 복부지방조직을 관찰한 결과 지방구의 크기가 매우 큰 것을 확인할 수 있으며 세포간의 간격도 매우 큰 것을 확인할 수 있으나 Normal(정상)군의 경우는 이와는 반대로 지방구의 크기가 Control군의 1/3크기인 것을 볼 수 있었다. Positive control의 경우 Control군보다는 지방구의 크기가 많이 작아지고 간격 또한 촘촘해진 것을 볼 수 있으나 지방구의 형태가 많이 찌그러져 있는 현상을 보였다.

새우 및 멸치 시료 투여군에서는 잔사 투여군의 지방구 크기 및 분포가 가장 컸으며, 다음으로 EtOH추출물 그리고 원재료 투여군순으로 나타났으며 원재료 투여군의 경우 Positive control군과 비슷한 지방구크기 및 분포를 보이는 것을 확인할 수 있었다(Figure 5-1).

오징어젓갈 및 창난젓갈의 경우도 앞선 멸치, 새우젓갈의 경향과 유의한 결과를 보였다. 가장 지방구의 크기가 큰 것은 잔사 추출물군으로 고염 창난 잔사군의 경우 Control군과 유사한 지방구크기를 보였다.

고염보다는 저 염군에서 지방구의 형태 및 간격이 positive control과 유사하게 나타났으며 멸치 및 새우 젓갈에서와 같이 원재료를 처리한 군에서 지방구의 형태가 뚜렷하였으며 세포간 간격도 일정하였고, 세포크기도 줄어드는 것을 확인할 수 있었다(Figure 5-2).

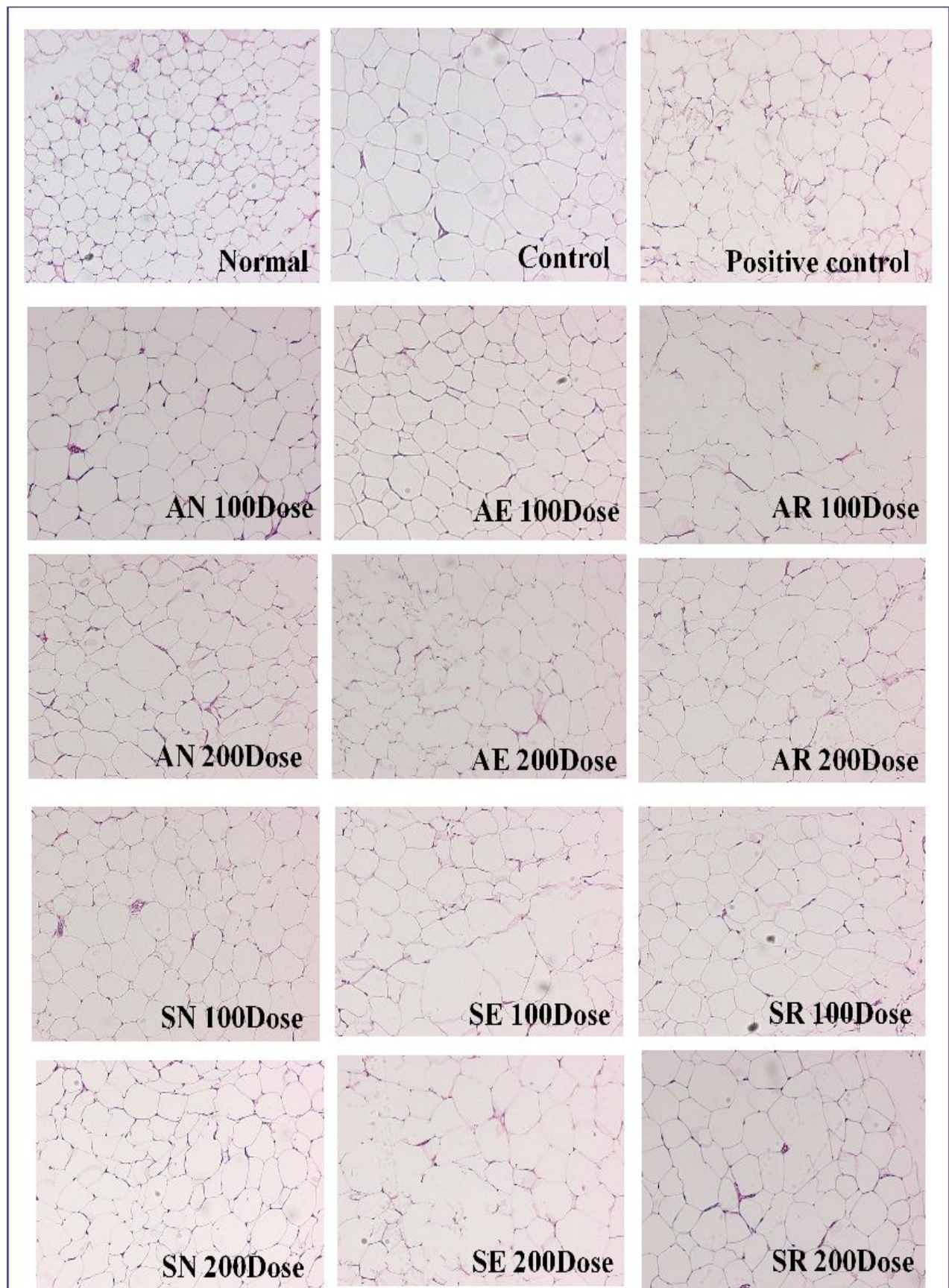


Figure 5-1. Histopathological findings in Sprague-Dawley rats treated orally with *Anchovy and Shrimp Jeotgal* for 4weeks(x100).

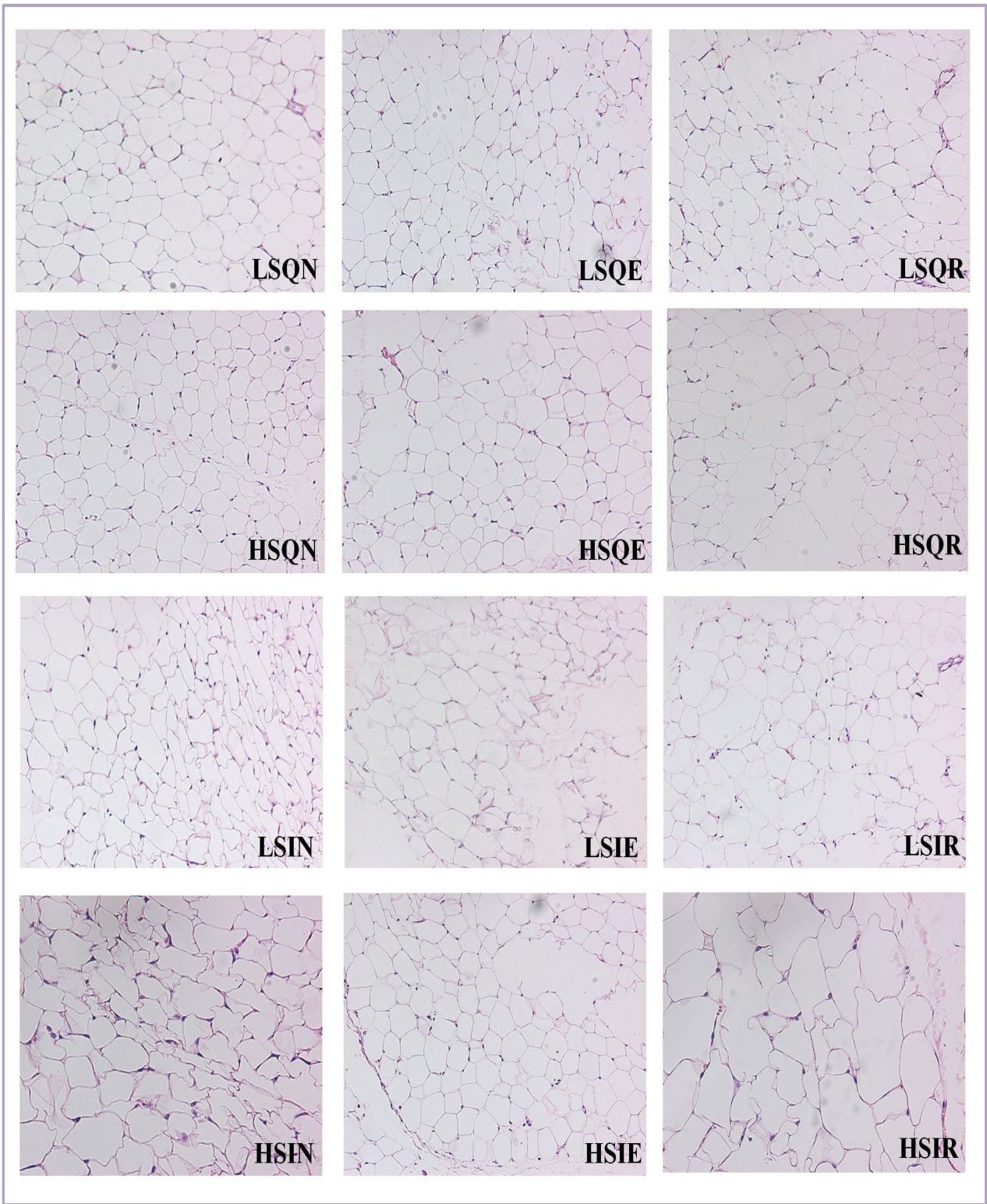


Figure 5-2. Histopathological findings in Sprague-Dawley rats treated orally with *squid and sauced intestine Jotgal* for 4weeks(x100).

다. 고찰 및 결론

본 실험은 실험동물에서 식이성 고지혈증 및 비만에 미치는 젓갈의 영향을 검색한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 고지방식을 섭취한 Control군의 체중 증가가 두드러졌으며 복강주위 지방의 경우 정상군에 비하여 3배 이상 증가하였으나, 젓갈의 투여로 인하여 군 전체 지방함량이 억제되는 경향을 보였다.
2. 혈청 생화학 검사에서 AST 및 ALT의 수치 모두 정상 범위 내에 들었으며 Total cholesterol 및 HDL-, LDL-cholesterol의 경우 젓갈 원재료 시료 섭취군에서, phospholipid 및 Leptin의 경우 저염의 오징어젓갈 및 창난 젓갈군에서 유효성을 나타내었다.
3. 간조직의 항산화효소계인 catalase 및 SOD 실험결과 시료투여군 중 멸치젓갈군에서 positive control과 유사한 결과치를 보였으며, glutathione peroxidase 및 reductase에서도 회복율이 높은 것을 확인하였다.
4. 이러한 결과는 복부지방조직 H&E염색 결과 앞선 결과와 유사한 경향이 확인되었다. 전체 시료투여군의 원재료군에서 대체적으로 지방구의 크기 및 간격, 형태가 잘 보존되는 것을 확인할 수 있었으며, 오징어 및 창난젓갈의 경우 고염(4%)군보다는 저염(2%)군에서 positive control (simvastatin)과 유사한 형태를 보이는 것을 관찰할 수 있었다.

라. 참고문헌

1. Aebi, H. Catalase in "Method of enzymatic analysis" (H. U. vergmeter, ed.). Academic press, New York., 2, 673. 1974.
2. Erik Stroes, Tjerk de Bruin, Harold de Valk, Willem Erkelens, Jan-Dirk Banga, Herman van Rijn, Hein Koomans and Ton Rabelink, No activity in familiar combined hyperlipidemia: potential role of cholestrerol remnants, Cardiovascular Research, 36, 445-452, 1997.
3. Fridewald, W. T., Lecy, R. I. and Fedreicson, D. S. : Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. Clin. Chem, 18, 499. 1979.
4. Folch, J. M., Lees, and G. H., Sloane Stanley, A simple method for total lipid extraction and purification, J. Biol. Chem., 226, 297, 297, 1957.
5. J. W. A. Smit, T. W. A. de Bruin, E. M. W. Eekhoff, J. Glatz and D. W. Erelens, Combined hyperlipidemia is associated with increased exercise-induced muscle protein release which is improved by triglyceride-lowering intervention, Metabolism, 48, 1518-1523, 1999.
6. Kenya Yamazaki, Hideaki Bujo. Kouichi Taira, Naohiro Itou, Manabu Shibasaki, Kazuo Takahashi and Uasushi Saito. Increased circulating malondialdehyde-modified LDL in the patients with familiar combined hyperlipidemia and itw relation with the hepatic lipase activity, Atherosclerosis, 172, 181-187.2004.
7. Lowry, O. H., Rodebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. : J. Biol. Chem, 193 , 265, 1951.
8. Noma, A. Enzymatic determination of serum cholesterol, Japanesse Journal of Clinical Medicine. 29, 1750-1751,1979.
9. Thomas P. Johnston and Warren K. Palmer, Mechanism of poloxamer 407-induced hypertriglyceridemia in the rat, Biochemical Pharmacology. 46, 1037-1042. 1993.
10. Pagila, E. D. and Valentine, W. N. : Studies on the quantitative and quantitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. J. Lab. Clin. Med., 70, 158. 1967.

2. MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)로 유발한 파킨슨병 유도 흰 쥐에서 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

파킨슨병이란 진전, 근육강직, 평형감각 상실, 자세 불안정 등을 특징으로 하는 신경학적 질병이다. 병의 정확한 원인은 아직 알려지지 않으나 뇌의 흑질에 있는 도파민성 뉴런의 변성이나 파괴와 관련 있다고 알려져 있다. 도파민이라는 신경전달물질은 뇌의 흑색질이라는 신경세포에서 생성되며 흑색질의 신경세포는 뇌의 기저핵이라는 부위와 연결된다. 기저핵은 뇌의 운동피질 및 기타 여러 부위와 복잡하게 연결되어 있어 인체의 운동을 부드럽고 조화 있게, 또한 정확하게 수행할 수 있도록 해주는 매우 중요한 부위이다. 무엇 때문에 흑색질의 신경세포가 파괴되는가에 대해서는 아직 정확한 답은 없으나 이에 대한 활발한 연구가 계속되고 있다.

본 실험에서는 생활환경 호르몬 중에서 파킨슨발병원이 되는 물질로서 MPTP, 6-OHDA, paraquat, Maneb가 있는데 본 실험에서는 흰쥐의 파킨슨 발병물질로 MPTP을 이용하여 파킨슨병을 mouse에 유도시켜 젓갈을 투여하였을 때 그 운동성에 미치는 영향에 대해서 살펴 보았다.

가. 파킨슨병 유도 흰쥐에서 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

(1) 시약 및 기구

시약 중 thiobarbituric acid, sodium dodecyl sulfate, reduced glutathione, oxidized glutathione, NADPH, Kynuramine, 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoli n-6-sulfonic-acid), Kynuramine, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, Cytochrome C는 Sigma 사로부터 구입하였으며 sulfosalicylic acid, sodium azid는 Katayama사, s-odium dihydrogenphosphate, disodium hydrogenphosphate는 Junsei사, malondiald-ialdehyde는 Aldrich사, hydro tyramine은 Fluka사, Dosium octan sulfonic acid는 Acros사로부터 구입하였으며 Kit 시약으로는 Aspartate aminotransferase와 Alanin-e aminotransferase를 아산제약으로부터 공급받았으며 그 외 시약은 특급 또는 일급시약을 사용하였다.

실험에 사용된 기기로는 glass teflon homogenizer(Chang shin scientific Co.), spectrophotometer(Shimadzu UV-1201), high centrifuge(Hanil HMR-1610V), ultra centrifuge(Hitachi, 695-7), water bath(Jeio tech Co.), medical freezer(Sanyo), UGO BASILE TYPE 7402, ROTA-ROD For Mice 7650를 사용하였다.

(2) 실험동물 및 처치

본 실험에 사용한 ICR계 30-35g의 생쥐는 효창 사이언스(대구)로부터 분양 받아 동물사에서 일정한 조건 (온도 : $22\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 습도 : 46-60%, 명암 : 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 검역과 순화, 사육을 거친 건강한 동물로 실시되었다. 사료는 실험동물용 고품 사료(천하제일사료, 대전시 대화동), 음수는 상수도를 자유 섭취시켰다. 이때 효소 활성의 일종의 변동을 고려하여 실험동물을 일정시간(오전 10:00-12:00) 내에서 처치하였다.

실험에 사용된 젓갈의 경우, 앞선 고지혈증 및 비만실험에서 사용된 것과 같이 처리하였으며, 원 시료는 아이케이사이언스(주)의 표본실에 보관되어있다.

실험동물을 총 39군으로 나누어서 식수와 사료만 먹이는 정상군, MPTP(30 mg/kg)을 5일간 복강 내로 투여하여 신경독성을 유발시킨 군, 젓갈 시료를 투여한 군을 3간 전처리하고 MPTP를 투여한 군 및 대조약물인 selegiline(10 mg/kg)을 3주간 전처리하고 MPTP를 투여한 군으로 나누었다. 실험동물의 처치는 MPTP 마지막 투여 12시간 후에 처치하였으며 실험동물은 처치 전 12시간 동안 사료를 제거하고 물만 섭취하도록 하였다.

(3) 운동기능에 미치는 영향 (중추신경계에 미치는 영향)

(가) 현수법(Holding reflex)

수평의 직경 3mm이 금속봉에 앞다리로 5초 이상 매달릴 수 있는 체중 30-35g의 4주된 ICR계 수컷 mouse를 골라 10마리를 1군으로 하여 금속봉에 매달리게 해서 5초 이상 매달릴 수 있는 경우를 작용 없음이라고 판정한다.

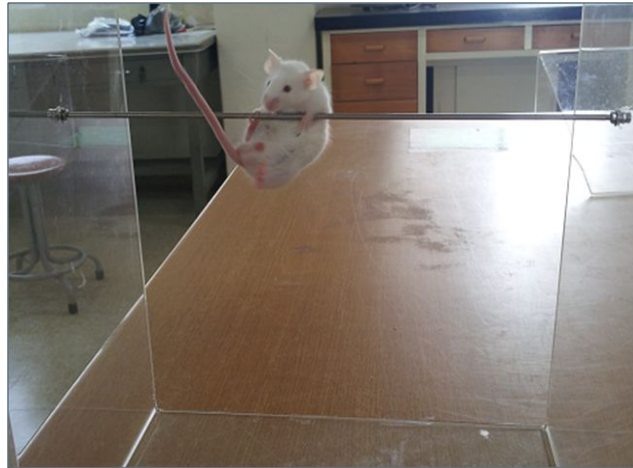


Figure 6. Holding reflex

(나) 경사판법(Platform test)

40도 경사진 아크릴 판에 5초 이상 정지해 있을 수 있는 체중 30-35g의 4주된 ICR계 수컷 mouse를 골라 10마리를 1군으로 하여 경사진 유리판에 놓아 5초 이상 정지할 수 있는 경우를 작용 없음이라고 판정한다.



Figure 7. Platform test

(다) 회전봉 법(rota-road test)

체중 30-35g의 4주된 ICR 계 수컷 mouse를 ROTA-ROD For Mice 7650을 사용하여 전봉(직경 3cm, 매분 8회전) 위에 올려놓고 2분 이상 떨어지지 않는 mouse를 골라 10마리를 1군으로 하여 회전봉 위에 올려놓고 낙하할 때까지의 시간을 측정한다. 3분 이상 떨어지지 않았던 경우를 작용 없음이라고 판정한다.



Figure 8. Rota-rod test

나. 짓갈의 투여가 MPTP에 의해 유도된 신경독성에서 운동기능에 미치는 결과

(1) 현수법(holding reflex)

MPTP로 유도한 신경독성 파킨슨병 운동 기능에 어떠한 영향을 주는가를 알아보기 위하여 현수법 시험을 한 결과가 Table 31이다. 실험동물 6마리를 한 군으로 하여 생리식염수를 투여한 정상 군에서는 현수법 시험에서 다 통과하였으나 MPTP(30 mg/kg)을 5일간 투여한 군에서는 6마리 모두 통과하지 못하였으며, 대조약물인 selegiline(10 mg/kg)을 28일간 투여하고 MPTP를 투여한 군에서는 6마리 중 5마리가 통과하여 16.67%의 실패율을 보였다.

멸치 짓갈군이 새우짓갈군 및 오징어, 창난 짓갈군에 비하여 전체적으로 현수법 결과가 높게 나타났으며, 오징어짓갈 및 창난짓갈의 경우 크게 염 농도에 영향을 받지 않는 것을 관찰할 수 있었다.

Table 31. Effect of Jeotgal on the holding test in MPTP-induced mice.

Group	Holding test	
	Result	failure in the test(%)
Normal	6/6	0
Control	0/6	100
Positive control(selegiline)	5/6	16.67
AN 100	6/6	0
AN 200	5/6	16.67
AE 100	5/6	16.67
AE 200	3/6	50.00
AR 100	2/6	66.67
AR 200	2/6	66.67
SN 100	1/6	83.33
SN 200	3/6	50.00
SE 100	4/6	33.33
SE 200	4/6	33.33
SR 100	1/6	83.33
SR 200	2/6	66.67
LSQN 100	1/6	83.33
LSQN 200	2/6	66.67
LSQE 100	3/6	50.00
LSQE 200	1/6	83.33
LSQR 100	3/6	50.00
LSQR 200	2/6	66.67
HSQN 100	4/6	33.33
HSQN 200	2/6	66.67
HSQE 100	2/6	66.67
HSQE 200	3/6	50.00
HSQR 100	3/6	50.00
HSQR 200	2/6	66.67
LSIN 100	3/6	50.00
LSIN 200	4/6	33.33
LSIE 100	2/6	66.67
LSIE 200	3/6	50.00
LSIR 100	2/6	66.67
LSIR 200	3/6	50.00
HSIN 100	3/6	50.00
HSIN 200	4/6	33.33
HSIE 100	4/6	33.33
HSIE 200	4/6	33.33
HSIR 100	3/6	33.33
HSIR 200	2/6	66.67

Mice was administered with selegiline(10 mg/kg) orally for 28 days and MPTP(30 mg/kg, i.p.) for the last 5days. The assay procedure was described in the experimental methods.

(2) 경사판법(platform test)

MPTP로 유도한 파킨슨병의 운동 기능에 어떠한 영향을 주는가를 알아보기 위하여 경사판법 시험을 한 결과가 Table 32이다. 실험동물 6마리를 한 군으로 하여 생리식염수를 투여한 정상군에서는 경사판법 시험에서 5초를 견뎠으나, MPTP(30 mg/kg)을 5일간 투여한 군에서는 0.42초간 버티는 모습을 보여주었다.

한편 대조약물인 selegiline(10 mg/kg)을 28일간 투여하고 MPTP를 투여한 군에서는 4.82초로 정상군과 비슷한 유의성을 나타내었다.

경사판법 또한 현수법과 비슷한 경향을 보여주어, 멸치젓갈 투여군에서 대체적으로 높은 결과를 얻었다. 특히, 오징어젓갈의 경우 소금 농도가 낮은 군에서 멸치젓갈 투여군과 유의한 결과를 나타내었다.

Table 32. Effect of *Jeotgal* on the platform test in MPTP-induced mice.

Group	Inclined screen test
	Inclined screen test results (sec)
Normal	5.00
Control	0.42
Positive control(selegiline)	4.82
AN 100	5.00
AN 200	4.58
AE 100	4.58
AE 200	2.92
AR 100	3.33
AR 200	3.75
SN 100	2.50
SN 200	2.50
SE 100	2.50
SE 200	2.92
SR 100	2.92
SR 200	2.92
LSQN 100	4.58
LSQN 200	3.33
LSQE 100	2.92
LSQE 200	0.83
LSQR 100	2.50
LSQR 200	3.33
HSQN 100	3.75
HSQN 200	0.83
HSQE 100	1.67
HSQE 200	2.50
HSQR 100	2.92
HSQR 200	2.92
LSIN 100	3.83
LSIN 200	3.50
LSIE 100	5.00
LSIE 200	3.83
LSIR 100	3.17
LSIR 200	3.50
HSIN 100	2.50
HSIN 200	1.00
HSIE 100	0.83
HSIE 200	3.83
HSIR 100	2.33
HSIR 200	3.50

Mice was administered with selegiline(10 mg/kg) orally for 28 days and MPTP(30 mg/kg, i.p.) for the last 5days. The assay procedure was described in the experimental methods.

(3) 회전봉 법(rota-road test)

MPTP로 유도한 파킨슨병의 운동기능에 어떠한 영향을 주는가를 알아보기 위하여 회전봉 법 시험을 한 결과가 Table 33이다. 실험동물 6마리를 한 군으로 하여 생리식염수를 투여한 정상군에서는 회전봉 법 시험에서 4분간 실험하였을 때, 다 통과하였으나 MPTP(30 mg/kg)을 5일간 투여한 군에서는 6마리 중 55.42%의 실패율을 보였다. 대조약물인 selegiline(10 mg/kg)을 28일간 투여하고 MPTP를 투여한 군에서는 130.80초로 45.50%의 실패율을 보였다.

MPTP투여에 의하여 파킨슨병을 유발시켰을 때 젓갈을 투여한 군들 전체에서 대조군보다 운동성이 향상되었으며 앞선 현수법과 경사판법 실험과 같이, 멸치시료를 투여한 군이 상대적으로 새우, 오징어 및 창난을 투여한 군들보다 좋은 결과를 얻었다.

Table 33. Effect of Jeotgal on the rota rode test in MPTP-induced mice.

Group	Rota rod	
	Result(sec)	failure in the test(%)
Normal	240.00	0
Control	107.00	55.42
Positive control(selegiline)	130.80	45.50
AN 100	207.00	13.75
AN 200	202.00	15.83
AE 100	190.20	20.75
AE 200	233.80	2.58
AR 100	240.00	0.00
AR 200	211.20	12.00
SN 100	165.20	31.17
SN 200	240.00	0.00
SE 100	180.40	24.83
SE 200	215.20	10.33
SR 100	175.20	27.00
SR 200	182.60	23.92
LSQN 100	117.80	50.92
LSQN 200	151.00	37.08
LSQE 100	204.00	15.00
LSQE 200	165.20	31.17
LSQR 100	150.60	37.25
LSQR 200	192.20	19.92
HSQN 100	167.60	30.17
HSQN 200	164.20	31.58
HSQE 100	23.40	90.25
HSQE 200	162.60	32.25
HSQR 100	110.00	54.17
HSQR 200	211.00	12.08
LSIN 100	144.60	39.75
LSIN 200	164.00	31.67
LSIE 100	111.80	53.42
LSIE 200	161.00	32.92
LSIR 100	83.60	65.17
LSIR 200	161.60	32.67
HSIN 100	70.00	70.83
HSIN 200	122.20	49.08
HSIE 100	104.80	56.33
HSIE 200	206.00	14.17
HSIR 100	206.67	13.89
HSIR 200	162.40	32.33

Mice was administered with selegiline(10 mg/kg) orally for 28 days and MPTP(30 mg/kg, i.p.) for the last 5days. The assay procedure was described in the experimental methods.

다. 고찰 및 결론

MPTP는 생체내로 유입되면 뇌에서 몇 단계를 거친 후 MPP+로 변환되어 중뇌의 흑질 부위를 비가역적으로 파괴한다. 현재까지 MPTP의 신경독성을 완화시킨다고 알려진 것은 Vitamine E, allopurinol, selenium, selegiline, centrophenoxine 등이 있다. 주로 활성산소 소거 능력에 의해 도파민성 신경세포의 파괴를 완화하거나, 생체 내에서의 MAO-B inhibitor로 작용하여 MPTP 대사를 저해시키는 기전으로 파킨슨병의 치료에 활용되고 있다.

본 실험에서는 생활환경 호르몬 중 파킨슨발병원이 되는 물질인 MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)을 복강에 투여하여 파킨슨병을 유도하였으며 selegiline 10mg/kg을 복강에 투여하여 positive control군으로 실험을 디자인 하였으며, 앞선 고지혈증 및 비만실험과 같이 젓갈시료를 투여하여 신경독성의 운동효과를 살펴보았다.

이 결과, 오징어 및 창난 젓갈에 비하여 발효기간이 상대적으로 긴 멸치 및 새우 젓갈에서 현수법 및 경사판법, 회전봉 법에서 전체적으로 우수한 결과를 얻었다. 특히 현수법의 경우 멸치 젓갈군이 전체적으로 높은 결과를 나타냈으며 염 농도는 크게 영향을 받지 않았으며, 경사판법 및 회전봉 법에서 실제 파킨슨 환자 치료에 있어서 기존의 치료제인 selegiline과 유의한 결과를 얻은 것을 미루어보아 향후 parkinsonism의 치료와 예방에 더욱 효과적일 것으로 사료된다.

라. 참고문헌

1. 김석환, 이주연, 김여정, 강혜옥, 이향우, 최종원. Selenium MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)에 의해 유도된 생쥐의 신경독성에 미치는 영향. : *Journal of Life Science* ,16, 266, 2006.
2. M.Miele, G.Esposito, R.Migheli, S.Sircana, D.Zangani, G.L.Fresu, M.S. Desole : Effects of allopurinol on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced neurochemical changes in the striatum and in the brainstem of the rat. : *Neuroscience Letteres*, 183, 155, 1995.
3. Manuchair Ebadi, Shashi K.Srinivasan, Mayur D. Baxi: Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease. : *Progress in Neurobiology* 48, 1, 1996.
4. Mohammad Tarq, Haseeb A. Khan, Khalaf Al Moutaery, Saleh Al Deeb : Dipyrindamolepotentiates 1-methyl-4 phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced experimental Parkinsonism in mice. : *Parkinsonism and Related Disorders*, 4, 43, 1998.

3. Scopolamine으로 유발한 치매 유도 흰쥐에서 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

가. Scopolamine으로 유발한 치매 유도 흰쥐에서 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

(1) 행동실험

(가) 공간학습능력검토: Morris water maze 검사

기억감퇴를 위한 손상 유발 후 3주 동안 식품을 투여한 다음 행동검사를 실시한다. 동물수중미로로 이용되는 수조는 직경이 180cm 높이가 50cm로 온도가 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 정도 물을 30cm 높이로 채운다. 수중 미로의 주변은 비디오카메라, 실험대, 실험대 위에 있는 수온 조절용 장치 등 공간단서들을 일정하게 유지한다. 도피대는 직경이 12cm인 원형 투명아크릴에 받침대를 부착하고, 수면보다 1.5cm 낮게 위치시키고 수중미로는 4개의 동일한 사분원으로 나누어져서 북동 (NE), 북서(NW), 남동 (SE), 남서 (SW)로 구분되고 이중 북동 사분원의 중심부에 도피대가 놓여지고, 나머지 중 하나가 출발위치로 사용된다.

훈련 시행에서는 출발에서부터 도피대로 올라가는데 걸린 시간을 측정하고, 60초간의 검사시행에서는 훈련 시에 도피대가 있었던 사분원에 머문 시간을 측정한다.

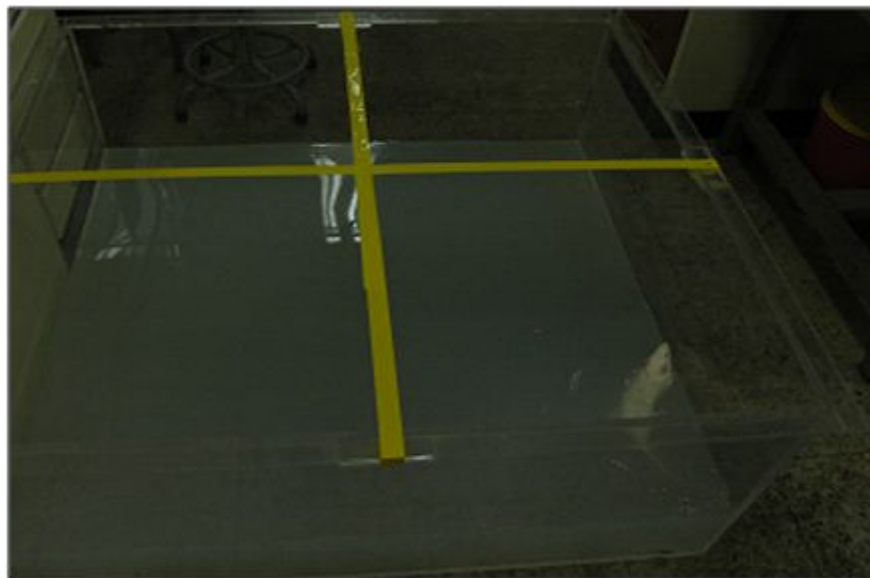


Figure 9. Morris water maze test

(나) 명시적 기억능력검사: Passive avoidance test

치매유발 후 3주 동안 약물을 처치한 후 수동적 회피 조건화를 실시한다. 학습 시행에서는 실험동물이 어두운 조건화 상자로 들어가는 즉시 출입문을 닫고 5V/0.25mA의 직류전기를 10초간 가하였다. 첫 번째 전기자극 후 쥐들을 계속 조건화 상자 안에 머물게 하였고, 30초 후 다시 한번 5V/0.25mA의 직류전기를 10초간 가해 주었다. 두 번째 전기자극을 가하고 나서 30초 후에 쥐들을 조건화 상자에서 꺼내, 다시 플랫폼의 끝에 올려놓고 검사 시행을 실시하였다. 쥐가 플랫폼에 놓임과 동시에 백열등을 켜고 조건화 상자로의 문을 개방하고, 이때부터 쥐가 180°회전하여 다리와 꼬리가 완전히 조건화 상자로 들어가는데 소요되는 반응 시간을 측정하였다. 이는 전기자극에 대한 수동적 회피를 학습하였는지 여부를 확인하기 위한 실험으로 학습을 시킨 후 본 실험에 들어간다.

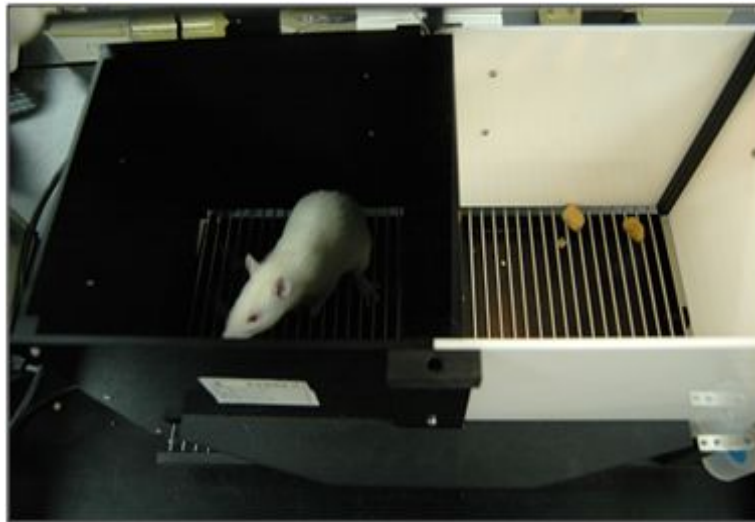


Figure 10. Passive avoidance test

나. 기억감퇴 동물 모델에서의 Biomarker에 관한 연구

학습과 기억손상은 대뇌의 측두엽, 전두엽, 두정엽의 일차연합령(primary association area)이 담당하고 있으며, 해마와 편도핵도 중요한 역할을 한다. 특히 해마의 CA1 부위에서 추체세포(pyramidal cell)들이 선택적으로 손상되면 학습과 기억의 장애가 심각하게 나타난다. 아세틸콜린(acetylcholine), 도파민(dopamine), 세로토닌(serotonine), GABA의 경우에는 노화에 따라 감소하는 것으로 알려져 있는데, 그 중 Alzheimer's disease(AD) 환자에 있어서 시냅전 신경 표지자(presynaptic neuronal marker)의 생성에 관여하는 효소, 특히 콜린아세틸트랜스퍼라제(choline acetyltransferase, ChAT)의 활성도가 측두엽의 신피질(neocortex), 내측중격과 편도등에서 약 50~90% 정도 감소한다. 또한 AD의 1차 증상인 기억력 손상 증상은 콜린성 신경계와 밀접한 관계가 있다는 증거가 다양하게 제시되고 있는데, AD에서 나타나는 기억력 상실과 다른 인지 결함이 신호를 전달해 주는 화학물질인 아세틸콜린을 만들어 내는 신경세포의 퇴화 때문이라고 설명할 수 있다.

(1) 뇌조직의 아세틸콜린에스테라제 (acetylcholinesterase, AChE) 활성 측정

아세틸콜린에스테라제 활성은 acetylcholine iodide를 기질로 사용하는 Ellman 등의 방법을 변형하여 분석하였다. 0.1 M phosphate buffer (pH 8.0) 2.6 ml, 10 mM Ellman's 용액 (10 mM 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid, 15 mM sodium bicarbonate) 100 ul, 효소원 0.2 ml를 cuvette에 넣고 410 nm에서 흡광도를 측정한 후, 75 mM acetylcholine iodide 20 ul를 첨가하여 410 nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하여 계산하였다

(2) 아세틸콜린에스테라제 (acetylcholinesterase, AChE) 활성저해효과 (inhibition)

효소활성저해효과는 시료 검액 대신 동량의 완충용액을 넣은 대조군의 흡광도 (C.T)와 시료검액을 넣어준 실험군의 흡광도 (S.T)를 이용하여 측정하였다. 3회 반복 실험한 후 효소활성저해율은 아래 식에 따라 산출하였다.

$$*Inhibition (\%) = 100 - ((S.T/C.T) \times 100)$$

(3) 아세틸콜린 (acetylcholine, ACh) 함량 측정

아세틸콜린 측정은 Hestrin의 방법에 의하여 alkaline hydroxylamine을 가진 σ -acyl 유도체의 반응을 기초로 측정하였다. 모든 hydroxylamine은 산용액에서 ferric ion과 결합하여 붉은 자줏빛을 나타낸다. 뇌 균질액 50 ul를 취하여 1 % hydroxylamine 50 ul를 첨가

하여 혼합한 후 FeCl_3 (10%in0.1NHCl)500ul를 첨가하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 아세틸콜린 함량을 측정하였다.

(4) 뇌조직의 총단백질 (total protein) 함량 측정

뇌조직의 총단백질 함량은 Lowry *et al.*(1951)의 방법에 준하여 bovine serum albumin(Sigma, USA)을 표준품으로 하여 측정하였다. 본 실험에서 얻어진 결과는 평균치 \pm 표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

다. 뇌조직의 GABA(gamma-aminobutyric acid) 함량측정

뇌조직의 GABA 함량은 HPLC(Agilent, USA) 를 이용하여 Clarke *et al.*,의 방법을 변형하여 분석하였다. Scopolamine유도 치매 SD-rat에서 뇌 조직을 분리한 후 무게를 측정한 후, 0.1M citric acid, 0.1 M sodium phosphate monobasic, 5.6 mM octane sulfonic acid와 10% (v/v) methanol에 용해시킨 10 μ M EDTA를 함유한 homogenizing buffer (pH 2.8)를 시료무게의 6배 volume으로 희석한 후 균질화 시킨 용액을 4 $^{\circ}$ C, 12,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 얻었다.

100 μ L 상등액을 900 μ L의 0.1M borate buffer (pH 9.5), 200 μ L 10mM potassium cyanide용액, 200 μ L의 6mM 2,3 naphthalene dicarboxaldehyde를 첨가한 뒤 voltex로 잘 섞은 후, 0.45 μ M PVDF membrane으로 filter 한 뒤 빛을 차단시킨 상태에서 10 μ L 을 HPLC에 injection하여 fluorescence detector로 excitation 420 nM, emission 489 nM에서 측정하였다.

라. 통계 분석

통계적 검정은 SPSS통계 프로그램을 이용하여 수행하였으며, $p < 0.05$ 이하일 경우 통계적으로 유의한 것으로 검정하였다. 각 항목에 대한 유의한 차이를 나타내는지의 비교분석은 student's t-test one-way ANOVA(Turkey's multiple comparison test)를 이용하여 통계적 유의성을 검증하였다.

나. 치매 유도 흰쥐에서 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향 결과

(1) 임상(효능) 평가

(가) 체중 변화 및 임상적 견해

① 체중 변화

모든 동물에 대하여 투여 및 사료 처치 결과 특별한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 체중 변화는 모든 군에서 정상적인 성장 곡선을 보여주었다. 군 간의 통계적인 체중 차이는 나타나지 않았다(Table 34).

Table 34. Body weight(g).

시험군	Dose (mg/kg)	Body weight(g)		
		Initial	7days	Final
Normal	-	222.67	268.00	262.67
Control	-	247.33	282.00	277.33
Positive control (Simvastatin)	20	234.67	258.00	288.00
Anchovy Jeotgal natural material	AN	100	234.67	268.00
		200	244.67	272.67
Anchovy Jeotgal ethanol extract	AE	100	234.00	268.00
		200	242.00	248.67
Anchovy Jeotgal residue on evaporation	AR	100	231.33	258.00
		200	246.00	278.00
Shrimp Jeotgal natural material	SN	100	230.00	238.00
		200	228.00	258.00
Shrimp Jeotgal ethanol extract	SE	100	208.00	240.00
		200	205.33	284.67
Shrimp Jeotgal residue on evaporation	SR	100	249.67	288.00
		200	233.33	274.67
Low salt-Squid Jeotgal natural material	LSQN	100	198.00	231.33
		200	236.00	281.67
Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	LSQE	100	251.33	271.33
		200	242.67	279.33
Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	LSQR	100	246.67	268.67
		200	242.67	276.00
High salt-Squid Jeotgal natural material	HSQN	100	242.00	242.67
		200	222.67	249.33
High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	HSQE	100	252.67	249.33
		200	252.67	291.33
High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	HSQR	100	238.00	243.33
		200	251.67	308.00
Low salt-Sauced intestine natural material	LSIN	100	198.67	281.33
		200	220.00	274.00
Low salt-Sauced intestine ethanol extract	LSIE	100	229.33	252.00
		200	234.00	278.00
Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	LSIR	100	246.00	274.67
		200	215.33	306.00
High salt-Sauced intestine natural material	HSIN	100	249.67	294.33
		200	242.00	287.33
High salt-Sauced intestine ethanol extract	HSIE	100	264.67	238.00
		200	233.33	238.00
High salt-Sauced intestine residue on evaporation	HSIR	100	236.00	264.67
		200	227.33	271.33

② 임상적 견해

유독물질 투여 시 뇌의 무게나 상대적 뇌 무게의 증가는 많은 선행연구와 일치하는 것으로, 이러한 현상은 유독물질에 대한 신체의 방어 작용 때문으로 알려져 있다. 본 연구에 사용된 젓갈 투여의 농도는 실험동물에게 심각한 독성을 나타내는 농도가 아님을 확인할 수 있다 (Table 35).

Table 35. Brain weight(g).

시험군		Dose	Brain weight
		(mg/kg)	(g)
Normal		-	1.83
Control		-	1.84
Positive control (Simvastatin)		20	1.84
Anchovy Jeotgal natural material	AN	100	1.81
		200	1.86
Anchovy Jeotgal ethanol extract	AE	100	1.96
		200	1.96
Anchovy Jeotgal residue on evaporation	AR	100	1.96
		200	1.96
Shrimp Jeotgal natural material	SN	100	1.87
		200	1.84
Shrimp Jeotgal ethanol extract	SE	100	1.81
		200	1.99
Shrimp Jeotgal residue on evaporation	SR	100	1.92
		200	1.72
Low salt-Squid Jeotgal natural material	LSQN	100	1.94
		200	1.99
Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	LSQE	100	1.95
		200	1.95
Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	LSQR	100	2.04
		200	1.93
High salt-Squid Jeotgal natural material	HSQN	100	1.52
		200	1.75
High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	HSQE	100	2.11
		200	1.89
High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	HSQR	100	1.77
		200	1.86
Low salt-Sauced intestine natural material	LSIN	100	1.98
		200	1.93
Low salt-Sauced intestine ethanol extract	LSIE	100	1.80
		200	1.75
Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	LSIR	100	1.71
		200	1.79
High salt-Sauced intestine natural material	HSIN	100	1.98
		200	1.84
High salt-Sauced intestine ethanol extract	HSIE	100	2.02
		200	1.78
High salt-Sauced intestine residue on evaporation	HSIR	100	1.86
		200	1.95

(2) 행동실험

① 공간학습능력검토: Morris water maze 검사

Scopolamine 처리군은 시험훈련 기간 동안 escape latency 시간이 대조군에 비해 증가하였으며, 젓갈시료 투여군은 전체적으로 시험훈련 3일째부터 도피대를 찾아가는 시간이 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$).

훈련 5일째 도피대를 제거한 후 probe test를 시행한 결과를 Table 36와 Figure 10에 나타내었다. scopolamine 투여군(Control군)은 180.33초로 정상군(Normal군)의 14.33초보다 현저히 증가하였다($p < 0.05$). Morris water maze test에서 escape latency 감소는 장기기억과 관련된 학습능력을 나타낸다. 치매유발 물질인 scopolamine 처리군은 5일간의 반복 시험으로 escape latency가 다른군에 비해 크게 감소하지 않아 장기기억(long-term memory)이 손상된 것을 알 수 있었다.

반면 멀치젓갈 시료 투여군 및 새우젓갈 시료 투여군에서 전체적으로 scopolamine에 의한 기억 손상이 오징어젓갈 및 창난젓갈 투여군보다 크게 향상되는 것을 관찰할 수 있었으며 5일째는 정상군(Normal군)의 escape latency 수준으로 회복되었다.

이는 젓갈 투여군의 5일간의 인지훈련기간 동안 수중미로상의 platform의 위치를 인지하고 반복되는 연속적인 훈련을 통해 공간 지각력을 확실하게 기억하고 있음을 확인할 수 있었다. 이를 통해 볼 때 장기발효에 의한 새우 및 멀치젓갈이 scopolamine으로 유도한 치매 흰쥐의 장기기억 개선효과가 뛰어난 것으로 나타났다.

Table 36. Morris water maze test.

Group	Morris water maze test(sec)				
	1day	2day	3day	4day	5day
Normal	78.05	22.00	23.42	18.73	15.61
Control	163.25	65.30	48.98	55.00	32.65
Positive control	122.75	49.10	36.83	29.00	24.55
AN 100	84.90	33.96	25.47	38.00	16.98
AN 200	167.30	66.92	50.19	40.15	33.46
AE 100	108.00	43.20	32.40	25.92	21.6
AE 200	99.95	39.98	29.99	23.99	19.99
AR 100	93.10	37.24	27.93	22.34	18.62
AR 200	75.45	40.00	22.64	18.11	15.09
SN 100	86.45	34.58	25.94	20.75	17.29
SN 200	65.60	26.24	34.00	15.74	13.12
SE 100	57.55	23.02	17.27	13.81	11.51
SE 200	103.55	41.42	31.07	24.85	20.71
SR 100	115.15	46.06	24.00	27.64	23.03
SR 200	113.65	45.46	34.09	27.28	22.73
LSQN 100	104.00	41.60	31.20	24.96	20.8
LSQN 200	124.90	49.96	30.00	29.98	24.98
LSQE 100	86.85	34.74	26.06	20.84	17.37
LSQE 200	191.85	76.74	57.56	46.04	38.37
LSQR 100	182.70	73.08	54.81	43.85	36.54
LSQR 200	199.40	79.76	59.82	47.86	39.88
HSQN 100	199.45	79.78	59.84	47.87	39.89
HSQN 200	103.70	41.48	40.00	24.89	20.74
HSQE 100	164.75	65.90	49.43	39.54	32.95
HSQE 200	89.85	35.94	26.96	21.56	17.97
HSQR 100	151.05	60.42	45.32	36.25	30.21
HSQR 200	73.80	29.52	22.14	17.71	14.76
LSIN 100	157.10	62.84	47.13	37.70	31.42
LSIN 200	58.25	23.30	17.48	13.98	11.65
LSIE 100	124.75	49.90	37.43	29.94	24.95
LSIE 200	89.30	35.72	26.79	21.43	17.86
LSIR 100	97.55	39.02	29.27	23.41	19.51
LSIR 200	111.60	44.64	33.48	26.78	22.32
HSIN 100	80.20	32.08	24.06	19.25	16.04
HSIN 200	191.40	76.56	57.42	45.94	38.28
HSIE 100	61.30	24.52	18.39	14.71	12.26
HSIE 200	94.10	37.64	28.23	22.58	18.82
HSIR 100	106.85	42.74	32.06	25.64	21.37
HSIR 200	136.85	54.74	41.06	32.84	27.37

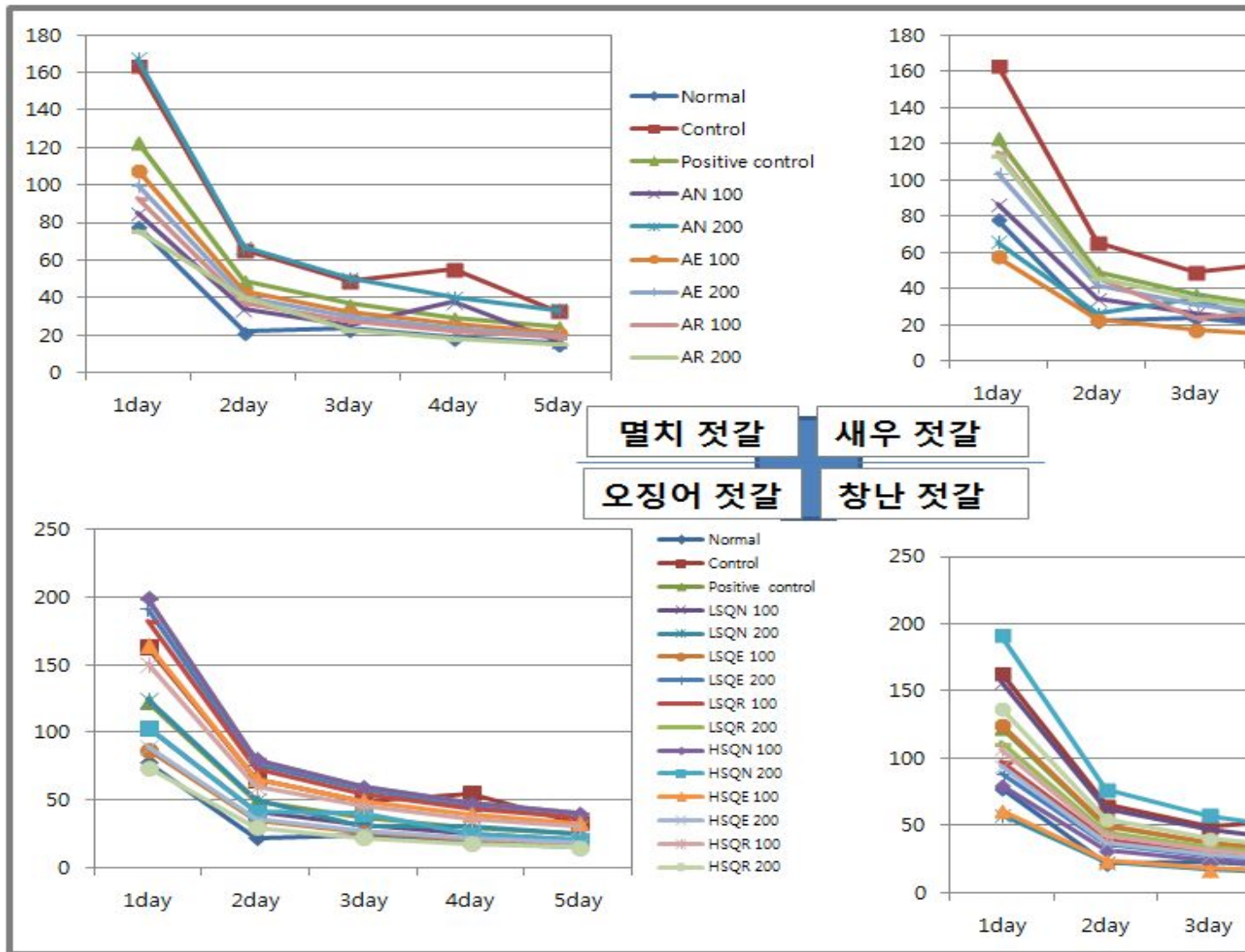


Figure 10. Effect of *Jeotgal* on scopolamine-induced memory impairment mice in Morris water maze test.

② 명시적 기억능력검사: Passive avoidance test

Scopolamine(2 mg/kg, i.p.)을 투여한 기억력 감퇴 동물모델을 이용하여 짓갈시료가 기억력 손상을 억제하여 주는 효과가 있는지 여부를 수동회피 측정 장치를 이용하여 확인 하였다. Scopolamine(2 mg/kg, i.p.)의 투여에 의한 기억력 손상 여부를 확인한 결과 scopolamine 그룹은 기억시험에서 latency time이 190.00 ± 16.26 초로 대조군의 285.67 ± 19.73 초에 대하여 통계적으로 유의성 있게 감소하였다($p < 0.05$).

이는 학습시험 시의 전기 충격을 기억하지 못한다는 것으로 판단되어 scopolamine에 의한 기억력 감퇴 모델의 구축을 증명한다.

한편 짓갈 시료 투여군에서 전체적으로 scopolamine에 의한 기억 손상이 개선되는 것을 살펴 볼 수 있었으며, 짓갈 원재료군들에서 Positive control로 사용된 Bf-7군과 비슷한 결과를 보이는 것을 확인할 수 있었다(Table 37, Figure. 11).

Table 37. Passive avoidance test(sec).

시험군		Dose (mg/kg)	Passive avoidance test (sec)
Normal		-	285.67±19.73 ^d
Control		-	190.00±16.26 ^{cd}
Positive control (BF-7)		100	288.90±9.73 ^{ab}
Anchovy Jeotgal natural material	AN	100	288.67±13.80 ^{ab}
		200	208.33±28.46 ^{ab}
Anchovy Jeotgal ethanol extract	AE	100	231.67±7.82 ^{ab}
		200	108.67±4.29 ^{ab}
Anchovy Jeotgal residue on evaporation	AR	100	286.67±19.66 ^{cd}
		200	214.67±34.04 ^{cd}
Shrimp Jeotgal natural material	SN	100	296.00±4.36 ^{ab}
		200	214.67±34.04 ^{de}
Shrimp Jeotgal ethanol extract	SE	100	145.33±24.34 ^{de}
		200	209.00±1.22 ^a
Shrimp Jeotgal residue on evaporation	SR	100	196.67±22.87 ^{de}
		200	225.67±21.13 ^{de}
Low salt-Squid Jeotgal natural material	LSQN	100	218.67±37.41 ^{de}
		200	219.00±37.70 ^{de}
Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	LSQE	100	279.33±18.23 ^d
		200	263.67±28.88 ^e
Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	LSQR	100	265.67±33.47
		200	228.67±1.24 ^a
High salt-Squid Jeotgal natural material	HSQN	100	298.67±0.58 ^a
		200	195.00±3.65 ^{ab}
High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	HSQE	100	222.697±31.35 ^e
		200	188.33±17.95 ^d
High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	HSQR	100	298.00±1.00 ^a
		200	270.70±25.15 ^{cd}
Low salt-Sauced intestine natural material	LSIN	100	287.18±8.12 ^{ab}
		200	294.31±4.20 ^{ab}
Low salt-Sauced intestine ethanol extract	LSIE	100	212.14±1.84 ^a
		200	243.90±5.82 ^{ab}
Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	LSIR	100	294.37±5.97 ^{ab}
		200	261.35±38.80 ^{de}
High salt-Sauced intestine natural material	HSIN	100	271.84±28.92 ^{de}
		200	195.67±17.58 ^d
High salt-Sauced intestine ethanol extract	HSIE	100	291.57±6.44 ^{ab}
		200	284.54±15.57 ^d
High salt-Sauced intestine residue on evaporation	HSIR	100	283.79±20.66 ^d
		200	277.60±18.94 ^d

* The retention test was performed 24 hrs after training session.

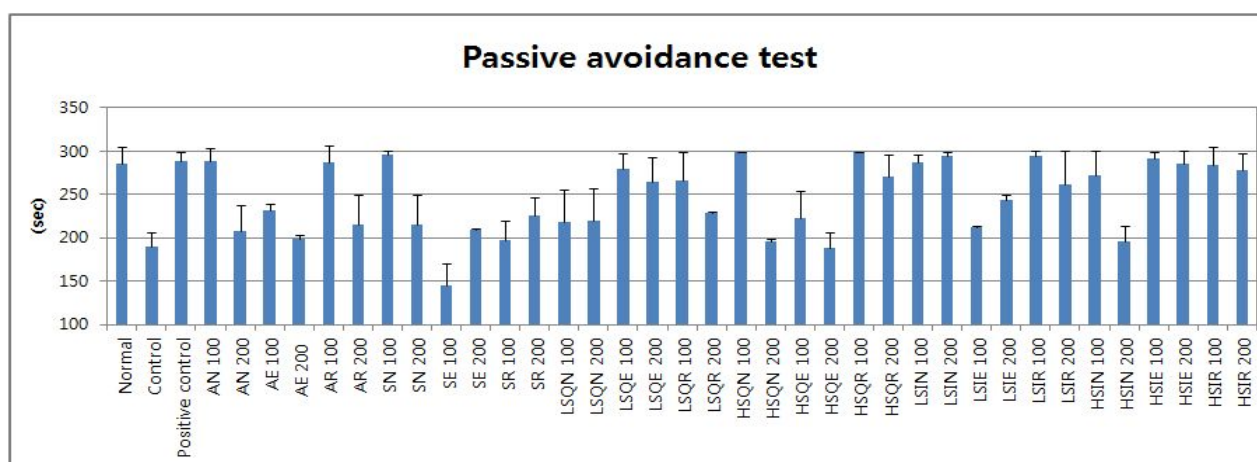


Figure 11. The retention latency of passive avoidance response. The retention test was performed 24 hrs after training session(p < 0.05).

(3) 기억 감퇴 동물 모델에서의 Biomarker에 관한 연구

① 뇌조직의 아세틸콜린에스테라제 (acetylcholinesterase, AChE) 활성 측정

젓갈이 scopolamine으로 유도된 치매 유발 흰쥐의 아세틸콜린에스테라제 활성억제에 미치는 효과는 Table 38 및 Figure 12 와 같다.

control군의 경우 5.27 ± 0.01 U/mg protein/min로 정상군인 0.81 ± 0.05 U/mg protein/min AChE 효소 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었고, 앞선 행동실험 결과에서도 확인할 수 있듯이 멸치젓갈 투여군에서 positive control과 비슷한 수치를 확인할 수 있었다.

이것은 치매환자 치료에 있어 AChE 효소 활성을 저해시켜 아세틸콜린 농도를 증가시키는 보고와 일치하는 결과로, AChE 효소의 활성이 감소한다는 사실은 그 만큼 신경 전달이 원활하게 이루어짐을 의미한다.

Table 38. Acetylcholinesterase activity in rat brain treated with scopolamine.

시험군		Dose (mg/kg)	Acetylcholinesterase activity u/mg protein/min
Normal		-	0.81±0.05 ^{ab}
Control		-	5.27±0.01 ^a
Positive control (BF-7)		100	3.23±0.03 ^{ab}
Anchovy Jeotgal natural material	AN	100	1.57±0.01 ^a
		200	2.44±0.01 ^a
Anchovy Jeotgal ethanol extract	AE	100	2.75±0.01 ^a
		200	2.21±0.01 ^a
Anchovy Jeotgal residue on evaporation	AR	100	3.82±0.01 ^a
		200	1.64±0.01 ^a
Shrimp Jeotgal natural material	SN	100	3.12±0.00 ^a
		200	2.12±0.06 ^c
Shrimp Jeotgal ethanol extract	SE	100	4.77±0.05 ^{ab}
		200	4.79±0.02 ^a
Shrimp Jeotgal residue on evaporation	SR	100	2.11±0.01 ^a
		200	2.14±0.10 ^d
Low salt-Squid Jeotgal natural material	LSQN	100	3.05±0.01 ^a
		200	3.45±0.02 ^a
Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	LSQE	100	3.05±0.02 ^a
		200	3.45±0.02 ^{ab}
Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	LSQR	100	3.50±0.02 ^{ab}
		200	3.03±0.06 ^d
High salt-Squid Jeotgal natural material	HSQN	100	1.15±0.02 ^{ab}
		200	0.88±0.03 ^{ab}
High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	HSQE	100	3.12±0.02 ^{ab}
		200	2.12±0.01 ^a
High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	HSQR	100	2.11±0.02 ^{ab}
		200	2.14±0.01 ^a
Low salt-Sauced intestine natural material	LSIN	100	4.77±0.07 ^c
		200	4.79±0.04 ^c
Low salt-Sauced intestine ethanol extract	LSIE	100	3.54±0.01 ^{ab}
		200	4.13±0.08 ^c
Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	LSIR	100	1.95±0.01 ^a
		200	1.52±0.01 ^a
High salt-Sauced intestine natural material	HSIN	100	1.73±0.04 ^{ab}
		200	1.55±0.14 ^{cd}
High salt-Sauced intestine ethanol extract	HSIE	100	1.52±0.00 ^a
		200	2.70±0.08 ^c
High salt-Sauced intestine residue on evaporation	HSIR	100	2.11±0.05 ^c
		200	1.01±0.00 ^a

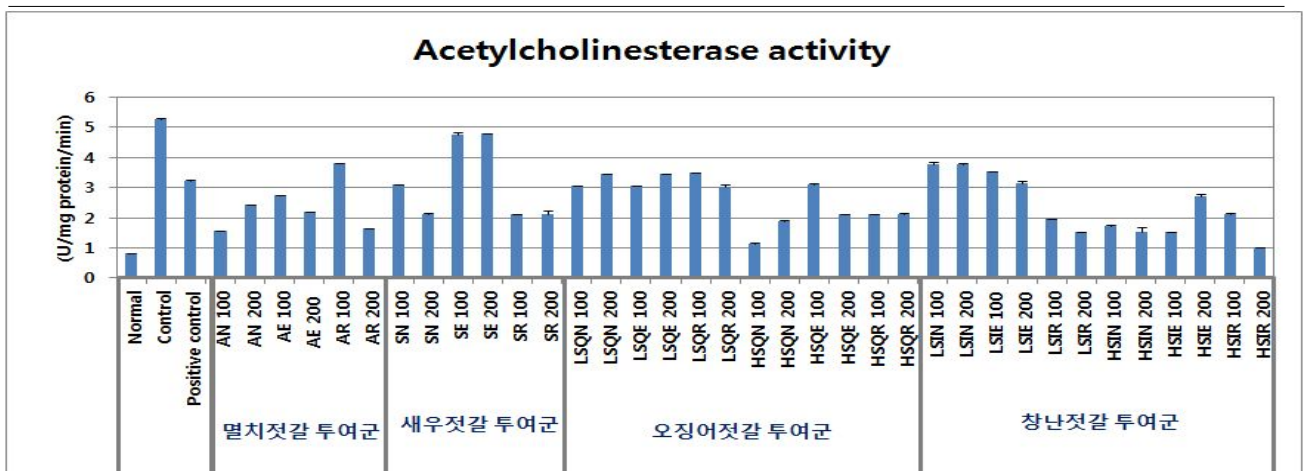


Figure 12. Effect of *Jeotgal* on acetylcholinesterase activity in rat brain treated with scopolamine.

② 아세틸콜린에스테라제 (acetylcholinesterase, AChE) 활성 저해효과 (inhibition)

AChE의 효소반응은 신경계에서 신호전달의 신속성이 요구된다. 이러한 빠른 효소반응은 생물학적 기질을 이용하여 *in vitro*에서 실험적으로 측정할 수 없기 때문에, AChE의 *in vitro* 검정은 상대적으로 반응속도가 매우 느리면서도 효소특이성을 지니고 있는 대체 기질인 acetylcholine iodide를 이용하여 반응시켰다.

Acetylcholinesterase inhibition의 경우 앞선 Acetylcholinesterase activity결과와 비슷한 경향을 보여주었다. 전체적으로 시료 투여군에서 저해효과가 뛰어났으며 오징어젓갈 및 창난젓갈의 경우 염농도가 높아질수록 저해효과가 감소되는 경향을 보였다(Table 39 및 Figure 13).

Table 39. Acetylcholinesterase inhibition in rat brain treated with scopolamine.

시험군		Dose (mg/kg)	Acetylcholinesterase inhibition (sec)
Normal		-	72.75±5.68 ^d
Control		-	40.71±5.68 ^b
Positive control (BF-7)		100	51.77±6.06 ^d
Anchovy Jeotgal natural material	AN	100	51.31±5.05 ^d
		200	45.64±4.50 ^d
Anchovy Jeotgal ethanol extract	AE	100	59.18±2.50 ^b
		200	54.87±1.23 ^a
Anchovy Jeotgal residue on evaporation	AR	100	53.69±3.57 ^d
		200	54.62±3.51 ^b
Shrimp Jeotgal natural material	SN	100	46.51±5.96 ^{bc}
		200	52.71±1.04 ^a
Shrimp Jeotgal ethanol extract	SE	100	61.57±6.76 ^{bc}
		200	63.53±2.49 ^b
Shrimp Jeotgal residue on evaporation	SR	100	56.31±7.32 ^d
		200	66.42±2.89 ^b
Low salt-Squid Jeotgal natural material	LSQN	100	56.64±8.25 ^d
		200	54.63±4.43 ^d
Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	LSQE	100	52.49±4.66 ^d
		200	60.97±3.66 ^b
Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	LSQR	100	55.00±7.64 ^{bc}
		200	52.25±5.29 ^{bc}
High salt-Squid Jeotgal natural material	HSQN	100	48.37±6.21 ^{bc}
		200	46.84±3.25 ^b
High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	HSQE	100	52.64±3.75 ^{bc}
		200	50.18±3.94 ^{bc}
High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	HSQR	100	46.71±2.98 ^b
		200	48.63±0.34 ^a
Low salt-Sauced intestine natural material	LSIN	100	42.30±5.94 ^d
		200	49.87±1.41 ^c
Low salt-Sauced intestine ethanol extract	LSIE	100	54.05±1.77 ^a
		200	58.97±5.63 ^c
Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	LSIR	100	48.40±0.97 ^a
		200	47.02±3.35 ^d
High salt-Sauced intestine natural material	HSIN	100	39.05±8.57 ^{bc}
		200	40.89±6.76 ^{bc}
High salt-Sauced intestine ethanol extract	HSIE	100	49.86±1.22 ^a
		200	50.11±2.08 ^b
High salt-Sauced intestine residue on evaporation	HSIR	100	48.54±0.76 ^a
		200	49.01±2.03 ^b

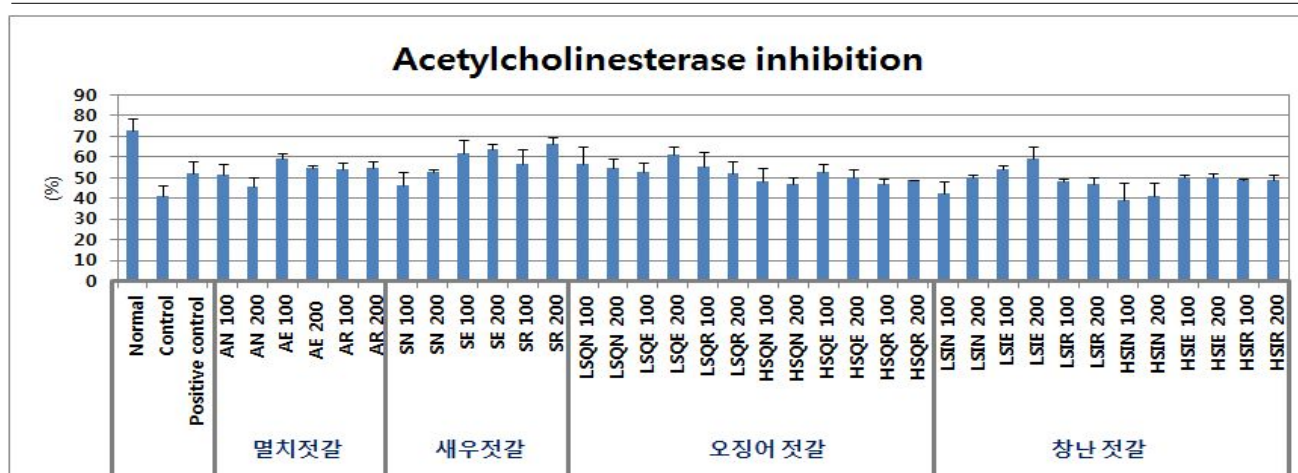


Figure 13. Inhibitory effect of *Jeotgal* on acetylcholinesterase activity *in vitro*.

③ 아세틸콜린 (acetylcholine, ACh) 함량 측정

ACh은 모든 신경세포에서 발견되는 신경전달물질 중추신경계의 콜린성 시스템과 매우 관련성이 높다. ACh은 acetyl CoA와 choline acetyltransferase(ChAT)의 효소 작용으로 합성되며, AChE의 작용으로 acetate와 choline으로 분해된다. 실험동물 및 임상연구에서 콜린성 신경계의 붕괴는 초기 알츠하이머 질환의 주요 원인으로 알려졌다. ACh 생성에 미치는 짓갈시료의 효과는 Table 40 및 Figure 14에 제시하였다.

대조군(Control군)의 ACh 함량은 $2.51 \pm 0.25 \mu\text{mol/mg protein}$ 으로 정상군(Normal군) $7.51 \pm 0.70 \mu\text{mol/mg protein}$ 과 비교하여 약 38 % 감소하였다. 이것은 기억손상을 일으키는 scopolamine 투여에 의해 ACh 함량이 감소함을 보여준다.

전체적으로 짓갈 투여군들의 경우 positive control의 수준으로 Acetylcholine의 함량이 높은 것으로 확인되었다. 이는 노인성 치매에서 ACh 함량이 감소한다는 보고를 고려했을 때 짓갈의 급여는 노인성 치매의 예방에 도움이 될 것으로 예상된다.

Table 40. Acetylcholine concentration in rat brain treated with scopolamine.

시험군		Dose (mg/kg)	Acetylcholine concentration umol/mg protein
Normal		-	7.51±0.70 ^d
Control		-	2.87±0.25 ^{bc}
Positive control (BF-7)		100	5.12±0.17 ^{cd}
Anchovy Jeotgal natural material	AN	100	2.45±0.10 ^{ab}
		200	3.71±0.03 ^a
Anchovy Jeotgal ethanol extract	AE	100	5.09±0.34 ^{bc}
		200	3.19±0.35 ^{bc}
Anchovy Jeotgal residue on evaporation	AR	100	5.75±0.13 ^{ab}
		200	5.07±0.25 ^{bc}
Shrimp Jeotgal natural material	SN	100	3.95±0.24 ^{bc}
		200	3.25±0.06 ^a
Shrimp Jeotgal ethanol extract	SE	100	4.39±0.77 ^d
		200	5.73±0.10 ^{ab}
Shrimp Jeotgal residue on evaporation	SR	100	5.59±0.40 ^{cd}
		200	6.16±0.18 ^{ab}
Low salt-Squid Jeotgal natural material	LSQN	100	6.48±0.14 ^a
		200	6.80±0.35 ^{cd}
Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	LSQE	100	4.55±0.59 ^{cd}
		200	4.75±0.25 ^{bc}
Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	LSQR	100	4.61±0.09 ^a
		200	5.09±0.41 ^{cd}
High salt-Squid Jeotgal natural material	HSQN	100	3.56±0.12 ^{ab}
		200	3.56±0.10 ^{ab}
High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	HSQE	100	3.37±0.21 ^{bc}
		200	4.71±0.57 ^{cd}
High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	HSQR	100	3.95±0.24 ^{bc}
		200	3.25±0.06 ^a
Low salt-Sauced intestine natural material	LSIN	100	5.99±0.21 ^{bc}
		200	6.85±0.33 ^d
Low salt-Sauced intestine ethanol extract	LSIE	100	6.38±0.16 ^{ab}
		200	8.08±0.13 ^{ab}
Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	LSIR	100	6.14±0.31 ^{cd}
		200	6.90±0.28 ^{bc}
High salt-Sauced intestine natural material	HSIN	100	6.27±0.09 ^a
		200	5.42±0.11 ^{ab}
High salt-Sauced intestine ethanol extract	HSIE	100	6.24±0.19 ^{ab}
		200	6.02±0.23 ^{cd}
High salt-Sauced intestine residue on evaporation	HSIR	100	5.80±0.31 ^{cd}
		200	3.82±0.16 ^{ab}

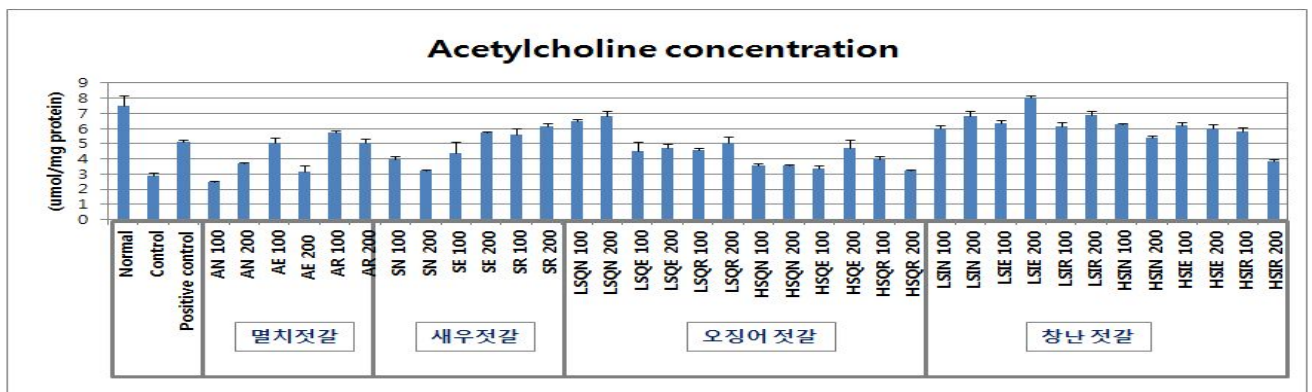


Figure 14. Effect of the *Jeotgal* on acetylcholine contents in rat brain treated with scopolamine.

(4) Serum의 생화학적 분석

치매 유도 약물로 사용된 Scopolamine의 독성을 검사하기 위하여 AST와 ALT 수치를 serum에서 생화학적 분석을 통해 살펴 본 결과가 Table 41 와 같았다. 앞선 고지혈증 및 비만유도시와 같이 젓갈에 의한 간 독성 및 positive control로 사용된 건강기능식품으로 인정 받은 BF-7의 영향은 크게 없는 것으로 확인되었다.

Table 41. Serum analysis

시험군		Dose	ALT	AST
		(mg/kg)	U/L	U/L
Normal		-	38.03	101.63
Control		-	42.60	130.53
Positive control (BF-7)		100	51.93	117.93
Anchovy Jeotgal natural material	AN	100	45.65	151.23
		200	42.73	118.67
Anchovy Jeotgal ethanol extract	AE	100	31.60	107.85
		200	38.37	128.03
Anchovy Jeotgal residue on evaporation	AR	100	54.23	162.23
		200	45.20	114.63
Shrimp Jeotgal natural material	SN	100	49.23	172.60
		200	52.27	190.83
Shrimp Jeotgal ethanol extract	SE	100	59.57	214.20
		200	50.03	156.80
Shrimp Jeotgal residue on evaporation	SR	100	49.40	147.73
		200	73.85	238.75
Low salt-Squid Jeotgal natural material	LSQN	100	41.77	119.70
		200	47.93	181.00
Low salt-Squid Jeotgal ethanol extract	LSQE	100	36.90	84.03
		200	51.83	144.87
Low salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	LSQR	100	32.97	106.33
		200	42.33	134.27
High salt-Squid Jeotgal natural material	HSQN	100	39.40	194.57
		200	48.20	155.80
High salt-Squid Jeotgal ethanol extract	HSQE	100	39.83	107.60
		200	46.93	162.40
High salt-Squid Jeotgal residue on evaporation	HSQR	100	39.17	164.40
		200	48.93	197.63
Low salt-Sauced intestine natural material	LSIN	100	35.55	71.80
		200	39.60	81.20
Low salt-Sauced intestine ethanol extract	LSIE	100	35.30	63.25
		200	38.30	75.80
Low salt-Sauced intestine residue on evaporation	LSIR	100	47.17	89.00
		200	31.83	77.90
High salt-Sauced intestine natural material	HSIN	100	30.90	59.10
		200	32.60	76.40
High salt-Sauced intestine ethanol extract	HSIE	100	39.15	98.80
		200	35.30	70.25
High salt-Sauced intestine residue on evaporation	HSIR	100	37.95	87.65
		200	41.00	108.57

(4) 뇌조직 중 GABA(gamma-aminobutyric acid)분석

① 뇌조직 GABA분석 결과

이동상으로는 0.1 % 아세트산, 아세트니트릴과 메탄올을 사용하였으며 총 분리시간은 10분으로하여 분리되도록 하였다. 이동상의 유속은 0.5 ml/min으로 하고, 컬럼 온도는 20 °C로 하였다. 피크의 검출은 UV 240 nm에서 측정하였으며, 분석결과는 Figure 15와 같은 크로마토그램으로 나타났으며 그 결과는 Table 42 및 Figure 16 에 나타내었다.

GABA함량의 경우도 앞선 Acetylcholinestrace activity 및 Inhibition의 결과와 유사한 결과를 관찰할 수 있다. 전체적으로 젓갈 시료를 투여한 군들 전체에서 positive control과 비슷한 GABA함량을 보였으며, 특히 멸치 투여군 및 새우 투여군에서 원재료, EtOH추출물 및 잔사까지 높은 함량을 확인할 수 있었고, 오징어젓갈 및 창난 젓갈의 경우 염 농도가 낮은 군에서 높은 군 보다 더 유의성 있는 결과를 나타내었다.

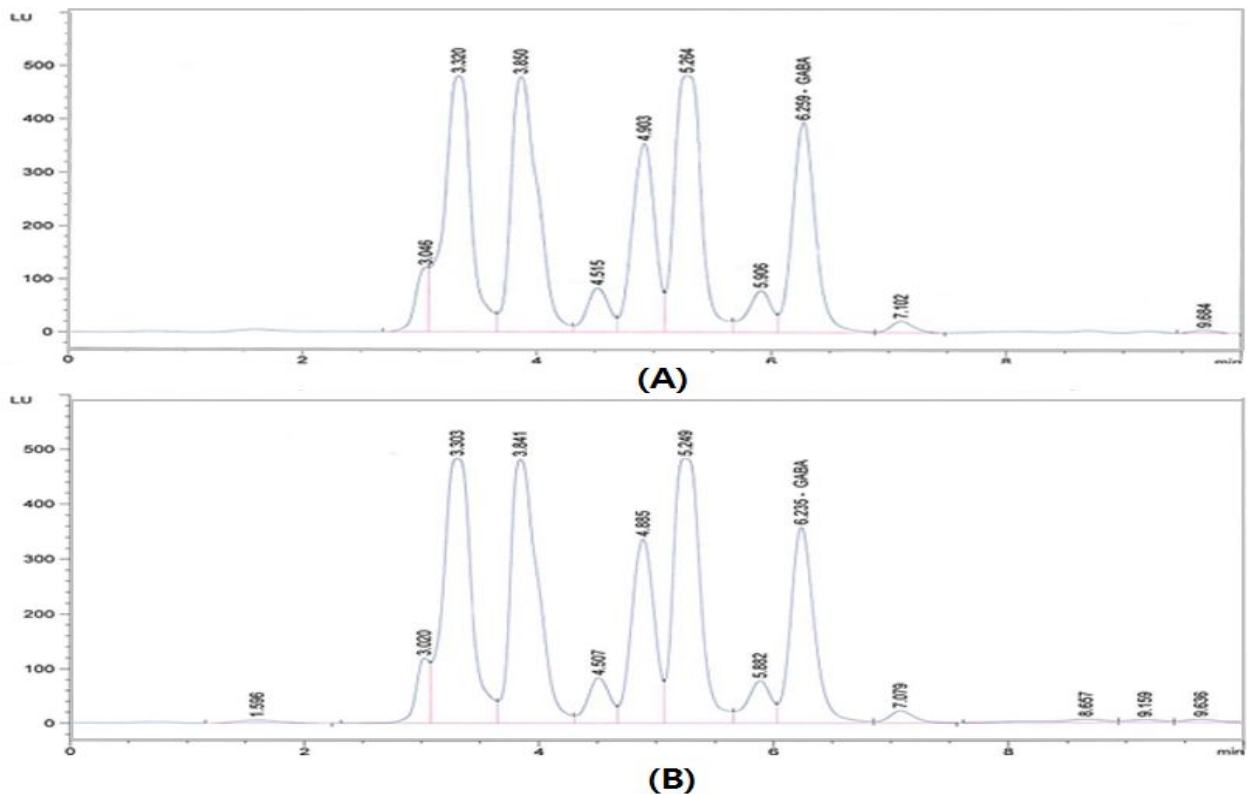


Figure 15. Chromatograms of NDA derivatives of GABA. (A) Standard solution(GABA) injected onto the column. (B) Example of brain sample from a Squid Jeotgal group rat GABA,

Table 42. Brain GABA(gamma-aminobutyric acid) concentrations

Group	GABA(gamma-aminobutyric acid)
	ppm/g tissue
Normal	3.35±0.08 ^c
Control	2.86±0.04 ^a
Positive control	3.34±0.20 ^d
AN 100	3.30±0.14 ^d
AN 200	3.57±0.01 ^a
AE 100	3.32±0.05 ^{cd}
AE 200	3.36±0.08 ^c
SN 100	3.02±0.08 ^{cd}
SN 200	2.83±0.03 ^{cd}
SE 100	3.04±0.05 ^{cd}
SE 200	3.21±0.05 ^{cd}
LSQN 100	2.96±0.04 ^{cd}
LSQN 200	3.11±0.04 ^{bc}
LSQE 100	3.29±0.02 ^{bc}
LSQE 200	3.44±0.03 ^{bc}
HSQN 100	3.33±0.02 ^a
HSQN 200	3.20±0.02 ^a
HSQE 100	3.26±0.04 ^c
HSQE 200	3.19±0.08 ^c
LSIN 100	3.28±0.01 ^{cd}
LSIN 200	3.35±0.32 ^{bc}
LSIE 100	3.41±0.02 ^{cd}
LSIE 200	3.25±0.03 ^{bc}
HSIN 100	3.16±0.04 ^{bc}
HSIN 200	3.49±0.04 ^{bc}
HSIE 100	2.94±0.02 ^{bc}
HSIE 200	3.34±0.02 ^a

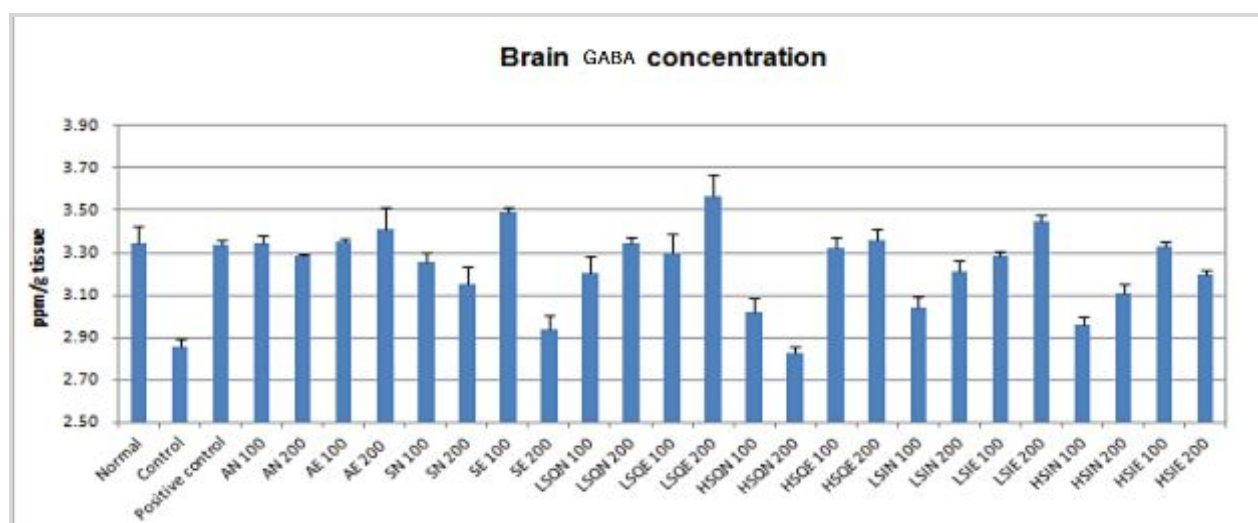


Figure 16. Brain GABA(gamma-aminobutyric acid) concentrations

② 정확성 검토

함량이 확인된 Control군 시료에 GABA를 첨가한 후 함량을 평가하여 정확성을 측정한 결과 결과 Table 43에서와 같이 99.97%의 회수율을 보였다.

$$*회수율 = \frac{(Control + STD) - Control}{이론\ STD\ 농도} \times 100 = \frac{5.02075 - 2.928215}{2.0979} \times 100 = 99.79\%$$

Table 43. Accuracy (Recovery) of a developed analytical method.

Group	Average	이론상 GABA농도	회수율(%)
Control	2.928215	2.0979mg/L	<u>99.79</u>
Control+ STD	5.02075		

다. 고찰 및 결론

본 연구에서는 SD계 흰쥐 에게 급여하여 scopolamine을 투여한 후 기억·학습 장애를 유발하여 실험동물의 학습수행 개선과 관련 효소의 억제에 미치는 효과를 규명하고자 하였다. Scopolamine으로 기억을 손상시킨 실험동물의 학습수행개선과 뇌조직의 AChE 억제 및 ACh 함량을 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 멸치 및 새우 젓갈의 원재료 투여는 scopolamine(2 mg/kg, i.p.)으로 유발된 기억손상 동물모델의 Morris water maze 시험에서 인지훈련이 반복될수록 escape latency 시간이 감소하였다.
- 2) 명시적 기억능력검사(Passive avoidance test) 결과 통계적으로 유의성 있게 latency time이 증가하였으며, 모든 시료 원재료 군에서 대체적으로 Positive control로 사용된 BF-7군보다 더 향상된 결과를 보였다.
- 3) 뇌조직의 AChE 활성은 젓갈시료 투여에 따라 대조군(control군)과 비교하여 유의적으로 감소하였다. 이것은 치매환자 치료에 있어 AChE 효소 활성을 저해시켜 아세틸콜린 농도를 증가시키는 보고와 일치하는 결과로 젓갈이 기억력 개선에 효과가 있음을 확인하였다. 뇌 조직 Acetylcholine함량 또한 대조군(control군)과 비교하여 젓갈시료를 투여한 군들 전체에서 유의적으로 ACh 함량이 증가하는 경향을 보였다.
- 4) GABA함량 또한 전체적으로 젓갈 시료를 투여한 군들 전체에서 positive control과 비슷한 GABA함량을 보였으며, 특히 멸치 투여군 및 새우 투여군에서 원재료, EtOH추출물 및 잔사까지 높은 함량을 확인할 수 있었고, 오징어젓갈 및 창난 젓갈의 경우 염 농도가 낮은 군에서 높은 군 보다 더 유의성 있는 결과를 나타내었다.

이를 미루어볼 때, 젓갈시료의 투여는 장·단기 기억 활성 촉진, AChE 활성 억제, ACh 함량 증가 등으로 콜린성 신경계를 자극하며, 기억 및 학습증진에 효과적으로 작용하여 뇌의 GABA함량에도 영향을 주는 것으로 사료된다.

라. 참고문헌

1. Nikolaos K., Nikalaos P., Elisabeth C., Dimitris K., Stelios F., Stelos F. Assimakopoulos and Christos G. : Effect of N-acetylcysteine, allopurinol and vitamin E on jaundice-induced brain oxidative stress in rats. : *Brian Research*, 1111, 203, 2006.
2. 김대경, 이준영, 성정준, 김의태, 김용식, 권오상, 윤영철, 이태진, 강용구, 정윤희, 김성수, 김경용, 이원복. 2004. BF-7의 기억력 및 인지기능 향상 효과. *대한해부학회지*. 37(6), 519-527.
3. 김도희, 김옥현, 여주홍, 이광길, 박금덕, 김대진, 정윤희, 김경용, 이원복, 윤영철, 정윤희, 이상형, 현주석. 2010. 천연소재 BF-7의 어린이 장·단기 기억력 향상 효과. *한국식품영양학회지*. 39(3), 376-382.
4. 이준영, 이상형, 성정준, 김의태, 조혜진, 김경환, 강용구, 김성수, 권오상, 이원복. 2005. BF-7의 뇌보호작용 및 학습과 기억력 개선 효과. *대한해부학회지*. 38(2), 181-188.
5. Choi WH, Um MY, Ahn JY, Kim SR, Kang MH, Ha TY. 2004. Acetylcholinesterase inhibitory activity and protective effect against cytotoxicity of perilla seed methanol extract. *Korean J. FOOD SCI. TECHNOL*.36(6),1026-1031.
6. Clarke G, O'Mahony S, Malone G, Dinan TG. An isocratic high performance liquid chromatography method for the determination of GABA and glutamate in discrete regions of the rodent brain. *J Neurosci Methods* 2007; 160(2): 223-230.
7. Ellman, G. L., Courtney, K. O., Andrres, V., Featherstone, R. M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol* .7,88-95.
8. Francois Galgani, Gilles Bocquene, Yvon Cadiou. 1992. Evidence of validation in cholinesterase activity in fish along a pollution gradient in the North Sea. 91, 77-82.
9. Kwon YE. 2007. Inhibitory potency of acetylcholinesterase and amyloid beta (1-42) peptide aggregation to the extracts of enthusiasm reducing herbals. *Korean J. Pharmacogn* .38(4),308-311.
10. Lee BH, Steven M. Stein. 2004. Improvement of learning behavior of mice by an antiacetylcholinesterase and neuroprotective agent NX42, a Laminariales-Alga extract. *Korean J. Food Sci. Technol* 36(6),974-978.
11. Lee HC, Hwang SG, Lee YC, Kim DG, Park YJ, Kim TE, Kim MD, Jeon BH. 2002. Screening of the acetylcholinesterase inhibitors from water extracts of the medicinal

- plants. *Korean J Oriental Physiology & Pathology*.16(2),215-219.
12. Lee MR, Sun BS, Gu LJ, Wang CY, Mo EK, Yang SA, Ly SY, Sung CK. 2008. Effects of white ginseng and red ginseng extract on learning performance and acetylcholinesterase activity inhibition. *J. Ginseng Res.* 32(4),341-346.
 13. Lee MR, Sun BS, Gu LJ, Wang CY, Zhe-Ming Fang, Zhen Wang, Mo EK, Ly SY, Sung CK. 2009. Effects of the deer antler extract on scopolamine-induced memory impairment and its related enzyme activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38(4),409-414.
 14. Lee SH, Kim DI, Cho SY, Jung HJ, Cho SM, Park HJ. 2005. Effects of acorn (*Quercus acutissima* CARR.) supplementation on the level of acetylcholine and its related enzyme activities in the brain of dementia mouse model. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr* .34(5),738-742.
 15. Liu, L. 2009. Preparative Purification of Morroniside and Loganin from Fructus corni by Combination of Macroporous Absorption Resin and HSCCC. *Journal of chromatographic science*.47(5),333-336.
 16. Oh HK, Kim SH. 2006. Effect of soy isoflavone intake on water maze performance and brain acetylcholinesterase activity in rats. *The Korean Nutrition Society* .39(3), 219-224.
 17. Park SS, Park N, Kang JU, Shin SC, Lee DU. 2009. Cognition enhancing effect of muskmelon extracts on scopolamine-induced memory impairment in mice. *Journal of life science*. 19(5), 688-691.
 18. Seo TB, Kang SY, Ji YS, Kim H, Kang HS, Jang MY, Lee JJ, Yoon JH. 2010. Effect of resistance exercise on hippocampus acetylcholinesterase activity and sparial memory function in rats. *J. Korean Soc. Living Environ. Sys.* 17(5),606-612.

4. 과제 결과

대표적인 젓갈(오징어, 창난, 멸치, 새우 젓갈)의 양념이나 그 제조방법에 따른 특히는 많았으나 관련 미생물 및 재료의 표준화에 대한 관련 특허출원은 미비한 상황이며, 기능성 관련 경우도 젓갈의 재료 및 배합에 의하여 나타나는 기능성에 초점을 맞추거나 균주 자체의 기능성에 대한 연구는 많았다. 본 실험에서는 시판되는 젓갈 및 표준화작업을 통한 젓갈 본래 재료 및 주정 및 잔사추출물에 대하여 초점을 맞추어 기 발표된 자료들을 바탕으로 대사 증후군에 효과가 있을 것이라 착안, 고지혈증 및 비만 이로 인한 파킨슨병 및 치매에 이르는 기능성 탐색을 살펴보았다.

가. 젓갈의 표준화

(1) 멸치 젓갈 및 새우젓갈: 발효기간이 적어도 6개월~2년에 이르는 상당히 긴 시간이 필요함에 따라 각지에서 시판되는 젓갈에 대하여 문헌조사 및 데이터를 수집하여 그 최적조건을 살펴 본 결과, 멸치젓갈의 경우 적정 pH의 경우 5.33~6.28, 염 농도가 높을수록 아미노산 질소 함량이 적었으며, 18개월 20℃로 숙성한 멸치 젓갈에서 휘발성 염기 질소 함량이 가장 적절하였고, 우세균의 경우 micrococcus속 Bacillus속등 다양하게 나타났다. 새우젓은 총균 및 곰팡이 수가 초기 18% 식염 농도에서 적당한 미생물 생육 환경을 이루었고 pH는 7.97~8.97로, 휘발성 염기질소 함량은 25mg%이상으로 함량이 많아질수록 기호도가 높았다. 미생물은 *Pediococcus*, *Halobacterium* 등이었다.

(2) 오징어 젓갈 및 창난젓갈: 오징어 젓갈은 최적숙성온도 8℃에서 9일에서 12일차에 숙성적정기간으로 조절하였으며, 식염농도의 경우 6%에서 가장 활성이 높았으나 여러 인자들을 고려하여 최종 식염농도를 2%, 4%로 조절하였다. 창난젓갈 또한 최적숙성온도가 8℃로 9일차에서 12일차 숙성기간이 가장 적정하다고 사료된다.

총균 및 항균활성 탐색 결과 숙성적기의 종균은 유산균으로 API 50 CHL Kit로 측정결과 *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*로 나타났고 이들의 항균성은 병원성 균인 *Bacillus cereus* 및 *Salmonella typhi*균에도 항균활성을 나타내 그 기능성을 입증하였다.

이경행 등이 보고한 시판젓갈의 염도는 평균 7.84로 나타났고, 6%이하의 염도로 제조한 양념젓갈의 관한 연구 자료는 현재까지 거의 보고되지 않았다. 젓갈이 염도가 높은 식품이란 인식이 많은데 6%의 식염농도로 제조한 오징어 젓갈은 50g섭취 시, 3g의 나트륨의 섭취를 하게 되며 이 섭취량은 WHO의 나트륨 권장량의 절반에 지나지 않는다. 이에 따라 본 연구에서 결정된 6%의 저염 젓갈은 사람들의 인식 개선을 할 수 있을 것으로 생각된다.

나. 젓갈의 과학화

멸치, 새우, 오징어, 창난젓갈의 원재료, EtOH 추출물 및 잔사 추출물 시료자체의 구성아미노산 및 유리아미노산의 분석하였다. 그 결과 구성아미노산의 glutamic acid는 오징어젓갈 원재료에서, 필수 아미노산(EAA)는 새우 EtOH추출물에서, 함황 아미노산(SAA)의 함량은 멸치 젓갈 모든 처리 군에서 높은 함량을 나타냈으며, 방향족 아미노산의 경우 저염 농도군에서 더 높은 함량을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 유리아미노산의 경우 멸치 및 새우젓갈에서 오징어 및 창난젓갈보다 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다.

다. 젓갈의 기능성 규명검증 및 과학화 검증

(1) 고지혈증 및 비만 유도 환경에 미치는 결과

고지방식이를 섭취한 군의 체중 증가가 두드러졌으며 복강주위 지방의 경우 정상군에 비하여 3배 이상 증가하였으나, 젓갈시료 투여로 군 전체 지방함량이 억제되었으며, serum의 생화학적 검사결과 Total cholesterol 및 HDL-, LDL-cholesterol 함량의 경우 젓갈 시료 중 원재료시료 섭취군에서, phospholipid 및 Leptin 함량의 경우 저염의 오징어젓갈 및 창난 젓갈 군에서 유효성을 나타내었다. 이는 간조직의 항산화 효소계인 catalase 및 SOD 실험결과 또한 EtOH 및 잔사 추출물에 비하여 젓갈 원재료를 처리한 군들에서 높은 활성을 나타냈으며, glutathione peroxidase 및 reductase실험에도 비슷한 결과를 얻었다. 복부지방의 H&E염색을 통하여 지방구를 살펴볼 때 크기, 분포 및 형태등도 앞선 내용을 뒷받침하였다. 따라서 EtOH 추출물 및 잔사 추출물 처리군 보다는 젓갈원재료로 섭취군에서, 식염의 염도농도가 4%보다는 2% 섭취군에서 고지방 및 비만에 긍정적인 효과를 나타냈다.

우리나라는 2011년 소금 섭취량이 소폭 감소하였지만 세계보건기구(WHO) 권고기준보다 2배 이상 더 많이 섭취하는 것으로 드러났다. 이는 특히 젓갈, 김치등과 같은 염장식품으로부터의 나트륨섭취일 것으로 예측된다.

본 실험에서 디자인된 2%, 4% 염농도의 젓갈을 하루에 100mg/kg으로 섭취하였다고 가정할 경우, 권고기준에 비하여 약 42배 낮은 수치로 나트륨의 경우에도 약 20배 낮게 측정되어 과다 나트륨 섭취의 우려 및 젓갈섭취만으로 과다 나트륨 섭취가 될 것이라고 하는 인식에는 모순이 있다.

특히 젓갈 염도가 저염일 경우, 나트륨의 섭취 또한 작게 섭취되는 것을 확인할 수 있었으며 실험 결과 2%, 4%의 염농도에 비례하여 고지혈증 및 비만실험에 크게 영향을 주지 않는 것으로 확인되었다.

(2) 파킨슨병 유도 흰쥐에 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)로 파킨슨병을 유발한 mouse에 젓갈 시료를 투여하여 신경독성의 운동효과에 대해 살펴본 결과 오징어 및 창난젓갈에 비하여 발효기간이 상대적으로 긴 멸치 및 새우 젓갈에서 현수법 및 경사판법, 회전봉법에서 전체적으로 우수한 결과를 얻었으며 이는 실제 파킨슨병 환자치료에 있어 기존 치료제인 selegiline과 유의한 결과를 나타내었다.

(3) 치매 유도 흰쥐에서 한식소재 전통젓갈이 미치는 영향

Scopolamine투여한 후 기억 및 학습장애를 유발하여 실험동물의 학습수행 개선과 관련 효소의 억제에 미치는 효과를 규명하고자 행동실험인 Morris water maze test결과 인지훈련이 반복될수록 멸치 및 새우젓갈의 원재료 투여군에서 escape latency 시간이 감소하였으며, 명시적 기억능력검사 또한 시료의 원재료를 투여한 군들의 경우, 건강기능식품인 BF-7투여군과 비슷하게 향상된 결과를 보였다. 이는 뇌조직의 ACHE 효소활성 및 Acetylcholine함량에서도 대조군에 비하여 젓갈 시료 투여군들 전체에서 합성능력이 증가하는 경향을 보였다. 뇌조직의 GABA함량 또한 멸치젓갈 원재료, EtOH추출물 및 잔사군 전체적으로 높았으며 염의 농도가 4%군보다 2%로 조절된 군에서 더 유의성 있는 결과를 나타내었다.

제 4 장 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

가. 학회 발표(6건)

(1) 한국실험동물학회 2012년 하계학술대회

(KALAS International Symposium, 2012.08.23~08.25 부여롯데리조트)

① Effect of Korean food anchovy, shrimp Jeotgal on plasma lipid treated hyperlipidemia rats.

(2) 대한약학회 2012년 추계학술대회(2012.10.23~24 서울 AW컨벤션센터)

① The effect of Korean traditional anchovy, shrimp Jeotgal on MPTP induced neurotoxicity in mice.

② Antihyperlipidemic effects of Korean food anchovy, shrimp Jeotgal in rats fed hyperlipidemic diet.

③ 식이성 고지혈증 유도 쥐에 오징어, 창난 젓갈이 소금함량에 따른 지질대사 및 항산화에 미치는 효과

(3) 한국실험동물학회 2013년 동계학술대회(2건, 2013. 02.)

나. 특허(2건)

1. 특허제목: 오징어젓갈 숙성조건 표준화

본 연구는 전통수산물발효식품의 과학적 숙성 발효의 조건의 설정을 위하여 숙성조건에서 가장 중요한 인자인 숙성 온도와 식염 농도를 다르게 하여 오징어 젓갈을 제조하고 식염 농도와 숙성 온도 및 숙성기간별 품질특성을 측정하여 최적숙성조건을 설정하여 젓갈의 제조공정에 대한 과학적 자료를 제공하고자 수행되었다.

2. 특허제목: 양념젓갈에서 분리한 *Pediococcus pentosaceus*와 *Leuconostoc mesenteroides* 균주의 항균활성 탐색

본 연구는 숙성적기의 양념젓갈에서 우점종을 분리하고 병원성 미생물을 대상으로 항균활성을 탐색하여 젓갈이 가진 기능성과 우수한 특성을 알리고자 연구되었다

다. 논문(3건 예정-2313년 기능성관련 투고 예정)

- 멸치젓갈과 새우젓갈 추출물이 고지혈증 유도 랫드에 미치는 저해효과
- 비만유도랫드에 오징어젓갈과 창난젓갈이 미치는 효과
- Scopolamine으로 유도된 치매 흰쥐에서 전통젓갈이 미치는 영향

2. 성과활용

특히 관련 기술이전 예정 및 효능관련 논문발표 및 교육예정(강릉원주대학교-속초 웰빙
젓갈명산품육성 RIS사업단의 네트워크를 통한 산업체 연관 홍보· 교육지도 예정

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 한식세계화용역연구사업(한식소재인 전통젓갈의 기능성 규명연구)의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 한식 세계화용역연구사업(한식소재인 전통젓갈의 기능성 규명연구)의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.