

보안과제(), 일반과제(✓) 발간등록번호 11-1541000-001257-01

친환경 유기양식 생산 매뉴얼 개발을 통한 양식업치의 고품질화 및 가공기술 개발

(High quality aquacultural flounder fish production via
development of manual for environmental friendly organic
aquacultural system and development of fish processing
techniques)

제주대학교

농림수산식품부

연구개발보고서초록

과 제 명	(국문) 친환경 유기양식 생산 매뉴얼 개발을 통한 양식넙치의 고품질화 및 가공기술 개발 (영문) High quality aquacultural flounder fish production via development of manual for environmental friendly organic aquacultural system and development of fish processing techniques				
주관 연구기관	제주대학교		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 제주대학교	
참여 기업	제주 어류양식수협			(성명) 전유진	
총 연구개발비 (천원)	계	515,000	총 연 구 기 간	2008. 12. 01 ~ 2011. 11. 30 (3년)	
	정부출연 연구개발비	400,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	20 명
	기업부담금	115,000		내부인원	18 명
	연구기관부담금			외부인원	2 명

○ 연구개발 목표 및 내용

제주지역에서 생산량 및 공급량 증가로 인하여 가격 경쟁력이 저하되고 있는 세계일류상품인 제주넙치에 대한 경쟁력을 키우기 위해 친환경 유기양식을 위한 생산 매뉴얼을 개발하고자 한다. 따라서 소비자들이 신뢰하고 안전하게 먹을 수 있는 유기양식 생산의 활넙치로서 고품질화하고, 비규격품에 대해서는 여러 가지 다양한 수산가공제품을 개발하여 활용하면서, 친환경 유기양식 매뉴얼을 통하여 생산된 고품질 활넙치로 향후 수산분야의 FTA에 적극적으로 대처하고자 한다.

○ 연구결과

1. 1차년도

- 천연 항생제 개발 - 천연항생제를 이용한 유기양식 매뉴얼 개발 및 무항생제 넙치 생산
- 연제품 개발 - 넙치 유래 surimi 제조 및 넙치 성형 연제품의 개발

2. 2차년도

- 유기양식 매뉴얼 개발 - 면역증강제 및 천연항생제를 이용한 친환경 유기양식 생산 가능성, 파일럿 실험을 통한 문제점 개선 및 어류 질병에 대한 항생제 대체 기술 확립
- 전통수산물효식품의 개발 - 유산균을 이용한 비규격 넙치 식혜의 개발

3. 3차년도

- 친환경유기양식 매뉴얼 현장평가 - 친환경유기양식에 의한 넙치 현장생산 및 유기양식매뉴얼 확립
- 전통수산물효식품의 유효이용 - 유산균을 이용한 비규격 넙치 식혜의 품질안정성 검토

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 양식넙치 생산에 있어서 친환경 유기양식 가능성 홍보 및 기술 매뉴얼 보급
2. 기존의 항생제를 대체할 수 있는 천연 항생제 관련 특허출원
3. 천연물질 (마늘) 급이 넙치의 브랜드화 유도
4. 넙치 품질평가 기법 개발의 경우 실험실내의 결과와 현장에서의 결과를 비교 검토함으로써 현장에서의 적용 가능성을 제시
5. 비규격품 넙치의 수산가공산업으로의 적극 활용
6. 넙치 외 양식어종에 대해서도 추가 적용 연구
7. 양식넙치를 이용한 가공 제품의 개발
8. 100% 수입 의존의 명태 수리미를 넙치 수리미화 하여 수입대체 효과
9. 전통수산물효식품의 (넙치식혜)개발에 의한 제주 수산가공산업의 활성화

- 특히 1개

: 넙치수리미, 이의 제조방법, 이를 포함하는 넙치연제품의 제조방법 및 이로부터 제조된 넙치연제품

- 논문 6편

: 한국동물자원과학회지 1편 및 한국수산과학회지 5편.

연구개발보고서 영문초록

과 제 명	(국문) 친환경 유기양식 생산 매뉴얼 개발을 통한 양식넙치의 고품질화 및 가공기술 개발				
	(영문) High quality aquacultural flounder fish production via development of manual for environmental friendly organic aquacultural system and development of fish processing techniques				
주관 연구기관	제주대학교	주 관 연 구 책 임 자	(소속) 제주대학교		
참여 기업	제주 어류양식수협		(성명) 전유진		
총 연구개발비 (천원)	계	515,000	총 연구 기간	2008. 12. 01 ~ 2011. 11. 30 (3년)	
	정부출연 연구개발비	400,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인원	20 명
	기업부담금	115,000		내부인원	18 명
	연구기관부담금			외부인원	2 명

○ Research and development objectives

This study was focused to develop the production manual for environment friendly organic aquaculture to resolve value of fish decreased by increase of production and trading volume of flounder fish in Jeju island. Therefore, we cope effectively with FTA through the production of cultured live flounder fish of high value and development of various marine products using unmarketable cultured flounder fish.

○ Research and results

1. 1st year

- Development of natural antibiotics - Development of manual for organic aquacultural system and production of non-antibiotics flounder fish
- Development of surimi products from flounder fish

2. 2nd year

- The possibility of environment friendly organic aquacultural production using the natural immunostimulants and natural antibiotics, solution of the problems about pilot experiment and alternative technology of antibiotics against fish disease.
- Development of tradition fisheries fermented foods - Development of Sikhye from unmarketable cultured flounder fish using lactic acid bacteria

3. 3rd year

- Evaluation of manual for environmental friendly organic aquacultural system - Productive management of cultured founder fish by environmental friendly organic aquacultural system and establishment of environmental friendly organic aquacultural manual
- Effective use of tradition fisheries fermented foods - Evaluation of quality stability of Sikhye from unmarkable flounder fish using lactic acid bacteria

○ Research and development performance and plan

1. Environmental friendly organic aquacultural and propagation of technical manual
2. The patent related with natural antibiotic alternative to conventional antibiotics
3. Branding of flounder fish fed with fermented garlic solution
4. The offer of data on economized access of environmental friendly organic aquacultural system in pilot
5. Utilization of unmarkable flounder fish as fishery processing industry
6. The additional study about fish species excepted with flounder fish
7. The development of processed food from cultured flounder fish
8. The alternative effect of flounder fish surimi on pollock surimi which depended on import
9. Activation of fishery processing industrial by development of traditional fishery fermented food (flounder fish sichae)

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “친환경 유기양식 생산 매뉴얼 개발을 통한 양식업자의 고품질화 및 가공기술 개발” (개발기간: 2008. 12. 1 ~ 2011. 11. 30) 과제의 보고서로 제출합니다.

2011 년 11 월 30 일

주관연구기관명 : 제주대학교

주관연구책임자 : 전 유 진

협동연구기관명 : 경상대학교

협동연구책임자 : 김 진 수

참여기업기관명 : 제주어류양식수협

협동연구책임자 : 김 평 전

연 구 원 : 이 경 준

” : 여 인 규

” : 정 준 범

” : 허 민 수

” : 김 광 익

” : 고 성 대

” : 고 주 영

” : 송 진 우

” : 차 지 훈

” : 박 권 현

” : 이 지 선

요 약 문

I. 제 목

친환경 유기양식 생산 매뉴얼 개발을 통한 양식업치의 고품질화 및 가공기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

제주지역에서 생산량 및 공급량 증가로 인하여 가격 경쟁력이 저하되고 있는 세계일류상품인 제주넙치에 대한 경쟁력을 키우기 위해 친환경 유기양식을 위한 생산 매뉴얼을 개발하고자 한다. 따라서 소비자들이 신뢰하고 안전하게 먹을 수 있는 유기양식 생산의 활넙치로서 고품질화하고, 비규격품에 대해서는 여러 가지 다양한 수산가공제품을 개발하여 활용하면서, 친환경 유기양식 매뉴얼을 통하여 생산된 고품질 활넙치로 향후 수산분야의 FTA에 적극적으로 대처하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

i. 1차년도

- 유기양식 매뉴얼 개발
- 천연항생제를 이용한 유기양식 매뉴얼 개발 및 무항생제 넙치 생산
- 연제품 개발

넙치 유래 surimi 제조 및 넙치 성형 연제품의 개발

ii. 2차년도

- 유기양식 매뉴얼 개발
- 면역증강제 및 천연항생제를 이용한 친환경 유기양식 생산 가능성, 파일럿 실험을 통한 문제점 개선 및 어류 질병에 대한 항생제 대체 기술 확립
- 전통수산물발효식품의 개발
- 유산균을 이용한 비규격 넙치 식해의 개발

iii. 3차년도

- 친환경 유기양식 매뉴얼의 현장평가
- 친환경 유기양식에 의한 넙치의 현장생산 및 유기양식 매뉴얼 확립
- 전통수산물발효식품의 유효이용

- 유산균을 이용한 비규격 넙치 식해의 품질안정성 검토

IV. 연구개발결과

세부연구목표	결과	비고	
기존 항생제를 대체할 수 있는 천연항생제 선정	천연항생제의 효능 (항균, 항산화, 면역활성증가 등)	천연항생제 확보	1차
사육실험에서 천연항생제를 이용한 무항생제 생산	무항생제 넙치를 생산할 수 있는 천연항생제의 효능	7개월간 무항생제 넙치생산 성공	
비규격품 넙치를 이용한 수산가공식품 개발	비규격품 넙치의 수리미제품 특성 및 수산가공제품의 특성	수산가공원료로서 넙치품질의 우수성확인	
기능성 배합사료 개발	기능성 배합사료(발효마늘엑스추출물, 발효마늘엑스추출물, 발효마늘엑스추출물) 개발 및 효능 (성장률, 생리학적 특성, 항산화, 면역활성 증가 및 항균)	4개월간 발효마늘엑스추출물 배합사료 우수성 확인	2차
기능성 사료의 넙치에 대한 항병력 증진 효과	주요 어병세균 3종 택, 넙치에 대한 마늘의 항병력 증진효과	발효마늘엑스추출물 배합사료 급이시 비브리오에 대한 항병력 우수	
비규격품 넙치를 이용한 수산가공식품 (넙치식해) 개발	비규격품 넙치를 이용한 식해의 개발 및 품질특성	최초로 넙치식해 개발	
천연항생제의 현장적용평가	천연 항생제의 넙치 비특이적 면역증진 효과 및 항병력 효과 확인	천연항생제로서의 가능성 확인	3차
전통수산발효식품의 유효이용 - 유산균을 이용한 비규격 넙치 식해의 품질안정성	저장 온도 및 첨가물에 의한 식해의 품질 안정성과 생리활성 확인	기능성 수산가공식품 개발	

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 마늘 발효액을 사용함으로써 어류의 항병력 증진 효과
- 항생제 내성균 출현 억제
- 무항생제 사육에 의한 비용 절감 효과
- 천연 항생제로서 마늘 발효액을 사용함으로써 어병세균에 대한 항균력과 면역 증진으로 인해 무항생제 넙치의 생산 가능성이 높음
- 무항생제 사육에 의한 수산물에 대한 신뢰 회복 및 수산물 소비 촉진
- 양식 넙치 혈중 및 근육에 존재하는 마늘 발효액의 알리신과 같은 기능성 성분에 의한 기능성 넙치 이미지 부각 효과 기대
- 상기 효과에 의한 고품질의 기능성 양식 넙치의 생산을 통해 침체된 양식 산업의 발전에 이바지
- 향후, 천연물질 (마늘) 급이 넙치의 브랜드화 유도
- 넙치 품질평가기법 개발의 경우 실험실내의 결과와 현장의 결과를 비교 검토함으로써 현장에서의 적용 가능성을 제시할 수 있음
- 현장에서의 친환경유기양식 기법의 접목을 용이하게 하기위한 자료 제공 가능
- 저상품성 양식넙치의 활용방안 제시 및 양식넙치의 물량조절에 의한 가격 안정화
- 저상품성 양식 넙치의 수리미 제품 개발에 의한 수입 수리미 대체 효과
- 저상품성 넙치를 이용한 연제품 형태의 다양한 신제품 개발
- 넙치 양식어민들의 소득수준 향상
- 양식넙치 가공산업의 육성에 의한 고용증진 효과
- 저상품성 넙치 이용 가공 기술 확보
- 제주 수산업의 활성화

SUMMARY

I. Title

High quality aquacultural flounder fish production via development of manual for environment friendly organic aquacultural system and development of fish processing techniques.

II. Purpose of research and envelopment

This study was focused to develop the production manual for environment friendly organic aquaculture to resolve value of fish decreased by increase of production and trading volume of flounder fish in Jeju island. Therefore, we cope effectively with FTA through the production of cultured live flounder fish of high value and development of various marine products using unmarketable cultured flounder fish.

III. Research and development contents

i. 1st year

- Organic aquacultural system and development
- Development of manual for organic aquacultural system and production of non-antibiotics flounder fish
- Development of surimi products from flounder fish

ii. 2nd year

- The possibility of environment friendly organic aquacultural production using the natural immunostimulants and natural antibiotics, solution of the problems about pilot experiment and alterative technology of antibiotics against fish disease.
- Development of tradition fisheries fermented foods
- Development of Sikhye from unmarketable cultured flounder fish using lactic acid bacteria

iii. 3rd year

- Evaluation of manual for environmental friendly organic aquacultural system
- Productive management of cultured founder fish by environmental friendly organic

aquacultural system and establishment of environmental friendly organic aquacultural manual

- Effective use of tradition fisheries fermented foods
- Evaluation of quality stability of Sikhye from unmarketable flounder fish using lactic acid bacteria

IV. Results

Research objectives	Results	Note	
Selected natural antibiotic for the substitution of antibiotic	Natural antibiotic activity (antibacterial, antioxidation, enhanced immunity)	Selected Fermented garlic solution	1 st year
Production of non-antibiotic flounder fish by natural antibiotic	Production of non-antibiotic flounder fish	Successful production by non-antibiotic for 7 months	
Development of processed marine products using unmarketable flounder fish	Characteristics of surimi and processed marine products using unmarketable flounder fish	Confirm quality of flounder fish by processed marine products material	
Development of functional mixed feed	Development of functional mixed feed and efficacy (growth rate, antioxidation, antibacteria and enhanced immunity)	Confirm excellence of fermented garlic solution coated feed for 4 months	2 nd year
Effect of antibacteria of functional feed against pathogens	Effect of antibacteria against major pathogen 3 strains	High activity of anti-bacteria against <i>Vibrio</i> spp by fermented garlic solution coated feeding	
Development of processed marine products using unmarketable flounder fish	Development and quality evaluation of Sikhye using unmarketable flounder fish	Development of initial flounder fish Sikhye	
Actual condition of application of natural antibiotic	Effect of antibacterial against pathogen and enhanced non-specific immunity by natural antibiotic	Confirm the possibility of natural antibiotic	3 rd year
Effective use of tradition fisheries fermented foods	Quality stability and biological activity of Sikhye by storage temperature and additive	Development of functional processed marine products	

V. Research and development performance and plan

- The promotive effect of disease resistance of flounder fish by fermented garlic solution.
- Inhibition of antibiotic resistant bacterium
- Cost reduction effect of aquacultural management by non-antibiotic
- Increase of antimicrobial effect and immunology of flounder fish against marine fish bacterium by fermented garlic solution as natural antibiotic
- To restore people's confidence and promote consumption of fisheries by use of non-antibiotic
- Image's emphasis of functional flounder fish by main component such as allicin of fermented garlic solution existed in muscle of flounder fish
- Branding of flounder fish fed with fermented garlic solution
- Development of method on quality evaluation of flounder fish
- The offer of data on economized access of environmental friendly organic aquacultural system in pilot
- Price stabilization of flounder fish by the utilized plan of unmarkable flounder fish and adjustment of amount of cultured flounder fish
- The substitution effect on imports by the development of seafood products such as surimi of unmarkable flounder fish
- Development of various new products such as fish meat paste products using unmarkable flounder fish
- The improvement of income level of fishermen
- Promotion of the employment by upbringing of processing industry of cultured flounder fish
- The development of processing technique for unmarkable flounder fish
- Jeju's fishing promoting

CONTENTS

Part I. Introduction	15
I-1. Purpose of research and development	15
I-2. Domestic and abroad relevant technology	19
Part II. Research developments and results	21
II-1. Research and development objectives	21
II-2. Research and development contents and results	22
Part III. Research and development goals and expected results	345
III-1. Objectives achieved	345
III-2. Expected results and proposals	351
Part IV. Research and development performance and plan	353
IV-1. Research and development performance	353
IV-2. Plan of performance application	356
Part V. Reference	357

목 차

제 1 장 서론	15
제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성	15
제 2 절 국내외 관련기술의 현황	19
제 2 장 연구개발 수행내용 및 결과	21
제 1 절 연구개발 목표 및 내용	21
제 2 절 연구개발 수행내용 및 결과	22
제 3 장 연구개발 목표달성도, 기대효과 및 활용방안	345
제 1 절 연구개발 목표 달성도	345
제 2 절 기대효과 및 활용방안	351
제 4 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	353
제 1 절 연구개발 성과	353
제 2 절 성과활용 계획	356
제 5 장 참고문헌	357

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

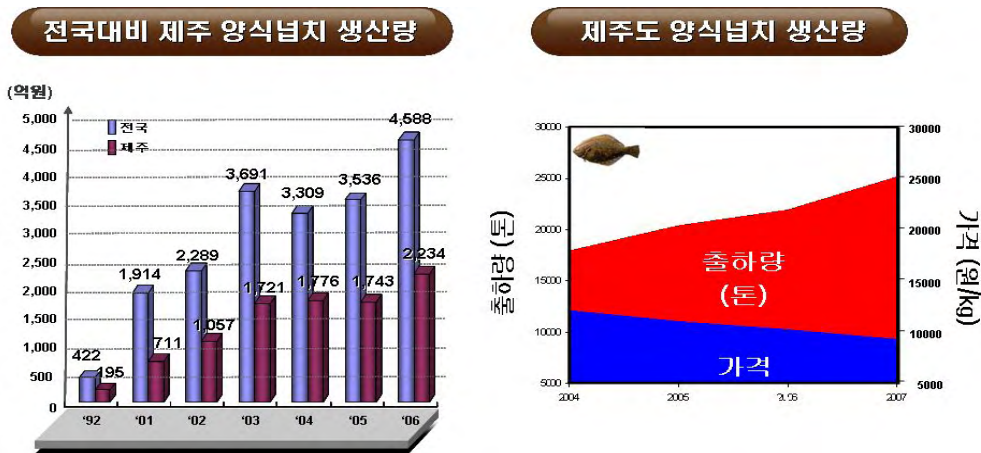


○ 현재 국내 양식은 고밀도 사육 등으로 인한 공급량의 증가와 항생제의 무분별한 사용으로 인해 소비자들로부터 점차 외면을 당하고 있다. 이에 따라 수요가 감소하여 양식어의 판매 감소에 따라 가격이 점차 하락하고 있는 실정이다. 이러한 문제점을 극복하고 수산업의 FTA에 대비하기 위해 우리나라 해수어류 양식이 경쟁력을 갖추기 위해서는 양식어종의 고품질화가 이루어져야 한다.

○ 제주산 양식넙치는 여러 가지 장점이 있음에도 불구하고 현재 처해진 양식산업의 현실은 매우 어렵다. 가장 근본적인 문제인 넙치의 공급과잉 현상과 소비감소를 해결하지 않고서는 향후 제주산 양식넙치산업의 위기가 닥쳐올 것으로 예상된다. 양식넙치의 공급과잉을 해소하기 위해서는 유기양식 생산을 위한 메뉴얼을 개발하여 친환경 양식을 실현하고, 품질규격화를 엄격히 실시하여 규격품 이상의 우수한 제품만을 선별하여 판매함으로써 양식넙치의 공급을 줄이는 동시에 고품질의 넙치만을 판매함으로써 제주산 양식넙치의 품질에 대한 인식 변화와 가격 안정화를 가져올 수 있을 것이다.

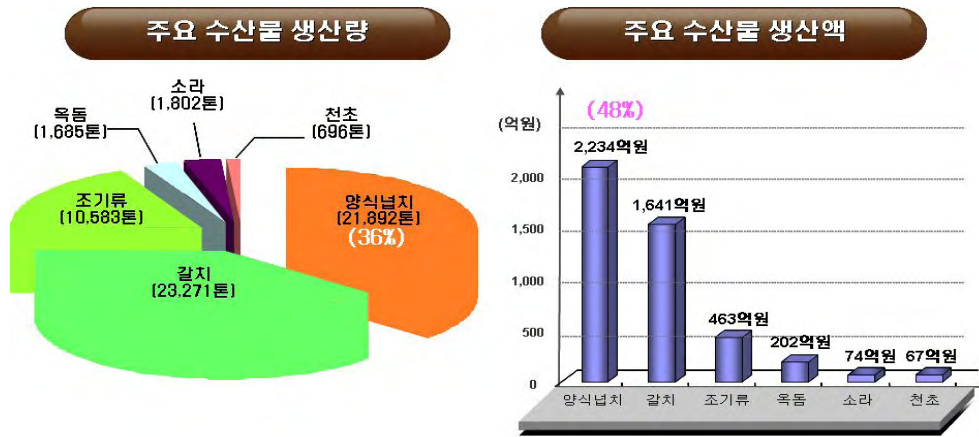
○ 현재 제주특별자치도에서는 제주산 양식넙치의 생산이 매우 활발하게 이루어지고 있지만 공급과잉과 소비감소에 대한 특별한 대책이 없어, 양식넙치의 생산에 종사하고 있는 어민들의 경제적 어려움을 가중시키고 있다. 따라서 제주산 양식넙치의 유기양식 생산 매뉴얼 개발을 통해 친환경 양식과 품질규격화에 따른 양식넙치를 고품질화 함으로써 양식넙치 공급량을 조절하고 동시에 비규격품 넙치에 대해서는 넙치가공산업으로 활용하여 제주지역의 넙치가공산업이 육성될 수 있는 좋은 시스템을 구축할 것으로 판단된다.

○ 국내 어종별 양식생산 현황을 분석해 보면, 넙치가 전체 양식어종의 약 48%를 차지하고 있으며, 그 중에서도 제주특별자치도에서 생산되는 넙치의 양은 전국 대비 약 50%를 차지한다(그림 1). 2006년도 제주에서의 주요 수산물 생산량에서 양식넙치 생산량은 갈치 다음으로 높은 21,892톤으로 약 36%를 차지하고 있으며, 금액으로는 2,234억 원으로 약 48%를 차지하고 있다(그림 2). 2007년 제주지역에서 양식사업장이 287군데 있으며, 전체 양식생산량은 22,306톤이며, 이 중 양식넙치의 생산량은 21,892톤으로서 약 98.1%를 차지하고 있다. 생산금액으로는 전체 양식생산금액이 2,316억 원이며 이중 양식넙치의 생산금액은 96.6%인 2,237억 원으로 제주지역의 양식넙치 산업은 지역의 해양바이오산업에서 거의 절대적이라고 할 수있다(표 1).



자료출처: 제주특별자치도 해양수산정책과, 2006

그림 1. 전국대비 제주 양식넙치 생산량 및 가격



자료출처: 제주특별자치도 해양수산정책과, 2006

그림 2. 제주지역 수산물 생산량과 생산액

표 1. 제주지역 양식어종 생산량 및 생산금액

어종	넙치	복어	돌돔	참돔	조피볼락 (우럭)
생산량	21,892톤 (98.1%)	225톤 (1%)	152톤 (0.7%)	25톤 (0.1%)	10톤 (0.04%)
생산금액	2,237억원 (96.6%)	51억원 (2.2%)	27억원 (1.2%)	4억원	1억원

자료출처 : 제주특별자치도 해양수산정책과(2007년 3월)

○ 제주 양식넙치는 전국 생산량 2위, 수출은 1위를 차지하고 있으며, 제주지역 내 조수입도 감귤산업 다음으로 높은 약 2,500억 원에 이른다. 이는 제주에서 양식넙치 산업이 제주지역 경제에 얼마나 많은 영향을 미치고 있는지를 알려주는 좋은 예이다. 이 같은 생산현황은 전국과 비교해 볼 때, 양식장의 수는 약 300군데로서 전국에 비해 9.2%에 불과하지만, 전체 생산물량은 24.5%를 점유하고 있으며, 특히 양식넙치 생산량은 전국 대비 약 50%를 차지하고 있을 정도로 매우 높은 비중을 점유하고 있는 실정이다. 제주산 활넙치는 2004년도에 17,800톤을 생산하여, 1,900억 원의 조수입을 올렸으며, 그해 수출도 4,089톤을 달성하여 약 4,000만 달러의 외화수입을 벌어들였으며, 세계 수출물량의 약 83.6%로 시장점유율 1위를 달성하였기 때문에 2005년에 산업자원부로부터 수산분야로서는 유일하게 세계일류상품으로 등재되었다. 이와 같이 제주산 양식넙치는 그 품질을 인정받아 세계의 많은 소비자층을 확보하여 지역산업에서 중요한 수출품목으로 인정을 받았다(그림 3).

산업자원부 선정...마케팅 등 큰 도움

제주산 활납치가 산업자원부에 의해 수산물야 세계 일류상품으로 선정됐다.

30일 제주도에 따르면 산업자원부는 최근 차관을 위원장으로 하고 대한무역공사 등 유관기관, 업종별 단체, 연구소, 소비자단체 대표 등 20여명으로 구성된 세계일류상품발전심의회를 개최하고 14개 기업의 13개 품목을 세계일류상품으로 선정했다. 이 가운데 수산물야에서 유일하게 제주도에 수어류양식수협이 제주산 활납치가 세계 일류상품으로 선정했다는 것이다.

제주산 활납치는 작년 1만7천8백여톤을 생산해 1천9백억원의 조수입을 올렸고, 수출도 4천69톤, 3천9백94만8천달러에 이르러 세계 수출물량의 63.6%로 점유율 1위를 내외 시장에서 확고한 위치를 차지, 이번엔 세계일류상품에 선정된 것으로 평가된다.

제주산 활납치가 세계일류상품으로 선정됨에 따라 향후 해외 전시회 참가 개발지원, 판로개척 등에서 산자부의 지원을 받을 수 있게 됐고, 국내외서 상품과 아울러 기존 일본 위주의 수출시장을 중국 등 타 국가로 전환하는 수출 큰 도움을 받을 것으로 기대되고 있다.

한편 산자부는 오는 21일 제주산 활납치에 대해 국영문 인증서를 수여할 예정이다. /음보석기자 bsyun@hallaibo.co.kr 음보석기자의 다른 기사 보기



그림 3. 제주산 양식납치 세계일류상품 선정 관련 자료

○ 제주지역의 양식납치 현황에서 언급한 바와 같이 제주산 양식납치가 지역의 양식산업에서 차지하는 비율이 매우 높고 또 그 품질 또한 우수하여 산업자원부로부터 세계일류상품으로 선정된 바가 있으나 현재 제주산 양식납치의 최근 가격은 2005년 세계일류상품으로 선정될 당시의 가격에 비하여 약 30% 가량 하락한 8,500원~9,000원/Kg 정도로 형성하고 있어 1차 산업에 종사하고 있는 양식어민들에게는 경제적으로 매우 어려움이 가중되고 있는 상황이다(그림 1). 따라서 유기양식 생산 매뉴얼의 개발과 품질표준화 작업을 통한 상품성이 높은 규격품 활납치만을 선별하여 판매하는 것이 생산량 수급조절 뿐만 아니라 품질향상에 도움이 될 것으로 예상되며, 또한 규격에 미달되는 양식납치는 가공산업에 적극 활용함으로써 양식어민들의 소득을 고루 증대 시킬 것으로 기대된다.

○ 제주지역은 양식납치 생산에 최적지로서 전국 양식납치 생산량의 약 50%를 점유하고 있다. 하지만 제주지역에서는 양식납치의 공급과잉과 소비감소로 인하여 해마다 가격이 하락하고 있어 양식어민들에게 경제적으로 어려움을 가중시키고 있다. 제주지역에서 양식납치가 공급과잉 현상을 가져오는 원인으로서는 첫째로 해마다 생산량이 증가하고 있는 것도 원인이지만, 양식납치의 엄격한 품질규격화가 이루어지지 않아 저품질 비규격화 납치상품들의 판매가 행해지고 있어 가격 경쟁력이 약화되고 있는 현실이다. 현재 제주지역의 수산가공산업은 옥돔, 고등어, 갈치 등 일부 단순가공형태로 이루어지고 있기는 하지만 납치 가공산업을 전혀 존재하지 않고 있다. 제주도에서의 납치가공은 가공원료인 양식납치 가격이 가공산업을 하기에는 현실적으로 매우 고가인 편이지만, 엄격한 품질규격화가 실현된다면 비규격품을 중심으로 저가 원료로 공급받아 납치가공이 이루어질 수 있는 여건이 조성될 것이다.

○ 현재의 제주지역은 양식넙치는 고품질의 양식넙치를 공급할 수 있음에도 불구하고 무분별하게 공급이 이루어지고 있기 때문에 제값을 받지 못하는 악순환이 반복되고 있다. 하지만 비규격품을 특정 기관에서 일괄적으로 수매하여 양식가공산업으로 활용하게 된다면 제주도는 양식넙치의 고품질화와 넙치가공산업의 활성화라는 두가지 측면에서의 효과가 기대될 수 있는 좋은 환경적 특성을 가지고 있다.

제 2 절 국내외 관련기술의 현황

1. 국내기술동향

○ 국내에서 친환경 양식에 대한 연구는 2006년도에 전남대 여수 캠퍼스에 “친환경어류양식연구센터”로 전문적인 연구기관이 형성되긴 했으나, 상기 센터에서는 주로 적조 및 각종 질병폐사 피해 예방 연구를 위한 목적으로, 주된 연구 내용은 친환경 어류양식 요소기술 개발 후 기술의 고도화 및 지능화에 국한되어 있다. 또한 대부분의 친환경양식의 요소로서 천연물유래 항생제 개발 및 유산균에 포커스가 맞추어져 있다. 하지만 실제로 이러한 천연항생제등을 양식현장에 적용하기에는 비용 등의 문제가 있다. 한편, 고부가가치 친환경 양식을 위해서는 수요와 공급을 적절히 조절해야 하는데 고밀도 사육 등으로 이내 공급과잉을 초래해 넙치 상품의 질뿐만 아니라 가격도 하락시키고 있는 실정이다. 여기에는 활어의 크기에 따라 상품과 비상품으로 나누는 선별 시스템 및 법적제도가 도입이 되어 있지 않아 양식 어민들이 무분별하게 사육 및 판매를 하는 것으로 보여진다. 따라서 중간 육성 시기에 상품 · 비상품 선별 시스템을 도입하여 상품으로 선별된 넙치는 활어나 선어로 유통을 하고, 비상품으로 선별이 된 넙치는 가공산업에서 활용하도록 하면 사육밀도도 적정해 지고 상품을 등급화 함으로서 가격 경쟁에서도 유리 할 것으로 기대된다.

○ 친환경 유기양식 기술에 대한 부분에서 천연항생제 개발이나 MP 사료 결착제 개발, 그리고 EP 인공배합사료 등의 개발에 관한 연구가 부분적으로 이루어지고는 있으나, 이러한 것들을 중심으로 그 효율성을 찾아서 실질적으로 양식어민들이 친환경 유기양식을 명확하게 수행해 나갈 수 있는 종합적인 매뉴얼의 개발은 이루어지고 있지 않다. 이러한 것은 현재까지 알려진 기술이 양식어민들에게 충분히 이해가 되지 않는 부분이 많으며, 많은 종류의 소재들과 재료들을 어떤 식으로 활용하는 것이 친환경 유기양식을 수행할 수 있는 것인가에 대한 종합적이고 체계적인 연구가 이루어지고 있지 않기 때문이다. 따라서 기술적인 어려운 부분보다는 현 시점에서 관련 기술들을 체계적으로 정리하여 그 효율성을 분석한 후 친환경 유기양식이 가능한 기법을 개발하는 것이 필요하다.

2. 국외기술동향

○ 전 세계적으로 어류양식은 식품의 한 부분으로서 급속히 성장하고 있다. 1980년대 초반해도 약 10%정도 성장했는데, 근래에 와서는 약 33%가 성장했다(US 550억 달러). 향후 10년 후에는 50% 이상의 성장률로 추정되며 금액으로는 US 1,500달러로 추정된다. 특히 남북아프리카, 유럽 및 일본이 크게 성장하고 있다. 어류 양식의 선구라고 할 수 있는 미국은 대륙이 넓기 때문에 거의 대부분의 양식 시설이 순환식 시스템이다. 이런 시설은 내륙에 짓기 때문에 해수를 끌어 오기가 힘들어 대부분 담수어 위주로 양식을 하고 있다. 시스템의 이름에서 알 수 있듯이 순환식 양식 수조는 여과시스템을 잘 갖추고 있기 때문에 어류 서식환경이 깨끗하다. 중국의 경우도 대륙이 넓기 때문에 대부분 순환식 양식시스템을 갖추고 있다. 한편 일본은 이미 친환경어류양식시설을 갖춘 연구기관이 나가사키현 종합 수산 시험장, 수산청 서해구 수산연구소, 나가사키대학 해양자원 개발연구센터, 8代海 해양환경센터 및 구마모토현 수산연구센터 등 우리나라보다 월등히 많이 존재한다.

○ 국제유기농업운동연맹(IFOAM)에서 유기 양식수산물에 대한 논의가 최근에 주목받고 있다. 유기양식수산물은 EU를 비롯한 미국, 동남아 일부지역에서 시도되고 있고, 매년 양식생산량이 증가하고 있다. 영국, 일본 등은 2000년대 이후 생태 유기 양식 생산물에 대한 선호도가 매년 증가하고 있는 실정이며 일본의 경우 organic & naturals 협회(JONA)에서는 유기수산물 인증 기준 및 시스템을 개발 하였다. 중국에서는 2004년부터 건강 무공해 양식을 추진하고 있다. 한편, 미국과 일본은 오염 총량관리제를 직접 시행하고 있다. 특히 미국은 가장 원론적인 오염 총량관리제인 TMDL(total maximum daily loads)제도를 시행하고 있으며, 관리대상에 비점 오염원을 포함할 만큼 기술적, 제도적으로 가장 잘 발달되어 있다. 독일 같은 경우는 직접 총량관리제를 시행하고 있지 않으나 오염총량관리의 원리에 의하여 폐수 배출을 허가해 주는 제도를 시행하고 있다.

표 2. 국내 · 외 기술수준 비교표

	국외	국내
유기 양식 생산물에 대한 선호도	증가	증가
유기수산물 인증 기준 및 시스템	일본: organic & naturals 협회(JONA)	없음
오염 총량관리제	미국, 일본: 직접시행 독일: 염총량관리의 원리에 의하여 폐수 배출을 허가	없음
기타	중국: 2004년부터 건강 무공해 양식을 추진	2006년 전남대학교 여수캠퍼스에 친환경어류양식연구센터

제 2 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 절 연구개발 목표 및 내용

1. 최종목표

제주지역에서 생산량 및 공급량 증가로 인하여 가격 경쟁력이 저하되고 있는 세계일류상품인 제주넙치에 대한 경쟁력을 키우기 위해 친환경 유기양식을 위한 생산 매뉴얼을 개발하고자 한다. 따라서 소비자들이 신뢰하고 안전하게 먹을 수 있는 유기양식 생산의 활넙치로 고품질화하고, 비규격품에 대해서는 여러 가지 다양한 수산가공제품을 개발하여 활용하면서, 친환경 유기양식 매뉴얼을 통하여 생산된 고품질 활넙치로 향후 수산분야의 FAT에 적극적으로 대처하고자 한다.

■제주지역에서 생산량 및 공급량 증가로 인하여 가격 경쟁력이 저하되고 있는 세계일류상품인 제주넙치에 대하여 유기 양식 생산 매뉴얼 개발

■비규격품 양식넙치는 가공산업에 적극 활용

■제주산 양식넙치의 친환경적 육성 및 양식넙치의 고품질화와 양식넙치 가공산업으로 친환경 양식넙치 육성과 고품질화로 인한 세계일류상품 제주넙치 산업 기술을 개발

2. 개발내용

가. 항생제 대체물질 천연항생제 개발

- 천연항생제 후보물질 선정 및 생리활성 분석
- 넙치에서의 면역증강 효과분석
- 최적의 천연항생제를 이용한 합성 항생제의 대체 가능성 평가를 위한 semi-pilot 넙치 사양실험
- 배지상에서 넙치의 주요 세균성 질병에 대한 천연항생제 물질의 항균효능 연구
- 공격실험을 통해 넙치의 주요 세균성 질병에 대한 항균효능 연구
- 천연물질의 배합비율 및 항균 효능 증대 방안 검토

나. 기능성 천연 항생제가 넙치의 생리학적 특성에 미치는 영향

- 마늘 액상 및 마늘 분말 함유 배합사료가 비특이적 면역력에 미치는 영향 조사

- 마늘 액상 첨가함량(0%, 0.5%, 1%, 2%)에 따른 흡착사료 제조
- 마늘 액상 첨가함량이 성장 및 생리학적 특성에 미치는 영향 조사
- 마늘 액상 첨가함량이 비특이적 면역력에 미치는 영향 조사
- 마늘 액상 첨가함량에 따른 넙치점액성분의 형상비교

다. 기능성 천연 항생제의 항병력 증진 효과 연구

- 마늘의 농도, 섭이기간에 따른 효과
- 병원체의 종류, 투여경로에 따른 효과
- 혈청의 라이소자임 활성 조사

라. 친환경 유기양식을 위한 기능성 천연 항생제 현장적용 평가

- 천연항생제의 현장(양식장)적용
- 친환경 유기양식을 위한 최종 매뉴얼 확립

마. 제주산 비규격 넙치의 생리활성 탐색

- 제주 비규격 넙치 근육 가수분해물의 생리활성

바. 비규격 넙치를 이용한 넙치 가공품 개발

- 넙치 근육 가수분해물의 생리활성
- 넙치 성형 연제품 개발
- 전통수산물발효식품의 개발

제 2 절 연구개발 수행내용 및 결과

1. 마늘발효액의 생리활성에 대한 평가

가. 실험방법

(1) 마늘 발효액 제조

제주특별자치도 서귀포시 대정읍에서 수확되고 있는 마늘을 깨끗하게 세척한 후 착즙하여 마늘착즙액과 마늘고형물 잔사를 제조한 후 마늘고형물 잔사에 대해서는 바시러스계통의 고온 발효균주를 이용하여 고온발효에 의하여 마늘발효분말을 제조하였으며, 마늘착즙액은 발효효

모를 이용하여 상온에서 발효하여 마늘발효액을 제조하였다. 이러한 마늘발효제품은 제주특별자치도 제주시 오등동에 위치한 아쿠아그린텍(주)에서 자체 개발하여 제조한 것을 구입하여 사용하였다.

(2) 마늘 발효액에 대한 항균활성 측정

(가) 탁도법을 이용한 생육저해 효과

마늘 발효액의 항균 활성을 알아보기 위해 gram positive 세균 2종과 gram negative 세균 5종을 시험균주로 사용하였다. 균주의 종류와 배양조건은 표 1-1과 같다. 균주를 선택 Agar 배지에서 계대 배양하여 활성화시킨 후 각 균주용 액체배지에 무균적으로 1백금이 접종하여 진탕배양기 (Shaking Incubator SI-4000R, Jeio Tech Co., Ltd)에서 24 hr ~ 48 hr 배양한 다음 사용하였다.

표 1-1. 항균활성 시험에 사용되어진 균 목록

균주	배양조건
Gram positive bacteria	
<i>Streptococcus iniae</i> KCTC 3657	BHIA, 25°C
<i>Streptococcus parauberis</i> KCTC 3651	BHIA, 25°C
Gram negative bacteria	
<i>Edwardsiella tarda</i>	1.5% BHIA, 25°C
<i>Vibrio anguillarum</i> KCTC 2711	1.5% BHIA, 25°C
<i>Vibrio cholerae</i> KCTC 2715	BHIA, 30°C
<i>Vibrio salmonicida</i> KCCM 41663	1% TSA, 30°C
<i>Vibrio furnisii</i> KCCM 41679	TSA, 30°C

넙치 어병균 7종에 대한 마늘 발효액의 생육저해효과는 액체배지희석법을 이용하여 측정하였다. 마늘 발효액의 함량이 각각 2.5, 5, 10 mg/mL의 농도가 되도록 하고, 균 농도는 Mcfala-nd NO. 0.5로 동일하게 맞추었다. 진탕배양기에서 24 hr 동안 배양하면서 분광광도계 (UV spectrometer)를 이용하여 시간별(0, 3, 6, 12, 24 hr)로 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(나) Disc법을 이용한 생육저해 효과

마늘 발효액의 항균활성은 paper disc (8 mm, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)를 이용한 disc 확산법으로 측정하였다. 즉, petri dish에 멸균된 각 균주 선택 Agar 배지를 15 mL씩 분

주하여 응고시키고, 그 위에 균주를 도말하였다. paper disc는 마늘 발효액을 0.45 um membrane filter로 제균시켜 50 uL씩 흡수시킨 후 건조시켜 사용하였다. 만들어놓은 평판배지에 미리 만들어놓은 paper disc를 농도별 (1, 5, 10 mg/mL)로 올려놓은 후 각 균주의 최적 배양온도에서 24 hr 배양하여 disc 주변에 형성된 저지환의 크기(mm)를 캘리퍼스 (vernier callipers, Mitutoyo, Japan)로 측정하여 항균활성을 나타내었다.

(다) 공격실험

① 단기간 마늘 급이 후의 면역증강 효과

㉠ 실험용 사료제작

총 4개의 실험사료는 44%의 조단백질과 17.1 MJ/kg의 에너지함량을 갖도록 동일하게 조성되었다. 본 실험에 사용된 마늘분말은 공동연구기관인 제주대학교 해양과학대학 해양생물자원이용공학연구실로부터 지원받았으며, 마늘 분말의 사료 내 첨가함량이 각각 0%, 0.5%, 1% 및 2% (G 0, G 0.5, G 1.0, G 2)가 되도록 첨가하여 실험사료를 제조하였다. 실험사료 제조는 우선 모든 사료원을 파쇄기를 이용하여 분말형태로 일정하게 만들고, 각 사료원들을 사료조성표에 따라 정확히 무게를 잰 후, 잘 섞은 다음 사료원 총량의 30-40%에 해당하는 증류수를 첨가하여 사료혼합기 (NVM-14-2P, Korea)로 혼합, 반죽시켰다. 혼합반죽물은 소형초파기 (SMC-12, Korea)를 이용하여 직경 5 mm 크기로 성형되었다. 성형된 실험사료는 -70°C 동결냉동 건조기에서 건조시켜, 시브 (Sieve)를 이용하여 적당한 크기의 사료로 가공되었으며, 사료 공급 전까지 -20°C 냉동고에 보관되었다.

㉡ 실험어

실험에 사용된 넙치치어는 제주도 내 종묘 배양장에서 수송하여 제주대학교 소속 해양과환경연구소로 운송되어, 약 4주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치 (평균무게: 23.4 g)는 총 12개의 110 L 원형 플라스틱 수조에 각 수조 당 30마리씩 무작위로 선택되어 배치되었다. 사료공급실험은 사료실험구당 3 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간 동안 평균 수온은 18°C에서 19°C 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 2회(8:00와 18:00시)에 나눠서 5주 동안 어체중의 2.2%로 사료공급을 실시하였다. 마늘분말을 0%, 0.5%, 1% 및 2%씩 사료 내 각각 첨가하여 5주간 공급시킨 넙치는 각 마늘 함량

별로 5 groups로 나누어 50 L 수조에 10마리씩 수용하였고, 모든 실험어는 5일에 걸쳐 수온을 24℃로 유지시킨 후, 공격실험에 사용하였다.

㉔ 실험 디자인

마늘을 사료에 첨가하여 5주간 급이시킨 넙치의 면역반응을 조사하기 위하여, 병원성 세균인 *Vibrio anguillarum* KCTC 2711, *Streptococcus iniae* KCTC3651, *Edwardsiella tarda* KCTC3657 그리고 viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV)로 각각 공격실험을 실시하였다. 병원성 세균 3 균주는 각각 TSA 배지에서 25℃, 24시간 배양한 후 집균하였고, PBS로 1×10^5 cfu/mL이 되도록 현탁하여 0.1 mL씩 복강 주사하였다. 마늘 분말을 함량별로 (0%, 0.5%, 1% 및 2%) 사료 내 첨가하여 5주간 공급시킨 넙치 10마리씩을 실험구로 사용하였다. VHSV의 배양에 사용한 어류주화세포는 chinook salmon embryo cell line (CHSE-214)을 사용하였고, 세포배양액은 100 IU/mL의 penicillin, 100 ug/mL의 streptomycin, 10% fetal bovine serum (FBS)을 첨가한 Dulbecco's modified essential medium (DMEM)을 사용하였다. Reed and Muench (1938)의 방법으로 TCID₅₀ 값을 계산하였고, 마늘 분말을 함량별로 (0%, 0.5%, 1% 및 2%) 사료 내 첨가하여 5주간 공급시킨 넙치 10마리씩에 1×10^5 TCID₅₀/mL의 VHSV를 각각 0.1 mL씩 복강내 주사하였다. 모든 groups는 24℃로 수온을 유지하였으며, 23일간 폐사를 관찰하였다.

㉕ 장기간 마늘 급이 후의 면역증강 효과

㉔ 실험용 사료제작

총 4개의 실험사료를 제작하였으며, 본 실험에 사용된 마늘액상과 키토산 코팅제는 공동연구기관인 제주대학교 해양과학대학 해양생물자원이용공학연구실로부터 지원받았다. 액체형태의 마늘액상을 상업사료에 각각 0%, 0.25%, 0.5%, 및 1%가 포함되도록 흡착시킨 후 키토산으로 코팅 처리하였다. 실험사료 제조는 우선 상업사료에 마늘액상을 증류수와 혼합한 후 EP사료에 뿌려 충분히 흡착시킨 후, 다시 키토산코팅제를 뿌려 흡착시켰으며, 사료 공급 전까지 -20℃에서 보관하였다.

㉔ 실험어

실험에 사용된 넙치는 제주도 내 종묘 배양장에서 수송하여 제주대학교 소속 해양과환경연구소로 운송되어, 약 8주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치 (평균무게: 65.0 g)는 총 8개의 110 L 원형 플라스틱 수조에 각 수조 당 30마리씩 무작위로 선택되어 배치되었다. 사료공급

실험은 사료실험구당 2 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간동안 평균 수온은 20℃에서 26℃ 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 2회 (8:00와 18:00시)에 나눠서 10주 동안 어체중의 1.5~1%로 제한급이를 실시하였다. 마늘 분말을 0%, 0.25%, 0.5% 및 1%씩 사료 내 각각 첨가하여 10주간 공급시킨 넙치는 각 마늘 함량별로 2 groups로 나누어 50 L 수조에 10마리씩 수용하였고, 모든 실험어는 5일에 걸쳐 수온을 24℃로 유지시킨 후, 공격실험에 사용하였다.

㉔ 실험 디자인

마늘을 사료에 첨가하여 10주간 급이시킨 넙치의 면역반응을 조사하기 위하여, 병원성 세균인 *Streptococcus iniae* KCTC3651 그리고 *Edwardsiella tarda* KCTC3657로 각각 공격실험을 실시하였다. 병원성 세균 2 균주는 각각 TSA 배지에서 25℃, 24시간 배양한 후 집균하였고, 해수에 1×10^6 cfu/mL이 되도록 현탁하여 침지 공격실험에 사용하였다. 마늘 분말을 함량별로 (0%, 0.25%, 0.5% 및 1%) 사료 내 첨가하여 10주간 공급시킨 넙치 10마리씩을 실험구로 사용하였고, 세균을 현탁시킨 해수에 24℃, 1시간 동안 침지시켰다. 모든 groups는 24℃로 수온을 유지하였으며, 23일간 폐사를 관찰하였다. 공격실험에 사용된 감염실과 수조는 그림 4에서 보여주고 있다.



그림 1-1. 마늘의 항병력 증강 효과를 실험하기 위한 감염실

(3) 마늘 발효액에 대한 항산화 활성 측정

(가) 전자스핀공명흡수분광기 (ESR : Electron spin Resonance Spectrometer)를 사용한 Radical 소거활성 측정

- DPPH free radical 소거활성 측정

마늘 발효액 60 uL와 DPPH (60 umol/L in methanol) 60 uL를 ependorf tube(e-tube)에 넣어 잘 혼합시킨 후 2분간 반응시킨다. 반응이 끝나면 100 uL Teflon capillary tube로 옮기고 전자스핀공명흡수분광기 (ESR: Electron spin resonance, JES-FA machine, JEOL, Tokyo, Japan)로 측정하였다. ESR 측정 조건은 표 1-2와 같다.

- Superoxide radical 소거활성 측정

마늘 발효액 20 uL에 0.8 mM riboflavin 20 uL, 1.6 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 20 uL, 0.8 M DMPD 20 uL를 ependorf tube에서 잘 혼합시킨 후 UV lamp (365 nm)에서 1분 동안 반응시킨다. 반응이 끝나면 100 uL를 Teflon capillary tube로 옮기고 전자스핀공명흡수분광기 (ESR: Electron spin resonance, JES-FA machine, JEOL, Tokyo, Japan)로 측정하였다. ESR 측정 조건은 표 1-2와 같다.

- Hydroxyl radical 소거활성 측정

Hydroxyl radical은 DMPD (5,5-Dimethyl-1-pyrrolin N-oxide)와 결합하여 생성된 DMPD-OH를 ESR spectrometer를 이용해 측정하였다. 마늘 발효액 20 uL에 0.3 M DMPD(in 0.1 M phosphate buffer pH 7.4) 20 uL, 10mM FeSO₄ 20 uL, 10 mM H₂O₂ 20 uL를 ependorf tube (e-tube)에서 잘 혼합시킨 후 2분 30초 동안 반응시킨다. 반응이 끝나면 100 uL를 Teflon capillary tube로 옮기고 전자스핀공명흡수분광기(ESR: Electron spin resonance, JESFA machine, JEOL, Tokyo, Japan)로 측정하였다. ESR 측정 조건은 표 1-2와 같다.

표 1-2. ESR 측정조건

Measurement conditions
Central field 3475 G
Modulation frequency 100 kHz
Modulation amplitude 2 G
Microwave power 1 mW
Gain 6.3×10^5
Temperature 298 K

(나) 세포내에서 마늘 발효액의 항산화 활성 측정

- 마늘 발효액의 세포 독성 측정

African green monkey kidney Cell line (Vero)을 100 units/mL penicillin-100 ug/mL streptomycin (Gibco Inc, NY, USA)과 10% heat-inactivated fetal bovin serum (FBS; Gibco Inc, NY, USA)이 함유된 DMEM (Hyclone Inc, USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, 3 일에 한 번씩 계대배양 하였다. Vero 세포 (1.0×10^5 cells/mL)를 96 well plate에 넣고 16~24시간 배양 후 마늘 발효액 5, 50, 500, 1000, 2000 ug/mL 농도별로 30분 동안 처리하였다. 50 uL (2 mg/mL)의 MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)을 첨가하여 3시간 동안 반응시킨 후, 상층액을 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO) 200 uL을 가하였다. 용해되어진 formazan crystals을 ELISA를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하고 평균 흡광도 값을 구하였다.

- 세포보호효과 측정

Vero 세포 (1.0×10^5 cells/mL)를 96 well plate에 넣고 16~24시간 배양 후 마늘 발효액 5, 25, 50, 100, 200 ug/mL 농도별로 30분 동안 처리하였다. 25 mM H₂O₂ (final concentration 1.25 mM)를 2시간동안 처리하고, 50 uL (2mg/mL)의 MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)을 첨가하여 3시간 동안 반응시킨 후, 상층액을 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO) 200 uL을 가하였다. 용해되어진 formazan crystals을 ELISA를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하고 평균 흡광도 값을 구하였다.

- Intracellular ROS 소거 활성 측정

Vero 세포 (1.0×10^5 cells/mL)를 96 well plate에 넣고 16~24시간 배양 후 마늘 발효액 5, 25, 50, 200 ug/mL 농도별로 30분 동안 처리하였다. 세포에 자극을 주어 활성산소를 생성하게 하기 위해 25 mM H₂O₂ (final concentration 1.25 mM)를 2시간동안 처리하였다. DCFH-DA 10 uL (5 ug/mL) 처리한 후 ELISA를 사용하여 excitation 485 nm, emission 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- DNA 손상 보호효과 측정

Alkaline comet assay 방법으로 수행하였다. Vero 세포 (1.0×10^4 cells/mL)에 마늘 발효액 25, 50, 250, 500 ug/mL 농도별로 30분 동안 37°C에서 반응시킨 후 20 mM H₂O₂ (final concentration 1 mM)을 처리하고 1,600 rpm 에서 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. DPBS로 Washing 후 1,600 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상층액은 제거하고 남아있는 세포를

실험에 사용하였다. 0.7% LMPA (Low melting point agarose, Invitrogen)와 섞은 후, 1% NMPA (normal melting point agarose, Sigma)로 미리 코팅한 슬라이드에 분산시켰다. 겔이 굳은 후 그 위에 다시 0.7% LMPA 130 μ L를 슬라이드 위에 떨어뜨리고 커버글라스로 덮고, lysis buffer (2.5 M NaCl, 500 mM EDTA, 10 mM Tris, 1% N-Lauroylsarcosine sodium salt, 1% Triton X-100)에 슬라이드를 담가 4°C에서 30분 동안 lysis시켰다. 이 lysis시킨 슬라이드를 10N NaOH와 100 mM Na₂EDTA가 들어있는 glass chamber에서 20분 동안 unwinding을 시켰다. DNA 전기영동은 25 V/300 mA의 전압으로 20분 동안 실시하였으며 전기영동이 끝난 슬라이드를 중화완충용액 (neutralizing buffer: 0.4 M Tris, pH 7.5)에 5분씩 3회 반복 세척해 주었고 70% 에탄올로 5분간 고정시킨 후, 2~20 μ g/mL 농도의 EtBr (Ethidium bromide, Sigma) 45 μ L로 DNA를 염색하였다. 측정은 이미지 분석기 (Kinetic Imaging Komet 5.0, UK)와 reflected light fluorescence attachment microscope (BX-FLA, Olympus optical Co., Ltd, Japan)로 수행하였다. DNA 손상정도는 핵으로부터 이동한 DNA%를 곱해준 테일 순간 값을 측정하여 나타내었으며 각 대상자 당 2개의 slide를 만들어 각각 50개씩 총 100개의 Vero cell에서 DNA 손상정도를 측정하였다.

(4) 마늘 발효액의 넙치 비특이적 면역활성 측정

(가) *in vitro*상 넙치에서 마늘 발효액의 면역활성 측정

- 넙치 면역세포의 Superoxide anion 생성능력

라디칼에 의한 식세포 작용을 알아보기 위하여 NBT (Nitroblue tetrazolium) assay 방법에 따라 분석하였다. 미리 넙치에서 분리한 전혈 (Whole blood)에 마늘 발효액 50, 100, 500 μ g/mL을 처리한 후 Ependoff tube에 전혈과 0.2% NBT 시약 (자극제 5 μ M PMA 포함)을 1:1 비율로 섞은 후 30분 동안 상온에서 반응시켜 1 mL dimethyl formamide를 첨가하였다. 상층액 200 μ L씩 micro 96 well plate로 옮긴 후 ELISA를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- 넙치 혈청에서의 라이소자임 활성

체액성 면역 반응에 관여하는 인자로 라이소자임은 세균벽의 N-acetylmuramic acid와 N-acetylglucosamine 사이의 베타-1,4 결합을 분리하여 세균을 사멸시키는 효소로 그람양성균에 대한 항체 및 보체 활성을 증가시켜 주고, 식세포의 식작용을 증가시킨다. 실험 방법은 *Micrococcus lysodeikticus*를 0.02 M sodium citrate buffer (pH 5.5)에 0.2 mg/mL가 되게 하여 *M. lysodeikticus* solution을 만들고, 넙치에서 분리한 Serum에 미리 마늘 발효액 50, 100, 200 μ g/mL을 30분간 처리한 후 실험에 사용하였다. 마늘 발효액을 처리한 serum을 각각

15 μ L씩 96 well plate에 분주한 후 즉시 *M. lysodeikticus* solution을 150 μ L 넣고 450 nm에서 흡광도를 측정한 후 24°C에서 1시간 반응 후 동일한 파장에서 흡광도 값을 얻어 lysis 전 후 흡광도 값 차이를 구한다. Lysozyme의 활성 단위는 분당 0.001의 흡광도 감소를 나타내는 효소의 양으로 정의하였다.

(나) *in vivo*상 마늘 발효액을 급여한 넙치의 면역 활성 변화 및 어육 및 혈청내 알리신 분석

① 실험어 및 사육관리

본 실험에 사용된 넙치 치어는 제주도내 양식장에서 구입하여 제주대학교 소재 해양과환경 연구소로 수송하였으며, 실험 환경에 적응시키기 위해 3주 동안 순치시켰다. 순치시키는 동안의 먹이 공급은 분양받은 양식장에서 공급하던 것과 동일한 시판 사료를 사용하였다. 예비 사육 후 평균 어체중이 220 g의 넙치를 마늘 발효액 급여군과 비 급여군으로 나누어 원형수조에 일정하게 배치하였다. 사육수는 22±4°C의 해수를 사용하였고, 사료는 마늘 발효액을 첨가한 EP (Extruded pellet) 사료 및 미첨가 EP 사료로 어체중의 2.5%를 공급하였으며, 실험 사육은 5개월 동안 수행되었다.

표 1-3. 사료 조성표

사료 조성	
마늘 첨가 EP 사료	미첨가 EP 사료
소화제 0.5%	소화제 0.5%
간장제 0.4%	간장제 0.4%
마늘 발효액 0.8%	-
종합 비타민 6%	종합 비타민 6%
키토산 코팅액 10%	키토산 코팅액 10%

표 1-4. 사료 제조 방법

배합비
EP 사료 20 kg
물 2.4 L
소화제 100 g
간장제 80 g
마늘 발효액 160 mL
종합 비타민 1.2 kg
키토산 코팅액 2 L

② 혈액성분 분석

혈액성분 분석을 위하여 실험어를 채혈하기 전까지 약 24시간 동안 절식시켜 무작위 선발하여 미부정맥에서 혈액을 채혈하였다. 혈청 성분의 분석을 위하여 채혈한 혈액을 항응고제가 처리되지 않은 원심분리관에 넣고 실온에 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 냉장보관하면서 16시간 이내에 분석하였다. 혈청 성분은 자동 혈액분석기 (Ch 100 plus, Daewang metitecq. Korea)를 사용하여 간지수인 AST (aspartate amino transferase), ALT (alanine aminotransferase), 인 (phosphorus), 헤모글로빈 (hemoglobin, Hb)을 분석하였다.

③ 넙치 면역세포의 Superoxide anion 생성능력 (병에 대한 방어능력 측정)

라디칼에 의한 식세포 작용을 알아보기 위하여 마늘 발효액 급이군과 비급이군에서 무작위로 넙치를 선택하여 전혈과 신장 세포의 면역세포 superoxide anion 생성능력을 NBT (Nitroblue tetra zolum) assay 방법에 따라 분석하였다. Ependoff tube에 전혈과 0.2% NBT 시약 (자극제 5 μ M PMA 포함)을 1:1 비율로 섞은 후 30분 동안 상온에서 반응시켜 1 mL dimethyl formamide를 첨가하였다. 상층액 200 μ L씩 micro 96 well plate로 옮긴 후 ELISA를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

④ 넙치 혈청에서의 라이소자임 활성

마늘 발효액 급이군과 비 급이군에서 무작위로 선택한 넙치에서 분리한 Serum을 각각 15 μ L 씩 96 well plate에 분주한 후 즉시 *M. lysodeikticus* solution을 150 μ L 넣고 450 nm에서 흡광도를 측정한 후 24°C에서 1시간 반응 후 동일한 파장에서 흡광도 값을 얻어 lysis 전 후 흡광도 값 차이를 구한다. Lysozyme의 활성 단위는 분당 0.001의 흡광도 감소를 나타내는 효소의 양으로 정의하였다.

(5) 마늘 발효액에 존재하는 알리신 함량 측정을 위한 HPLC, LC/MS 분석

- 마늘 발효액에 존재하는 알리신 분석

마늘 발효액을 시린지 필터 0.45 μ m를 이용하여 필터를 하여 시료를 준비하였다. 분석에 사용된 HPLC와 HPLC/MS는 Thermoscientific 사의 LC 및 LXQ 모델을 사용하였으며 분석 조건은 다음 표 7과 같다. 표준품인 Alicin은 sigma사로부터 구입하였으며 농도를 순차적으로 희석하여 측정하였다. 이렇게 얻어진 데이터를 바탕으로 정량선을 구하여 마늘 발효액내 alicin의 함량을 구하였다.

표 1-5. HPLC 및 LC-Mass 분석 조건

A. Condition of HPLC				
Company	ThermoFisher Scientific			
Column	YMC C18 (5 μ m, 4.6 \times 250 mm)			
Mobile phase	A : Methanol			
	B : Water			
Gradient	Time	A%	B%	Flow
	0 min	10	90	0.8 mL/min
	40 min	100	0	0.8 mL/min
	50 min	100	0	0.8 mL/min
	52 min	10	90	0.8 mL/min
	60 min	10	90	0.8 mL/min
B. Condition of LC/MS				
Company	ThermoFisher Scientific			
Ion source	ESI source			
Polarity	Positive (+), Negative(-)			
Mass range	100 - 1,000 m/z			
Sheath Gas	50			
Scan type	Full scan			
Capillary temp	350 $^{\circ}$ C			

- 마늘 발효액을 급이한 넙치 혈청내 알리신 분석
위의 분석 방법과 동일한 방법으로 측정하였다.

(6) Pilot scale 넙치 양식

(가) 실험어 및 사육관리

본 실험에 사용된 넙치 치어는 제주도내 양식장에서 구입하여 제주대학교 소재 해양과환경 연구소로 수송하였으며, 실험 환경에 적응시키기 위해 3주 동안 순치시켰다. 순치시키는 동안의 먹이 공급은 분양받은 양식장에서 공급하던 것과 동일한 시판 사료를 사용하였다. 예비 사육 후 처음 초기 (2009년 2월 25일)의 평균 어체중이 10 g정도하는 넙치를 무작위로 원형 수조에 일정하게 배치하여 7개월 동안 사육하였다. 넙치 사육이 끝나는 시점 (10월 7일)에는

평균 어체중이 289 g이었다. 사육수는 해수를 사용하였고, 사료는 마늘 발효액을 첨가한 EP (Extruded pellet) 사료로 어체중의 2.5%를 공급하였으며, 넙치 증체율은 매달 전체 무게를 측정하여 증중량을 구하였다.

표 1-6. 해수 온도 변화표

월 별	해수 온도
3 월	13±2 °C
4 월	15±2 °C
5 월	17±1 °C
6 월	20±3 °C
7 월	22±4 °C
8 월	24±3 °C
9 월	24±1 °C

표 1-7. 사료 조성표

사료 조성	
소화제	0.5%
간장제	0.4%
마늘 발효액	0.8%
종합 비타민	6%
키토산 코팅액	10%

나. 실험결과

(1) 마늘 발효액에 대한 항균활성 측정

마늘은 항균, 항진균, 항바이러스 활성을 가지고 있으며 마늘의 알리신 성분은 우수한 항균 효과를 가지고 있다고 알려져 있다. 이에 따라 마늘 발효액으로 넙치 양식에 있어서 문제가 되고 있는 넙치 질병 유발 주요 세균인 연쇄구균증 (gram positive) 2종과 비브리오균 (gram negative) 4종, 에드워드균 (gram negative)을 시험균주로 사용하여 항균활성을 측정하였다. 항균 활성 결과는 그림 1-2, 3에 나타내었다.

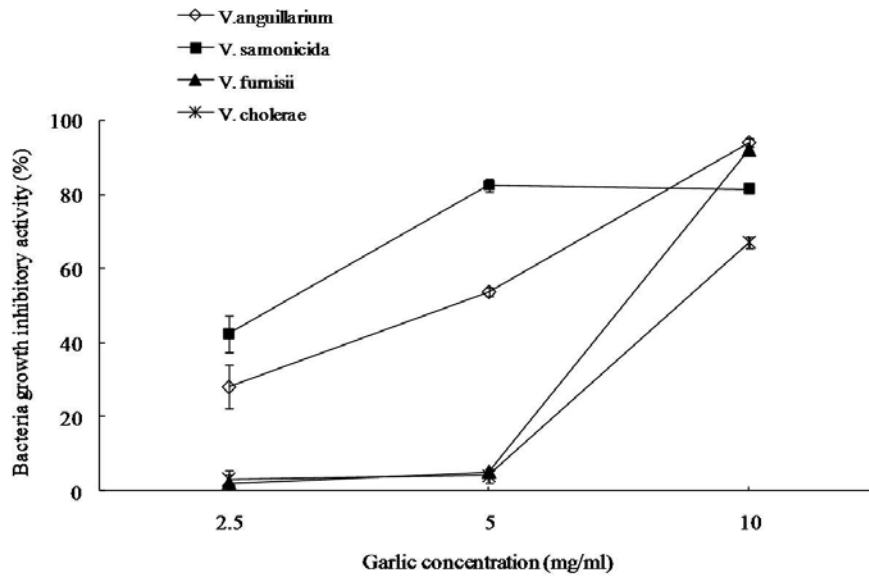


그림 1-2. 비브리오균 4종에 대한 마늘 발효액의 항균활성

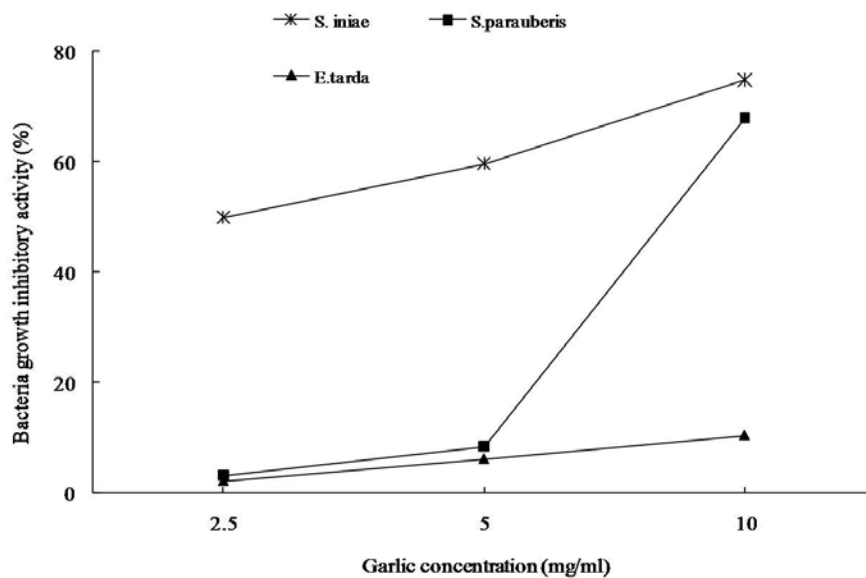


그림 1-3. 연쇄구균 2종과 에드워드 균에 대한 마늘 발효액의 항균활성

마늘 발효액은 비브리오 균 4종 중에서 *V. anguillarum*과 *V. furnisii*, *V. cholerae*에서 농도 의존적으로 항균활성이 점점 증가하는 것을 확인할 수 있었고, 10 mg/mL일 때 *V. anguillarum*과 *V. furnisii*에서 항균활성이 90% 이상을 넘었다. 나머지 다른 1종인 *V. salmonicida*에서는 초기 (2.5 mg/mL)에 다른 비브리오 균들에서보다 항균활성이 높았으나 10 mg/mL에서 더 이상 활성이 증가하지 않아 상대적으로 다른 균들보다 낮은 활성을 나타내었다. 연쇄구균 2종에서는 특히 *S. iniae*에서 높은 항균활성을 나타내었다. 2.5 mg/mL

에서 50%의 항균 활성을 보이고 농도 의존적으로 점점 증가하였다. *S. parauberis*은 2.5, 5 mg/mL에서는 항균 활성이 거의 없었으나 10 mg/mL에서 갑자기 60%를 넘는 항균활성을 나타내었고, 에드워드 균에서는 특별한 항균활성 효과를 보이지 않았다. 일반적으로 마늘의 우수한 항균효과를 가진 것을 확인 할 수 있었다.

표 1-8. 넙치질병유래 균 7종에 대한 disc법 항균활성 측정

Garlic concentration (mg/ml)	Clear zone (Unit: mm)		
	1	5	10
Test strains			
<i>Vibrio salmonicida</i>	-	-	23
<i>Streptococcus parauberis</i>	13	23	20
<i>Streptococcus iniae</i>	20	23	30



Vibrio salmonicida



Streptococcus parauberis



Streptococcus iniae

disc법으로 측정한 마늘 발효액의 항균활성 측정은 균 7종 중에서 3종에서만 생육저지환이 나타났다. *V. salmonicida*의 경우 1, 5 mg/mL에서는 생육저지환이 나타나지 않았다가, 10 mg/mL에서 나타난 것을 확인할 수 있었다. *S. parauberis*와 *S. iniae*에서는 disc법을 이용하여 항균활성을 측정하였을 때 둘 다 비슷한 크기의 생육저지환을 나타내었는데, 탁도법을 이용하여 항균활성을 측정하였을 때에는 5 mg/mL에서 50% 정도의 항균활성 차이를 나타냈다. 이는 마늘 발효액을 흡수시킨 disc를 건조시킬 때 disc가 오염되어 상대적으로 생육저지환의 크기가 작게 나타난 것이 아닌가 생각되어진다.

(가) 공격실험

① 단기간 마늘 급여 후의 면역증강 효과

마늘이 넙치의 항병력에 미치는 영향을 분석하기 위하여, 마늘 분말을 0%, 0.5%, 1% 및 2% 씩 사료 내 각각 첨가하여 5주간 공급시킨 넙치 (평균무게: 23.4 g)에 병원성 세균 3종

(*Vibrio anguillarum* KCTC 2711, *Streptococcus iniae* KCTC3651, *Edwardsiella tarda* KCTC3657) 그리고 바이러스 1종 (VHSV)을 사용하여 각각 복강 주사를 통해 공격실험을 실시하였다 (그림 1-4, 5, 6, 7, 8).

그 결과, *Vibrio anguillarum* KCTC 2711을 사용하여 감염시킨 경우, galic 0% group (대조구; 마늘을 급이시키지 않은 group)에서는 공격 후 4일째에 100%의 누적폐사율을 나타내었지만, galic 0.5%, 1%, 2% groups에서는 각각 40%, 30%, 40%의 누적폐사율을 나타내어 대조구에 비해 마늘을 급이시킨 실험구에서 누적폐사율이 현저히 감소되는 것을 확인하였다 (그림 1-4). 폐사어는 내부 장기로부터 세균을 분리하여 *Vibrio anguillarum*에 감염되었음을 확인하였고, 궤양 형성, 체색흑화, 지느러미 출혈 등의 *Vibrio anguillarum*에 의한 전형적인 감염증상을 보였다 (그림 1-5).

Streptococcus iniae KCTC3651을 사용하여 감염시킨 경우, galic 0% group (대조구)에서는 공격 후 23일째까지 50%의 누적폐사율을 나타내었으며, galic 0.5%, 2% groups에서는 각각 40%, 10%의 누적폐사율을 나타내어 대조구보다 낮은 폐사율을 보였지만, galic 1% group에서는 60%로 대조구보다 높은 누적폐사율을 나타내었다 (그림 1-6). 그러나 대조구에서는 공격 후 13일~15일 사이에 폐사가 집중적으로 나타나는데 반하여, galic 1% group에서는 15일~21일 사이에 대부분의 폐사가 발생하여 전체적인 폐사 시기가 대조구에 비해 지연되는 것을 확인하였다.

Edwardsiella tarda KCTC3657을 사용하여 감염시킨 경우, 4 groups 모두에서 공격 후 7일 이내에 100% 누적 폐사하였으며, 대조구에 비해 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (그림 1-7).

VHSV에 의한 감염의 경우, galic 0% group (대조구)에서는 공격 후 23일째까지 60%의 누적폐사율을 보였고, galic 0.5%, 1%, 2% groups에서는 각각 30%, 40%, 50%의 누적폐사율을 나타내어 마늘의 농도-의존적인 효과는 보이지 않았지만, 세 가지 실험구 모두 마늘을 급이시키지 않은 대조구에 비해서는 더욱 낮은 누적폐사율을 나타내었다 (그림 1-8).

공격실험을 통한 이러한 결과는 *Edwardsiella tarda*에 대한 마늘의 항균활성이 다른 세균 종에 비해 낮게 나타났던 *In vitro*에서의 disc-diffusion assay로 확인되었던 결과와 부합하고 있으며, *E. tarda*를 제외한 나머지 병원체를 대상으로 한 실험에서는 마늘 섭취에 의해 넘치의 항병력이 증가되었음을 확인하였다.

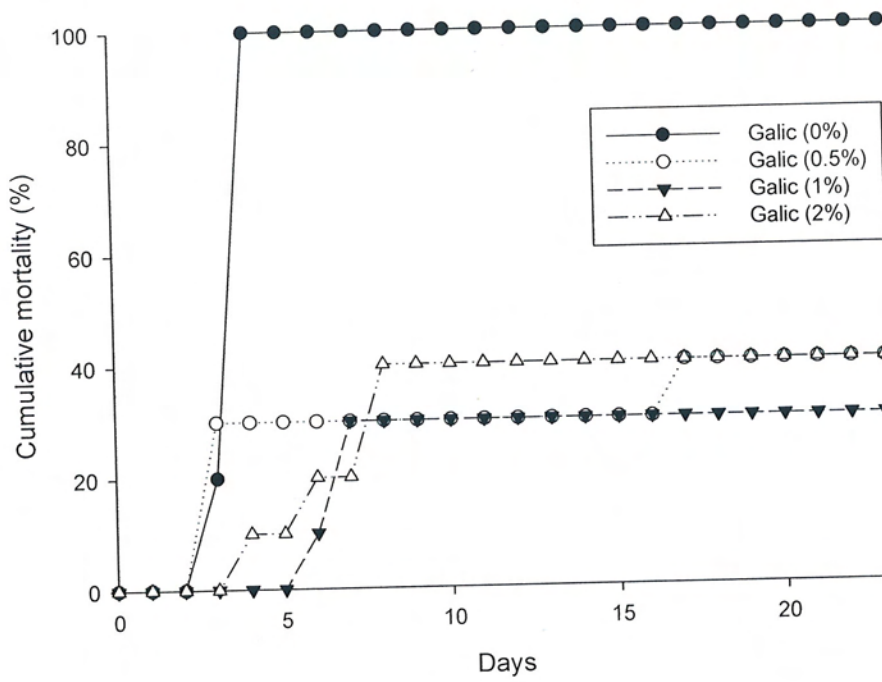


그림 1-4. 마늘 분말을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 5주간 공급시킨 후, *Vibrio anguillarum* KCTC 2711 (1×10^4 cells/fish)을 복강 주사한 넙치의 누적폐사율 (%)

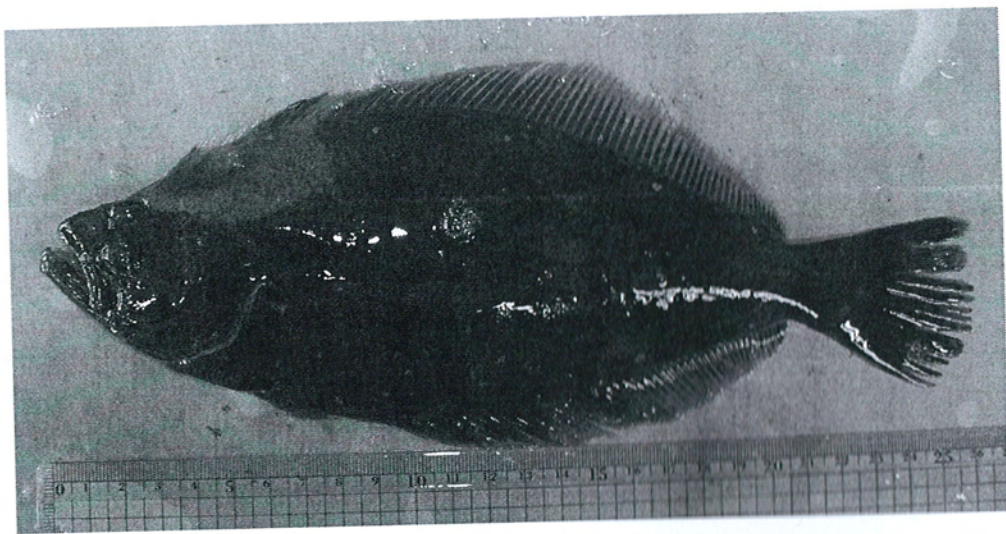


그림 1-5. 이 실험에서 *Vibrio anguillarum* KCTC 2711에 감염된 넙치

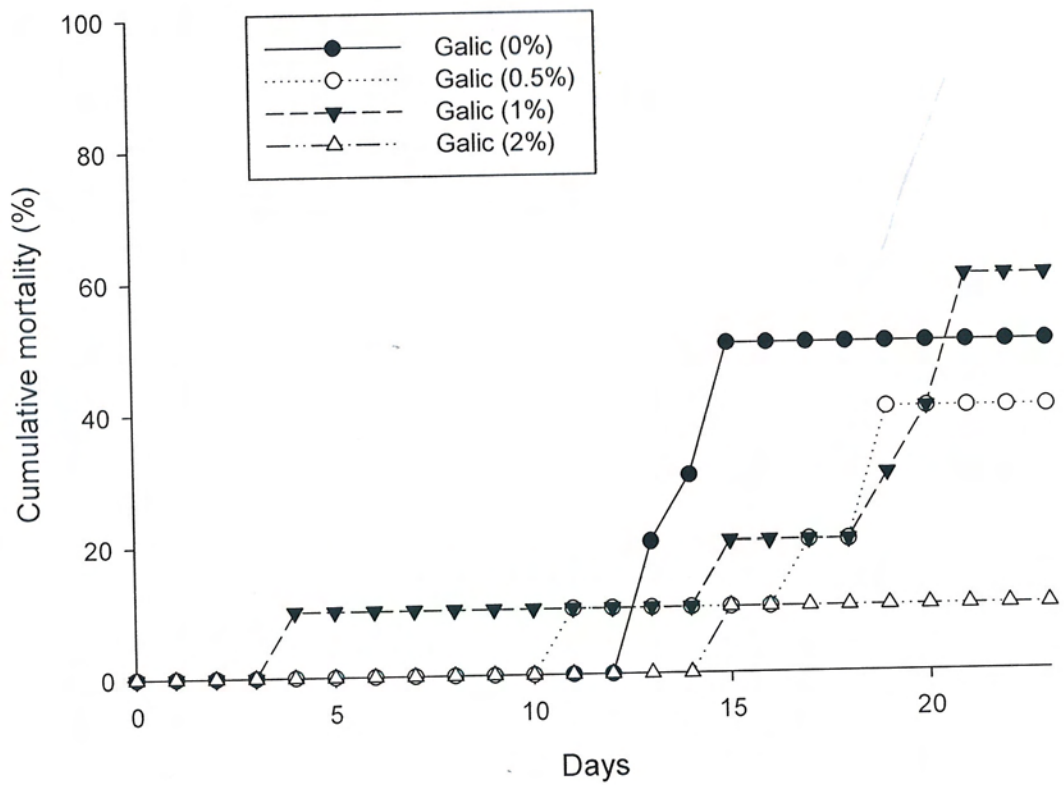


그림 1-6. 마늘 분말을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 5주간 공급시킨 후, *Streptococcus iniae* KCTC3651 (1×10^4 cells/fish)을 복강 주사한 넙치의 누적폐사율 (%)

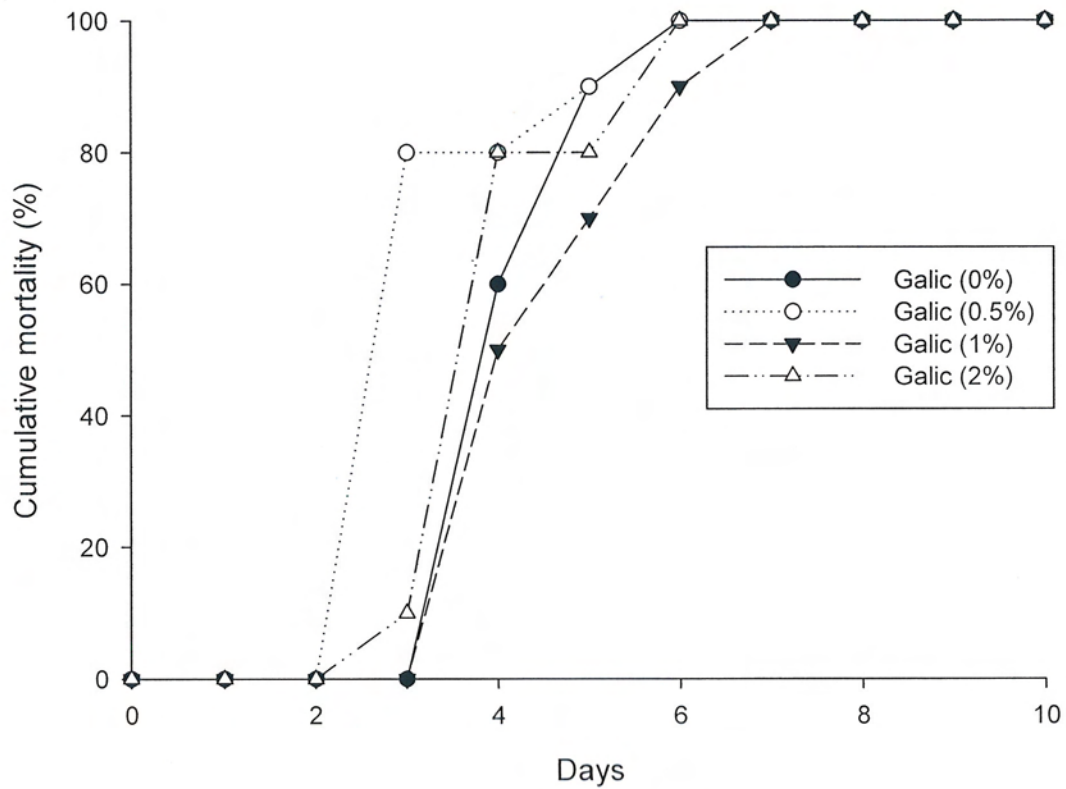


그림 1-7. 마늘 분말을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 5주간 공급시킨 후, *Edwardsiella tarda* KCTC3657 (1×10^4 cells/fish)을 복강 주사한 넙치의 누적폐사율 (%)

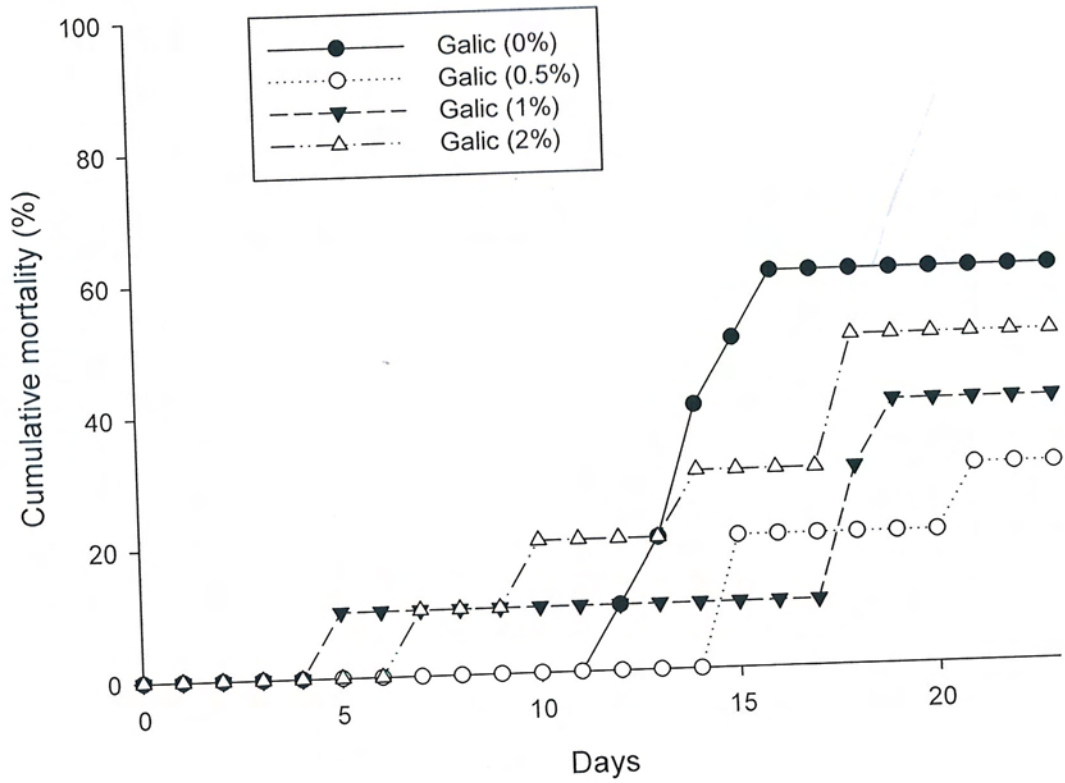


그림 1-8. 마늘 분말을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 5주간 공급시킨 후, VHSV (1×10^4 TCID₅₀/fish)를 복강 주사한 넙치의 누적폐사율 (%)

② 장기간 마늘 급이 후의 면역증강 효과

마늘이 넙치의 항병력에 미치는 영향을 분석하기 위하여, 마늘 액상을 0%, 0.25%, 0.5% 및 1%씩 사료 내 각각 첨가하여 10주간 공급시킨 넙치 (평균무게: 65.0 g)에 병원성 세균 2종 (*Streptococcus iniae* KCTC3651, *Edwardsiella tarda* KCTC3657) 을 사용하여 각각 침지감염을 통한 공격실험을 실시하였다 (그림 1-9, 10).

그 결과, *Streptococcus iniae* KCTC3651을 사용하여 감염시킨 경우, galic 0% group (대조구)에서는 공격 후 5일째에 100%의 누적폐사율을 나타내었지만, galic 0.25%, 0.5%, 1% groups에서는 각각 50%, 30%, 30%의 누적폐사율을 나타내어 마늘의 농도-의존적으로 폐사 감소되는 것을 보였으며, 대조구에 비해 실험구 모두에서 생존률이 크게 향상됨을 확인하였다 (그림 1-9).

Edwardsiella tarda KCTC3657을 사용하여 감염시킨 경우, 4 groups 모두에서 공격 후 9일 이내에 100% 누적 폐사하였으며, Fig. 5에서와 마찬가지로 대조구에 비해 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (그림 1-10).

침지감염을 통한 공격실험에서도 복강주사의 경우와 마찬가지로 *E. tarda*에 대한 마늘의 항균효과는 나타나지 않았지만, *S. iniae*에 대한 공격실험을 통해 0.5% 이상의 마늘 액상을 10주간 공급시킨 넙치가 마늘을 급이시키지 않은 넙치에 비해 항병력이 현격히 증가되었음을 확인하였다.

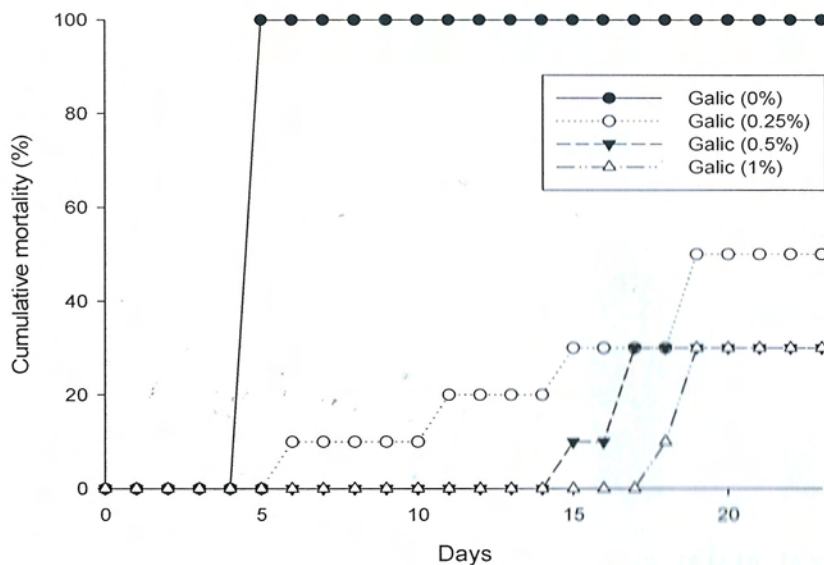


그림 1-9. 마늘 분말을 0% (●), 0.25% (○), 0.5% (▼) 및 1% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 10주간 공급시킨 후, *Streptococcus iniae* KCTC3651 (1×10^6 cells/ml)로 침지시킨 넙치의 누적폐사율 (%)

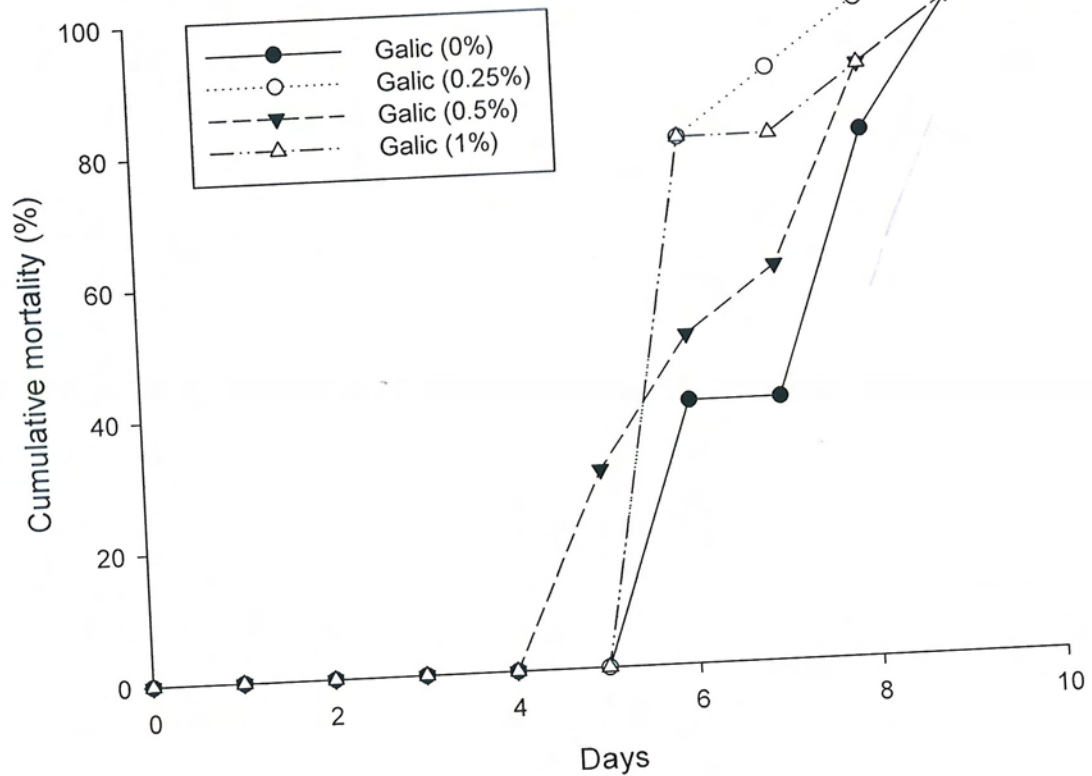


그림 1-10. 마늘 분말을 0% (●), 0.25% (○), 0.5% (▼) 및 1% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 10주간 공급시킨 후, *Edwardsiella tarda* KCTC3657 (1×10^6 cells/ml)로 침지시킨 넙치의 누적폐사율 (%)

(2) 마늘 발효액에 대한 항산화 활성 측정

(가) 전자스핀공명흡수분광기 (ESR : Electron spin Resonance Spectrometer)를 사용한 Radical

소거활성 측정

- DPPH free radical 소거활성 측정

Free radical은 생물학적 손상의 주요 요인으로 잘 알려져 있는데, DPPH는 천연 항산화제의 free radical 소거활성을 평가하는데 일반적으로 사용된다. 따라서 마늘 발효액의 DPPH free radical 소거 능력을 측정한 결과를 그림 1-11에 나타내었다.

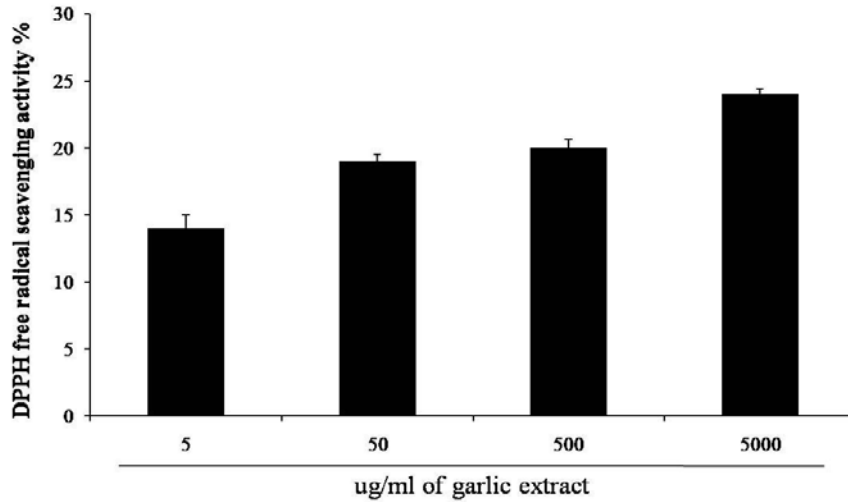


그림 1-11. DPPH free radical 소거활성

전반적으로 마늘 발효액의 농도가 증가할수록 free radical 소거활성도 점점 증가하였으며 추출물의 농도가 5 mg/mL일 때 25% 정도의 소거율을 보였다. 마늘 자체에 우수한 항산화 능력을 갖고 있다고 알려졌으나 free radical 소거활성에서는 낮은 활성을 나타냈다.

- Superoxide radical 소거활성 측정

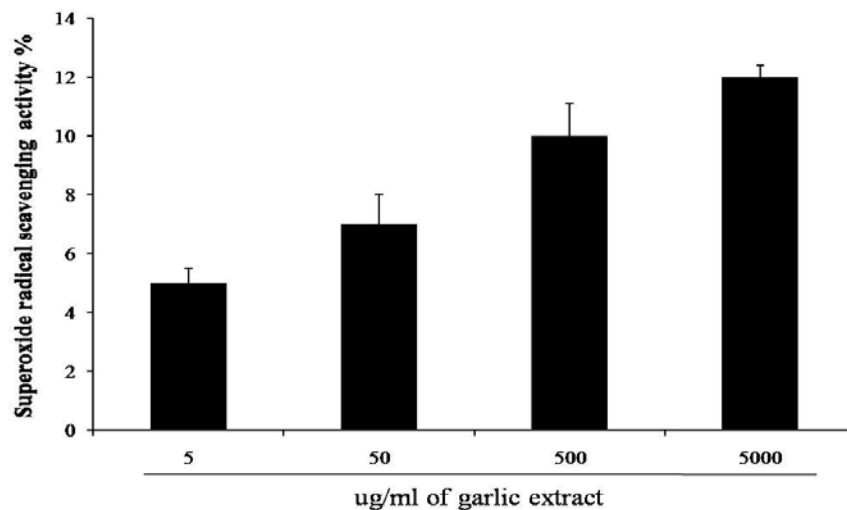


그림 1-12. Superoxide radical 소거활성

Superoxide radical 소거 활성에서도 농도 의존적으로 소거 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 5 mg/mL일 때 12%의 낮은 소거 활성을 나타내었다.

- Hydroxyl radical 소거활성 측정

Fenton 반응에 의해서 생성된 hydroxyl radical 소거활성을 측정한 결과는 그림 1-13에 나타나었으며, 5 mg/mL에서 처리하였을 때 35% 정도의 낮은 소거활성을 보여주었지만 다른 라디칼 소거활성에 비해서 그나마 소거활성을 갖고 있는 것을 확인할 수 있었다.

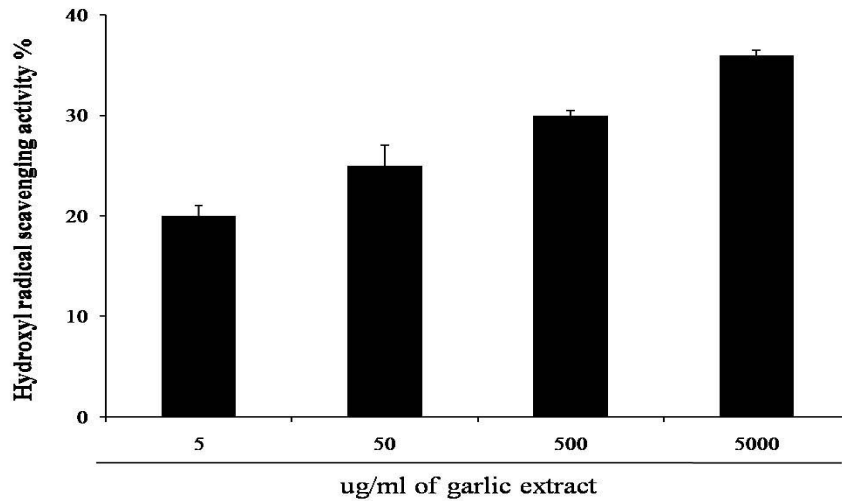


그림 1-13. Hydroxyl radical 소거활성

(나) 세포내에서 마늘 발효액의 항산화 활성 측정

- 마늘 발효액의 세포 독성 측정

마늘 발효액이 세포내에서 항산화 활성을 가지고 있는지 실험하기 전에 미리 마늘 발효액이 세포내에 독성을 가지고 있는지 확인하기 위해 세포 독성 실험을 실시하였다. 결과는 그림 1-14에 나타내었다.

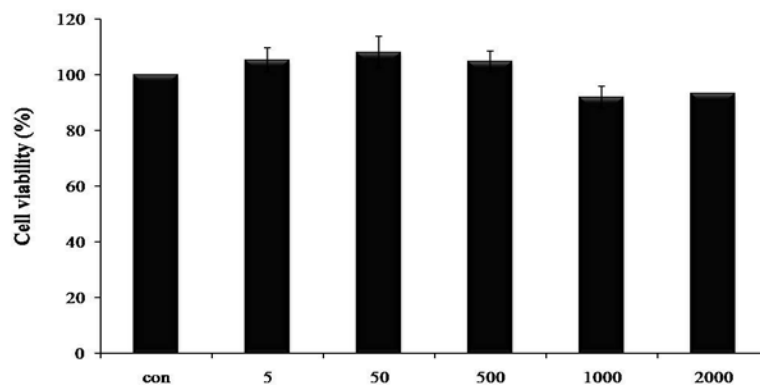


그림 1-14. 마늘 발효액의 세포내 독성 실험

마늘 발효액의 세포내 독성 실험 결과를 살펴보면 마늘 발효액을 처리하지 않은 control보

다도 마늘 발효액을 처리한 0.005, 0.05, 5 mg/mL에서 세포가 더 증식하는 것을 볼 수 있었고 1, 2 mg/mL에서는 control보다 세포 증식이 떨어지지만 90% 이상의 세포증식을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

- 세포보호효과 측정

MTT assay는 살아있는 세포내 미토콘드리아내에 보라색의 formazan을 형성시켜 spectrophotometer를 이용해 살아있는 세포를 측정하였다. 마늘 발효액의 H₂O₂에 대한 세포보호효과를 측정한 결과, 마늘 발효액을 처리했을 때 농도 의존적으로 세포 생존율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 마늘 발효액을 처리하지 않은 무첨가군은 세포 생존율이 52%인 것에 반해 0.1 mg/ml에서는 117%의 높은 세포 생존율을 보였다.

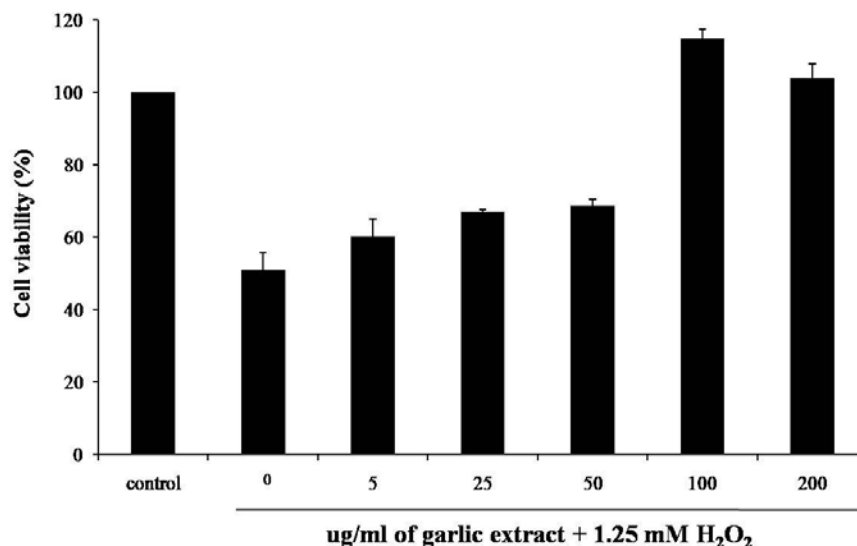


그림 1-15. H₂O₂에 대한 세포 보호효과

- Intracellular ROS 소거 활성 측정

DCFH-DA assay는 세포내 ROS에 의해 DCFH가 DCF의 형광물질로 전환되는 것을 이용하여 세포내 Total ROS 량을 측정하였다. 마늘 발효액은 DPPH, superoxide, hydroxyl radical에 대한 소거 활성이 5 mg/ml 일때, 각각 23%, 12%, 35%로 직접적인 라디칼 소거 활성은 떨어졌으나, Carmia Borek은 마늘 추출물이 세포내 Glutathione peroxidase을 강화시켜 ROS에 대한 보호효과를 가진다하였다. 이에 따라 마늘 발효액을 Vero cell에 처리하였을 때 얼마나 Total ROS을 소거하는지 소거 활성능을 측정하였다. Total ROS에 대한 소거 활성능은 농도 의존적으로 증가함을 확인할 수 있었고 0.2 mg/ml에서 40%의 활성을 보였다. 또한 ROS 형광량도 마늘 발

효액 처리 농도가 올라갈수록 ROS 형광량이 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

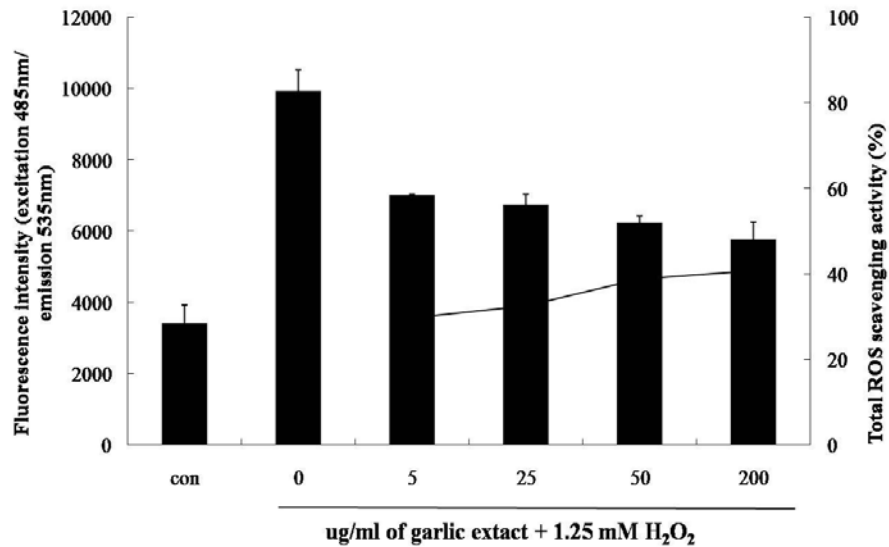


그림 1-16. 세포내 Total ROS 소거 활성 효과

- DNA 손상 보호효과 측정

체내에서 free radical과 항산화 물질 간의 균형이 깨져 free radical 생성이 antioxidant 보다 많아지면 신체는 산화적 stress를 받게 되고, 그 결과 DNA와 같은 민감한 biomolecule이 손상되어 결국은 퇴행성 만성 질환으로 발전될 가능성이 높아진다. 특히, ROS가 과도하게 존재할 때 이들은 더욱 파괴적이고 비가역적인 DNA 손상을 일으키며, 이것이 원인이 되어 mutagenesis를 초래하고 나아가 암으로까지 발전할 수 있게 된다. 따라서 이 실험에서는 세포내 핵의 손상된 DNA양을 측정하기 위하여 Comet assay를 이용하였다. 마늘 발효액을 처리하지 않은 무첨가군에 비하여 마늘 발효액을 처리한 0.25, 0.5 mg/ml에서 70%, 80%의 높은 세포내 DNA 손상 저해 효과를 나타냈다. 그리고 그림 1-17에서 보면 마늘 발효액의 처리농도가 높아질수록 DNA Tail이 마늘 발효액을 처리하지 않은 무첨가군에 비해 짧아지는 것을 확인하였다.

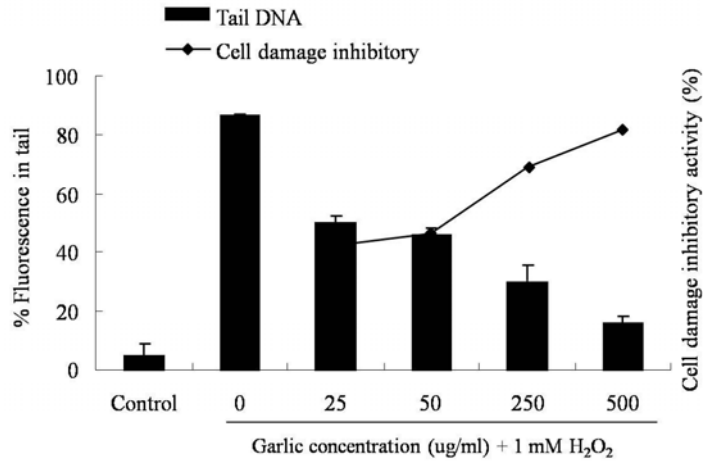


그림 1-17. DNA 손상 보호효과

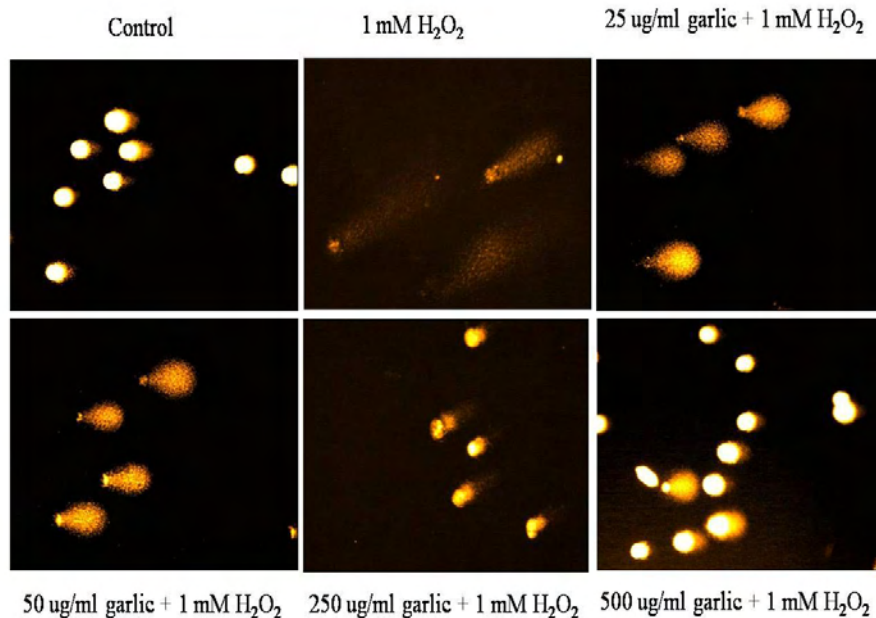


그림 1-18. DNA 손상 보호효과

(3) 마늘 발효액의 넙치 비특이적 면역활성 측정

(가) *in vitro*상 넙치에서 마늘 발효액의 면역활성 측정

① 넙치 면역세포의 Superoxide anion 생성능력

어류에 있어 비특이적 면역반응이 얼마나 증대 되었는지를 가장 잘 반영할 수 있는 필수적인 척도로서 식세포활성 (phagocyte activity) 측정이 많이 사용된다. Professional phagocytes (granulocytes, monocytes, macrophage)의 호흡급증은 $\cdot O_2^-$ 의 감소를 의미한다. 혈장과 phagosomal membranes에 있는 NADPH oxidase에 의해 O_2 가 $\cdot O_2^-$ 로 변한다. 이후에 superoxide

는 자연유발적인 효소로 hydrogen peroxide (H_2O_2), hypochlorous acid ($HOCl$), hydroxyl radical ($\cdot OH$), singlet oxygen (1O_2) 등의 다른 종류의 ROS로 전환된다. 포유동물에서는 숙주 방어에 있어 respiratory burst의 중요한 점은 NA DPH oxidase의 결점에 의해 만성육아종을 앓는 사람은 NADPH 산화 효소가 없기 때문에 respiratory burst를 일으킬 수 없는 것으로 알려져 있다.

어류 식세포도 respiratory burst 반응을 할 수 있는 NADPH 산화효소의 활동결과가 포유동물과 유사하게 나타났으며, respiratory burst는 어류 건강상태를 확인할 수 있는 bioindicator 중 하나이다. 현재까지 식세포의 활성을 측정하기 위해 사용되어진 방법은 식균율의 변화, 화학주성 변화 및 호흡폭발의 변화 등이다. Respiratory burst이란 식세포가 식작용 동안 혹은 다른 물질들에 의해서 자극받았을 때 산소 소비량이 증가함과 동시에 O_2^- , OH^- , H_2O_2 와 같은 산소라디칼 (reactive oxygen intermediates, ROIs)을 다량으로 방출하는 현상을 말하며, 이러한 ROIs는 병원체를 죽이는데 매우 중요한 역할을 한다. 이러한 호흡폭발을 측정하는 방법으로 NBT법이 많이 사용되어져 왔으며, 최근 chemiluminescence (CL)법이 일부 사용되고 있다. NBT assay는 Nitro blue tetrazolium chloride와 ROIs의 반응에 의해 보라색의 Formazan 을 형성하는 원리로 어류내 면역세포의 식작용 활성능을 측정할 수 있다. PMA는 면역세포를 자극시켜 ROIs생성을 증가 시켜, 면역세포의 식작용을 증가시킨다. 그림 22의 실험 결과를 보면 마늘 발효액의 처리 농도가 증가할수록 면역세포의 식작용이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 즉 처음 NBT 시약이 갖고 있던 흡광도 값이 호중구의 활성산소와 결합하면서 반응하게 되어 면역세포의 식작용이 증가할수록 점점 흡광도 값은 낮아지게 된다. 마늘 발효액 처리 농도가 0.5 mg/mL일 때 가장 높은 식작용 활성을 나타내었다.

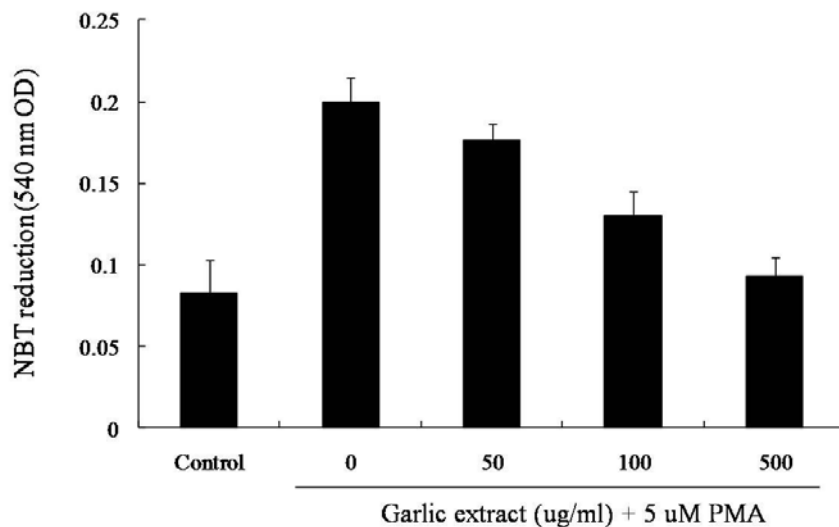


그림 1-19. 면역세포 식작용 활성

② 납치 혈청에서의 라이소자임 활성화

아가미, 피부, 소화계, 생식 이노관은 박테리아, 곰팡이, 바이러스 및 원생미생물에 대한 어류 감염의 초기 단계에서 방어를 한다. 이러한 표면들은 물리화학적 장벽이면서 항미생물 물질을 함유하고 배출한다. 점액과 배상세포에 있는 점액은 세 가지 방어 기작을 가지는 것으로 알려져 있다. 첫째, 점액은 미생물의 껍질을 지속적으로 벗겨 미생물의 생성을 저지한다. 둘째, 미생물이 생성되었을 시 점액은 교차하여 장벽을 생성한다. 마지막으로 피부의 점액 및 다른 표면점막에는 항미생물 성질을 지니는 다양한 체액 요인이 함유되어 있다. 이런 것의 예로 lysozyme, complement, lectins, proteolytic enzyme 등이 있으며 최근에는 어류 점막에서 여러 가지 추가적인 방어 기작이 알려지고 있다. 아가미에 의한 NO 생성과 피부 단백질의 항미생물 펩타이드가 그 예이다. 라이소자임은 세균벽의 N-acetylmuramic acid와 N-acetylglucosamine 사이의 β -1,4 결합을 분해하여 세균을 사멸시키는 효소로 그람 양성균의 세포벽에는 직접작용하고, 그람음성균에 대해서는 항체와 보체의 작용을 증가시켜준 후에 펩티도 글리칸 층을 분해시킨다.

실험 결과 혈청의 lysozyme 활성화 있어서 마늘 발효액을 처리 했을 시 농도 의존적으로 lysozyme 활성이 점점 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 즉 마늘 발효액을 급이하게 되면 납치의 면역체계가 증가하여 잠재적인 질병에 대항할 수 있는 능력이 다소 증가 할 것으로 기대할 수 있을 것이다.

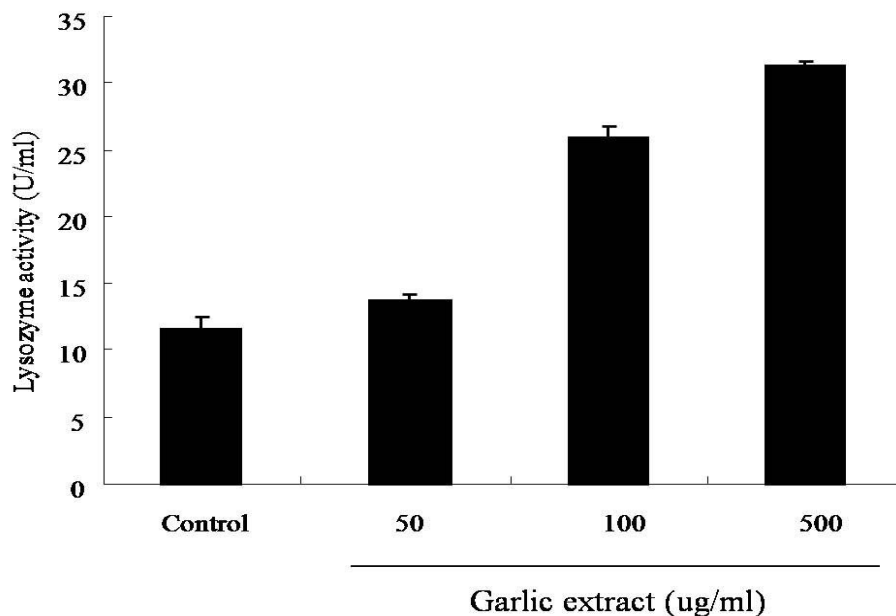


그림 1-20. 라이소자임 활성화

(나) *in vivo*상 마늘 발효액을 급이한 납치의 면역 활성화 변화 및 어육 및 혈청내 알리신 분석

① 혈액성분 분석

어류의 혈액성분은 영양, 건강상태를 알아보는 데 사용이 가능하며 사료의 필수영양소 결핍이나 그 어종이 처해있는 서식환경 및 성장에 따라서도 변화된다고 보고되어졌다. 이 실험에서는 간지수 지표인 AST, ALT와 인, 헤모글로빈을 측정하였다. AST (GOT)는 주로 심장과 간에 존재하는 효소로 신장, 골격근육에도 소량 존재하고 이 조직들이 각종 질병에 의해 파괴되면 혈액으로 유출되어 증가하게 된다. 즉 간세포 내의 미토콘드리아에 존재하는 효소가 깨져서 분해되는 정도를 나타내는데 수치가 높으면 그만큼 간이 비정상적으로 손상되고 있다는 것을 뜻하게 된다. ALT (GPT) 또한 AST와 유사 기능을 하며 실험결과는 마늘 발효액을 첨가한 사료를 공급한 급이군과 대조구간에 유의성 차이가 없는 것을 확인할 수 있었다. 인은 체내의 에너지 대사에 꼭 필요한 물질이며 신체 구성 성분으로서 중요한 물질로 이 실험에서는 대조구와 급이군간에 유의성 차이가 없었다. 또한 헤모글로빈도 대조군과 급이군간 유의성 차이가 없는 것을 확인할 수 있었다.

표 1-11. 혈액분석표

	GOT (mg/dL)	GPT (mg/dL)	Phosphorus (mg/dL)	Hb (mg/dL)
Non-treatment	17.67±2.00	7.00±0.50	9.28±1.00	0.25±0.11
Garlic-treatment	20.67±1.11	7.25±0.45	11.43±0.99	0.31±0.01

② 넙치 면역세포의 Superoxide anion 생성능력 (병에 대한 방어능력 측정)

넙치 면역세포의 Superoxide anion 생성능력 실험의 결과는 그림 1-21, 22에 나타냈다.

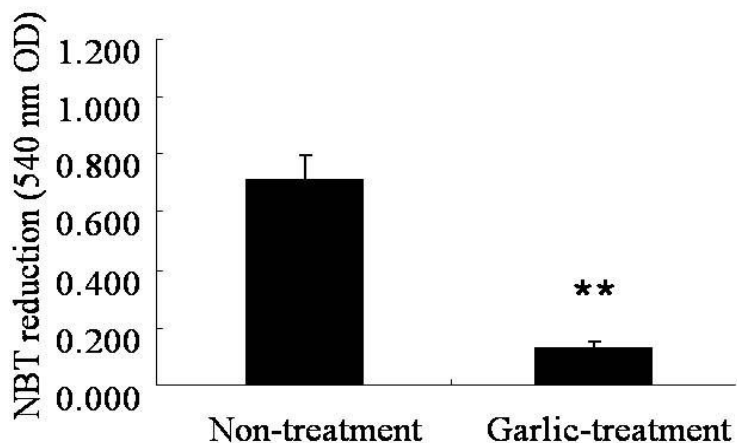


그림 1-21. 혈액 내 면역세포에서의 방어 활성

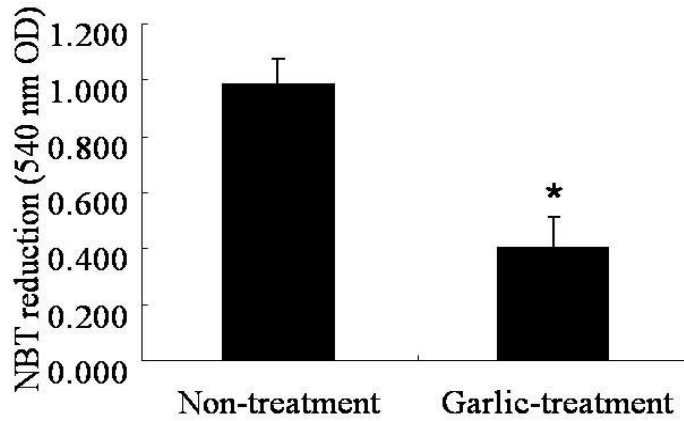


그림 1-22. 대식세포에서의 방어 활성화

마늘 발효액을 첨가한 사료를 공급한 급이군의 NBT 활성이 대조구에 비해 4배 이상의 높은 면역세포 식작용을 갖는 것을 확인 할 수 있었다($P < 0.01$). 또한 넙치에서 분리한 신장의 대식 세포에서도 대조구에 비해 마늘 발효액을 첨가한 사료 급이군이 2배 이상의 높은 식작용 활성을 나타냈다($P < 0.05$). Respiratory burst 활성화에 가장 많이 관여하는 호중구는 조혈기관에서 형성되어 혈액순환계를 따라 이동함으로써 주된 역할을 수행한다. 호중구는 식작용이 가장 왕성하며 세균이 침입 시 pathogen과 싸우게 된다. 따라서 이번 실험 결과를 통해 마늘 발효액을 첨가한 사료를 공급한 급이군들이 대조군에 비해 식균작용을 더 잘 일으킬 수 있어 외부물질에 대한 잠재적 저항성이 높을 것으로 사료되어진다.

③ 넙치 혈청에서의 라이소자임 활성화

마늘 발효액 사료 공급 급이군과 대조구의 넙치 혈청에서의 라이소자임 활성을 비교해 본 결과 사료 공급 급이군이 대조구보다 높은 라이소자임 활성을 갖는 것을 확인 할 수 있었다. 결과는 그림 1-23에 나타냈다.

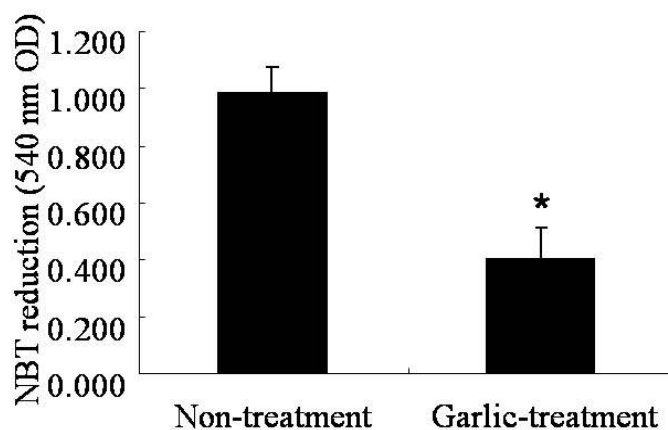


그림 1-23. 라이소자임 활성화

(4) 마늘 발효액에 존재하는 알리신 함량 측정을 위한 HPLC, LC/MS 분석

- 마늘 발효액에 존재하는 알리신 분석

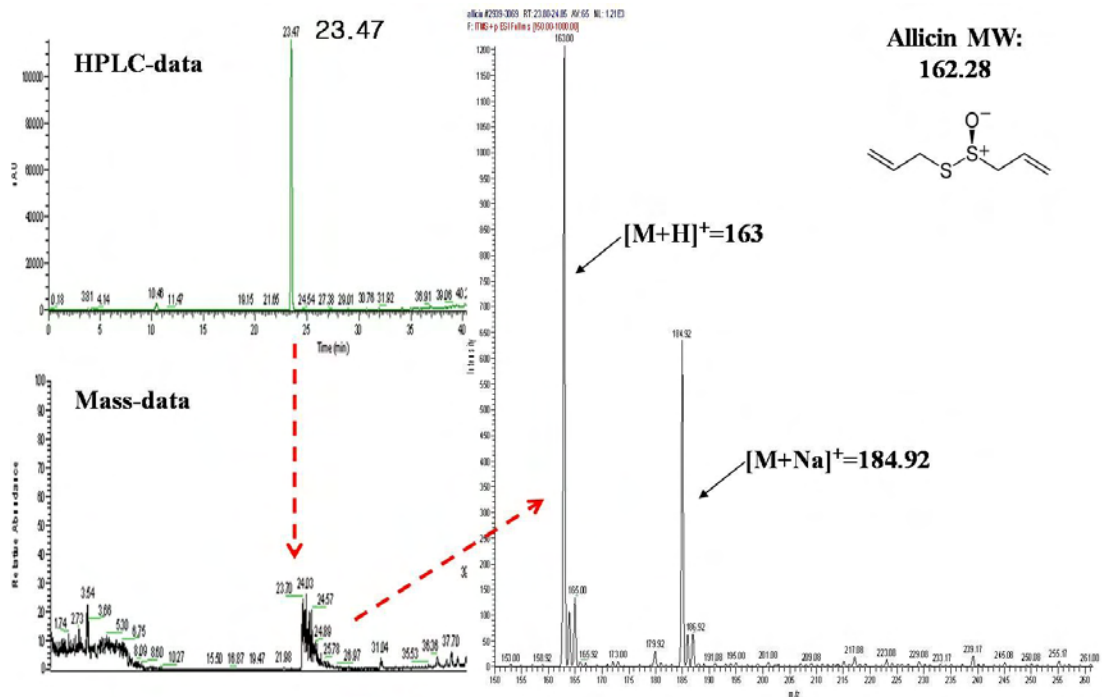


그림 1-24. Allicin standard 분석

마늘 발효액에 존재하는 알리신 및 마늘 발효액 첨가 사료를 먹인 넙치내 알리신이 존재하는지를 알아보기 위해 HPLC로 분석하였다. 이에 앞서 먼저 알리신 표준물질로 HPLC를 통해 알리신 패턴 및 분자량을 알아보았다. 알리신 표준물질 분석 결과는 그림 1-24에 나타났다. 알리신 표준물질의 경우 23.47분에 알리신 peak가 검출이 되었으며 알리신이 맞는지 LC-Mass로 분석하였더니 163 m/z의 알리신 (분자량 162.28 m/z) 물질이 검출되었다. 마늘 발효액에 존재하는 알리신 물질을 분석하기 위해 표준물질 분석 시와 동일한 조건으로 HPLC 분석을 결과 23.51분에 peak가 나타났고, LC-Mass로 163 m/z의 알리신 유사성분 물질을 확인할 수 있었다. 한편 마늘 발효액을 동결건조 한 후에 물과 메탄올로 추출하여 분석하였을 시에는 두 가지 조건 모두에서 알리신 물질을 확인할 수 없었다. 이를 통해 알리신 물질이 온도에 민감할 것이라 생각되어진다.

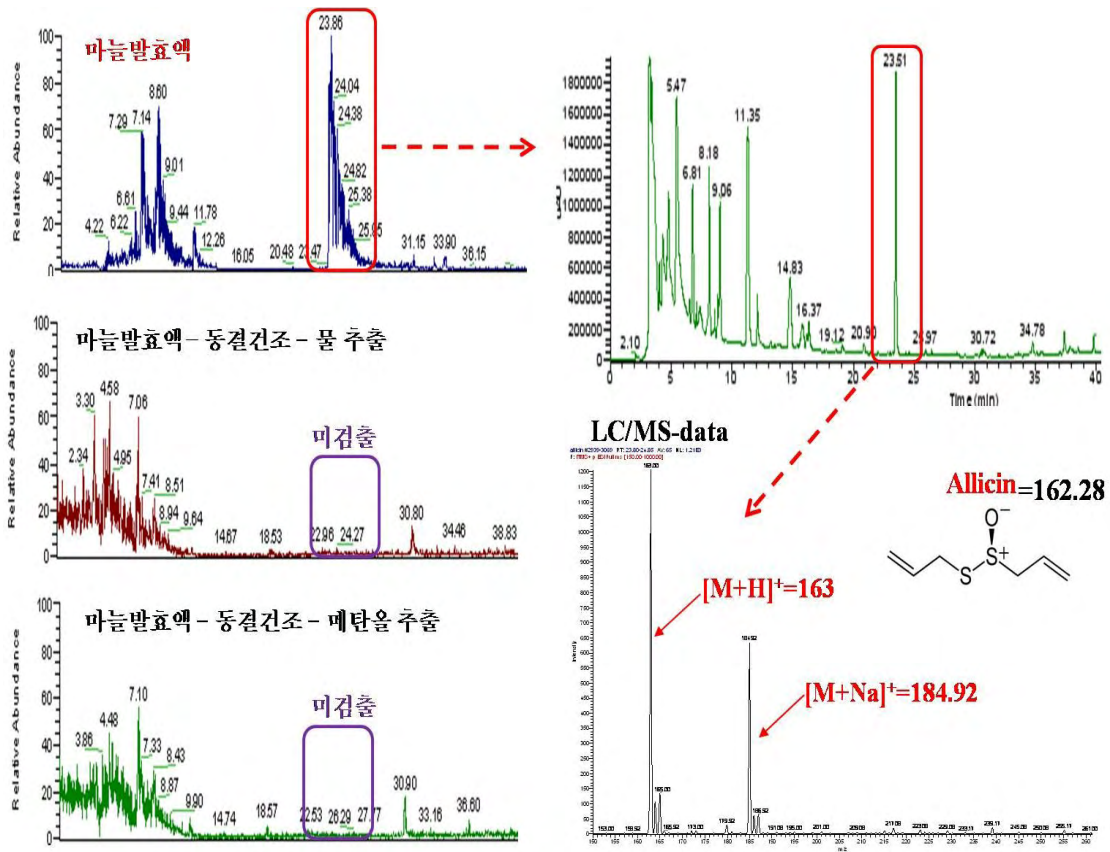


그림 1-25. 마늘 발효액에 존재하는 알리신 분석

마늘 발효액 첨가 사료를 먹인 넙치 내 알리신이 존재하는지를 알아보기 위해 HPLC로 동일한 조건에서 분석하였더니 대조구에서는 알리신 유사성분 물질을 확인할 수 없었으나 사료를 먹인 급이군에서는 22.40분에서 알리신 유사성분 peak를 확인할 수 있었다.

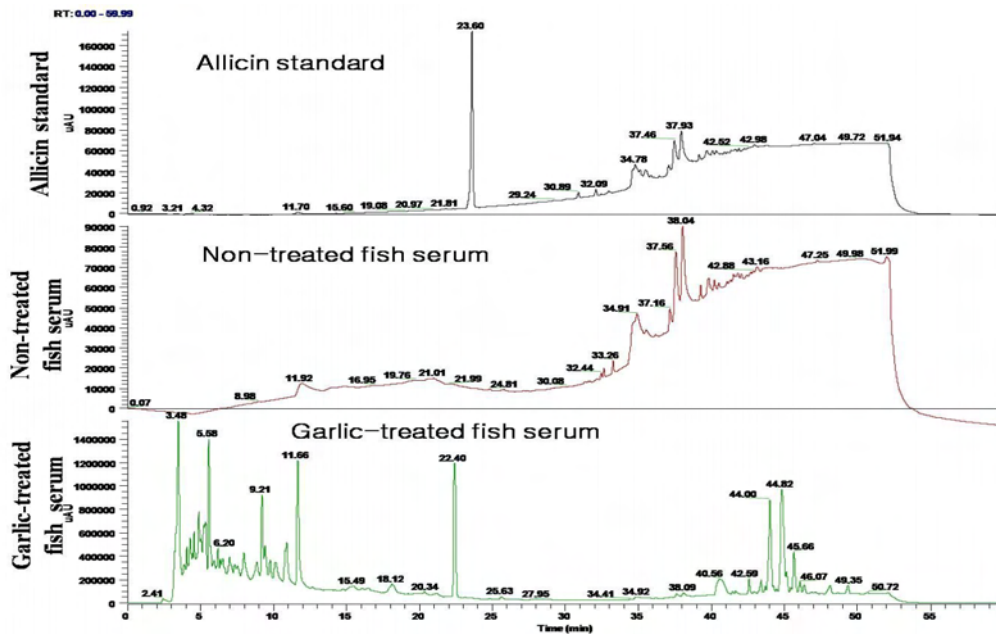


그림 1-26. 마늘 발효액 첨가 사료를 급이한 넙치 혈청 내 알리신 분석

(5) Pilot scale 넙치 양식

(가) 성장률 (증체율)

제주대학교 소재 해양과환경연구소에서 일체의 항생제나 포르말린과 같은 화학약제를 사용하지 않고 오로지 마늘 발효액을 첨가한 EP 사료로 넙치 치어를 7개월 동안 사육하면서 매달 전체 무게를 측정하여 성장률을 구하였다. 결과는 그림 1-27에 나타냈다.

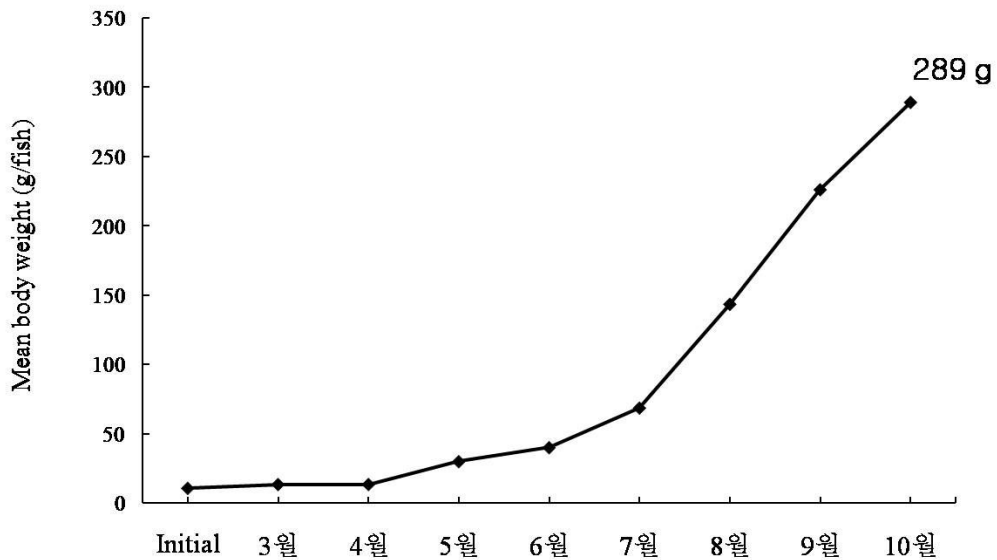


그림 1-27. 마늘 발효액 첨가 사료를 급이한 넙치의 성장률

처음 초기의 평균 어체중은 10 g이었으나 7개월 동안 마늘 발효액을 첨가한 사료를 급이하였더니 7개월이 끝나는 시점인 10월달에는 평균 어체중이 289 g으로 성장률이 다소 떨어지는 결과를 나타냈다. 이는 마늘 발효액 첨가 사료를 급이 시 넙치의 콜레스테롤, 중성지방을 낮춰주는 작용을 하기 때문에 상대적으로 성장률이 낮아지는 결과를 초래한 것으로 사료된다.

(나) 폐사율

제주대학교 소재 해양과환경연구소에서 마늘 발효액을 첨가한 EP 사료로 넙치 치어를 7개월 동안 사육하면서 넙치의 월별 폐사율과 누적 폐사율을 측정하였다. 즉, 넙치 질병 유발 세균으로 인한 질병에 마늘 발효액 첨가 사료를 먹은 넙치들의 잠재적인 질병 대항 능력을 간접적으로 측정하였다. 결과는 그림 1-28, 29에 나타냈다.

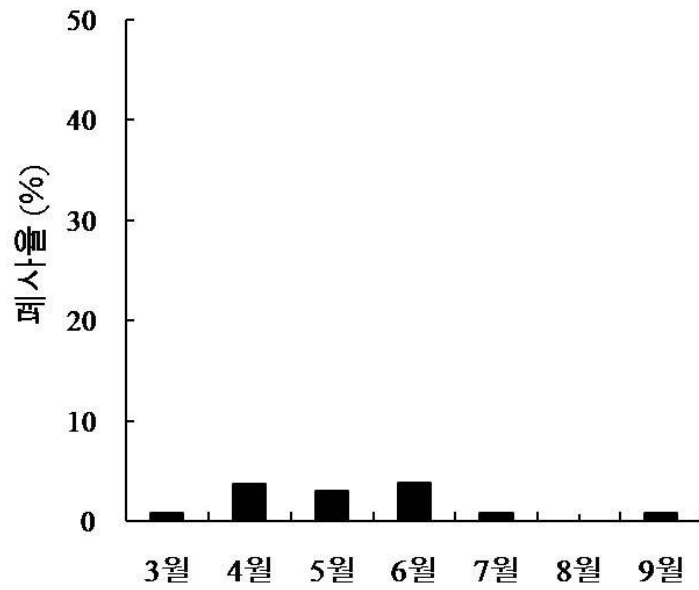


그림 1-28. 월별 폐사율

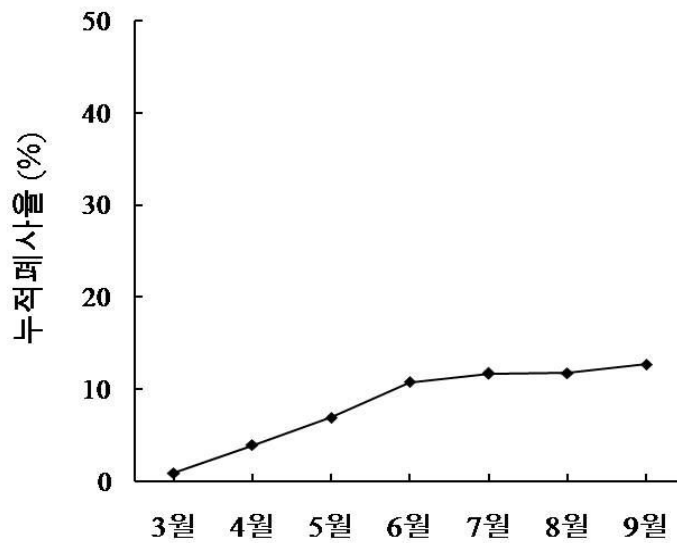


그림 1-29. 누적 폐사율

위의 결과들을 살펴보면 4월, 5월, 6월에 폐사율이 3월, 7월, 8월, 9월에 비해 상대적으로 많아진 것을 확인할 수 있었지만, 사육실험의 초반기에는 자연폐사와 마늘발효액 첨가사료에 대한 적응시기로 보아야 할 것으로 판단되며, 전체적으로 폐사율이 10%라고 하는 매우 낮은 폐사율을 보였다. 또한 누적 폐사율에서도 4월, 5월, 6월에 있었던 폐사율로 인해 증가하는

경향이 나타났으나 10% 내외의 낮은 폐사율을 보여, 마늘 발효액을 첨가한 사료를 넙치에 급여하였을 때 면역 증강 및 질병 대항 능력을 길러주는 것으로 생각되어진다. 이러한 결과는 항생제 사용없이 천연항생제로서 마늘발효액을 EP 사료에 첨가하여 급여할 경우 친환경 유기양식에 의한 무항생 넙치의 생산이 가능할 것으로 판단된다. 또한 (주)바이넥스에서 구입한 천연약육제를 병용함으로써 어병발생시 효과적으로 대처할 수 있었다.

(다) 어병 발생 시 처리 방법

제주대학교 해양과환경연구소에서 넙치사육실험 중 사육기간동안의 어병발생 및 폐사율과 이에 대한 어병치료법에 대하여 아래 표 12에 정리해 두었다.

표 1-12. 제주대학교 해양과환경연구소에서 넙치사육실험 중 사육기간동안의 어병발생 및 폐사율과 이에 대한 어병치료법

날 짜	생물 상태	약육법
2009-03-02	색깔이 검은색이 많이 제색으로 돌아옴.	
2009-03-03	색깔이 검은색이 많이 제색으로 돌아옴. 대체로 양호함.	
2009-03-04	5마리폐사. 원인(제주도 수산자원연구소 검사에서 판정): 활주세균증, 표피귀양-지느러미결손(4마리). 스킨카증-주둥이 부식 및 발적(1마리)	물15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-03-05	3마리폐사. 원인:스킨카증-주둥이 부식(3마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-06	3마리폐사. 원인:스킨카증-주둥이 부식(2마리) 활주세균증-표피귀양(1마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-07	5마리폐사. 원인:스킨카증-주둥이 부식(4마리) 활주세균증-표피귀양(1마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-09	7마리폐사. 원인:스킨카증-주둥이 부식(5마리) 활주세균증-표피귀양(2마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-10	4마리폐사. 원인:스킨카증-주둥이 부식(2마리) 활주세균증-표피귀양(2마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-11	2마리폐사. 원인:스킨카증-주둥이 부식(1마리) 활주세균증-표피귀양(1마리)	
2009-03-12	4마리 감염. 원인(제주도 수산자원연구소 검사): 트리코티나-지느러미 아가미부식(1마리). 활주세균증-표피귀양(3마리)	대책:아쿠아그린텍(주)사 장보고 처방 강구 (약용 할 것)
2009-03-13	매우 양호함 (폐사없음)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-15	트리코티나-지느러미 아가미부식(3마리). 활주세균증-표피귀양(3마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-16	6마리 감염. 트리코티나-지느러미 아가미에 부식 (3마리). 활주세균증-표피귀양(3마리)	대책:아쿠아그린텍(주)사 장의뢰. 처방(약육할것)
2009-03-17	2마리 감염. 트리코티나-지느러미 아가미에 부식 (1마리). 활주세균증-표피귀양(1마리)	

날 짜	생물 상태	약육법
2009-03-18	트리코티나-지느러미 아가미부식(1마리). 활주세균증-표피궤양(1마리)	
2009-03-19	5마리 감염. 트리코티나-아가미부식(2마리). 스쿠티카증-주둥이부식(3마리)	
2009-03-20	1마리 감염. 스쿠티카증-주둥이부식(1마리)	
2009-03-23	트리코티나-지느러미 아가미부식(10마리). 활주세균증-표피궤양(3마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-24	트리코티나-지느러미 아가미부식(5마리). 활주세균증-표피궤양(3마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-25	3마리 감염. 스쿠티카증-주둥이부식	
2009-03-26	트리코티나-아가미부식(1마리)	
2009-03-27	트리코티나-아가미부식(3마리). 활주세균증-표피궤양(2마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-03-30	폐사 없음. 먹이 활성 매우 좋음. 생물상태 양호	
2009-03-31	스쿠티카증-주둥이부식(4마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-04-01	스쿠티카증-주둥이부식(4마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-04-02	스쿠티카증-주둥이부식(1마리)	
2009-04-03	스쿠티카증-주둥이부식(4마리)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-04-06	넙치폐사 200마리. 원인규명(창조바이오텍, 검사 자:송추강) 검정소견(1~4마리, 11~12cm). 표피-지 느러미궤양 부분(활주세균). 일반부위-트리코티나 충. 아가미~활주. 아가미 찌꺼기 (환수)	약육시간 -09:00~11:00분까지 (2시간)
2009-04-07	생물상태 양호	
2009-04-08	넙치 30마리 폐사. 원인규명: 표피-지느러미궤양부분 (활주세균)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-04-09	넙치 3마리 폐사. 원인규명(창조 바이오텍 검사 자:송추강). 표피-지느러미궤양부분 (활주세균)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-04-10	넙치폐사 10마리. 원인규명(창조바이오텍): 표피-지느러미궤양부분 (활주세균)	물 15톤 넥스칸 300g 2시 간 약육 (약육법)
2009-04-11	생물상태 양호	
2009-04-13	활주세균-주둥이부식(10마리). 표피-지느러미궤양부분 (12마리 활주세균)	
2009-04-14	표피 지느러미 궤양 보임	
2009-04-21	넙치폐사 40마리. 원인규명: 표피-지느러미 궤양 부분 (활주세균)	
2009-04-22	넙치폐사 26마리. 원인규명: 표피-지느러미 궤양 부분 (활주세균)	

날 짜	생물 상태	약육법
2009-04-23	넙치폐사 20마리. 원인규명: 표피-지느러미 궤양 부분 (활주세균)	물 15톤 넥스칸 300g 2 시간 약육 (약육법)
2009-04-24	원인규명: 표피-지느러미 궤양 부분 (활주세균)	물 15톤 넥스칸 300g 2 시간 약육 (약육법)
2009-04-27	넙치폐사 10마리. 표피-지느러미 궤양 주둥이부 식 (활주세균). 생물상태는 양호	
2009-05-04	넙치폐사 20마리	약육시간 -12:30~2:30분까지 (2시간)
2009-05-06	넙치폐사 23마리	약육시간 -12:30~2:30분까지 (2시간)
2009-05-07	흙사병 (6마리 폐사)	
2009-05-08	흙사병 (7마리 폐사)	
2009-05-11	넙치폐사 10마리 (활주세균)	약육시간 -12:30~2:30분까지 (2시간)
2009-05-12	넙치폐사 10마리 (활주세균)	약육시간 -08:30~10:30분까지 (2시간)
2009-05-13	넙치폐사 10마리 (활주세균). 생물상태는 양호함	1번 수조 약육시간 -08:10~10:10분까지 (2시간)
2009-05-14	넙치폐사 7마리 (활주세균). 생물상태는 양호함	1번 수조 약육시간 -09:10~11:10분까지 (2시간)
2009-05-25	넙치폐사 60마리. 스킨카증-주둥이부식. 활주세균증-표피궤양. 먹이 활성화 좋음	
2009-05-26	넙치폐사 15마리. 스킨카증-주둥이부식. 활주세균증-표피궤양. 먹이 활성화 좋음. 아쿠아 사장님 회수 (넙치 10마리). 익티오보도증 판정 제주도 수산자원연구소 검사결과 (익티오보드증 판정)	
2009-05-27	넙치폐사 12마리. 익티오보도증. 스킨카증-주 둥이부식. 활주세균증-표피궤양. 먹이 활성화 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 환경개선제 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-05-28	넙치폐사 17마리. 익티오보도증. 스킨카증-주 둥이부식. 활주세균증-표피궤양. 먹이 활성화 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 환경개선제 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-05-29	넙치폐사 9마리. 익티오보도증. 스킨카증-주 둥이부식. 활주세균증-표피궤양. 먹이 활성화 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 환경개선제 300g 2시간 약육 (약육법)

날 짜	생물 상태	약육법
2009-06-01	넙치폐사 27마리. 익티오보도증. 스쿠티카증-주둥이부식. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	
2009-06-02	넙치폐사 12마리. 익티오보도증. 스쿠티카증-주둥이부식. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	
2009-06-03	넙치폐사 12마리. 익티오보도증. 스쿠티카증-주둥이부식. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	
2009-06-04	넙치폐사 7마리. 익티오보도증. 스쿠티카증-주둥이부식. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 환경개선제 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-06-05	넙치폐사 5마리. 익티오보도증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	
2009-06-08	넙치폐사 50마리. 익티오보도증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-06-09	넙치폐사 22마리. 익티오보도증. 스쿠티카증-주둥이부식. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-06-11	넙치폐사 5마리. 익티오보도증. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 유니피드 100g 비타민C 100g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-11	넙치폐사 15마리. 익티오보도증. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 유니피드 사료에 혼합하여 투여
2009-06-12	넙치폐사 3마리. 익티오보도증. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 유니피드 100g 비타민C 100g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-17	넙치폐사 10마리. 익티오보도증. 마름병-영양부족 스트레스. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 5kg 유니피드 100g 비타민C 100g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-18	넙치폐사 13마리. 익티오보도증. 마름병-영양부족 스트레스. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 5kg 유니피드 100g 비타민C 100g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-19	넙치폐사 11마리. 익티오보도증. 마름병-영양부족 스트레스. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 5kg 유니피드 100g 비타민C 100g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-22	넙치폐사 65마리. 익티오보도증. 마름병-영양부족 스트레스. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 5kg 유니피드 100g 비타민C 100g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-23	넙치폐사 15마리. 익티오보도증. 마름병-영양부족 스트레스. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 15kg 유니피드 300g 비타민C 300g 사료에 혼합하여 투여

날 자	생물 상태	약육법
2009-06-24	넙치폐사 17마리. 익티오보도증. 마름병-영양부족 스트레스. 스쿠티카증. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 15kg 유니피드 300g 비타민C 300g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-25	넙치폐사 9마리. 익티오보도증. 마름병-영양부족 스트레스. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 10kg 유니피드 200g 비타민C 200g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-26	넙치폐사 6마리. 익티오보도증. 마름병-영양부족 스트레스. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 10kg 유니피드 200g 비타민C 200g 사료에 혼합하여 투여
2009-06-29	넙치폐사 9마리. 활주세균증-표피괴양. 먹이 활성화 좋음	종합영양제 사료 15kg 유니피드 300g 비타민C 300g 사료에 혼합하여 투여
2009-07-01		종합영양제 및 비타민C 투여한 결과 넙치상태 가 아주 호전됨
2009-07-09	넙치폐사6마리. 연쇄구균증-외관적인 특징은 안 구백탁. 안구출혈. 체색흑화보임. 먹이활성 좋음	대책:사육환경관리
2009-07-10	넙치폐사 없음. 연쇄구균증-외관적인 특징은 안 구백탁. 안구출혈. 체색흑화 보임. 먹이 활성화 좋음	대책:사육환경관리
2009-07-13	넙치폐사 15마리. 연쇄구균증. 활주세균증-체포염증 및 지느러미 결손. 아가미부식. 먹이 활성화 좋음	대책:2번 수조 약육 물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육
2009-07-14	넙치폐사 7마리. 연쇄구균증. 활주세균증-체포염증 및 지느러미 결손. 아가미부식. 먹이 활성화 좋음	
2009-07-15	넙치폐사 8마리. 연쇄구균증. 활주세균증-체포염증 및 지느러미 결손. 아가미부식. 먹이 활성화 좋음	대책:2번 수조 약육 물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육
2009-07-16	넙치폐사 10마리. 연쇄구균증. 활주세균증. 스쿠티카증-체포염증 및 지느러미부식. 아가미부 식. 꼬리지느러미부식 및 출혈. 먹이활성 좋음	대책:2번 수조 약육 물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육
2009-07-17	넙치폐사 7마리. 연쇄구균증. 활주세균증. 스쿠티카증-체포염증 및 지느러미부식. 아가미부 식. 꼬리지느러미부식 및 출혈. 먹이활성 좋음	
2009-07-20	넙치폐사 17마리. 연쇄구균증. 활주세균증. 스쿠티카증-체포염증 및 지느러미부식. 아가미부 식. 꼬리지느러미부식 및 출혈. 먹이활성 좋음	

날 짜	생물 상태	약육법
2009-07-21	넙치폐사 3마리. 활주세균증-체포염증 및 지느러미부식. 먹이활성 좋음	
2009-07-22	넙치폐사 7마리. 활주세균증-체포염증 및 지느러미부식. 먹이활성 좋음	
2009-07-23	넙치폐사 5마리. 활주세균증-체포염증 및 지느러미부식. 먹이활성 좋음	
2009-07-24	넙치폐사 2마리. 활주세균증-체포염증 및 지느러미부식. 먹이활성 좋음	
2009-07-29		물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-07-30		물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-08-31	넙치폐사 2마리 (복수참). 먹이활성 좋음	
2009-09-01		물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-09-07	넙치폐사 11마리 (활주세균증). 원인:갑자기 수온 상승. 먹이활성 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-09-08	넙치폐사 5마리 (활주세균증). 원인:갑자기 수온 상승. 먹이활성 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-09-09	넙치폐사 없음. 활주세균증-원인:갑자기 수온상승. 먹이활성 좋음	
2009-09-10	넙치폐사 3마리. 활주세균증-원인:갑자기 수온상승. 먹이활성 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (2번수조)
2009-09-11	넙치폐사 2마리. 활주세균증-원인:갑자기 수온상승. 먹이활성 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (2번수조)
2009-09-21	넙치폐사 103마리. 활주세균증-원인:갑자기 수온상승. 먹이활성 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (1번수조)
2009-09-22	넙치폐사 10마리. 활주세균증-원인:갑자기 수온상승. 먹이활성 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (1번수조)
2009-09-23	넙치폐사 16마리. (활주세균증. 비브리오증). 활주세균증-원인:갑자기 수온상승. 먹이활성 좋음	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (1번수조)
2009-09-24	1번 수조 넙치폐사 10마리. (활주세균증. 비브리오증). 먹이 활성 좋음	
2009-09-25	1,2번 수조 넙치폐사 15마리. (활주세균증. 비브리오증).	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (약육법)
2009-09-28	1번 수조 넙치폐사 5마리 (활주세균증. 비브리오증).	물 15톤 넥스칸 300g 2시간 약육 (1,2번수조) 약육시간 -08:20~10:20분까지

날 짜	생물 상태	약육법
2009-09-30	넙치폐사 3마리. (활주세균증)	물 15톤 넥스칸 300g 2시간약육 (1, 2번수 조) 약육시간 -08:20~10:20분까지
2009-10-01		물 15톤 넥스칸 300g 2시간약육 (1, 2번수 조) 약육시간 -08:20~10:20분까지
2009-10-06	넙치폐사 2마리. (에드워드증) 주요 증상은 탈장 및 복부팽만	

2. 기능성 천연 항생제가 넙치의 생리학적 특성에 미치는 영향

가. 실험방법

(1) 마늘발효액 및 마늘 발효분말을 함유한 고효율 배합사료가 넙치에 미치는 영향

(가) 실험사료

① 실험 1 (저수온기 마늘분말)

총 4개의 실험사료는 45%의 조단백질과 17.1 MJ/kg의 에너지함량을 갖도록 동일하게 조성되었다 (표 2-1). 본 실험에 사용된 마늘분말은 공동연구기관인 제주대학교 해양과학대학 해양생물자원이용공학연구실로부터 지원받았으며, 일반성분 분석은 표 2-4에 나타내었다. 마늘 분말의 사료 내 첨가함량이 각각 0%, 0.5%, 1% 및 2% (G 0, G 0.5, G 1.0, G 2) 가 되도록 첨가하여 실험사료를 제조하였다. 실험사료 제조는 우선 모든 사료원을 파쇄기를 이용하여 분말형태로 일정하게 만들고, 각 사료원들을 사료조성표에 따라 정확히 무게를 잰 후, 잘 섞은 다음 사료원 총량의 20-30%에 해당하는 증류수를 첨가하여 사료혼합기(NVM-14-2P, Korea)로 혼합, 반죽시켰다. 혼합반죽물은 소형초파기 (SMC-12, Korea)를 이용하여 직경 5 mm 크기로 성형되었다. 성형된 실험사료는 -70℃ 동결냉동 건조기에서 건조시켜, 시브 (Sieve)를 이용하여 적당한 크기의 사료로 가공되었으며, 사료 공급 전까지 -20℃ 냉동고에 보관되었다.

② 실험 2 (적수온기 마늘분말)

총 4개의 실험사료는 45%의 조단백질과 17.1 MJ/kg의 에너지함량을 갖도록 동일하게 조성되었다 (표 2-2). 본 실험에 사용된 마늘분말은 실험 1과 동일하다. 마늘분말의 사료 내 첨가함량이 각각 0%, 0.5%, 1% 및 1.5% (G 0, G 0.5, G 1, G 1.5)가 되도록 첨가하여 실험사료를 제조하였다. 실험사료 제조는 실험 1과 동일한 절차로 진행되었다.

③ 실험 3 (적수온기 마늘액상)

실험 3은 적수온기에 사료 내 마늘액상의 첨가에 따른 효과를 알아보기 위하여 총 4개의 실험사료를 제작하였다 (표 2-3). 본 실험에 사용된 마늘액상과 키토산 코팅제는 공동연구기관인 제주대학교 해양과학대학 해양생물자원이용공학연구실로부터 지원받았으며, 액체형태의 마늘액상을 상업사료에 각각 0%, 0.25%, 0.5%, 및 1% (GF 0, GF 0.25, GF 0.5, GF 1)가 포함되도록 흡착시킨 후 키토산으로 코팅처리 하였다. 실험사료 제조는 우선 상업사료에 마늘액상을 증류수와 혼합한 후 EP사료에 뿌려 충분히 흡착시킨 후, 다시 키토산코팅제를 뿌려 흡착시켰다. 사료 공급 전까지 -20℃ 냉동고에 보관되었다.

표 2-1. 실험사료 조성표 (1000 g dry matter).

사료원	실험사료			
	G 0%	G 0.5%	G 1%	G 2%
어분	45.0	45.0	45.0	45.0
대두박	15.0	15.0	15.0	15.0
마늘분말	0.0	0.5	1.0	2.0
전분	5.0	4.5	4.0	3.0
밀가루	23.0	23.0	23.0	23.0
효모	2.0	2.0	2.0	2.0
미네랄 복합제 ¹	1.0	1.0	1.0	1.0
비타민 복합제 ²	1.0	1.0	1.0	1.0
오징어간 오일	8.0	8.0	8.0	8.0
일반성분 분석				
수분 (%)	16.6	17.9	20.7	21.9
단백질 (% DM)	45.1	45.5	45.3	45.8
지방 (% DM)	10.3	10.4	10.5	10.3
회분 (% DM)	12.4	12.5	12.3	12.5

1 MgSO₄·7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄·7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0.

2 L-ascorbic acid, 121.2; DL-tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobenzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

표 2-2. 실험사료 조성표 (1000 g dry matter).

사료원	실험사료			
	G 0%	G 0.5%	G 1%	G 1.5%
어분	45.0	45.0	45.0	45.0
대두박	15.0	15.0	15.0	15.0
마늘분말	0.0	0.5	1.0	1.5
전분	5.0	4.5	4.0	3.5
밀가루	23.0	23.0	23.0	23.0
효모	2.0	2.0	2.0	2.0
미네랄 복합제 ¹	1.0	1.0	1.0	1.0
비타민 복합제 ²	1.0	1.0	1.0	1.0
오징어간 오일	8.0	8.0	8.0	8.0
일반성분 분석				
수분 (%)	16.6	17.9	20.7	19.8
단백질 (% , DM)	45.1	45.5	45.3	45.4
지방 (% , DM)	10.3	10.4	10.5	10.4
회분 (% , DM)	12.4	12.5	12.3	12.4

1 MgSO₄.7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄.2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄.7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃. 6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄.H₂O, 2.0; CoCl₂.6H₂O, 1.0.

2 L-ascorbic acid, 121.2; DL- tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobezoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

표 2-3. 실험사료 조성표 (1000 g dry matter).

	상업사료 (EP)			
	G 0%	G 0.25%	G 0.5%	G 1%
마늘액상	0	0.25	0.5	1
증류수	0	119.75	119.5	119
키토산코팅제	0	50	50	50
일반성분 분석				
수분 (%)	8.7	25.8	26.3	26.4
단백질 (% , DM)	57.7	57.4	57.5	57.4
지방 (% , DM)	10.6	12.9	12.3	12.3
회분 (% , DM)	12.4	12.5	12.3	12.5

표 2-4. 마늘 분말의 일반성분 분석표

조성	함량
수분 (% , DM)	11.7
단백질 (% , DM)	23.2
지방 (% , DM)	6.3
탄수화물 (% , DM)	67.7
회분 (% , DM)	2.8

(나) 실험어 및 사육관리

① 실험 1 (저수온기 마늘분말)

실험에 사용된 넙치치어는 제주도 내 종묘 배양장에서 수송하여 제주대학교 소속 해양과 환경연구소로 운송되어, 약 4주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치 (초기평균무게: 23.4 g)는 총 12개의 110 L 원형 플라스틱 수조에 각 수조 당 30마리씩 무작위로 선택되어 배치되었다. 실험수조의 모습은 그림 2-1에서 보여주고 있다. 사료공급실험은 사료실험구당 3 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간 동안 평균 수온은 18℃에서 19℃ 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 2회 (8:00와 18:00시)에 나눠서 5주 동안 어체중의 2.2%로 사료공급을 실시하였다.

② 실험 2 (적수온기 마늘분말)

실험에 사용된 넙치치어는 제주도 내 종묘 배양장에서 수송하여 제주대학교 소속 해양과 환경연구소로 운송되어, 약 8주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치 (초기평균무게: 65.0 g)는 총 8개의 110L 원형 플라스틱 수조에 각 수조 당 30마리씩 무작위로 선택되어 배치되었다. 실험수조의 모습은 그림1에서 보여주고 있다. 사료공급실험은 사료실험구당 2 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 공급되도록 조절되

었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간 동안 평균 수온은 20℃에서 26℃ 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 2회 (8:00와 18:00 시)에 나뉘서 10주 동안 어체중의 1.5~1.25%로 제한급이를 실시하였다.

③ 실험 3 (적수온기 마늘액상)

실험어 및 사육관리는 실험2와 동일하나, 그 중 사료 공급량만 어체중의 1.5~1%로 제한급이를 실시하였다. 실험수조의 모습은 그림 2-1에서 보여주고 있다.



그림 2-1. 사육실험 수조

(다) 샘플수집 및 분석

① 샘플수집

- 실험 1 (저수온기 마늘분말)

사육실험 종료시 증체율 (weight gain), 사료전환효율 (feed conversion ratio), 단백질 전환 효율 (protein efficiency ratio), 일간성장율 (specific growth rate) 등의 성장결과를 위하여 전체 어류의 무게를 측정하였다. 무게 측정 후 각 수조마다 6마리의 어류를 어류를 무작위로 선별하여 2-phenoxyethanol 용액(100ppm)으로 마취시킨 후, 주사기를 사

용하여 미부동맥에서 채혈을 한 후 헤모글로빈, 헤마토크릿 및 NBT (nitroblue tetrazolium) activity를 측정하였다. 분석 후, 남은 혈액은 MPO (myeloperoxidase) 및 lysozyme activity 등 기타 면역활성 분석과 중성지방, 콜레스테롤 및 HDL-cholesterol 분석을 위해 원심분리기(Micro 17TR, Hanil Science, Korea)를 이용하여 5,000 rpm으로 10분간 원심분리 하여 혈장을 분리하였다. 혈액을 채취하고 남은 어류는 일반성분 분석을 위해 -5°C 저온 냉동고에 보관 하였다.

- 실험 2 (적수온기 마늘분말)

실험 1과 동일하다.

- 실험 3 (적수온기 마늘액상)

실험 1과 동일하다.

② 실험사료분석

실험사료원 및 실험사료의 일반성분 분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열 건조법(125°C, 3h), 조회분은 직접회화법(550°C, 12h) 으로 측정 하였고, 단백질은 자동 조 단백질분석기 (Kejltec System 2300, Sweden) 로 분석하였으며, 지방은 Folch et al. (1959)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치를 (Soxhlet Heater System C-SH6, Korea) 이용하여 분석 하였다.

- 혈액 분석

Hematocrit은 헤파린이 처리된 모세혈관채혈튜브 (Micro-Hematocrit Capillary Tubes)에 혈액을 채운 다음 고무판 (Wax plates)에 세운 후, 혈액진단원심분리기 (Micro Hematocrit VS-12000, Vision Scientific, Korea)에서 10분간 원심분리 하여 값을 측정하였다. 헤모글로빈, 중성지방 (triglycerol), 콜레스테롤 (cholesterol) 및 HDL-cholesterol 분석은 각각의 시약과 반응 시킨 후 혈액생화학분석기 (Express plus system, Bayer, USA)를 이용하여 분석하였다. 모든 분석은 end point 방법으로 분석되었다.

- 대식세포 활성분석(Nitroblue tetrazolium activity)

혈액내의 대식세포 활성은 Stasiak 와 Bauman (1996) 의 분석방법을 토대로 수행하였다. 전혈 50 uL를 96-well U-bottom plate에서 넣은 후 37°C에서 1시간동안 반응시켰다. 추출된 상층액은 PBS를 사용하여 씻어내었다. 0.2% NBT 용액을 50 uL를 첨가한 후에 상온에서 1시간 반응시킨 후, 모든 cell을 100% 메탄올을 100 uL 사용하여 고정시켰다. 그 후 50

uL의 30%메탄올로 2~3회 씻어내어 37℃에서 약 30분가량 건조시켰다. 60 uL의 2 N potassium hydroxide와 70 uL의 DMSO (dimethyl sulphoxide)를 각각의 cell에 첨가한 후 분광광도계 (Multiskan EX, Thermo, Filand)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- Myeloperoxidase 분석

혈청 내 myeloperoxidase 분석은 Kumari and Sahoo (2005)의 방법을 기초로 분석하였다. 먼저 HBSS (Hans balance saline solution)을 96-well plates에 80 uL씩 분주한 다음 혈청 20 uL를 넣는다. 그 후 20 mM TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine hydrochloride)용액과 5 mM H₂O₂용액을 넣는다. 2분간 반응시킨 후 4 M H₂SO₄용액을 35 uL 첨가한다. 그 후 microplate reader 450 nm에서 흡광도를 측정한다.

- Lysozyme 분석

혈청 내 lysozyme 분석을 위해 *Micrococcus lysodeikticus* cell을 이용하여 분석하였다. 먼저, 0.1 M sodium phosphate acid buffer (pH 6.4)에 동결 건조된 *M. lysodeikticus* (Sigma)를 첨가하여 0.75 mg/mL 농도의 현탁액을 만든다. 200 uL의 현탁액을 96-well plates에 분주하고, 어류에서 분리한 혈청 20 uL를 넣는다. 접종 후 즉시, 570 nm 흡광도에서 최초 흡광도 값을 측정하고, 상온에서 30분 동안 배양 후, 마지막 흡광도 값을 측정한다. 분석 값은 혈청 1 mL당 lysozyme unit으로 표현되며, 1 unit은 분당 0.001 흡광도의 감소를 일으키는 총량으로 정의된다.

- 통계학적 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized design)을 실시하였고, 성장 및 분석결과는 SPSS (Version 11.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석되었다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple test (P<0.05)로 비교되었다. 데이터는 평균값 ± 표준편차(mean ± std)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석되었다.

(2) 마늘 발효액의 기능성 천연 항생제로서의 가능성

(가) 실험사료 제조

넙치 사육시 천연항생제와 면역증강 효과를 높이기 위하여 사용한 소재로는 아쿠아그린텍(주)에서 제공한 발효 마늘 액상으로서, 이것은 아쿠아그린텍(주)에서 마늘을 착즙하여 얻어진 마늘액을 자체 개발한 발효균에 의하여 일정시간 발효하여 제조한 발효 마늘액 (이하 마늘

액상)을 사용하였다.

① 마늘 액상 첨가함량에 따른 흡착사료 제조

사료 내 마늘액상의 첨가에 따른 효과를 알아보기 위하여 총 4개의 실험사료를 제작하였다 (표 2-5). 본 실험에 사용된 마늘액상은 공동연구기관인 제주대학교 해양과학대학 해양생물자원이용공학연구실로부터 지원 받았다. 1차년도에는 마늘 분말의 사료 내 첨가함량이 각각 0%, 0.5%, 1% 및 2% (G-0, G-0.5, G-1.0, G-2)가 되도록 첨가하여 양어사료영양학연구실에서 직접 제작하여 실험사료로 이용하였으나, 본 2년차에서는 실제 양식장에서의 사료공급 상황을 simulation하기 위해 보다 큰 Pilot 규모의 수조를 사용하여 사료공급실험을 수행하였다. 본 2년차 연구에서는 마늘의 분말형태가 아닌 액상형태를 주 첨가원으로 사용하여 국내 넙치양식장에서 실질적으로 쉽게 사용할 수 있는 방안을 제시하고자 흡착하여 실험사료로 사용하였다. 마늘액상을 첨가하지 않은 사료(Con)는 일반 증류수에만 흡착을 하였으며 그 외 코팅제는 사용하지 않았다. 실험사료 마늘액상 흡착방법은 우선 상업사료에 마늘액상원액을 증류수와 혼합한 후 EP 사료(Biomar)에 첨지시켜 상온에서 30분 동안 충분히 흡착할 수 있도록 준비하였다. 사료는 공급 전까지 -20℃ 냉동고에 보관되었다 (그림 2-2).

② 사료 분석

실험사료의 일반성분 분석은 AOAC(1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125℃, 3h), 조회분은 직접회화법(550℃, 12h)으로 측정 하였고, 단백질은 자동 조단백 분석기(Kejltec System 2300, Sweden)로 분석하였으며, 지방은 Folch et al. (1959)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet Heater System C-SH6, Korea)를 이용하여 분석 하였다 (그림 2-3).

표 2-5. 사료 조성표 (%)

	실험사료			
	G-0	G-0.5	G-1.0	G-2.0
일반성분 분석				
수분 (%)	18.7	19.1	18.9	19.8
단백질 (% DM)	54.1	53.8	53.0	54.1
지방 (% DM)	8.1	7.9	8.0	8.1
회분 (% DM)	8.0	7.9	7.7	8.1

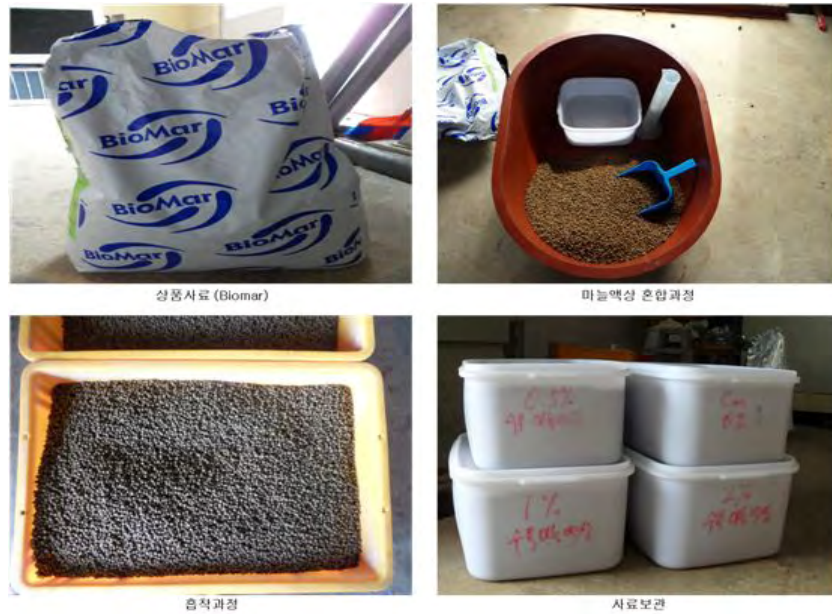


그림 2-2. 사료제작 과정



그림 2-3. 분석기기

(나) 실험어 및 사육관리

실험에 사용된 넙치치어는 제주도 내 종묘 배양장(해연수산)에서 제주대학교 소속 해양과환경연구소로 운송되어, 약 4주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치(초기평균무게: 6.6 g)는 총 8개의 중규모(지름 3m) (그림 2-4) 수조에 각 수조 당 1000마리씩 무작위 선택되어 배치되었다. 사료공급실험은 사료실험구당 2 반복구로 하였으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 각 수조당 유수량이 동일하게 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 전 실험기간 동안 평균 수온은 19℃에서 27℃ 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 3회(08:30, 12:30과 17:30)에 나뉘서 반복공급을 실시하였다. 성장률은 매 4주마다 측정되었고, 측정 24시간 전에 실험어류의 스트레스를 줄이기 위해 모든 실험어류를 절식시켰다. 사료공급실험은 총 16주(4개월)로 수행되었다.



그림 2-4. 사육실험 수조

(다) 성장실험

16주간의 사료공급 실험 후, 어류의 최종 평균무게를 측정하여 증체율(Weight gain), 일간 성장률(Specific growth rate), 사료전환효율(Feed efficiency ratio), 단백질전환효율(Protein efficiency ratio) 및 생존율(Survival)을 계산하였다.

(라) 혈액학적 분석

마늘 액상 0%, 0.5%, 1% 및 2% 농도로 흡착시킨 사료를 급여한 넙치를 각각 4주, 8주, 12주째 샘플링을 실시하여 자료를 분석하였다.

혈액학적 성분 분석은 넙치의 미부혈관에서 3 mm 주사기를 이용하여 혈액을 추출한 뒤 Micro-hematocrit 방법(Brown, 1980)에 의해 헤마토크리트치(Hematocrit, pcv)를 측정하고, 자동 혈액 분석 장치(ch 100 plus, Daewang metitecq)로 간지수인 AST(Aspartate amino transferase), ALT(Alanine amino transferase), 중성지방(Triglyceride), 글루코스(Glucose), 총 단백질(Total-protein)을 분석 하였다.

(마) 항산화 효소 측정

항산화효소는 간 부위를 적출하여 SOD 및 CAT를 각각 분석하였다. 간 부위를 적출 후 약 0.1 g을 0.9% NaCl에 3회 세척한 다음 KCl(1.17%)을 함유한 100 mM phosphate buffer (pH 7.4)를 첨가하여 균질화 하였고, 균질화된 시료는 원심분리(1,000 rpm, 15 min, 4°C)에 의해 지방 및 침전물을 제거하였다. 균질액은 다시 원심분리(13,000 rpm, 20 min, 4°C)한 후 상등액을 항산화 효소 측정용 시료로 사용하였다. 단백질 함량은 Lowry et al. (1951)의 방법에

따라 표준 단백질로서 BSA(bovine serum albumin)를 사용하여 Spectro photometer를 이용 750 nm에서 측정하였다. SOD는 pyrogallol의 자동 산화율이 억제되는 양을 측정하는 Marklund and Marklund(1974)의 방법으로 측정하였으며, 50 mM phosphate buffer(pH 8.24) 1.3 ml에 간장 균질액 25 ul을 넣은 후 45 ul의 3 mM progallol 용액을 첨가하여 Spectrophotometer를 이용하여 325 nm의 파장에서 측정하였고, 효소활성의 1 단위는 반응액 중의 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는 효소의 양으로 정하였다. CAT활성도 측정은 H₂O₂를 기질로 사용하여 Spectrophotometer에 의해 240 nm파장에서 H₂O₂가 환원되어 감소하는 흡광도로서 효소 활성도를 측정하는 Nelson and Kiesow(1972)의 방법에 의하여 측정하였으며, 효소 활성도의 단위는 1분간 1 mg의 단백질이 반응하여 환원시킨 H₂O₂를 n mol로 나타내었다.

(바) 라이소자임(Lysozyme)활성 분석

라이소자임 활성은 혈청과 점액을 채취하여 각각 분석을 실시하였다. 혈청 내 라이소자임 활성은 Parry(1965)의 방법에 따라 Turbimetric assay로 조사하였다. *Micrococcus lysodeikticus* (0.1 mg/ml PBS, pH 6.8) 현탁액 150 ul와 혈청 15 ul를 96 well plate에 혼합하여 25°C 배양기에서 5분 동안 반응 시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lysozyme 활성은 흡광도 값이 0.001/ml 감소한 값을 1 unit으로 표시하였다.

한편, 체표 점액의 라이소자임 활성은 Takahashi et al.(1986)의 방법에 따라 *Micrococcus lysodeikticus*(Sig-ma, USA)균 현탁액에 대한 흡광도의 감소량을 측정함으로써 평가하였다. 시험용 균액은 *M. lysodeikticus*를 0.005 M PBS (pH 7.4)에 현탁시켜 530 nm에서 흡광도가 0.6이 되게 조정하여 준비하였다. 측정용 시료 15 ul에 균 현탁액 150 ul를 첨가하여 25°C 배양기에서 20분간 반응 시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lysozyme 활성은 흡광도 값이 0.001/ml 감소한 값을 1 unit으로 표시하였다.

(사) 넙치점액성분의 형상비교

① 페트리디쉬법에 의한 항균성 측정

정량화한 점액에서의 항균활성은 Charland 등(1995)의 방법을 참고하여 bacteria의 응집과 성장억제 시험을 실시하였다. 각 실험군에서 표피의 점액질을 수집하여 어류의 질병을 일으키는 균주를 대상으로 실시하였다. 각 균주는 -80°C에 보관된 bacteria를 각 3 set 씩 tryptic soy broth에서 25°C 에서 16시간 배양하였다. bacteria growth inhibitory activity는 well diffusion assay 로 실시하였다. TSA plate 에 16h 동안 배양된 균 0.1 ml를 접종하고 멸균된 glass rod (spreader)로 고르게 퍼서 도말하였으며, CME(15 µg의 protein) 와 멸균 TBS, 증류수를 지름 4-5 mm가 되도록 agar를 제거한 구멍에 20 µl씩 접종하여 25°C 에서 16-25h 배양

후 성장억제를 확인하였다.

② 흡광도법에 의한 항균성 분석

위에서와 같은 방법으로 수집한 시료에 대하여 해양질병 유발 세균에 대한 항균성을 보다 자세하게 분석하기 위하여 흡광도를 이용하여 실시하였다. 항균활성 측정법에서 사용한 해양 세균은 *Vibrio anguil larum*, *Edwardsiella tarda* 및 *Streptococcus iniae*이며 BHIB 액체 배지에 각각 1×10^3 CFU 비율로 현탁하였다. 96 Plate well 에 균 현탁액 150 uL 과 점액 15 ul 넣어 25°C 배양기에서 5분간 반응시켰다. *Vibrio anguil larum* 495 nm, *Edwardsiella tarda* 430 nm 및 *Streptococcus iniae* 570 nm에서 각각 흡광도를 측정하였다.

(아) 통계학적 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized design)을 실시하였고, 성장 및 분석결과는 SPSS(Version 11.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석되었다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple test (P 0.05)로 비교되었다. 데이터는 평균값 \pm 표준편차(mean \pm std)로 나타내었다. 백분을 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석되었다.

나. 실험결과

(1) 마늘발효액 및 마늘 발효분말을 함유한 고효율 배합사료가 넙치에 미치는 영향

(가) 실험 1 (저수온기 마늘분말)

본 실험은 저수온기에 마늘분말의 단계별 첨가가 양식넙치를 대상으로 인공합성항생제를 대체할 수 있는지를 알아보기 위해 성장, 면역반응 및 혈액성상에 미치는 영향을 조사하였다. 5 주간의 성장실험 종료 후, 증체율, 일간성장률, 사료전환효율, 단백질전환효율 및 생존율에서는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다 (표 2-6). 하지만 사료섭취율에서는 마늘분말의 첨가함량이 증가함에 따라 감소하다가 가장 높은 2% 첨가구에서는 대조구보다 유의적으로 낮은 사료섭취율을 보였다 (표 2-6). 하지만 1% 첨가함량까지는 대조구와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈액분석에서 헤마토크릿은 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높았으며, 헤모글로빈은 경향적으로 모든 마늘 첨가구에서 높은 함량을 보였으나, 유의적인 차이를 보이지 않았다 (그림 2-5). 혈장 내 중성지방은 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구와 비교하여 낮은 함량을 보였으며, 0.5% 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 낮은 함량을 보였다 (그림 2-7). 하지만 콜레스테롤과 HDL-cholesterol 함량은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다 (그림 2-7). 면역분석에서 MPO activity는 모든 실험구에서

유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 하지만 NBT activity는 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였다 (그림 2-6). 라이소자임 활성 또한 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 0.5%와 1% 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였다 (그림 2-6). 따라서 사료 내 마늘의 첨가는 양식넙치의 비특이적 면역반응을 높일 수 있을 것으로 판단된다.

이상의 결과를 종합해 볼때, 저수온기에 마늘분말의 첨가는 양식넙치의 건강 및 비특이적 면역반응을 증가시키는 반면, 사료섭취율 및 성장에는 농도가 증가함에 따라 부정적 영향을 끼칠 수 있을 것으로 판단된다. 성장과 면역반응 등 모든 결과를 종합적으로 볼 때, 저수온기에 사료 내 마늘분말의 적정첨가 함량은 0.5~1%로 사료되어 진다.

표 2-6. 저수온기 마늘분말을 먹은 넙치의 성장 결과

Diets	G 0%	G 0.5%	G 1%	G 2%
Initial mean body weight (g)	23.5±0.05	23.5±0.06	23.4±0.04	23.5±0.05
Final mean body weight (g)	33.6±1.24	31.5±1.58	31.4±1.30	31.9±1.06
Weight gain (%) ¹	43.4±5.22	34.1±6.83	34.5±5.36	35.8±4.40
FI (g/fish) ²	17.5±0.62 ^b	16.7±0.92 ^{ab}	16.4±0.59 ^{ab}	16.0±0.51 ^a
Specific growth rate (%) ³	1.29±0.13	1.04±0.18	1.06±0.14	1.09±0.12
Feed conversion ratio ⁴	1.70±0.15	2.12±0.35	2.06±0.27	1.93±0.19
Protein efficiency ratio ⁵	1.30±0.11	1.09±0.16	1.11±0.14	1.19±0.12
Survival (%)	75.6±6.94	76.67±3.33	78.89±1.92	78.89±5.09

1 WG (%) = 100 x (final mean body weight - initial mean body weight)/initial mean body weight

2 FI (g/g BW/day) = dry feed consumed (g)/(g) BW

3 SGR (%) = [(loge final body weight - loge initial body weight)/days] x 100

4 FCR = dry feed fed/wet weight gain

5 PER = wet weight gain/ total protein given

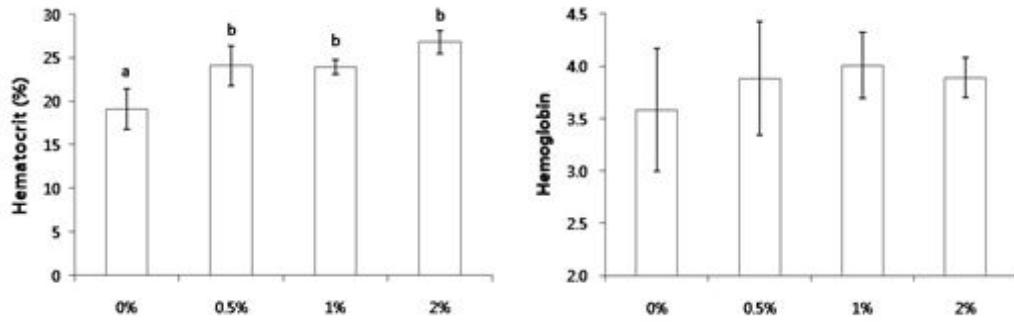


그림 2-5. 저수온기 마늘분말을 섭취한 어류의 혈액에서 헤모글로빈과 헤마토크릿의 수치 결과

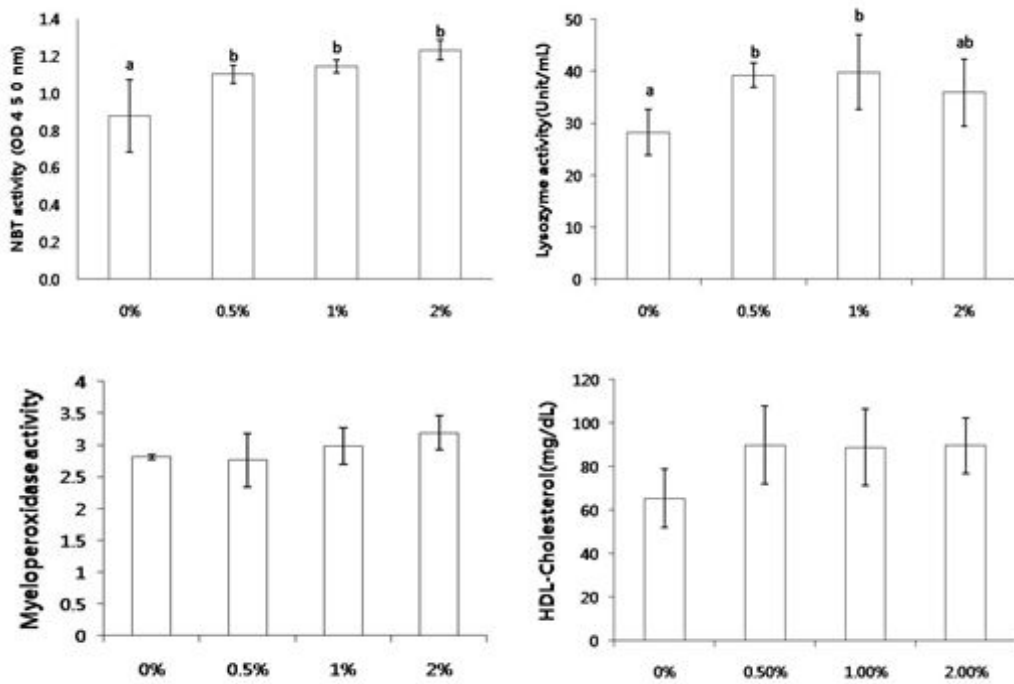


그림 2-6. 저수온기 발효 마늘분말을 섭취한 어류의 혈액에서 호중구활성, 라이소자임활성, myeloperoxidase 활성 및 HDL-cholesterol의 분석 결과

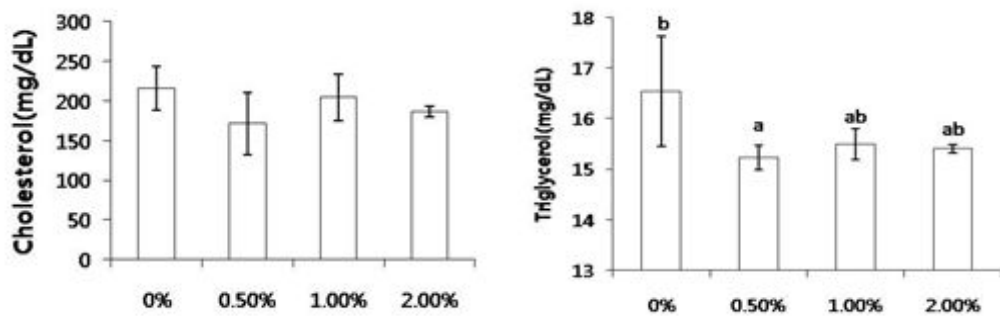


그림 2-7. 저수온기 발효 마늘분말을 섭취한 어류의 혈액에서 콜레스테롤과 중성지방의 분석 결과

(나) 실험 2 (적수온기 마늘 분말)

본 실험은 저수온기에 마늘분말의 단계별 첨가가 양식넙치를 대상으로 인공합성항생제를 대체할 수 있는지를 알아보기 위해 성장, 면역반응 및 혈액성상에 미치는 영향을 조사하였다. 5주간의 성장실험 종료 후, 증체율, 일간성장률, 사료전환효율, 단백질전환효율 및 생존율에서는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 하지만 사료섭취율에서는 마늘분말의 첨가함량이 증가함에 따라 감소하다가 가장 높은 2% 첨가구에서는 대조구보다 유의적으로 낮은 사료섭취율을 보였다 (표 2-7). 하지만 1% 첨가함량까지는 대조구와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 전어체의 일반성분 분석은 마늘분말 첨가함량이 가장 높은 1.5% 첨가구에서 수분의 함량이 다른 실험구 보다 유의적으로 높았다(표 2-8). 혈액분석에서 헤마토크릿은 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높았으며, 헤모글로빈은 경향적으로 모든 마늘 첨가구에서 높은 함량을 보였으나, 유의적인 차이를 보이지 않았다 (그림 2-8). 혈장 내 중성지방은 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구와 비교하여 낮은 함량을 보였으며, 0.5% 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 낮은 함량을 보였다 (그림 2-9). 하지만 콜레스테롤과 HDL-cholesterol 함량은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다 (그림 2-9). 면역분석에서 NBT activity는 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였다. 라이소자임 활성 또한 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 0.5%와 1%첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였다. 하지만 MPO activity는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다 (그림 2-10). 그 밖의 생존율에서는 1% 와 1.5% 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 생존율을 보였다. 이 실험을 진행중에 자연적으로 질병이 발병하였는데, 대조구와 가장 낮은 첨가구인 0.5%에서는 거의 50%가 폐사를 보인 반면, 고농도 첨가구인 1%와 1.5% 첨가구에서는 98%의 생존율을 보였다. 이것은 사료 내 마늘분말의 첨가로 인한 결과로 판단되어 진다.

이상의 결과를 종합해 볼때, 적수온기에 마늘분말의 첨가는 저수온기와 마찬가지로 양식넙치의 건강 및 비특이적 면역반응을 증가시키는 반면, 사료섭취율 및 성장에는 부정적 영향을 끼칠 수 있을 것으로 판단된다. 성장과 면역반응 등 모든 결과를 종합적으로 볼 때, 적수온기에 사료 내 마늘분말의 적정첨가 함량은 1~1.5%로 사료되어 진다.

표 2-7. 적수온기 마늘분말을 섭취한 어류의 성장결과

Diets	G 0%	G 0.5%	G 1%	G 1.5%
Initial mean body weight (g)	64.8±0.35	65.1±0.80	64.7±0.24	65.3±0.42
Final mean body weight (g)	110.8±5.89	106.4±17.17	103.1±1.46	106.4±5.12
Weight gain (%) ¹	71.0±10.02	63.7±28.41	59.4±2.84	62.9±6.78
FI (g/fish) ²	65.7±1.38 ^b	60.5±1.38 ^a	61.0±0.02 ^a	66.7±2.20 ^b
Specific growth rate (%) ³	0.89±0.10	0.81±0.29	0.78±0.03	0.81±0.07
Feed conversion ratio ⁴	1.44±0.17	1.61±0.67	1.59±0.07	1.63±0.13
Protein efficiency ratio ⁵	1.59±0.18	1.55±0.64	1.43±0.06	1.40±0.11
Survival (%)	46.67±28.28 ^a	46.67±0.00	96.67 ^b ±0.00	98.33±2.36 ^b

1 WG (%) = 100 x (final mean body weight - initial mean body weight)/initial mean body weight

2 FI (g/g BW/day) = dry feed consumed (g)/(g) BW

3 SGR (%) = [(loge final body weight - loge initial body weight)/days] x 100

4 FCR = dry feed fed/wet weight gain

5 PER = wet weight gain/ total protein given

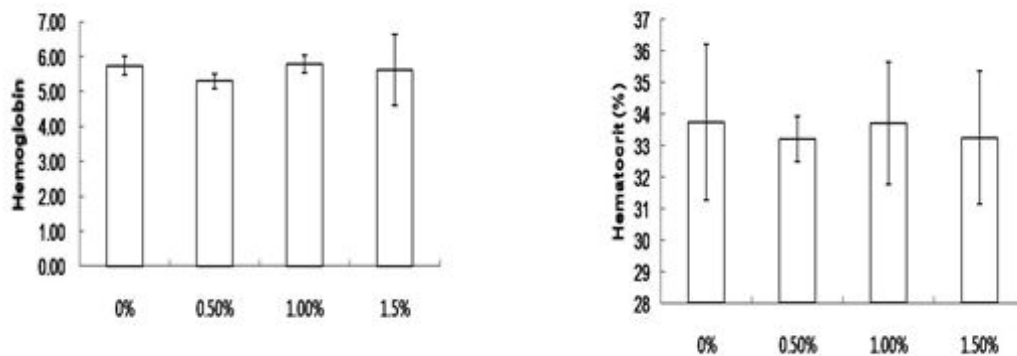


그림 2-8. 적수온기 마늘분말을 섭취한 어류의 혈액에서 헤모글로빈과 헤마토크릿의 수치 결과

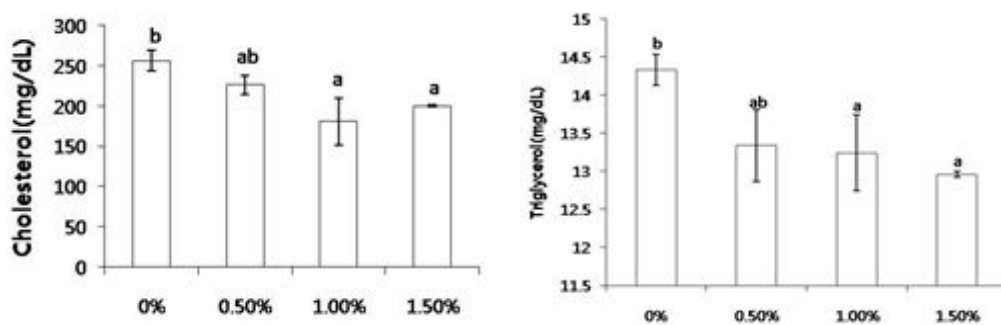


그림 2-9. 적수온기 발효 마늘분말을 섭취한 어류의 혈액에서 콜레스테롤과 중성지방의 분석 결과

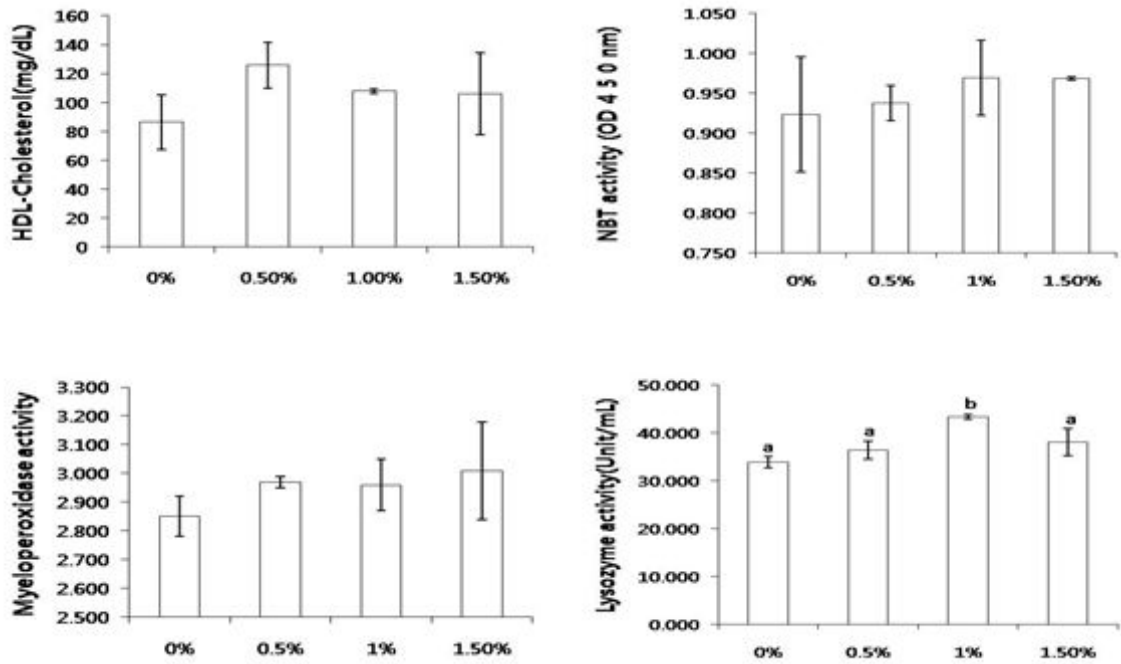


그림 2-10. 적수온기 발효 마늘분말을 섭취한 어류의 혈액에서 호중구활성, 라이소자임활성, myeloperoxidase 활성 및 HDL-cholesterol의 분석 결과

표 2-8. 전어체의 일반성분 분석표

사료	G 0%	G 0.5%	G 1%	G 1.5%
수분(%)	73.4±0.57 ^a	72.0±0.61 ^a	73.4±0.28 ^a	74.7±0.04 ^b
단백질(DM%)	70.6±2.98	67.2±3.93	69.3±1.63	69.6±3.77
지방(DM%)	10.7±0.93	11.6±1.95	10.9±2.75	10.8±3.63
회분(DM%)	14.4±1.16	15.1±1.07	13.1±1.50	16.4±1.00

(다) 실험 3 (적수온기 마늘액상)

본 실험은 저수온기에 마늘분말의 단계별 첨가가 양식넙치를 대상으로 인공합성항생제를 대체할 수 있는지를 알아보기 위해 성장, 면역반응 및 혈액성상에 미치는 영향을 조사하였다. 5주간의 성장실험 종료 후, 증체율, 일간성장률, 사료전환효율, 단백질전환효율 및 생존율에서는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 하지만 사료섭취율에서는 마늘분말의 첨가함량이 증가함에 따라 증가하다가 가장 높은 2% 첨가구에서는 대조구보다 유의적으로 낮은 사료섭취율을 보였다 (표 2-9). 하지만 1% 첨가함량까지는 대조구와 유의

적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 마늘분말과 액상을 혼합첨가하여 사료섭취율 부분을 보완하면 문제가 해결될 것으로 판단된다. 전어체의 일반성분 분석은 마늘액상 0.25% 첨가구에서 수분함량이 대조구보다 유의적으로 높았다. 단백질, 회분, 지방에서는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다 (표 2-10). 혈액분석에서 헤마토크릿은 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높았으며, 헤모글로빈은 경향적으로 모든 마늘 첨가구에서 높은 함량을 보였으나, 유의적인 차이를 보이지 않았다 (그림 2-11). 혈장 내 중성지방은 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구와 비교하여 낮은 함량을 보였으며, 0.5% 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 낮은 함량을 보였다. 하지만 콜레스테롤과 HDL-cholesterol 함량은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다 (그림 2-12). 면역분석에서 NBT activity는 모든 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였다. 라이소자임 활성 또한 마늘분말 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 0.5%와 1% 첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였다. 하지만 MPO activity는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다 (그림 2-13).

이상의 결과를 종합해 볼때, 적수온기에 마늘액상의 첨가는 양식넙치의 건강 및 비특이적 면역반응과 사료섭취율을 증가시키는 반면, 사료효율과 단백질 전환효율은 다소 감소시키는 경향을 볼 수 있었다. 성장과 면역반응 등 모든 결과를 종합적으로 볼 때, 적수온기에 사료 내 마늘액상의 적정첨가 함량은 약 1%로 사료되어진다.

실험1, 2 및 3의 모든 결과를 종합하여 보면, 마늘의 사료 내 첨가는 혈중 콜레스테롤과 중성지방의 함량을 감소시켜 어류의 건강도 및 비특이적 면역반응을 증진 시킬 수 있을 것으로 판단된다. 또한 사료 내 마늘의 첨가는 성장과 사료섭취율에 부정적 영향을 끼치는 것으로 조사되었다. 하지만 분말과 액상의 사료섭취율이 서로 반대 결과로 나오므로써 분말과 액상의 혼합첨가는 보다 더 좋은 시너지 효과가 나올 것으로 판단되어진다. 따라서 반드시 분말과 액상의 혼합첨가 효과에 대한 추가실험이 이루어져야 할 것으로 판단된다.

표 2-9. 적수온기 마늘액상을 섭취한 어류의 성장결과

Diets	0%	0.5%	1%	2%
Initial mean body weight (g)	65.0±0.14	65.2±0.68	65.0±0.14	65.2±0.24
Final mean body weight (g)	120.3±1.46	106.2±10.80	106.2±10.80	120.8±3.19
Weight gain (%) ¹	85.2±2.7	62.9±18.27	64.1±9.01	85.2±4.21
FI (g/fish) ²	50.0±1.0 ^a	59.2±0.47 ^b	59.6±4.33 ^b	63.1±1.17 ^b
Specific growth rate (%) ³	1.03±0.00	0.81±0.19	0.82±0.09	1.03±0.04
Feed conversion ratio ⁴	0.90±0.00 ^b	1.51±0.41 ^a	1.43±0.09 ^{ab}	1.14±0.04 ^{ab}
Protein efficiency ratio ⁵	2.28±0.00 ^b	1.42±0.39 ^a	1.44±0.09 ^a	1.14±0.04 ^{ab}
Survival (%)	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00

1 WG (%) = 100 x (final mean body weight - initial mean body weight)/initial mean body weight

2 FI (g/g BW/day) = dry feed consumed (g)/(g) BW

3 SGR (%) = [(loge final body weight - loge initial body weight)/days] x 100

4 FCR = dry feed fed/wet weight gain

5 PER = wet weight gain/ total protein given

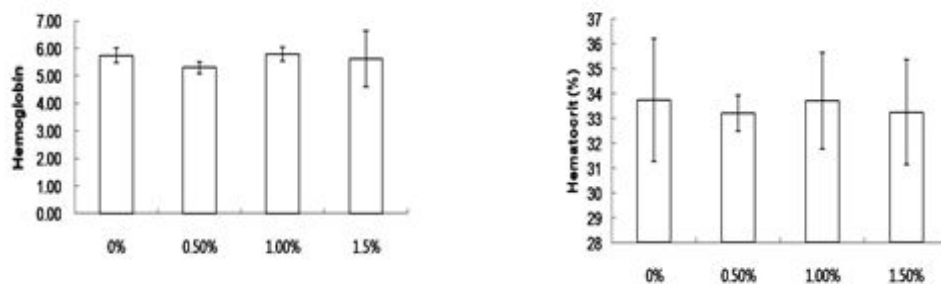


그림 2-11. 적수온기 마늘액상을 섭취한 어류의 혈액에서 헤모글로빈과 헤마토크릿의 수치 결과

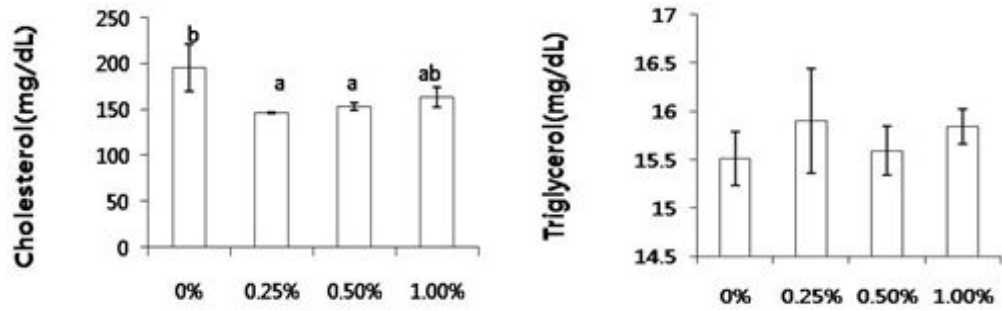


그림 2-12. 적수온기 발효 마늘액상을 섭취한 어류의 혈액에서 콜레스테롤과 중성지방의 분석 결과

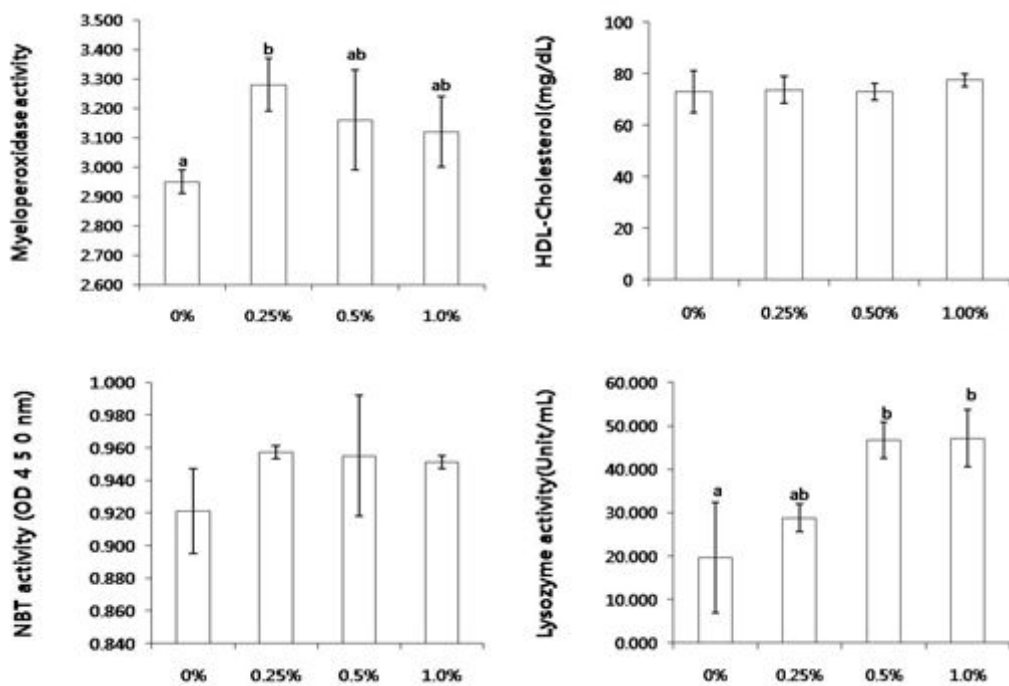


그림 2-13. 적수온기 발효 마늘액상을 섭취한 어류의 혈액에서 호중구활성, 라이소자임활성, myeloperoxidase 활성 및 HDL-cholesterol의 분석 결과

표 2-10. 전어체의 일반성분 분석표

사료	G 0%	G 0.25%	G 0.5%	G 1%
수분(%)	74.2±0.53 ^{ab}	75.8±0.47 ^b	73.5±0.27 ^a	74.3±0.92 ^{ab}
단백질(DM%)	73.6±2.23	77.2±3.44	72.4±2.70	75.2±1.57
지방(DM%)	8.6±0.78	7.1±1.61	8.4±1.28	7.8±2.29
회분(DM%)	15.7±1.27	16.6±2.13	15.3±1.67	13.3±1.05

(2) 마늘 발효액의 기능성 천연 항생제로서의 가능성

(가) 성장실험

이번 연구에서는 실험실 수준의 규모가 아닌 현장 양어장에서의 사료공급 사양실험을 simulation하기 위해 중간크기의 (semi-pilot) 콘크리트 수조를 사용하여 장기간 (약 4개월) 사양실험을 실시하였다. 상업사료에 마늘액상을 흡착시킨 실험사료(G-0.5, G-1.0 및 G-2.0)와 비흡착 대조구 사료(Con)를 넙치치어에 16주 동안 공급한 후 증체율, 일간성장률, 사료전환효율, 단백질전환효율 및 생존율을 분석하였다 (표 2-11, 그림 2-14, 15, 16, 17, 18). 매 4주간의 성장률 측정결과 유의적인 차이를 보이지 않았지만 마늘액상이 고농도로 흡착된 (2% 첨가된 사료구) 사료구에서는 대조구나 적정함량 0.5 - 1.0% 첨가의 사료구들 보다 경향적으로 낮게 나타났다. 사료 내 마늘분말을 0%, 0.5%, 1.0% 및 1.5% 첨가하였을 때와 마늘액상을 0%, 0.25%, 0.5% 및 1% 첨가한 앞전의 실험결과와 비슷한 성장결과 경향을 보임으로서 1.5% 이상 마늘분말이나 마늘액상을 첨가하는 것은 넙치 양식에 조금 무리가 있을 것으로 판단된다. 본 2차년도에의 장기간 사양실험결과 마늘액상의 사료 내 첨가는 성장에 큰 효과가 없는 것으로 나타났다지만 면역력 증강 측면에서는 매우 우수한 결과를 보임으로서 사료 내 마늘 액상의 첨가는 최근 문제시되고 있는 과도한 항생제 남용을 줄일 수 있는 하나의 방안이 될 것으로 판단된다. 또한 항생제 남용을 줄일 뿐만 아니라 어류의 기능성을 높여 향후 웰빙 식품을 찾는 소비자들에게 크게 인기가 있을 것으로 보인다. 수온은 넙치 양식에 있어 성장에 영향을 미치는 중요한 환경인자이다. 수온이 낮아지면 어류 체내의 소화효소 활성화 및 대사율이 감소하게 되어 먹이 섭취량이 줄어들고 이에 따른 성장 감퇴로 인하여 면역력이 약해지거나 병원성 미생물에 감염되는 기회도 많아진다. 대부분의 넙치 사육은 넙치의 성장에 적합한 여름철에 주로 연구되었으나 앞전의 실험에서는 넙치의 적정수온에 미치지 않는 저수온기 (18°C~19°C)에 발효 마늘분말을 사료 내 단계별 첨가 (0%, 0.5%, 1% 및 2%)하여 초기 무게 23.5g인 넙치에 5주 동안 공급하여 실험을 실시하였다. 그 성장실험 결과 본 2년차에서의 마늘액상 흡착 결과와 비슷하게 증체율, 일간성장률, 사료전환효율, 단백질전환효율 및 생존율에서 유의적인 차이를 보이지 않았지만 면역반응(NBT activity, Lysozyme)에서는 마늘이 첨가된 실험구에서 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 이는 마늘 고유의 우수한 생리활성 및 면역증강 물질이 어류에서도 적용 가능함을 보여주는 중요한 결과라 할 수 있겠다. 그러나 우수성이 보고된 물질이라도 적정농도 이하로 사용하면 그 효과가 미비할 수 있으며 적정농도 이상의 사용은 경제성 등 여러 문제점이 발생할 수 있으므로 양식 어종 및 크기에 따른 적정첨가가 농도를 찾기 위한 향후 연구들이 진행되어야 할 것으로 사료된다. 특히, 이번 연구에서는 semi-pilot 규모에서 장기간의 사양실험을 통해 우선적으로 고농도의 마늘액상 첨가는 성장에 문제가 있을 가능성이 보임으로서 적정첨가 농도는 아마도 1.5% 이하에서 결정될 것으로 판단된다.

표 2-11. 마늘액상 흡착사료를 섭취한 어류의 성장결과 (%)

Diets	G-0	G-0.5	G-1.0	G-2.0
Initial body weight (g)	6.6±0.2	7.0±0.2	6.6±0.3	6.5±0.1
Final body weight (g)	99.5±4.4	108±19.7	114±29.1	91.9±9.8
Weight gain (%) ¹	1401±24.8	1446±54.0	1628±114	1309±127
Specific growth rate (%) ²	2.63±0.06	2.81±0.06	2.91±0.08	2.57±0.09
Feed conversion ratio ³	0.59±0.04	0.60±0.03	0.64±0.03	0.69±0.03
Protein efficiency ratio ⁴	3.14±0.22	3.17±0.22	2.96±0.24	2.70±0.18
Survival (%)	86.7±2.3	91.5±0.8	87.4±11.9	86.8±3.0

¹ WG (%) = 100 x (final mean body weight - initial mean body weight)/initial mean body weight.

² SGR (%) = [(log_e final body weight - log_e initial body weight)/days] x 100

³ FCR = dry feed fed/wet weight gain

⁴ PER = wet weight gain/ total protein given

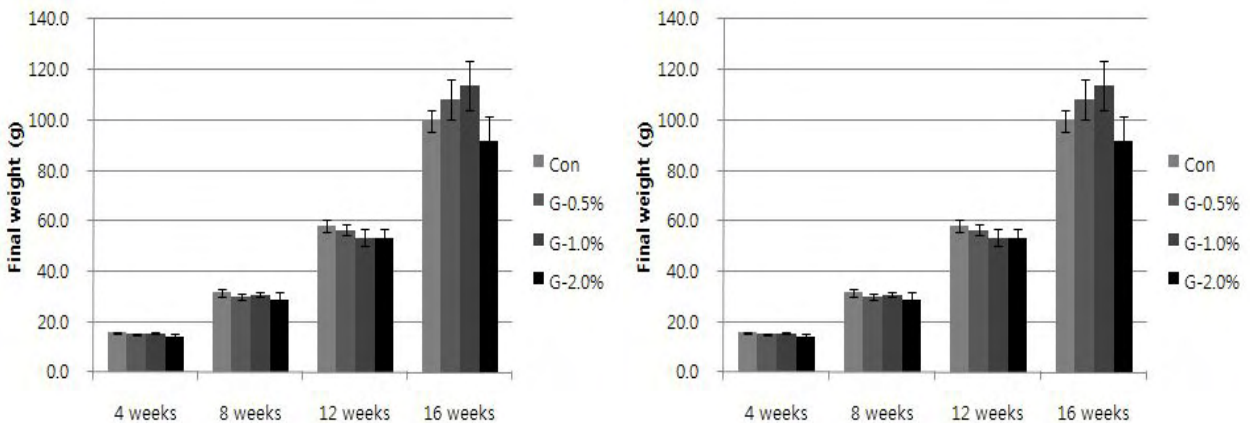


그림 2-14. 마늘 액상 흡착사료(G-0%, G-0.5%, G-1.0%, G-2.0%)를 16주 동안 급이한 넙치의 성장률 (상위 그래프 : 매 4주의 마지막 날에 측정된 넙치의 무게, 하위 그래프 : 증체율)

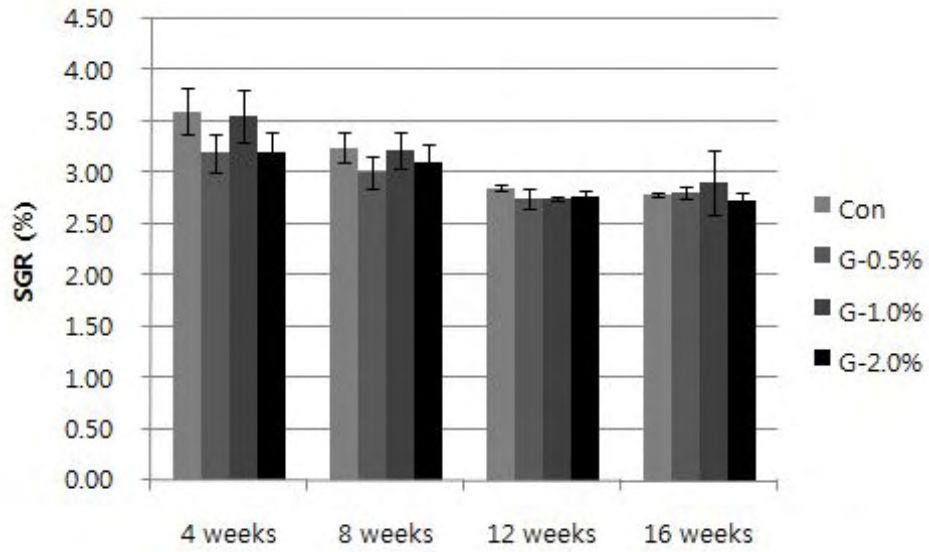


그림 2-15. 마늘 액상 흡착사료를 16주 동안 급이한 넙치의 일간성장률

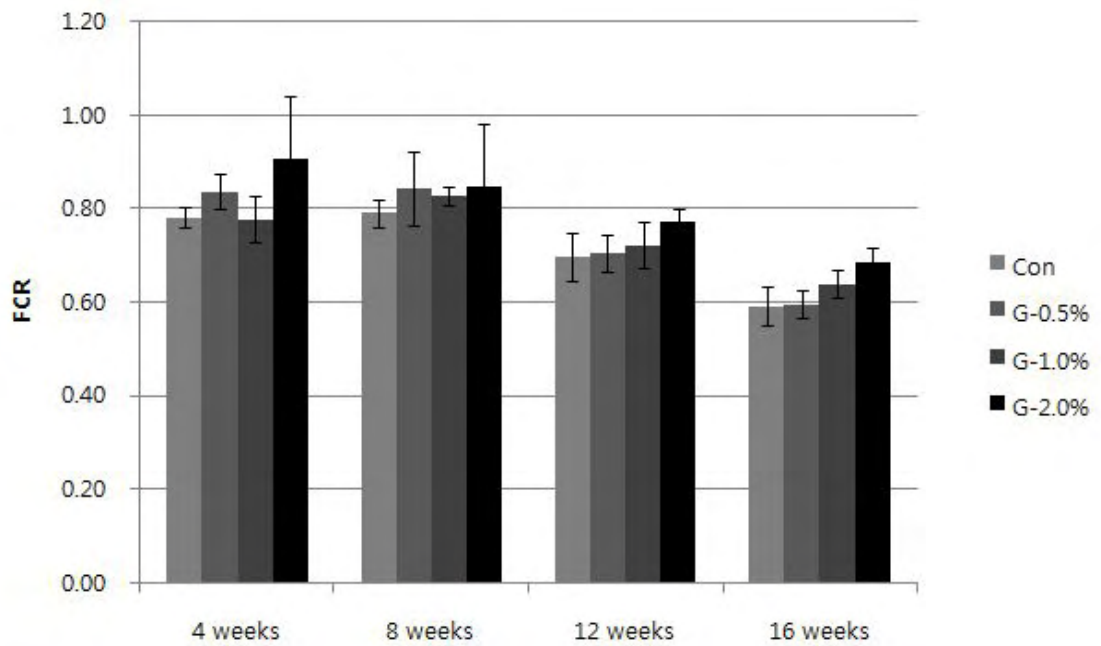


그림 2-16. 마늘 액상 흡착사료를 16주 동안 급이한 넙치의 사료전환효율

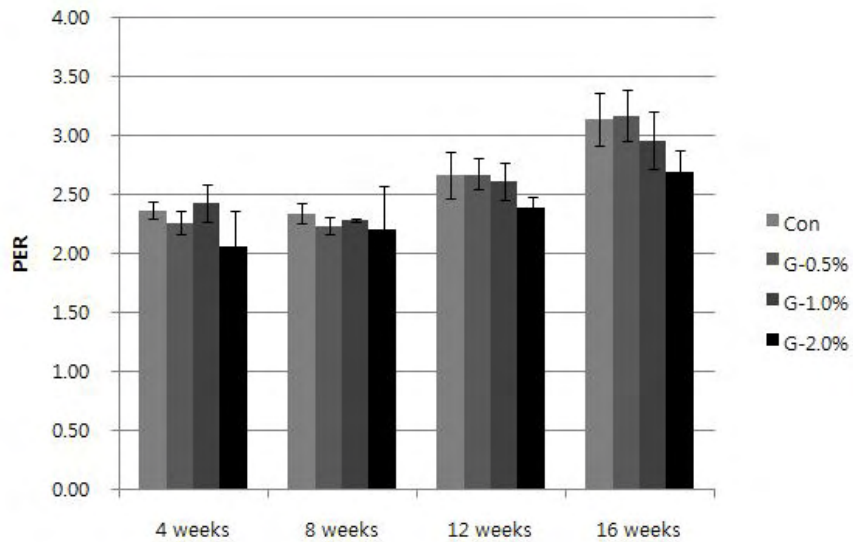


그림 2-17. 마늘 액상 흡착사료를 16주 동안 급이한 넙치의 단백질 전환효율

생존율에서는 마늘액상을 흡착한 실험사료(G-0.5, G-1.0 및 G-2.0)와 비흡착 대조사료(Con) 실험구에서 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 실험진행 과정 중(실험 실시 4주 동안) 이상기온에 의한 급격한 수온변화로 부분적 질병이 발병하였으며 (그림 2-19), 증상으로는 수면을 힘없이 유영하는 개체, 등지느러미와 꼬리지느러미의 부식, 괴사 및 결손과 같은 질환이 관찰되었고 실험사료에 의한 직접적 폐사율은 관찰되지 않았다. 이번 연구에서의 부분적인 폐사율은 여름 제주도 전역에 걸쳐 퍼진 여러 질병에 의한 발병의 하나로 실험사료에 의한 폐사라기보다는 외부환경에 의한 폐사의 사고로 여겨진다.

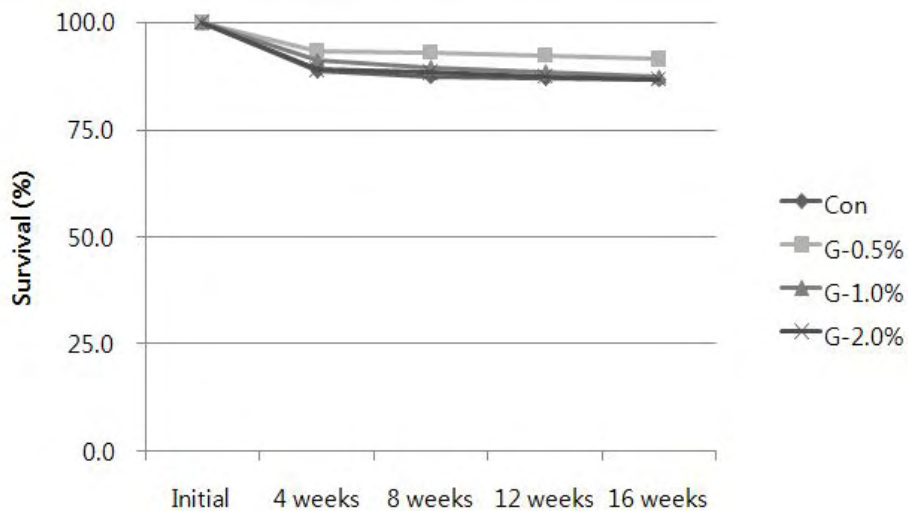


그림 2-18. 마늘 액상 흡착사료를 16주 동안 급이한 넙치의 생존율



그림 2-19. 사양실험 기간 중 고수온기(여름)에서 관찰된 넙치의 궤양병

이상의 결과를 종합해 볼 때, 현재 양어장에서 주로 사용하고 있는 사료의 흡착방법으로 마늘 액상의 적정 흡착농도는 약 1.0 -1.5% 가 될 것으로 판단된다. 향후 연구에서는 어종별 크기에 따른 각각의 적정 농도를 조사하고 보다 장기간과 대형 양어장 수조를 사용하여 사양실험이 이루어져야 할 것으로 판단된다. 분말과 액상의 혼합첨가에 대한 장기간의 추가실험과 이러한 마늘첨가 사료가 양어장 수질환경에 미치는 영향도 조사되어야 할 것으로 사료된다.

(나) 혈액학적 분석

농도별 마늘 첨가 사료 급여 4주째의 넙치 혈액학적 분석 결과는 표 2-12에 나타내었다. 적혈구의 용적백분율을 나타내는 헤마토크리트 수치의 경우 0%에 비해 사료 내의 마늘농도가 증가할수록 농도 의존적으로 수치가 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 앞 전 연구결과, 일반양식장에 비해 마늘을 급여한 실험사육조의 넙치 헤마토크리트 수치가 낮아진다는 연구결과와 일치하는 것으로 마늘 급여는 혈액의 헤마토크리트 수치를 낮추는 결과를 초래하는 것으로 판단된다. 그러나 마늘 급여에 따라 생존율 및 성장 등에서 좋은 결과를 나타내는 것을 종합하여 볼 때, 이러한 헤마토크리트 수치의 저하가 호흡생리학적 기능의 저하로 이루어지는 것으로는 판단되지 않고 오히려 각 적혈구 개체의 기능적 향상을 통하여 산소운반능력을 충족하고 있는 것으로 판단되나, 적혈구내의 헤모글로빈양 등의 추가적인 분석을 통하여 그 원인을 구명할 필요성이 있는 것으로 여겨진다. 한편, 간 손상의 지표로 활용되는 AST, ALT를 살펴보면, AST의 경우 0.5%에서는 대조구에 비하여 다소 높은 수치를 나타내었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 마늘 첨가 농도가 높아질수록 감소되는 경향을 나타내어, 2.0% 실험구에서는 유의적으로 낮은 수치 나타내었다. 이러한 결과는 마늘 첨가에 따라 간 손상이 적어지게 되고 간 기능이 증대되는 결과로 추정된다. 이러한 결과에 있어서도 앞서 실험한 현장실험 결과와 동일한 결과를 나타내어 마늘의 급여가 간 기능 향진에 효과가 있는 것으로

로 판단된다. ALT의 경우 일반적인 넵치의 범위 (8~12 U/L)에 비해 다소 낮은 수치를 나타내었다. 본 조사 대상의 경우 그 크기가 소형으로 평균적인 넵치의 수치에 도달하지는 않았으나 전 실험구에서 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 혈청 내 총 단백질량은 대조구에 비해 1.0%, 2.0% 실험구에서 낮게 나타났는데, 실험어의 측정시기가 실험 개시 후 4주째로 초기의 마늘 급이에 따른 적응기간으로 여겨지며, 8주 및 12주째 시간이 경과할수록 총 단백질량은 대조군과 유사하거나 오히려 증가하는 추세를 나타내어 실험 초기의 사료 급이에 대한 상대적 섭취량의 차이에 의해 나타난 결과로 여겨진다. 그러나 중성지방의 경우에는 대조구에 비해 마늘 첨가 사료를 급이한 실험구에서 높게 나타났으며, 특히 1.0% 실험구에서 유의적으로 높게 나타났다. 중성지방은 신체 내 각종 지방 조직의 주성분으로 체내의 에너지 저장과 관계가 있는데 마늘 첨가에 따라 체내 및 체외의 지방의 에너지 전환 효율이 증대시켜 생체 에너지의 활용을 높이는 것으로 판단된다. 글루코스의 경우에도 생체의 에너지원으로 중요한 역할을 하는 물질로 사료의 급이에 의해 그 수치가 증가하는 것으로 알려져 있다. 그러나 본 초기 사육 실험 결과에서는 0.5% 실험구에서 유의적으로 낮은 수치를 나타내었으나, 다른 실험구간에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이 결과는 체내의 총 단백질의 감소 결과와 연계하여 판단해 볼 때 초기 마늘 사료의 섭취에 다소 어려움이 있어 이에 기인한 결과라고 추정되나 시간 경과에 따른 전체적인 결과를 분석하여 결론지어야 할 것으로 판단된다.

표 2-12. 마늘 액상 흡착사료 급이 4주째 혈액학적 분석

마늘첨가 농도(%)	HT(%)	AST (U/L)	ALT (U/L)	총단백질 (mg/dL)	중성지방 (g/dL)	글루코스 (mg/dL)
0	42.0±4.3	90.0±12.4	4.0±1.2	5.2±1.1	2.0±0	76.5±15.6
0.5	39.1±5.5	97.0±15.2	3.0±1.4	5.3±1.3	4.0±1.2	53.6±14.2*
1.0	33.3±3.2*	85.0±11.7	4.0±0.5	3.4±1.3*	5.0±1.5*	72.1±10.2
2.0	32.1±4.8*	69.0±18.5*	3.0±1.2	3.7±1.0*	4.0±1.2	60.4±9.6

농도별 마늘 첨가 사료 급이 8주후 넵치의 혈액학적 분석 결과를 표 2-13에 나타내었다. 적혈구의 용적백분율을 나타내는 헤마토크리트치의 경우 대조구에 비해 마늘 사료에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 이 결과는 4주차의 결과와는 다소 차이를 나타내어 4주째에 나타난 농도의존적인 감소는 나타내지 않았다. 그러나 4주째 및 12주째의 결과 표 2-14과 앞서 실험한 현장실험의 결과를 종합하여 볼 때, 본 연구시기의 일간 급격한 수온변화에 따른 수중의

용존산소량의 감소 등 다양한 환경적 요인으로 인하여 실험구간의 결과에 상당한 영향을 미친 것으로 여겨지기 때문에 8주째의 결과만으로 헤마토크리트 수치의 변화패턴을 판단하기는 다소 어려운 부분이 있는 것으로 여겨진다. 이에 대한 종합적인 판단은 12주째의 결과 분석 시 종합적으로 기술하도록 하겠다. 간독성을 나타내는 지표인 AST, ALT를 살펴보면 AST의 경우는 4주째의 결과와 거의 유사한 패턴을 나타내어 0.5%에서는 다소 높아졌다가 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타내었다. ALT에서는 4주째에는 전체적인 유의차가 나타나지 않았으나, 0.5%, 1.0%에서는 대조구에 비해 매우 낮은 수치를 나타내었다. 혈청 내 총 단백질의 경우에는 4주째에는 대조구에 비해 마늘첨가구가 매우 낮은 수치를 나타내었으나, 8주째에는 오히려 0.5%, 1.0% 실험구에서 대조구에 비해 유의적으로 높은 수치를 나타냈고 2.0%에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 중성지방의 경우에는 4주째와 동일하게 혈중의 중성지방 함량이 높아지는 결과를 초래하였으며, 4주째의 단백질함량 등의 결과 등으로 추정하여 볼 때 체내의 지방세포로부터 지방을 혈중으로 동원하여 에너지원으로 활용하는 것으로 추정된다. 글루코스는 생체의 에너지원으로 가장 중요한 물질로 사료를 급이 할 경우 수치가 증가 하는데, 4주째와 동일하게 8주째에도 글루코스의 농도는 마늘 첨가에 따라 그 수치가 낮아지는 결과를 나타내었다. 따라서 마늘의 첨가에 따른 글루코스의 감소 결과는 단순한 사료 급이 차이에 따른 결과로 볼 수 없는 다른 기작에 의한 결과로 판단된다.

표 2-13. 마늘 액상 흡착사료 급이 8주째 혈액학적 분석

마늘첨가 농도(%)	HT(%)	AST (U/L)	ALT (U/L)	총단백질 (mg/dL)	중성지방 (g/dL)	글루코스 (mg/dL)
0	43.3±3.2	95.7±8.2	4.0±1.0	4.0±0.1	4.0±1.1	90.6±2.8
0.5	35.3±4.2*	108.0±19.2	1.0±0.5*	5.0±0.4*	6.0±1.8	44.5±5.1*
1.0	37.7±5.2	79.3±10.5	1.0±0.5*	4.9±0.5*	7.0±1.5*	42.6±3.2*
2.0	42.2±2.5	58.7±4.4*	3.0±1.1	3.8±0.6	6.0±1.0	46.4±1.4*

농도별 마늘 첨가 사료 급이 12주째 넙치의 혈액학적 분석 결과를 표 2-14에 나타내었다. 12주째의 헤마토크리트 수치는 대조구 (40.2±1.3%)에 비해 0.5%에서는 거의 유사한 수치를 나타내었으며, 1.0%에서는 34.4±3.0% 및 2.0%에서는 34.6±4.9%를 각각 나타내어 대조구에 비해 유의적으로 낮은 수치를 나타내었다. 이러한 결과는 실험기간 동안 일관적으로 나타나고 있어 마늘 첨가에 따라 헤마토크리트 수치는 감소하는 결과를 나타냈다. 이는 앞전의 실험결과에서 일반양식장에 비해 마늘을 급이한 실험사육조의 넙치 헤마토크리트 수치가 낮아진다는 연구결과와 일치하는 것으로 마늘 급이는 혈액의 헤마토크리트 수치를 낮추는 결과를 초래하는 것으로

로 판단된다. 이러한 결과와 성장형질에 대한 결과를 종합하여 볼 때 마늘 첨가가 호흡생리학적 활성의 감소하는 것으로 판단하기는 힘들며 오히려 신생적혈구수의 증가 또는 헤모글로빈 농도의 증가를 통하여 호흡생리학적 활성을 충족시키는 것으로 추정된다. 본 실험에 있어서는 개체 크기가 매우 작아 충분한 혈액 분석 자료를 확보하기 힘들어 헤모글로빈농도 등에 대한 자료를 확보하지 못하였으나, 지속적 마늘 첨가를 통해 성장한 개체의 분석을 통하여 그 원인을 확실히 구명할 필요성이 있는 것으로 판단되어 추가적인 실험을 실시할 예정에 있다. 간 손상의 지표인 AST, ALT를 살펴보면 ALT의 경우는 실험기간 내에 유의적인 변화는 나타나지 않았으나, AST의 경우에는 대조구에 비해 대부분의 실험구에서 낮은 수치를 나타내어 마늘 급여에 따라 간 손상 정도가 낮아지며 간 기능의 활성증대를 가져오는 것으로 판단된다. 간 기능 활성 증대는 생리적인 활성 증대와 외부 스트레스 및 독성적요에 대한 내성이 커지므로 어체의 건강도의 지표로 활용할 수 있다. 따라서 마늘의 첨가는 간 기능의 개선을 통하여 넙치의 생리적 활성 증대를 유발하여 면역기능의 증대를 가져오며 이를 통하여 성장지수의 증대 등 양식산업에 유리한 역할을 담당할 수 있을 것으로 기대된다. 한편, 혈청 총 단백질의 경우에는 0.5%, 1.0% 실험구에서 대조구에 비해 다소 높은 수치를 나타냈고 2.0%에서는 유의적인 차이점은 없었다. 특히 1%에서는 유의적으로 증가한 수치를 나타내었다. 이상의 결과로 보아 마늘의 첨가사료는 초기 먹이 붙임에 다소 어려움이 있을 것으로 여겨지나(4주째의 결과) 먹이 붙임이 끝나 섭취율이 증가하게 되면 체내의 단백질량의 증가를 유발하여 생리적인 증대효과를 유발하는 것으로 판단된다. 이와 동반하여 중성지방의 경우에도 마늘 첨가 실험구에서 대조구에 비해 높은 수치를 나타내는 결과를 나타내었다. 단백질 및 지방의 혈중농도 증가는 생체내의 에너지원으로의 활용으로 이어지며, 이는 생체내의 다양한 기능의 향진에 의한 결과로도 판단되어지므로 마늘의 첨가에 따른 어체의 생리학적 기능의 향상을 유발하는 것으로 여겨진다. 그러나 글루코스의 경우에는 총 단백질량과 중성지방의 혈중 농도와는 상반된 결과를 실험기간동안 동일하게 나타냈다. 사료 급여량이 증가하면 일반적으로 혈중 글루코스는 증가하여 생체의 에너지원으로 사용이 되는 것으로 알려져 있는데 본 실험에서는 총 단백질량과 중성지방의 증가가 이루어짐에도 불구하고 오히려 낮은 결과를 나타내었다. 따라서 먹이섭취율의 감소에 의한 글루코스 함량으로는 판단하기 힘들며, 사료 섭취 후 체내로의 글루코스 대사가 활발하여 혈중 농도를 낮추는 결과로 인하여 나타난 결과로 판단된다.

표 2-14. 마늘 액상 흡착사료 급이 12주째 혈액학적 분석

마늘첨가 농도(%)	HT(%)	AST (U/L)	ALT (U/L)	총단백질 (mg/dL)	중성지방 (g/dL)	글루코스 (mg/dL)
0	40.2±1.3	61.0±4.5	1.5±0	3.9±0.3	3.0±0.6	48.1±1.5
0.5	40.4±1.8	52.3±2.3*	1.3±0.1	4.8±1.3	6.7±0.3	45.3±2
1.0	34.4±3*	50.7±3.4*	1.4±0	5.1±0.6*	11.3±1.2*	35.5±1.6*
2.0	34.6±4.9*	57.7±4.1	1.4±0	3.9±0.2	8.0±0.6*	26.9±1*

이상의 결과를 종합하면, 넙치의 마늘섭취에 따라 간 기능이 개선되는 것으로 판단되며, 혈액 중의 글루코스 농도를 낮추며, 총단백질 및 중성지방의 농도는 증가시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 생리활성의 증대를 유발할 것으로 판단되며, 면역 활성의 증대 등 다양한 생리적인 활성 증대로 이어져 넙치 성장에 유효하게 작용할 것으로 기대된다.

(다) 항산화 효소 측정

① CAT (Catalase) 활성

항산화 효소인 CAT의 측정 결과를 표 2-15에 나타내었다. CAT의 변화는 마늘첨가 4주 및 8주째에는 대조구에 비해 매우 높은 수치를 나타내었다. 마늘첨가에 따른 혈액생리학적 결과를 보면, 초기 4주째까지는 마늘 급이에 따라 먹이불임 등 생리적인 적응기간이 필요한 것으로 나타나 초기 사육에서는 마늘 급이에 따라 생체내의 스트레스 작용이 다소 일어나는 것으로 추정된다. 그러나 이러한 작용은 사육 12주째에 이르러 대부분 안정화 되어 오히려 대조구에 비해 낮은 수치를 나타내는 것으로 나타났다. 따라서 지속적인 마늘첨가 급이는 생체내의 항산화효소의 하나인 CAT의 안정화를 가져와 대조구에 비해 높은 생리적 안정성을 가져오는 것으로 판단된다.

표 2-15. 항산화 효소(CAT) 활성의 변화

마늘첨가 농도(%)	사육 주수		
	4주	8주	12주
0	1.4±0.2	2.4±0.5	7.0±0.5
0.5	4.8±0.6	2.6±0.8	3.9±0.4
1.0	31.2±3.3*	15.8±1.0*	2.6±0.9
2.0	3.8±0.8	3.2±0.3	3.8±0.6

② SOD (Superoxidase dismutase) 활성

항산화 효소인 SOD의 측정 결과는 표 2-16에 나타내었다. SOD의 활성에 있어서도 CAT의 활성과 유사한 패턴의 변화를 나타내었다. 사육초기에는 대조구에 비해 높은 수치를 나타내었으나, 사육이 경과함에 따라 8주째부터 안정화 되어가는 경향을 나타내었다. 12주째에는 1.0% 첨가구에서 대조구에 비해 매우 낮은 수치를 나타내는 결과를 보였다. 이상에서와 같이 항산화효소의 활성은 사육초기 마늘에 대한 적응기간이 다소 필요한 것으로 판단되지만 적응 이후에는 생리적인 안정화를 가져와 오히려 외부의 스트레스 등에 대한 내성이 증대될 것으로 생각되어진다.

표 2-16. 항산화 효소(SOD) 측정

마늘첨가 농도(%)	사육 주수		
	4주	8주	12주
0%	1.8±0.5	5.9±0.5	19.5±0.9
0.5%	25.9±1.0*	7.0±0.2	11.8±0.8
1.0%	34.6±1.3*	5.9±0.8	6.9±0.3*
2.0%	12.8±0.4*	6.2±0.3	16.3±0.7

(라) 라이소자임 (Lysozyme) 활성 분석

① 혈청 내 라이소자임 활성

혈청의 라이소자임 활성 결과를 표 2-17에 나타내었다. 마늘 첨가 사료 급이 4주째에서는 대조구에 비해 모든 실험구가 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 8주째가 되면서부터 라이소자임의 활성이 증대되어 대조구에 비해 모든 실험구에서 라이소자임의 활성이 유의하게 증가하였다. 특히 2.0%에서는 대조구의 약 7배 이상의 증대효과를 나타내었다. 8주째의 경우 제주연안의 일간 수온변화가 매우 높게 나타나는 이상 기후가 발생하여 외부적인 스트레스가 강하게 작용하여 이에 대한 반응으로 라이소자임의 활성 증가가 일어난 것으로 판단된다. 이러한 활성증대는 결국 어체의 면역기능의 증대를 통하여 생존율을 높여줄 것으로 기대된다.

표 2-17. 혈청의 라이소자임 활성

마늘첨가 농도(%)	사육 주수		
	4주	8주	12주
0	2.7±0.5	1.7±0.2	3.3±0.3
0.5	3.0±0.3	7.3±0.1*	4.3±0
1.0	3.0±0.2	6.3±0.2*	7.3±0*
2.0	2.7±0.2	12.7±0.1*	4.0±0.1

② 점액의 라이소자임 활성

점액의 라이소자임 활성 결과는 표 2-18에 나타내었다. 점액은 외부로부터의 초기 방어물질로 점액 내에서의 라이소자임 활성의 증대는 외부 병원성 물질로부터의 생체 방어역할을 담당한다. 마늘 첨가 사료 급이 4주째에서는 대조구에 비해 모든 실험구에서 라이소자임 활성이 다소 증가하였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 8주 및 12주째에서도 대조구에 비해 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없는 것으로 나타나 마늘의 첨가에 따른 점액질 내의 라이소자임 활성 변화는 없는 것으로 판단된다. 그러나 외부의 병원성 물질이 존재할 경우에는 충분히 라이소자임의 활성 증대가 나타날 수 있으므로 다른 실험을 통하여 비교분석할 필요성이 있는 것으로 여겨진다.

표 2-18. 점액의 라이소자임 활성

마늘첨가 농도(%)	사육 주수	8주차	12주
	4주	8주	12주
0%	12.7±2.3	17.0±1	11.7±0.8
0.5%	19.0±1	17.0±1	11.3±1.2
1.0%	16.0±4.2	16.7±1.8	12.7±0.3
2.0%	18.0±5	16.3±1.4	9.0±1.5

이상의 결과를 종합하면, 라이소자임 활성 결과에서는 점액의 활성은 거의 변화가 나타나

지 않았으나 혈액내의 활성은 대조구에 비해 유의적으로 증가하는 것으로 나타나 외부적인 스트레스에 대한 반응으로 라이소자임의 활성 증가가 유발되고 이에따라 어체의 면역기능의 증대를 통하여 생존율을 높여줄 것으로 기대된다.

(마) 넙치점액성분의 형상비교

① 페트리디쉬법에 의한 항균성 측정

각 실험구의 점액질에 대한 해양세균 항균활성 측정 결과는 그림 2-20에 나타내었다. 항균 활성 측정을 위하여 사용한 병원균은 *Edwardsiella tarda*, *Vibrioanguil larum* 및 *Streptococcus iniae*의 3종을 이용하였다. 결과를 살펴보면, *Edwardsiella tarda* 균을 도말한 A 실험구에서는 마늘 2.0% 첨가균인 4번에서 제일 넓은 항균성이 나타냈다. *Vibrioanguil larum* 균을 도말한 B 실험구에서는 마늘 0% 첨가균을 제외한 모든 실험구에서 약간씩의 항균성이 나타났으나 *Edwardsiella tarda*균에서 나타난 항균성 보다는 다소 낮은 항균성을 보였다. *Streptococcus iniae* 균을 도말한 C 실험구에서는 모든 실험구에서 유의한 차이를 나타내지 않았다.

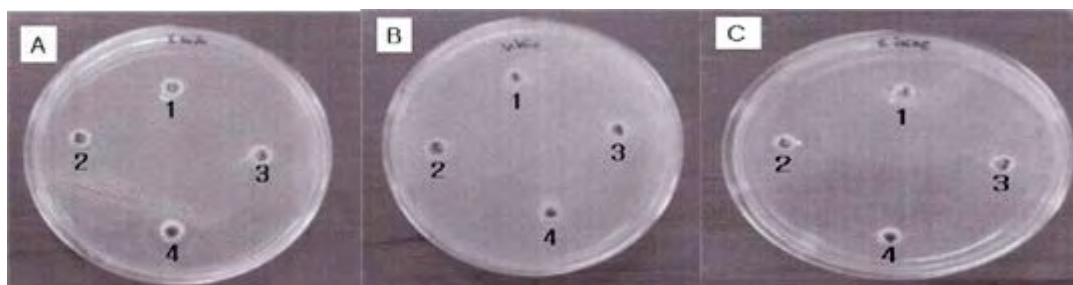


그림 2-20. 마늘 급이 실험구의 피부점액질의 항균활성 결과

A: *Edwardsiella tarda* B: *Vibrioanguil larum* C: *Streptococcus iniae*

- 1: 마늘 0% 첨가균(대조군)
- 2: 마늘 0.5% 첨가균
- 3: 마늘 1.0% 첨가균
- 4: 마늘 2.0% 첨가균

② 흡광도법에 의한 항균성 분석

항균성 결과를 수치화하기 위하여 흡광도 분석을 통한 항균성 분석을 실시하였다. *Edwardsiella tarda*에 대한 점액의 항균성 실험 결과를 그림 2-21에 나타내었다. 마늘 첨가 사료를 급이 한 넙치의 점액을 분리하여 *Edwardsiella tarda*에 대한 항균성을 분석한 결과 마늘의 농도가 높을수록 농도 의존적으로 항균성이 증가되는 것으로 나타났다.

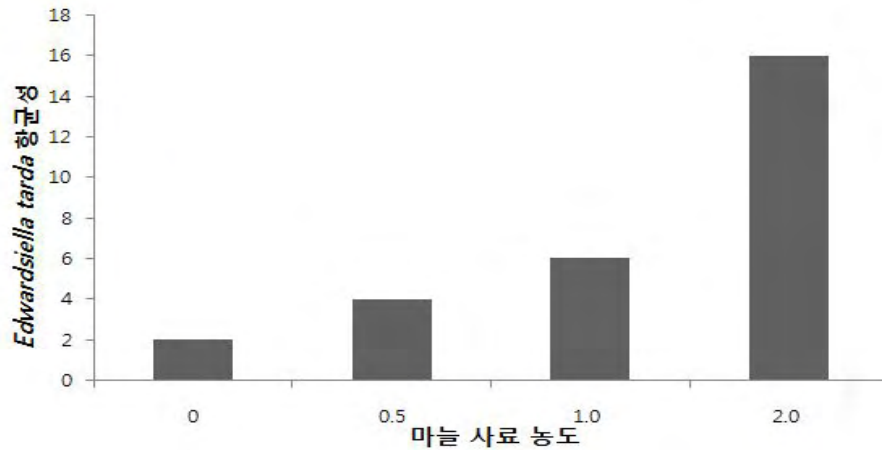


그림 2-21. *Edwardsiella tarda* 항균성 측정 결과

*Vibrio anguillarum*에 대한 점액의 항균성 결과에서는 *Edwardsiella tarda*에서 보여진 것처럼 농도의존적인 결과는 나타나지 않았으나 1.0%에서 가장 높은 항균효과를 가지는 것으로 나타났다 (그림 2-22). 0.5% 및 2.0%에서는 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

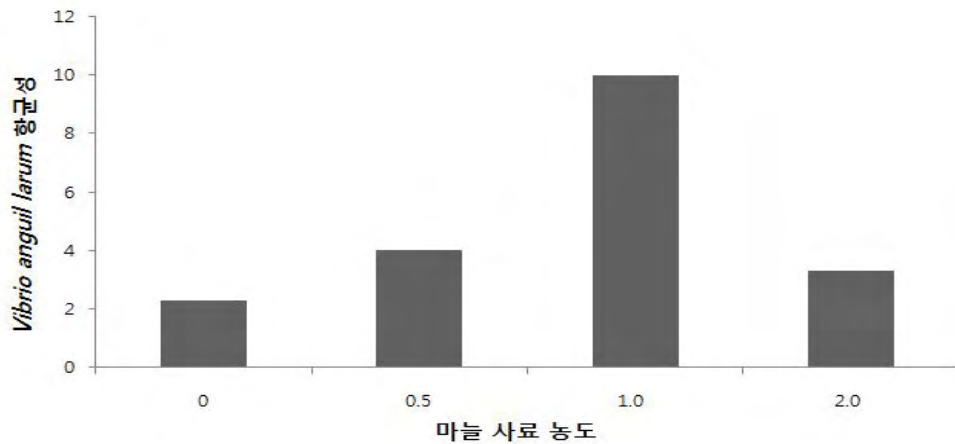


그림 2-22. *Vibrio anguillarum* 항균성 측정 결과

한편, *Streptococcus iniae*에 대한 점액의 항균성 실험 결과는 *Vibrio anguillarum*의 결과와 유사한 경향을 나타내고 있으나 1.0% 및 2.0%에서 유의적인 차이를 나타내었다 (그림 2-23).

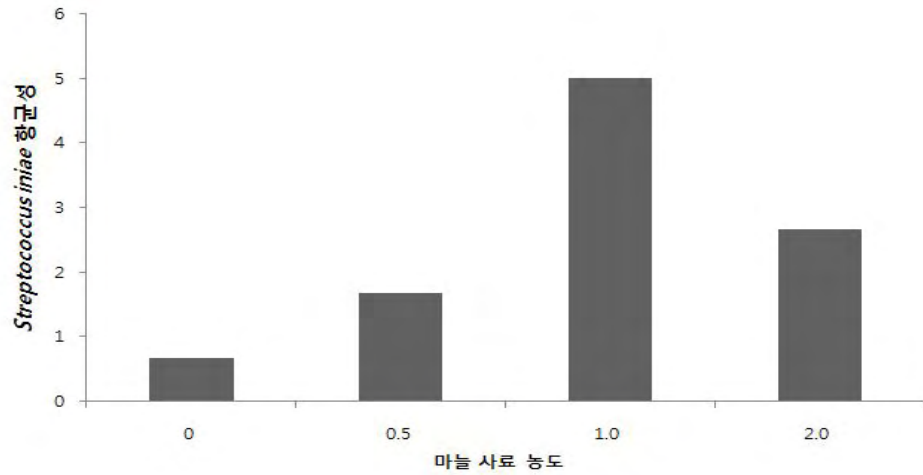


그림 2-23. *Streptococcus iniae* 항균성 측정 결과

이상의 결과를 종합하여 볼 때 마늘의 첨가에 따른 3종의 해양 세균에 대한 항균성은 마늘 첨가농도 1.0%에서 항균성 효과가 가장 높은 것으로 판단되며, 이러한 항균효과는 사육 시 발생하는 병원미생물에 대한 항균작용을 가질 수 있을 것으로 판단되며, 이러한 결과로 인하여 사육 시 사용되는 항생제 사용의 저감효과를 가져다 줄 것으로 기대된다.

3. 기능성 천연 항생제의 항병력 증진효과 연구

가. 실험방법

(1) 실험어 및 사육관리

실험에 사용된 넙치치어는 제주도 내 종묘 배양장(해연수산)에서 수송하여 제주대학교 소속 해양과환경연구소로 운송되어, 약 4주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치 (초기 평균무게: 6.6g)는 총 8개의 중규모 (직경 3m) 수조에 각 수조 당 1,000마리씩 무작위로 선택되어 배치되었다. 사료공급실험은 사료실험구당 2 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 각 수조당 유수량이 동일하게 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 산소공급장치를 설치하였다. 전 실험기간 동안 평균 수온은 19°C에서 27°C 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 3회 (8:00, 12:30, 17:30)에 나눠서 반복공급을 실시하였다. 마늘 액상을 0%, 0.5%, 1% 및 2%씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 넙치는 각 마늘 함량별로 5 groups로 나누어 50 L 수조에 20마리씩 수용하였고, 모든 실험어는 5일에 걸쳐 수온을 24°C (세균 실험구) 및 18°C (바이러스 실험구)로 각각 순치시킨 후, 공격실험에 사용하였다.

(2) 공격실험: 병원체 투여경로에 따른 항병력 증진효과

(가) 침지법

마늘 액상을 사료에 첨가하여 8주간 급이시킨 넙치의 면역반응을 조사하기 위하여, 병원성 세균인 *Vibrio anguillarum* KCTC 2711, *Streptococcus iniae* KCTC3651, *Edwardsiella tarda* KCTC3657 그리고 viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) 균주를 사용하여 각각 공격실험을 실시하였다. 실험어로서 마늘 액상을 함량별로 (0%, 0.5%, 1% 및 2%) 사료 내 첨가하여 8주간 공급시킨 넙치 20마리씩을 실험구로 사용하였다. 병원성 세균 3 균주는 각각 TSA 배지에서 25°C, 24시간 배양한 후 집균하였고, 해수에 1×10^5 cfu/ml이 되도록 현탁하여 침지 공격실험에 사용하였으며, 세균을 현탁시킨 해수에 24°C, 1시간 동안 침지시켰다. 세균 공격실험에 사용한 모든 groups은 24°C로 수온을 유지하였으며, 21일간 폐사를 관찰하였다. VHSV의 배양에 사용한 어류주화세포는 chinook salmon embryo cell line (CHSE-214)을 사용하였고, 세포 배양액은 100 IU/ml의 penicillin, 100 ug/ml의 streptomycin, 10% fetal bovine serum (FBS)을 첨가한 Dulbecco's modified essential medium (DMEM)을 사용하였다. Reed and Muench (1938)의 방법으로 TCID₅₀ 값을 계산하였고, 마늘 분말을 함량별로 (0%, 0.5%, 1% 및 2%) 사료 내 첨가하여 8주간 공급시킨 넙치 20마리씩에 1×10^6 TCID₅₀/ml의 VHSV를 각각 0.1 ml씩 복강내 주사하였다. VHSV를 사용하여 공격시킨 groups는 18°C로 수온을 유지하였으며, 21일간 폐사를

관찰하였다. 공격실험에 사용된 감염실과 수조는 그림 3-1에서 보여주고 있다

(나) 주사법 (복강주사)

마늘 액상을 사료에 첨가하여 12주간 급이시킨 넙치의 면역반응을 조사하기 위하여, 병원성 세균인 *Vibrio anguillarum* KCTC 2711을 사용하여 복강 주사를 통한 인위감염 실험을 실시하였다. 실험어로서 마늘 액상을 함량별로 (0%, 0.5%, 1% 및 2%) 사료 내 첨가하여 12주간 공급시킨 넙치 15마리씩을 실험구로 사용하였다. *V. anguillarum* 균주는 TSA 배지에서 25℃, 24시간 배양한 후 집균하였고, 1×10^5 cfu/fish가 되도록 복강 내 주사하였으며, 24℃로 수온을 유지하며 21일간 폐사를 관찰하였다.



그림 3-1. 마늘의 항병력 증강 효과를 실험하기 위한 감염실 및 수조.

(다) 혈청 라이소자임 활성 조사

공격실험 1일째 및 4일째 경과 후, 각각의 실험구들로부터 넙치를 3마리씩 sampling하였고, 넙치의 미부정맥에서 헤파린 처리된 주사기를 사용하여 시험구별로 3마리씩 채혈한 후, Parry (1965)의 방법에 따라 Turbimetric assay로 혈청 내 라이소자임 활성을 분석하였다. *Micrococcus lysodeikticus* (0.1 mg/ml PBS, pH 6.8) 현탁액 90 ul와 혈청 100 ul를 96 well plate에 혼합하여 25℃ 배양기에서 5분 동안 반응시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라이소자임 활성은 흡광도 값이 0.001/ml 감소한 값을 1 unit으로 표시하였다.

나. 실험결과

(1) 공격실험: 병원체 투여경로에 따른 항병력 증진효과

(가) 침지법

마늘이 넙치의 항병력에 미치는 영향을 분석하기 위하여, 마늘 액상을 0%, 0.5%, 1% 및 2%씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 넙치에 병원성 세균 3종 (*Vibrio anguillarum* KCTC 2711, *Streptococcus iniae* KCTC3651, *Edwardsiella tarda* KCTC3657) 그리고 바이러스 1종 (VHSV)을 사용하여 각각 공격실험을 실시하였다.

① *Vibrio anguillarum*

Vibrio anguillarum KCTC 2711을 사용하여 침지 감염시킨 경우, galic 0% group (대조구; 마늘을 급이시키지 않은 group) 및 0.5% group에서는 공격 후 17일째 및 20일째에 각각 100%의 누적폐사율을 나타내었다. 그러나, galic 1% 및 2% groups에서는 실험기간 동안 각각 50% 및 43%의 누적폐사율을 나타내어 대조구에 비해 마늘을 급이시킨 실험구에서 누적폐사율이 현저히 감소되는 것을 확인하였다 (그림 3-2). 폐사어는 내부 장기로부터 세균을 분리하여 *Vibrio anguillarum*에 감염되었음을 확인하였고, 궤양 형성, 체색흑화, 지느러미 출혈 등의 *Vibrio anguillarum*에 의한 전형적인 감염증상을 보였다.

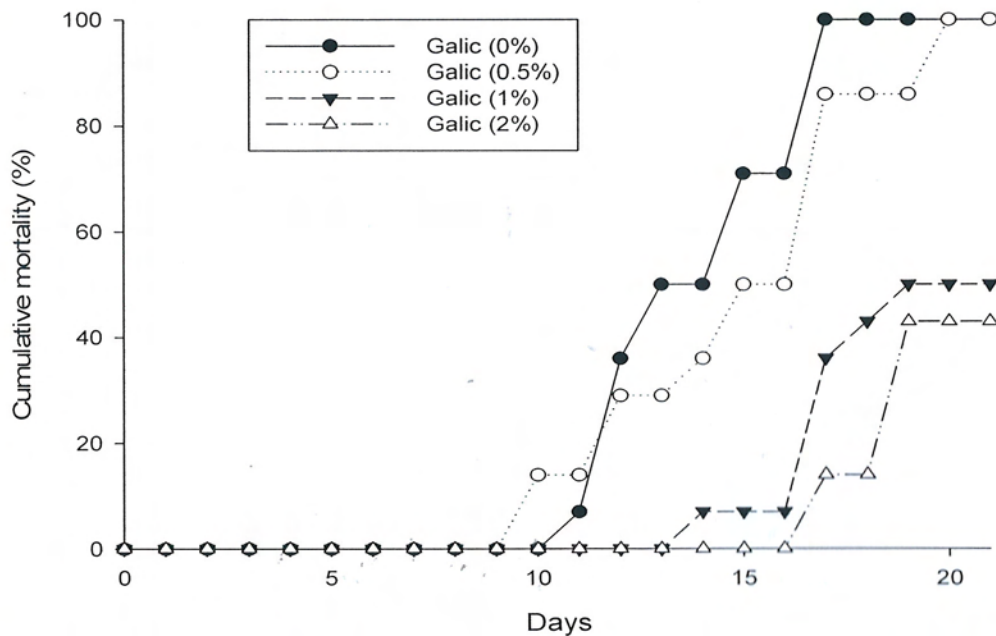


그림 3-2. 마늘 액상을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *Vibrio anguillarum* KCTC 2711 (1×10^5 cfu/ml)을 사용하여 침지 공격시킨 넙치의 누적폐사율 (%).

마늘 액상을 농도별로 사료 내에 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *V. anguillarum* (1×10^5

cfu/ml)을 사용하여 침지 공격시킨 넙치 혈청으로부터 라이소자임 활성을 기간에 따라 분석한 결과는 표 3-1에 나타내었다. *V. anguillarum*으로 침지 공격시키기 전 대조군 (0일째)의 혈청 라이소자임의 활성 ($1.6 \pm 1.9 \sim 12.6 \pm 1.3$ unit/ml)에 비하여 실험군 (1일째 및 4일째)의 라이소자임의 활성 ($20 \pm 0.8 \sim 43 \pm 1.4$ unit/ml)이 매우 높은 수치로 증가하였으며, 이러한 경향은 galic 0%, 0.5%, 1% 및 2% groups 모두에서 유사하게 나타났다. 이것은 *V. anguillarum* 감염에 의해 유도된 것으로 생각되며, 마늘 급이 농도에 따른 라이소자임의 유의적인 활성 변화는 나타나지 않았다. 그러나, 공격실험 전 (0일째, 대조군)의 각 마늘 농도에 따른 혈청 라이소자임의 활성 변화를 비교해 보았을 때, 마늘 농도의 증가와 비례하여 라이소자임의 활성이 유의적으로 증가하는 것이 확인되었으며, 이는 마늘 성분에 의한 자극으로 넙치의 비특이적 체액성 면역능이 상승하는 것으로 생각된다.

표 3-1. 마늘 액상을 0%, 0.5%, 1% 및 2%씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *Vibrio anguillarum* KCTC 2711 (1×10^5 cfu/ml)을 사용하여 침지 공격시킨 넙치 혈청에서의 라이소자임 활성 변화

Groups	0일	1일	4일
Galic 0%	1.6 ± 1.9	35 ± 0.5	24 ± 1.5
Galic 0.5%	6.3 ± 1.9	20 ± 0.8	26 ± 0.6
Galic 1%	7.3 ± 1.5	30 ± 1.1	22.3 ± 1.3
Galic 2%	12.6 ± 1.3	43 ± 1.4	27 ± 1.5

② *Edwardsiella tarda*

Edwardsiella tarda KCTC3657을 사용하여 감염시킨 경우, galic 0% 및 0.5% group에서는 공격 후 11일째 및 12일째에 각각 100%의 누적폐사율을 나타내었지만, galic 1% 및 2% groups에서는 실험기간 동안 83%의 누적폐사율을 나타내어 대조구에 비해 마늘을 급이시킨 실험구에서 누적폐사율이 감소되는 것을 확인하였다 (그림 3-3).

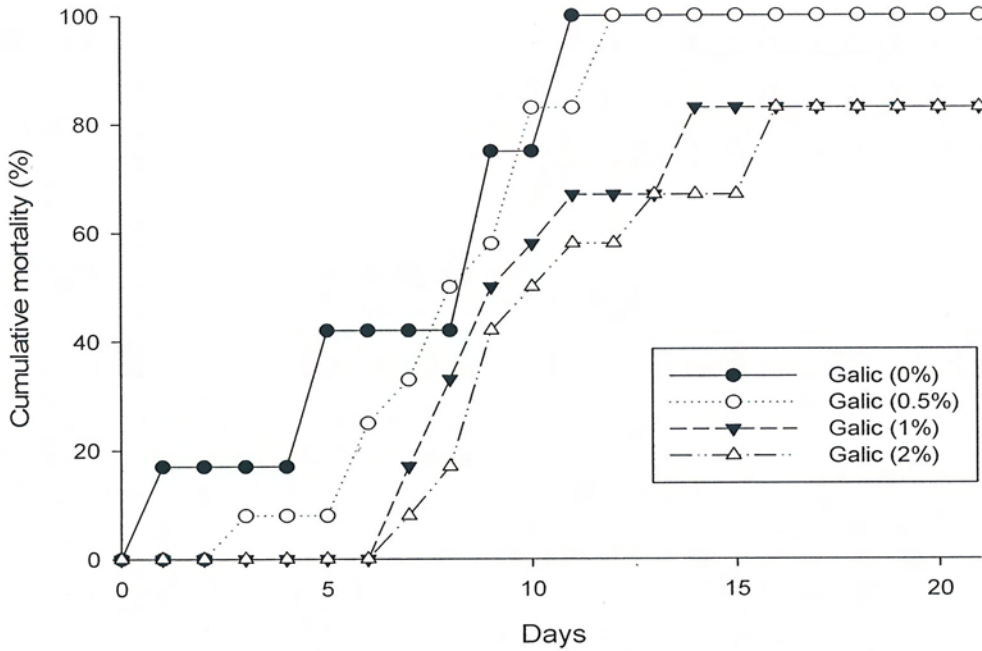


그림 3-3. 마늘 액상을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *E. tarda* KCTC3657 (1×10^5 cfu/ml)을 사용하여 침지 공격시킨 넙치의 누적폐사율 (%)

마늘 액상을 농도별로 사료 내에 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *E. tarda* (1×10^5 cfu/ml)를 사용하여 침지 공격시킨 넙치 혈청으로부터 라이소자임 활성을 기간에 따라 분석한 결과, 대조군 (0일째)의 혈청 라이소자임의 활성 ($1.6 \pm 1.9 \sim 12.6 \pm 1.3$ unit/ml)에 비하여 실험군 (1일째 및 4일째)의 라이소자임의 활성 ($10 \pm 1.1 \sim 45 \pm 1.5$ unit/ml)이 높게 증가하는 것으로 나타났다 (표 3-2).

표 3-2. 마늘 액상을 0%, 0.5%, 1% 및 2%씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *E. tarda* KCTC3657 (1×10^5 cfu/ml)을 사용하여 침지 공격시킨 넙치 혈청에서의 라이소자임 활성 변화

Groups	0일	1일	4일
Galic 0%	1.6 ± 1.9	13.3 ± 1.4	14.3 ± 3.7
Galic 0.5%	6.3 ± 1.9	10 ± 1.1	13 ± 1
Galic 1%	7.3 ± 1.5	45 ± 1.5	19.3 ± 2
Galic 2%	12.6 ± 1.3	30 ± 0.7	16.3 ± 0.3

③ *Streptococcus iniae*

Streptococcus iniae KCTC3651을 사용하여 감염시킨 경우, galic 0% 및 0.5% group에서는 공격 후 11일째 및 15일째에 각각 100%의 누적폐사율을 나타내었지만, galic 1% 및 2% groups에서는 실험기간 동안 각각 86% 및 71%의 누적폐사율을 나타내어 대조구에 비해 마늘을 급이시킨 실험구에서 누적폐사율이 감소되는 것을 확인하였다 (그림 3-4).

그림 3-4. 마늘 액상을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *S. iniae* KCTC3651 (1×10^5 cfu/ml)을 사용하여 침지 공격시킨 넙치의 누적폐사율 (%).

마늘 액상을 농도별로 사료 내에 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *S. iniae* (1×10^5 cfu/ml)를 사용하여 침지 공격시킨 넙치 혈청으로부터 라이소자임 활성을 기간에 따라 분석하였으며, *V. anguillarum* 및 *E. tarda* 감염실험의 결과와 마찬가지로, 대조군 (0일째)의 혈청 라이소자임의 활성 ($1.6 \pm 1.9 \sim 12.6 \pm 1.3$ unit/ml)에 비하여 실험군 (1일째 및 4일째)의 라이소자임의 활성 ($6.6 \pm 1.2 \sim 30 \pm 0.7$ unit/ml)이 높게 증가하는 것으로 나타났다 (표 3-3).

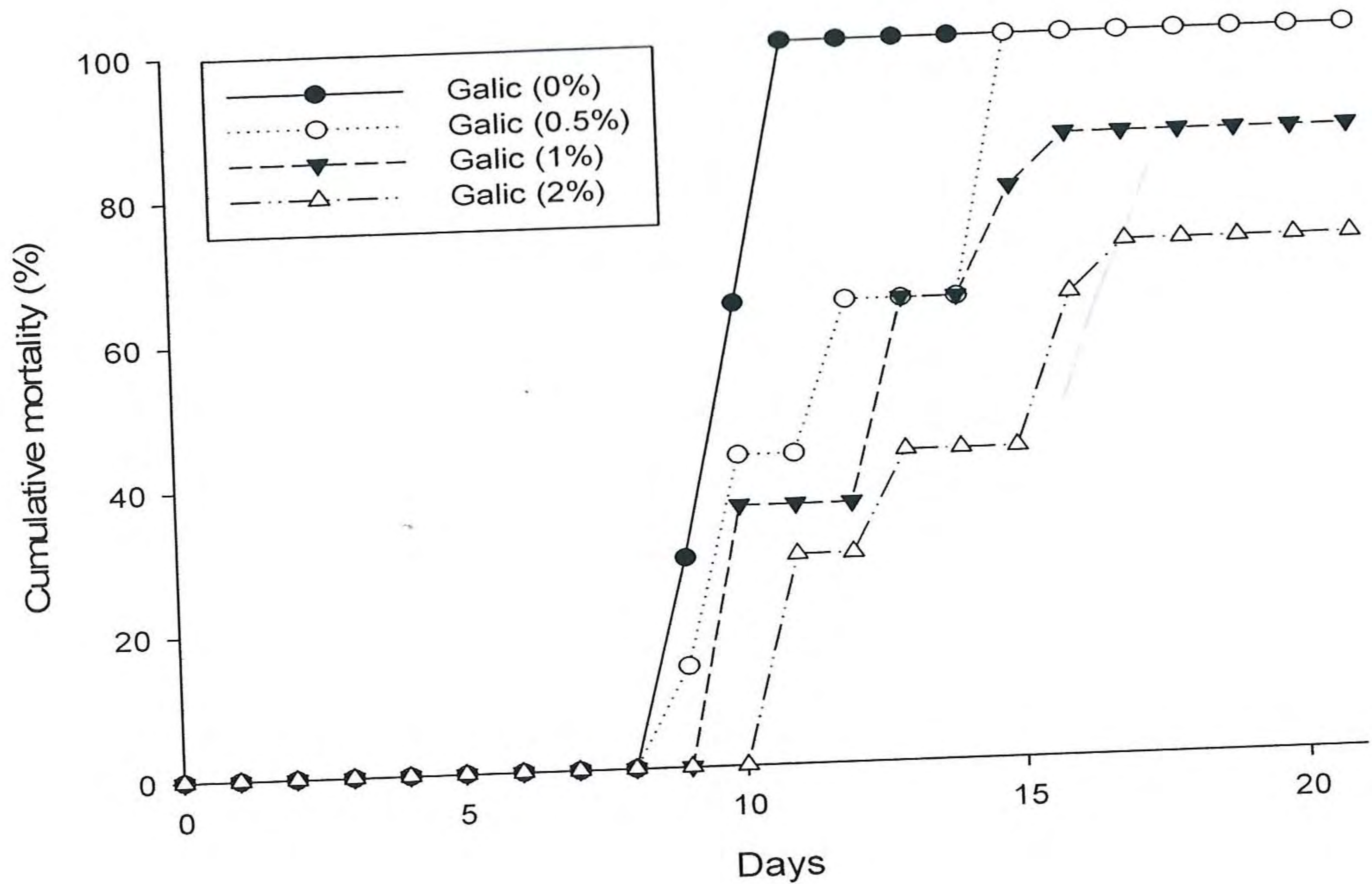


표 3-3. 마늘 액상을 0%, 0.5%, 1% 및 2% 씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, *S. iniae* KCTC3651 (1×10^5 cfu/ml)을 사용하여 침지 공격시킨 넙치 혈청에서의 라이소자임 활성 변화

Groups	0일	1일	4일
Galic 0%	1.6±1.9	28.3±1.5	6.6±1.2
Galic 0.5%	6.3±1.9	27.7±1.7	30.0±0.7
Galic 1%	7.3±1.5	25.7±0.7	13.3±0.9
Galic 2%	12.6±1.3	26.3±1.1	16.6±1.2

④ VHSV (viral hemorrhagic septicemia virus)

VHSV에 의한 감염의 경우, 4 groups 모두에서 공격 후 14일 이내에 100% 누적 폐사하였으며, 대조구에 비하여 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (그림 3-5).

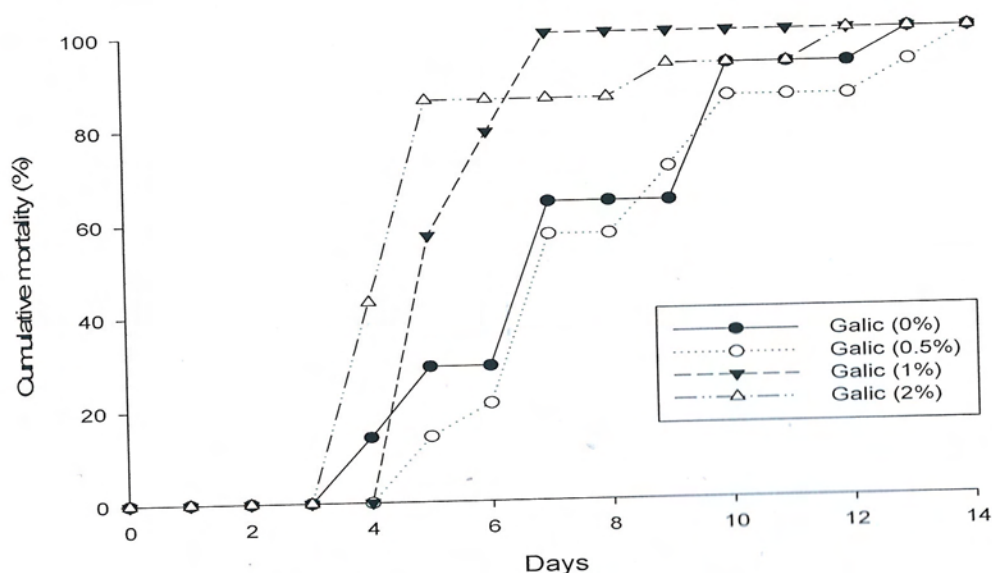


그림 3-5. 마늘 액상을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 8주간 공급시킨 후, VHSV (1×10^5 TCID₅₀/fish)를 복강 주사한 넙치의 누적폐사율 (%).

공격실험을 통한 이러한 결과에서, 비록 VHSV에 대해서는 마늘 급이 넙치의 항병력 증진 효과가 나타나지 않았지만, 넙치에서 발병하는 주요한 어병 세균인 *V. anguillarum*, *S. iniae* 및 *E. tarda* 등을 대상으로 한 실험에서는 마늘 섭취에 의하여 넙치의 항병력이 농도 의존적으로 모두 증가한 것으로 나타났다. 또한, 마늘액상이 첨가된 사료를 8주간 급이한 넙치의 혈청 라이소자임 활성이 마늘 농도의 증가와 비례하여 유의적으로 증가하였으며, 이러한 마늘에 의한

넙치의 비특이적 체액성 면역반응의 상승 결과는 *in vivo*에서의 공격실험을 통한 넙치의 항병력 증진 결과를 뒷받침하고 있다.

(나) 주사법 (복강주사)

*in vivo*에서의 마늘 급이 넙치의 항병력 실험에서 3 종류의 세균 중 *V. anguillarum* 균주에 대한 마늘의 항병력이 가장 높은 것으로 나타났다 (그림 3-2). 이러한 결과를 바탕으로 하여, 마늘 액상을 사료에 첨가하여 12주간 급이시킨 넙치의 항병력 증진 효과를 알아보기 위한 병원성 세균으로서 *V. anguillarum*을 선택하였고, 복강 주사를 통한 인위감염 실험을 실시하였다 (그림 3-6). 그 결과, galic 0% group에서는 공격 후 12일째에 100%의 누적폐사율을 나타내었지만, galic 0.5% 및 1% groups에서는 21일간의 실험기간 동안 각각 80% 및 53%의 누적폐사율을 나타내어 대조구에 비해 마늘을 급이시킨 실험구에서 누적폐사율이 농도 의존적으로 현저히 감소하였으며, galic 2% group에서는 단 한 마리의 폐사도 발생하지 않았다.

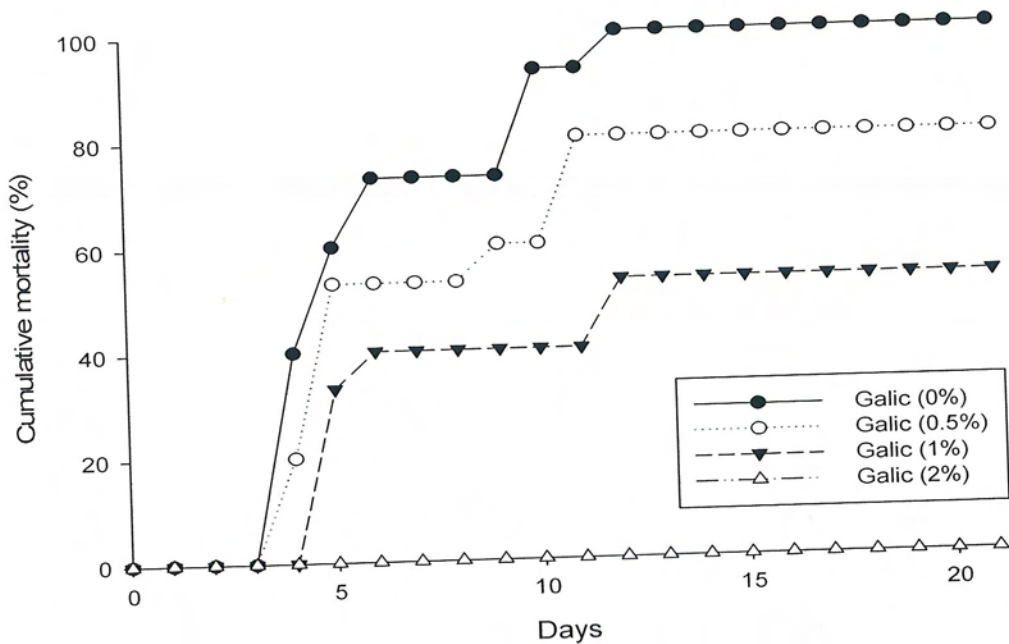


그림 3-6. 마늘 액상을 0% (●), 0.5% (○), 1% (▼) 및 2% (△)씩 사료 내 각각 첨가하여 12주간 공급시킨 후, 복강 주사를 통하여 *Vibrio anguillarum* KCTC 2711 (1×10^5 cfu/fish)으로 인위 감염시킨 넙치의 누적폐사율 (%).

이러한 실험 결과들을 통하여, 마늘이 첨가된 사료를 급이시킴으로써 넙치의 항균력이 현격하게 증진된다는 것을 확인하였고, 이를 활용하여 고품질의 친환경 양식넙치를 생산할 수 있는 기반을 마련할 수 있을 것으로 사료된다.

4. 친환경 유기양식을 위한 기능성 천연 항생제의 현장적용 평가

가. 실험방법

(1) 현장적용에서의 기능성 천연 항생제의 활성 평가

(가) 실험사료제조

실험에 사용된 마늘 발효액은 아쿠아그린텍(주)에서 공급받아 실험에 사용되었으며, 착즙하여 얻어진 마늘액을 바시러스 계통의 고온발효균주에 의하여 일정시간 발효하여 제조한 발효 마늘액을 사용하였다. 2차년도 결과를 바탕으로 양식현장에서는 0.5 - 1.0%의 농도로 사료내 흡착하여 실험사료로 사용하였다. 마늘 발효액 흡착방법은 우선 상업사료에 마늘액상을 0.5 - 1.0%가 되도록 조정하여 상업사료에 침지시켜 상온에서 30분 동안 충분히 흡착할 수 있도록 준비하였다(그림 4-1). 사료는 공급 전까지 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

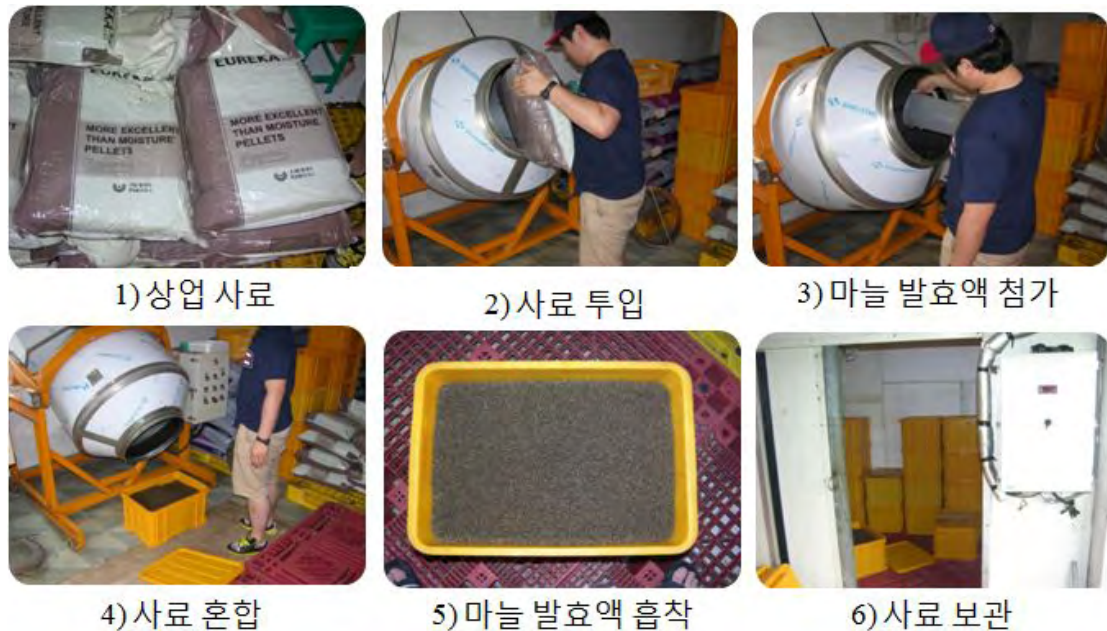


그림 4-1. 마늘 발효액 흡착 사료 제조과정

(나) 실험어 및 사육관리

실험에 사용된 넙치치어는 제주도 내 종묘 배양장에서 제주시 구좌읍 김녕리에 위치한 (주) 제주수산실업으로 운송되어, 약 2주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치(초기평균무게: 8.0 g, 2011년 1월 13일)는 총 4개의 수조(10 m × 10 m)에 각 수조 당 10,000미씩 무작위로 선택되어 배치되었고, 치어가 성장하였을 때 다시 총 10개의 수조(10 m × 10 m : 4개, 9 m × 9.5 m : 6개)에 각 수조 당 4,000미씩 무작위로 선택되어 배치되었다. 사육수는 여과해수와 지하해수를

사용하여 각 수조당 유수량이 동일하게 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용조산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 전 실험기간 동안 평균 수온은 15.6℃에서 21℃ 범위로 자연수온에 의존되었다(그림 4-2). 실험사료는 1일 3회(8:30, 12:30, 17:30)에 나누어서 반복공급을 실시하였다. 어류의 무게측정은 매 6주마다 측정되었고, 측정 24시간 전에 실험어류의 스트레스를 줄이기 위해 모든 실험어를 절식시켰다. 사료공급은 총 11개월 동안 수행되었다 (그림 4-3).

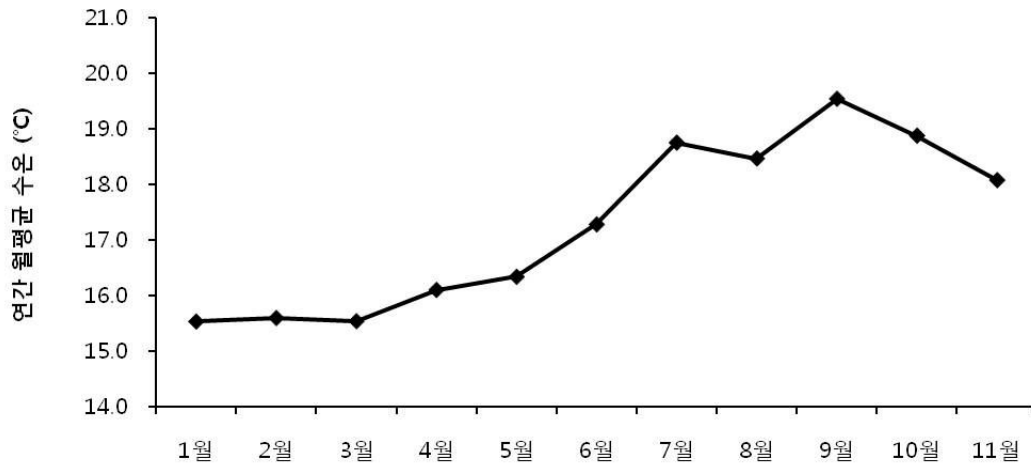


그림 4-2. 평균 수온



그림 4-3. 현장 실험 장소 (제주 수산실업)

(다) 실험사료 분석

실험사료의 일반성분 분석은 AOAC(1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125°C, 3h), 조회분은 직접회화법(550°C, 12h)으로 측정 하였고, 단백질은 자동 조단백 분석기(Kejltac System 2300, Sweden)로 분석하였으며, 지방은 Folch et al. (1959) 의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet Heater System C-SH6, Korea)를 이용하여 분석 하였다.

(라) 혈액학적 분석

혈액학적 성분 분석은 넙치의 미부혈관에서 주사기를 이용하여 혈액을 추출한 뒤 Micro-hematocrit 방법(Brown, 1980)에 의해 헤마토크리트치(Hematocrit, %)를 측정하고, 자동 혈액 분석 장치(ch 100 plus, Daewang metitecq)로 간지수인 AST(Aspartate amino transferase), ALT(Alanine amino transferase), 중성지방(Triglyceride), 글루코스(Glucose), 총 단백질(Total-protein)을 분석 하였다.

(마) 비특이적 면역 분석

① 대식세포 활성(Nitro-blue tetrazolium activity)

혈액(전혈)과 NBT solution (0.2%)을 각각 50 ul 씩 섞은 후 25°C에서 30분 동안 반응시켰다. 반응물 50 ul 를 유리튜브에 옮긴 후 Dimethyl formamide를 1 ml 씩 넣었다. 그 후 2000 rpm으로 5분 동안 원심분리한 후 상층액을 분광광도계(Genesys, series 10 UV, Rochester, NY, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 분석하였다. 이때 blank는 Dimethyl formamide로 하였다.

② Lysozyme activity 분석

혈청 내 라이소자임 분석을 위해 Micrococcus lysodeikticus cell을 이용하여 분석하였다. 0.02 M sodium citrate buffer (pH 5.52)에 동결 건조된 Micrococcus lysodeikticus (Sigma)를 첨가하여 0.2 mg/ml 농도의 현탁액을 제조한 후, 현탁액과 혈청을 10:1의 비율로 혼합 시킨 후, 450 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 24°C에서 한 시간 반응시킨 후 최종 흡광도 값을 측정하였다. Lyophilized hen egg white lysozyme (HELW; Sigma, USA)를 이용하여 standard curve을 구하고 ug/ml로 표시하였다.

③ Myeloperoxidase (MPO)분석

HBSS (Hanks balanced salt solution)용액을 96-well plates에 80 ul 씩 분주한 다음 혈청 20 ul 을 넣었다. 그 후 20 mM TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine hydrochloride) 용액과 5

mM H₂O₂용액을 넣고, 2분간 반응시킨 후 4M H₂SO₄용액을 35 ul 첨가하여 microplate reader (Thermo, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

④ Superoxide dismutase (SOD) 분석

혈청 내 SOD 활성은 superoxide dismutase assay kit (Sigma, 19160)를 이용하여 분석되었다. 96-well plates에 20 ul radical detector를 첨가한 후 실험어의 혈청을 10 ul 씩 넣는다. 그 후 20 ul xanthine oxidase를 첨가하여 20분간 반응시킨 후, microplate reader (Thermo, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

⑤ Thiosulfinates 함량 측정

마늘 발효액에 존재하는 알리신은 매우 불안정하기 때문에 알리신 분석대신 thiosulfinates 함량을 측정하여 마늘 발효액에 존재하는 유용성분의 함량을 알아보려고 하였다. 먼저 마늘 발효액에 존재하는 thiosulfinates 함량을 측정하기 위해, 50 mM Hepes buffer (pH 7.5)와 20 mM cysteine을 혼합하여 cysteine solution을 만들었다. 이 solution 5 ml에 마늘 발효액 1 ml을 반응시킨 후, 반응액 1 ml을 99 ml의 증류수와 교반시켜주고, 4.5 ml diluted solution과 1.5 mM DTNB 0.5 ml을 첨가하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank로는 위와 동일한 방법 중 마늘 발효액 1 ml 대신 증류수 1 ml를 첨가하여 실험을 진행하였다. 마늘 발효액 흡착사료를 먹인 넙치 근육내에 존재하는 thiosulfinates의 함량을 구하기 위해서 다음과 같은 방법으로 샘플을 제조하였다. 마늘 발효액을 먹은 넙치 근육을 얻어 10,000 rpm, 4℃에서 30분간 원심분리하여 상층액은 제거한다. 남아있는 넙치 근육에 100% Methanol을 30 ml 첨가하여 균질화시킨 후 다시 10,000 rpm, 4℃에서 30분간 원심분리하여 상층액을 샘플로 사용하였다.

$$\text{계산식 : Thiosulfinates contents (mmol/ml)} = (\text{absorbance} \times 100) / (2 \times 14150)$$

(바) 통계학적 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized design)을 실시하고, 성장 및 분석결과는 SPSS (Version 11.0) 프로그램을 이용하여 Student's t-test ($P \leq 0.05$)로 비교하였다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타낸다. 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석하였다.

나. 실험결과

(1) 현장적용에서의 기능성 천연 항생제의 활성 평가

(가) 실험사료분석

실험에 사용된 사료의 일반성분 분석은 AOAC(1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125°C, 3h), 조회분은 직접회화법(550°C, 12h)으로 측정 하였고, 단백질은 자동 조단백 분석기(Kejlttec System 2300, Sweden)로 분석하였으며, 지방은 Folch et al. (1959)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet Heater System C-SH6, Korea)를 이용하여 분석 하였다(표 4-1).

표 4-1. 마늘 발효액 흡착사료의 일반성분 분석표

일 반 성 분	함 량 (%)
단백질	45
지방	6
회분	16
섬유질	5
칼슘	1.5
인	2.7

(나) 성장률(증체율) 및 폐사율

기능성 배합사료의 현장 적용(양식장) 평가 실험을 위하여 제주수산실업에서 실험을 진행하였고, 총 11개월간 마늘 발효액 첨가 사료를 급여한 넙치의 무게를 측정하여 성장률을 구하였다(그림 4-4). 처음 초기의 평균 어체중은 8.0 g이었으나 11개월 동안 마늘 발효액 첨가 사료를 급여하였더니 11개월이 끝나는 시점인 11월 달에는 평균 어체중이 610.0 g으로 성장률이 다소 떨어지는 결과를 나타냈다. 이는 마늘 발효액 첨가 사료를 급여 시 넙치의 콜레스테롤과 중성지방을 낮춰주는 작용을 하기 때문에 상대적으로 성장률이 낮아지는 결과를 초래한 것으로 사료된다. 또한 치어기 때는 사료 섭취 능력이 떨어지기 때문에 사료 섭취를 용이하게 하기 위하여 사료계수를 증가시켜서 공급하였다. 성어기에 접어들면서, 넙치의 사료 섭취 능력을 감안하여 사료계수를 적절한 수준으로 줄여 줌으로서 배출수의 오염을 최소화 하였다.

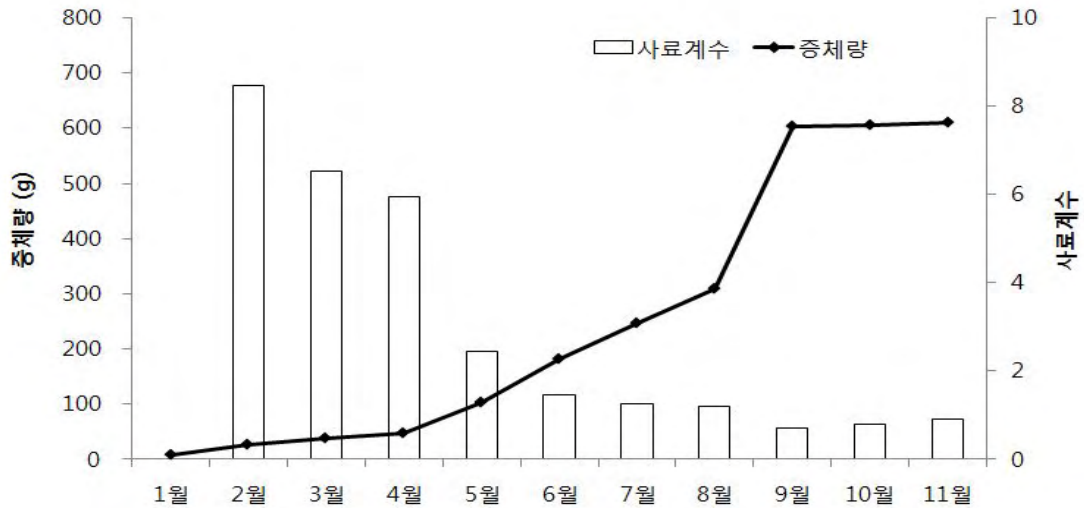


그림 4-4. 마늘 발효액 첨가 사료를 급이한 넙치의 성장률 및 사료계수

현장실험(제주수산실업 양식장)을 진행함에 있어 1월 14일날 치어 50,000마리를 입식하였는데, 연구기간이 12월부터 시작되기 때문에 해수온도가 매우 낮아 치어의 입식이 어려웠고, 저온현상으로 5월 중순까지 해수온도가 15℃에 머물렀다. 따라서 3월에 저수온증에 의한 스트레스로 면역력이 저하되어 활주 및 스쿠티카 질병이 발생하여 대량 폐사가 발생하였다 (그림 4-5). 마늘 발효액 첨가 사료를 꾸준히 투입하고 천연항생제 (넥스칸 등)을 주기적으로 사용하였다.

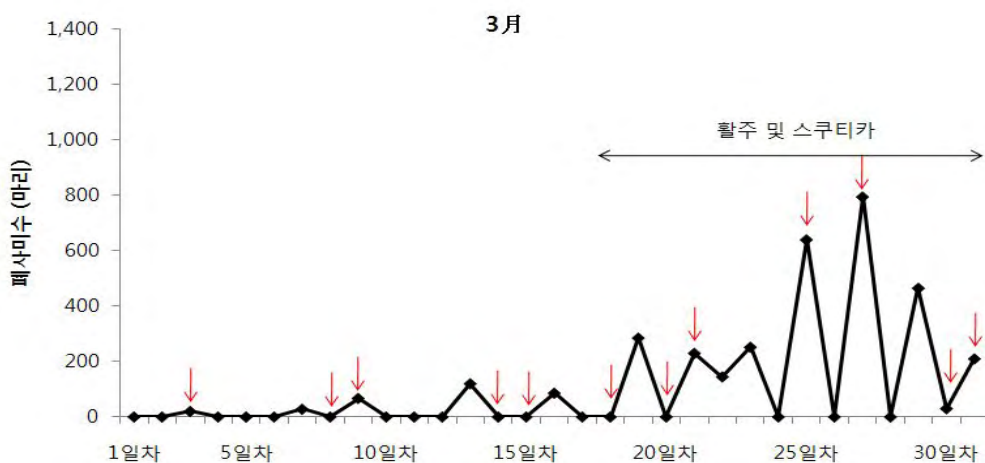
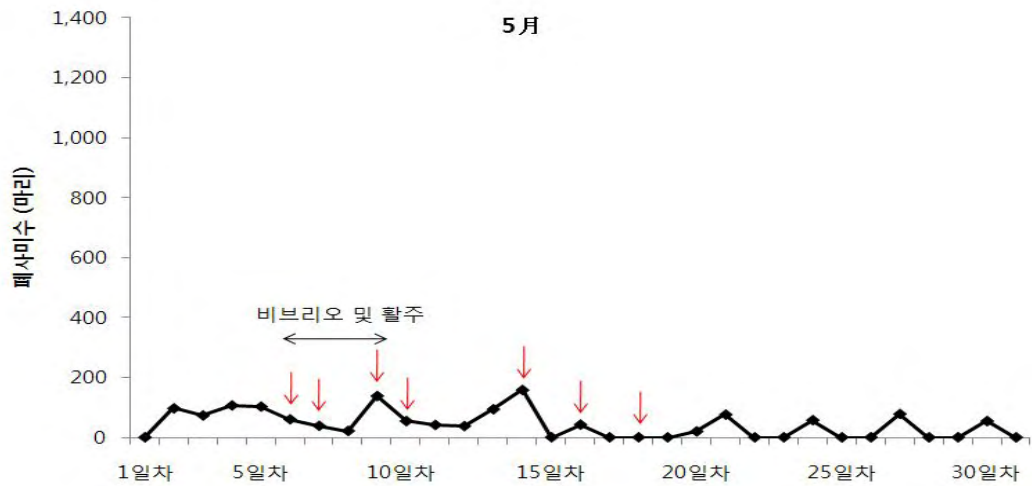
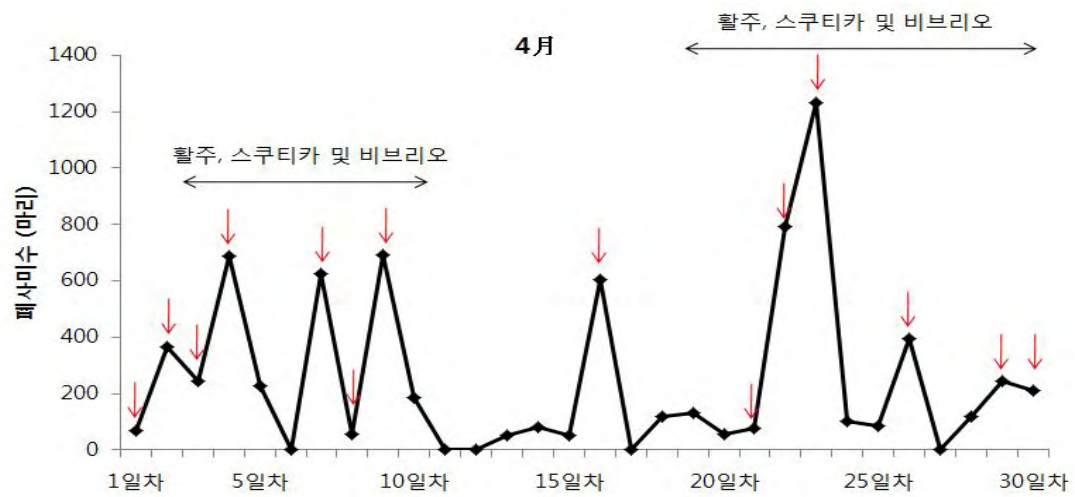
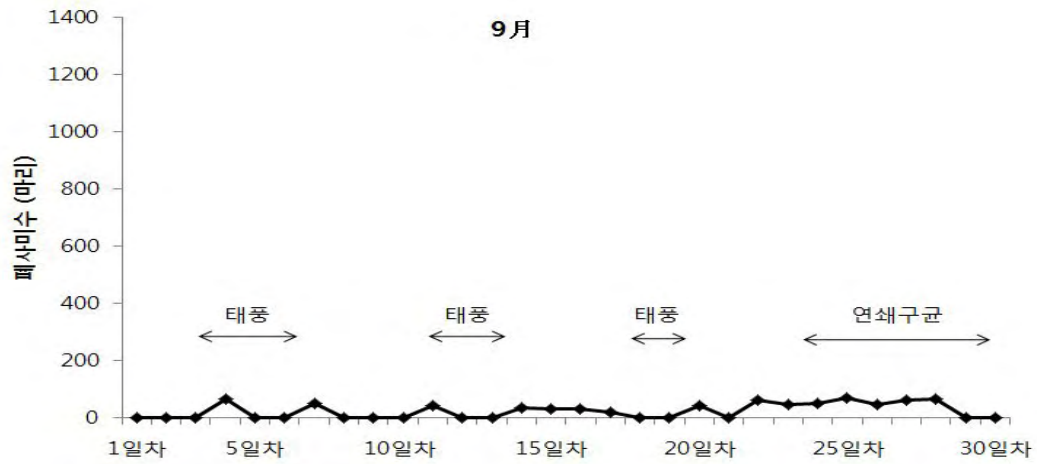


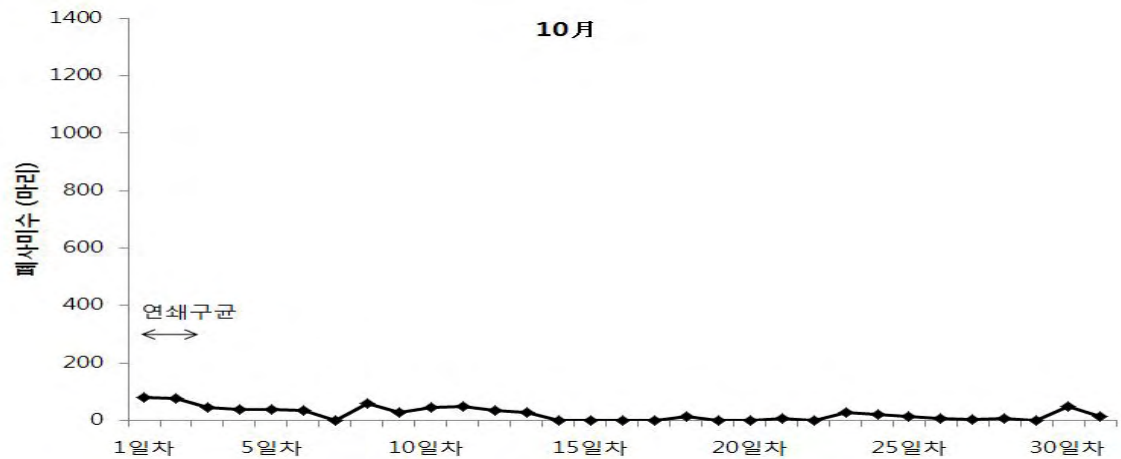
그림 4-5. 저수온으로 인한 활주, 스쿠티카 및 넙치 치어 대량 폐사



4월과 5월 달에는 활주세균, 비브리오균 및 스쿠티카충으로 인하여 대량폐사가 있었다. 하지만 천연항생제로서 기능이 우수한 넥스칸과 마늘 발효액 첨가 사료를 병용하여 치어의 면역력을 증가시켜 점차적으로 폐사율을 줄일 수 있었다.



9월 달에는 직, 간접적으로 태풍이 3 차례나 와서 태풍의 영향으로 폐사가 일어나게 되었다.



10월에는 폐사율이 확연히 줄어든 것을 확인할 수 있다. 이는 마늘 발효액 첨가사료 및 천연 항생제 넥스칸을 사용하여 넙치의 면역력을 증가시켰기 때문이라 사료된다.

폐사율은 월별 폐사율과 누적 폐사율을 측정하여 나타내었다(그림 4-5, 6). 넙치 질병 유발 세균으로 인한 질병에 마늘 발효액 첨가 사료를 급이한 넙치들의 잠재적인 질병 대항 능력을 간접적으로 보여주며, 또한 일반 양식장에서 사용되어지고 있는 항생제 사용량보다 현저하게 적은 항생제 사용으로 질병을 예방할 수 있다는 것을 보여주었다(표 4-2).

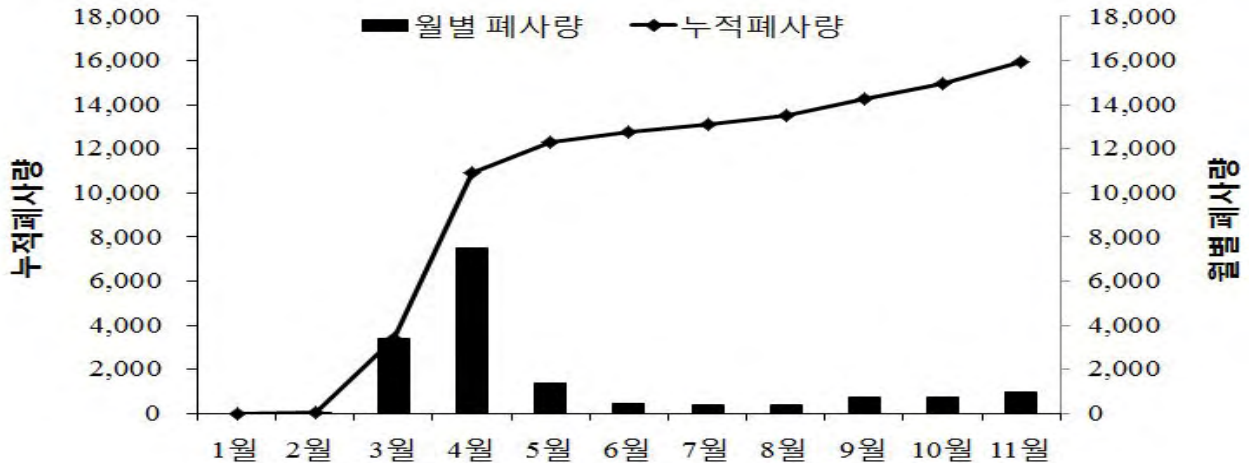


그림 4-6. 마늘 발효액 첨가 사료를 급이한 넙치의 월별 및 누적폐사량

위의 결과들을 살펴보면 3월, 4월, 5월에 폐사율이 6월, 7월, 8월, 9월, 10월, 11월에 비해 상대적으로 많아진 것을 확인할 수 있었지만, 사육실험의 초반기에는 자연폐사와 마늘 발효액 첨가사료에 대한 적응시기로 보아야 할 것으로 판단된다. 또한 누적 폐사율에서도 3월, 4월, 5월에 있었던 폐사율로 인해 증가하는 경향이 나타났으나 31.8% 내외의 낮은 폐사율을 보여, 마늘 발효액을 첨가한 사료를 넙치에 급이하였을 때 면역 증강 및 질병 대항 능력을 길러주는 것으로 생각되어진다.

항생제 사용에 있어서도 일반 양식장에서 사용되어지고 있는 항생제 사용량보다 현저하게 적은 항생제 사용으로 질병을 예방할 수 있었음을 확인할 수 있었고, (주) 바이넥스에서 구입한 천연 약육제를 병용함으로써 어병발생시 효과적으로 대처할 수 있었다. 항생제의 월별 사용량(표 4-2)을 살펴보면 3월에서 5월까지 천연 약육제와 항생제의 사용량이 늘어난 것을 확인할 수 있는데, 앞에서 설명했듯이 사육실험의 초반기에는 자연폐사와 마늘 발효액 첨가사료에 대한 적응시기이기 때문에 마늘 발효액의 효과가 나타나지 않은 것으로 생각되어진다. 9월에서 11월에도 항생제 월별 사용량이 늘어나는 결과를 보여주었다. 이는 9월 달에 3 ~ 4개의 태풍과 9월 이후 11월까지 급격한 수온 변화로 질병이 발생하고 이로 인해 항생제 사용량이 증가하게 되었다.

표 4-2. 실험에 사용되어진 항생제 월별 사용량

	넥스칸 (ml)	펄목시 (g)	로렉신 (ml)	OTC (g)
1월	600			
2월	1,400			
3월	4,300		4,400	6,000
4월	5,000		1,920	1,700
5월	5,200			
6월	2,000			
7월				2,000
8월				
9월		10,500		
10월		33,000		
11월		21,000		
총 합계	18,500	64,500	6,320	9,700

(다) 혈액학적 분석

양식장에서 마늘 발효액 첨가 사료를 11개월 동안 급여한 넙치의 혈액학적 분석결과는 표 4-3에 나타내었다. 적혈구의 용적백분율을 나타내는 헤마토크리트 수치의 경우 타 양식장(대조구)의 넙치와 비교하였을 때 헤마토크리트 수치가 높은 값을 나타내었으나, 유의적인 차이를 보이지 않았다. 헤모글로빈 또한 대조구보다 낮은 함량을 보였으나, 유의적인 차이를 보이지 않았다. 간 손상의 지표로 활용되는 AST, ALT의 경우 간세포의 손상이 많으면 이에 비례하여 수치가 증가하게 된다. ALT의 경우 정상적인 넙치의 정상범위는 8 ~ 12 U/L로 대조구와 마늘 발효액 급여 넙치의 수치가 이 범위에 크게 벗어나지 않았으며, 대조구에 비해 유의적으로 낮은 수치를 보였다. AST의 경우도 일반적인 범위가 39 ~ 51 U/L로 대조구와 마늘 발효액 급여 넙치의 수치가 정상범위에 속하였으며, 대조구에 비해 유의적으로 낮은 함량을 나타내어 마늘 발효액 급여에 따라 간 손상 정도가 낮아지며 간 기능의 활성증대를 가져오는 것으로 판단된다. 간 기능 활성 증대는 생리적인 활성 증대와 외부 스트레스 및 독성적요에 대한 내성이 커지므로 어체의 건강도의 지표로 활용할 수 있다. 따라서 마늘 발효액의 첨가는 간 기능의 개선을 통하여 넙치의 생리적 활성 증대를 유발하여 면역기능의 증대를 가져오며 이를 통하여 성장지수의 증대 등 양식산업에 유리한 역할을 담당할 수 있을 것이라 사료된다. 혈청 총 단백질의 경우에는 대조구와 마늘 발효액 급여 넙치의 유의적인 차이점은 없었다. 또한 중성지방의 경우에도 대조구와 마늘 발효액 급여 넙치의 수치가 동일하게 나타났다.

표 4-3. 마늘 발효액 첨가사료 급이 11개월 혈액학적 분석

분석 항목	대조구 (타 양식장)	마늘 첨가구
Hematocrit (%)	27.6 ± 3.36	28.7 ± 2.21
Hemoglobin	6.89 ± 0.96	5.66 ± 0.84
AST (U/L)	22.3 ± 1.21	12.33 ± 6.27
ALT (U/L)	12.8 ± 1.64	6.97 ± 15.6
Total protein (mg/dL)	5.03 ± 0.47	5.02 ± 0.76
Triglyceride (mg/dL)	2.42 ± 0.38	2.42 ± 0.52

이상의 결과를 종합하면, 넙치의 마늘 발효액 섭취에 따라 간 기능이 개선되는 것으로 판단되며, 헤모글로빈, 총 단백질 함량 및 중성지방 함량이 대조구와 비슷하게 나타났다. 이러한 결과는 면역 활성의 증대를 유발할 것으로 판단되며, 또한 마늘 발효액 첨가 사료를 현장에 적용하는데 아무런 문제가 없을 것으로 사료된다.

(라) 비특이적 면역 분석

양식장에서 마늘 발효액 첨가 사료를 11개월 동안 급이한 넙치의 비특이적 면역분석결과는 표 4-4에 나타내었다. 어류에 있어 비특이적 면역반응이 얼마나 증대 되었는지를 가장 잘 반영할 수 있는 필수적인 척도로서 식세포활성(phagocyte activity) 측정이 많이 사용된다. respiratory burst은 어류 건강상태를 확인 할 수 있는 bioindicator 중 하나이며, 현재까지 식세포의 활성을 측정하기 위해 사용되어진 방법은 식균율의 변화, 화학주성 변화 및 호흡폭발의 변화 등이다. Respiratory burst이란 식세포가 식작용 동안 혹은 다른 물질들에 의해서 자극받았을 때 산소 소비량이 증가함과 동시에 O_2^- , OH^- , H_2O_2 와 같은 산소라디칼 (reactive oxygen intermediates, ROIs)을 다량으로 방출하는 현상을 말하며, 이러한 ROIs는 병원체를 죽이는데 매우 중요한 역할을 한다. 이러한 호흡폭발을 측정하는 방법으로 NBT법이 많이 사용되어져 왔으며, 최근 chemiluminescence (CL)법이 일부 사용되고 있다. NBT assay는 Nitro blue tetrazolium chloride와 ROIs의 반응에 의해 보라색의 Formazan을 형성하는 원리로 어류 내 면역세포의 식작용 활성을 측정할 수 있다. 대조구와 마늘 발효액을 급이시킨 넙치의 대식 세포 활성을 비교하여보면 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

표 4-4. 마늘 발효액 첨가사료 급이 11개월 비특이적 면역 분석

분석 항목	대조구 (타 양식장)	마늘 첨가구
NBT activity	0.91 ± 0.08	0.91 ± 0.20
Lysozyme activity	29.5 ± 2.92	19.4 ± 5.46
MPO activity	0.92 ± 0.10	1.45 ± 0.25
SOD activity	49.7 ± 3.8	77.9 ± 10.9

라이소자임은 세균벽의 N-acetylmuramic acid와 N-acetylglucosamine 사이의 β-1,4 결합을 분해하여 세균을 사멸시키는 효소로 그람 양성균의 세포벽에는 직접작용하고, 그람 음성균에 대해서는 항체와 보체의 작용을 증가시켜준 후에 펩티도글리칸 층을 분해시킨다. 실험 결과 lysozyme 활성에 있어서 마늘 발효액을 급이시킨 경우가 대조구에 비해서 유의적으로 낮은 활성을 나타내었다.

미엘로퍼옥시다아제(MPO)는 과산화수소를 분해하는 산화 환원효소로 호중구와 단핵 식세포에 있는 헤모 단백질로 염증이 있으면 녹색을 띄게 됨을 이용하여 측정한다. 실험결과 MPO 활성이 대조구에 비해 마늘 발효액 첨가사료를 급이한 넙치에서 높은 활성을 나타내었고, 유의적으로도 차이가 있었다. MPO 활성이 높다는 것은 세균이 침입하게 되면 pathogen을 공격하여 항균작용을 하게되므로 외부물질에 대한 잠재적 저항성이 높을 것으로 사료된다.

항산화 효소인 SOD의 활성에 있어서도 대조구에 비해 높은 수치를 나타내었으며, 유의적인 차이를 가졌다. 항산화효소의 활성은 외부의 스트레스 등에 대한 내성을 증대할 수 있을 것으로 생각되어진다. 따라서 현장에 마늘 발효액을 적용할 경우 양식장에서 흔히 사용하고 있는 영양제 및 기능성 사료 첨가제와 대등하게 사용할 수 있을 것이라 사료되어진다.

(마) Thiosulfinates 함량 측정

마늘 발효액에 존재하는 알리신은 매우 불안정하기 때문에 알리신 분석대신 thiosulfinates 함량을 측정하여 마늘 발효액에 존재하는 유용성분의 함량을 알아보고자 하였다. 생마늘에 존재하는 thiosulfinates의 함량과 마늘 발효액 및 넙치에 급이시킨 경우 넙치 체내에 존재하는지를 비교하기 위하여 생마늘의 thiosulfinates 함량을 측정하였다. 생마늘이 9.417 ± 0.75 umol/ml로 가장 많은 함량을 가지고 있었고, 마늘 발효액 또한 8.198 ± 0.725 umol/ml로 높은 함량을 나타냈으며 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 마늘 발효액 첨가 사료를 급이한 넙치의 근육에서도 0.048 ± 0.002 umol/ml로 thiosulfinates 함량을 확인하였으며, 이를 통해 thiosulfinates가 넙치의 체내로 흡수되어 넙치의 비특이적 면역에 영향을 미치는 것이라 생각되어진다(표 4-5).

표 4-5. Thiosulfinates 함량

($\mu\text{mol/ml}$)	생마늘 액	마늘 발효액	대조구	마늘 첨가구
총 thiosulfinates	9.417 ± 0.75	8.198 ± 0.725	0.002 ± 0.000	0.048 ± 0.002

(2) 양식넙치 사육을 위한 현장실험을 통하여 얻어진 결론

(가) 넙치의 현장실험에서의 문제점들

① 양식장 임대 어려움

일반양어장에서는 다른 사람들과의 공동사용을 꺼리고 있기 때문에 임대를 해줄려고 하지 않음. 간혹 임대를 허용하는 양어장에서는 양식환경이나 시설이 부적합하여 적절한 양식이 이루어지기 어려운 곳임.

② 임대양어장에서 치어동 사용

본 현장실험을 위하여 임대한 양어장에서 양성동을 임대해 주지 않아 치어동에서 사육하여 양성하기에는 적절하지 않음.

③ 양식장 일부 임대에 의한 자유로운 관리어려움

본 현장실험에서 시험한 양어장은 약 2000평 규모이며, 이중에서 약 280평을 임대하여 사용하였기 때문에 양어장 주인의 설정에 맞추어 사육해야 하기 때문에 사육환경이 적절하지 못한 경우가 많음.

④ 치어입식 시기의 부적절

현장적용실험을 시작한 것이 2011년 1월이기 때문에 이 시기는 치어가 생산되지 않는 시기로서 입식할 치어를 확보하는데 매우 어려움을 겪었음. 따라서 치어의 크기나 건강도에 관계 없이 입식할 수 밖에 없는 실정이었음.

⑤ 사료급이 횟수 제한

24시간 상주인력이 없는 관계로 사료급이 횟수를 충분히 늘릴 수 있기가 어려움. 특히 치어 시기에 하루 4회 사료급이가 어려움.

⑥ 이상 저온 현상

2011년도 해수의 이상저온 현상과, 사용한 임대 양어장의 높은 지하수 비율로 인하여 연중 사육수의 온도가 20도 이하였으며, 특히 성장률이 높은 고수온기 (8~11월)에 수온이 적절하지 않을 정도로 낮아 성장률이 낮은 결정적인 원인이 되었음.

(나). 항생제 사용을 감소하는 가장 중요한 요소

- ① 양어장의 청정환경 개선
- ② 배합사료를 사용함으로써 수질관리
- ③ 사육의 적정 밀도 유지
- ④ 수조의 깨끗한 상태 유지 : 수조청소, 특히 수조벽청소
- ⑤ 감염어는 속히 제거
- ⑥ 사육수의 충분한 환수로 인한 충분한 산소공급 및 수조환경 개선
- ⑦ 항생제 대신에 천연항생제 및 영양제의 적절한 사용

(3) 친환경 유기양식에 의한 넙치 생산 매뉴얼 개발

(가) 친환경 유기양식에 의한 넙치 생산에서의 문제점 및 대책

총 3년간의 농림수산물연구개발사업을 수행하면서 나타난 문제(엄청난 기후변화와 해수 온도의 급격한 변화, 이상 저온현상 등과 같은 환경적인 변화)에 대하여 친환경 유기양식 넙치 생산의 문제점 및 대책방안을 제시하고자 한다.

① 연구기간이 12월부터 시작되기 때문에 해수온도가 매우 낮아 치어의 입식이 어려웠다. 즉 치어 입식을 하기 위해서는 해수 온도가 최소 15℃ 이상이 되어야 하지만 이상 저온현상으로 5월 중순까지 해수온도가 13℃에 머물렀다. 따라서 3월에 입식한 치어는 저수온증에 의해서 발생하는 VHS 바이러스 질병이 발생하여 대량 폐사가 발생하였다 (그림 4-7).

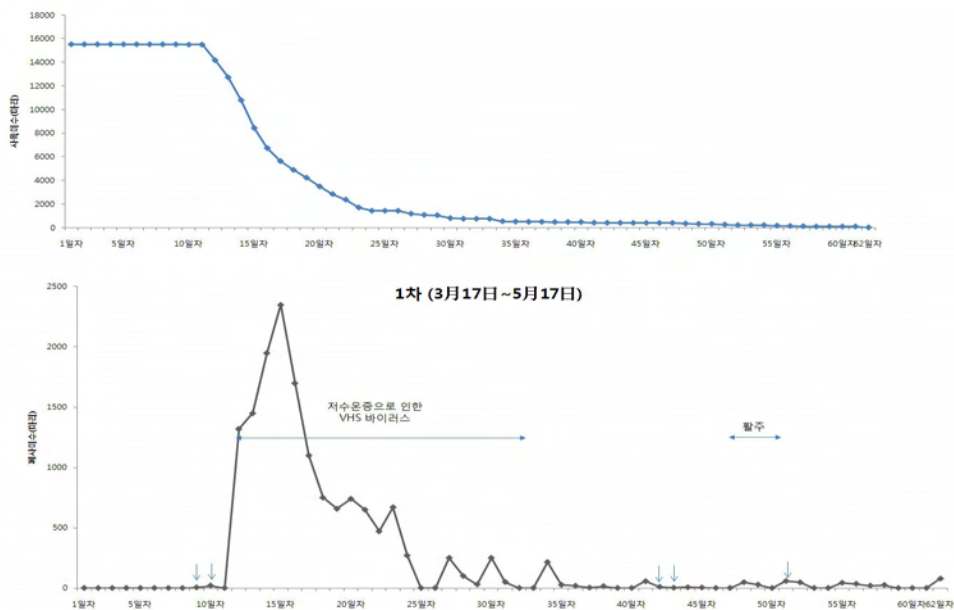


그림 4-7. 저수온으로 인한 VHS 바이러스 발생 및 넙치 치어 대량 폐사

대책 1 =» 치어의 입식 시기는 해수의 온도가 적정한 3~4월경에 입식을 해야 하며, 이때 입식 3~4개월 이후인 6월~7월경에는 치어의 면역력이 향상될 수 있는 최소한 200~300 그램 내외의 어체중을 가질 수 있기 때문에 폐사율이 낮을 것으로 판단되어진다. 또한 치어 때부터 마늘과 같은 면역증강소재를 지속적으로 사료에 첨가하여 치어의 면역력을 높이는 것이 필수적이라 생각되어진다. 그림 4-8에서 보면 비브리오균에 의해서 유발되는 어류질병에 대하여 마늘 첨가가 폐사율을 유의적으로 감소시키는 것을 확인할 수 있다.

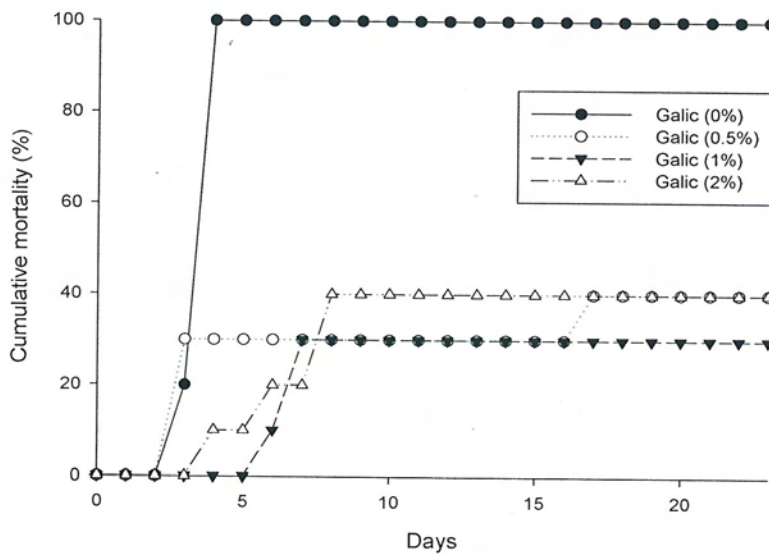
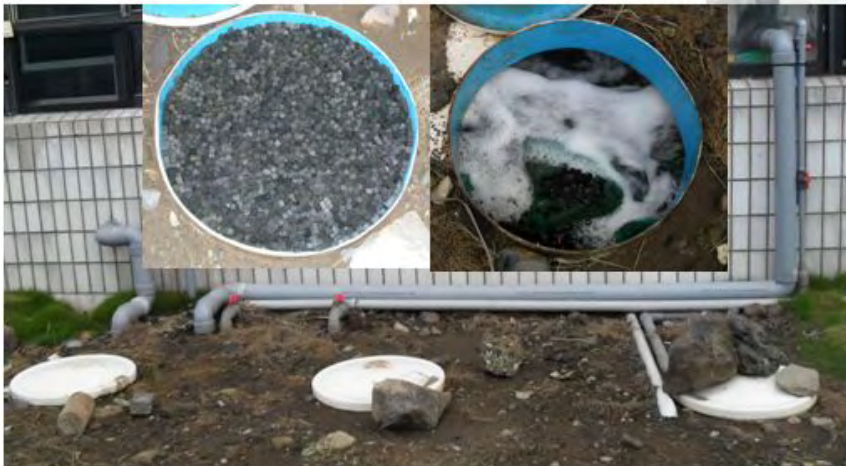


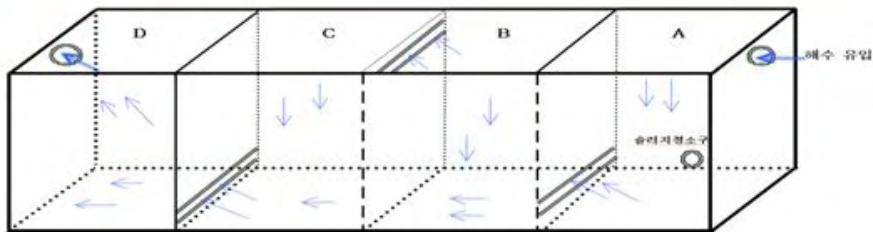
그림 4-8. 마늘 급이 넙치의 비브리오 세균에 대한 항병력 결과

대책 2 =» 치어는 면역력이 약하기 때문에 외부환경에 의해서 매우 민감하게 반응하게 되며, 특히 온도나 질병에 매우 취약하기 때문에 쉽게 대량 폐사가 일어난다. 따라서 순환여과수조를 사용하여 해수의 온도를 적정 온도로 유지시키게 되면 언제나 치어의 입식이 가능하며 보다 좋은 환경에서 사육이 가능하다. 단, 순환여과수조에 의한 양식을 실시할 경우 반드시 배합 사료를 사용해야 한다.

아래 그림에서 보는 것과 같이 제주대학교 해양과환경연구소에서는 순환여과수조를 이용하여 각종 어류양식어를 사육하는 시스템을 개발하여 시도하고 있으며, 수질환경이 양호하고 어병세균이 제거되어 폐사가 전혀 일어나고 있지 않는 것을 확인하였다. 따라서 현재 제주대학교 해양과환경연구소에서 수행되고 있는 순환여과시스템에 대하여 평면도를 살펴보면 아래 그림 4-9 과 같이 사육조에서 나오는 배출수는 침전조를 거쳐서 상층부분만 생물학적 여과시스템에 들어가게 되고 이것을 바이오피치가 포함된 여과조에서 거쳐 유기질성분과 세균이 제거되어 깨끗한 수질만 환수되어 사육조로 다시 유입되게 된다.



<생물학적 여과 시스템>



- A 구역 : 여과재(바이오피치등)를 2/3 채우고 밑에서 산소주입
- B 구역 : 여과재를 가득채우고 산소주입
- C 구역 : 자외선 살균기
- D 구역 : 정화된 해수탱크(원형하여 수조로 공급)

그림 4-9. 제주대학교 해양과환경연구소 내 순환여과수조

<순환여과 시스템 평면도>

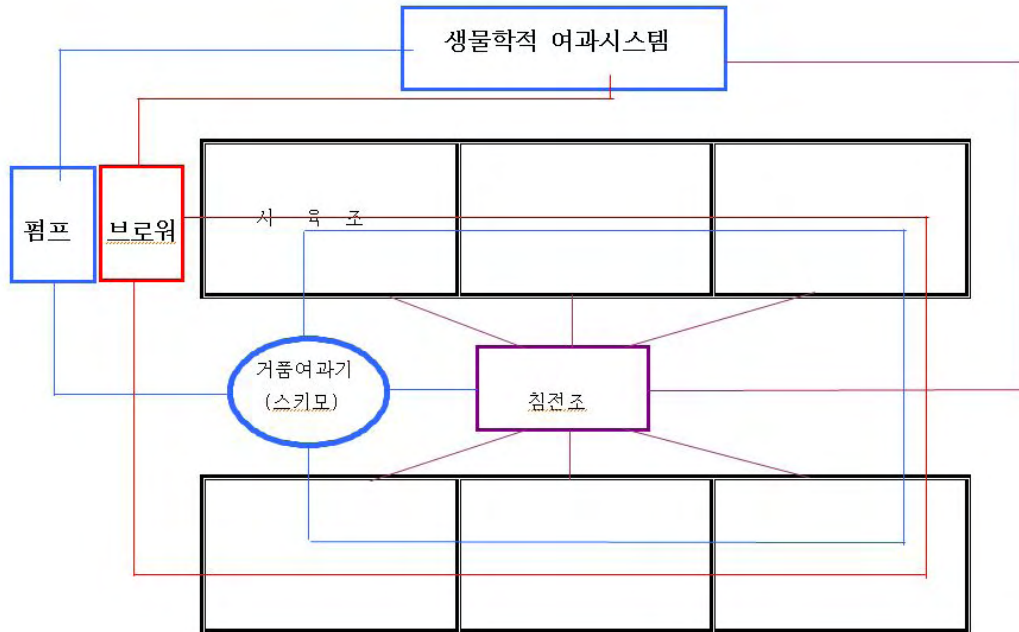


그림 4-10. 제주대학교 해양환경연구소 내 순환여과수조 시스템 평면도

② 친환경 양식의 가장 선결 조건은 수질관리이다.

대책 =» 제주는 청정 해역임에도 불구하고 어병 발생율이 매년 증가되고 있으며, 폐사율도 약 50%에 다다를 정도로 매우 심각하다. 어병발생율과 폐사율이 증가하는 이유는 여러 가지 있으나 그 중에서 가장 중요한 것이 수질오염을 최소화하는 것이다. 현재 제주도는 대부분 생사료(MP사료)를 사용하고 있으며 그 비중은 전체 양식어가의 약 90% 이상이다. 따라서 양식장들이 밀집해 있는 해안가에는 생사료의 유실률이 높아 미생물의 번식하기에 매우 좋은 환경이 되어 다양한 어류 질병 세균이나 바이러스 등이 활발히 증식하여 양식장에 피해를 주고 있다. 따라서 어류양식에 충분한 품질의 배합사료(EP사료)가 보급되는 것을 전제조건으로 해서 많은 양식장들이 EP 사료를 사용하게 되면 점차적으로 EP 사료의 시장이 확대되어 그 품질도 좋아질 것이며, 이렇게 되면 순환여과수조에 의한 양식도 함께 가능하게 되어 어병 발생율을 획기적으로 줄일 수 있다.

③ 친환경 양식에서는 입식초기부터 항생제나 화학약품의 사용을 지향하고 천연 항생제 혹은 면역증강제를 사용해야 한다.

대책 =» 치어의 입식 초기부터 항생제 사용을 지향하고 천연 항생제나 면역 증강제를 사

용해야한다. 양식업에 종사하는 어업인들은 최초 치어를 입식하면서부터 항생제를 사용하는 것을 당연한 것으로 여긴다. 항생제를 사육 초기부터 사용하기 시작하면 어병이 발생하였을 때 좀 더 강력하고 고농도의 항생제를 사용해야 하며, 결국에는 어떠한 항생제도 치료가 되지 않는 지경에 이르게 된다. 현재와 같이 항생제를 오남용을 하면서도 어병 발생율이나 폐사율이 전혀 나아지지 않고 있으며 오히려 증가하고 있다. 사람도 항생제에 많이 노출될수록 항생제 효과를 기대하기 어렵고 더 나아가서는 좀 더 강력한 항생제를 개발하지 않으면 도저히 세균에 이길 수가 없게 된다. 마찬가지로 어류양식에서도 항생제를 약욕이나 주사제로 무분별하게 그것도 치어 때부터 사용하게 되면 항생제의 내성으로 인하여 꼭 항생제가 필요할 때 효과를 보기가 어렵다. 따라서 입식 초기에 건강상태가 좋지 못하거나 선천적으로 약한 치어들은 결국 죽게 되고 그동안 면역증강제로 투여하여 일정기간의 사육 이후에 생존하고 있는 양식어는 대부분 건강하고 면역력이 강한 것들이기 때문에 항생제나 화학약품을 극히 제한적으로 소량 사용하여도 효과를 극대화할 수 있다.

<항생제 사용없이 사육할 경우 초기 폐사가 발생하여도 폐사미수 점차 감소됨>

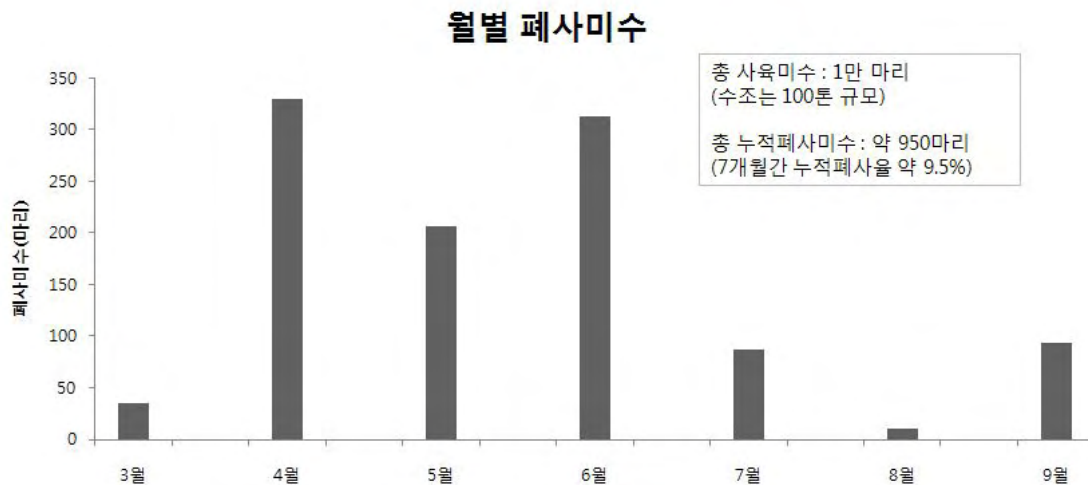
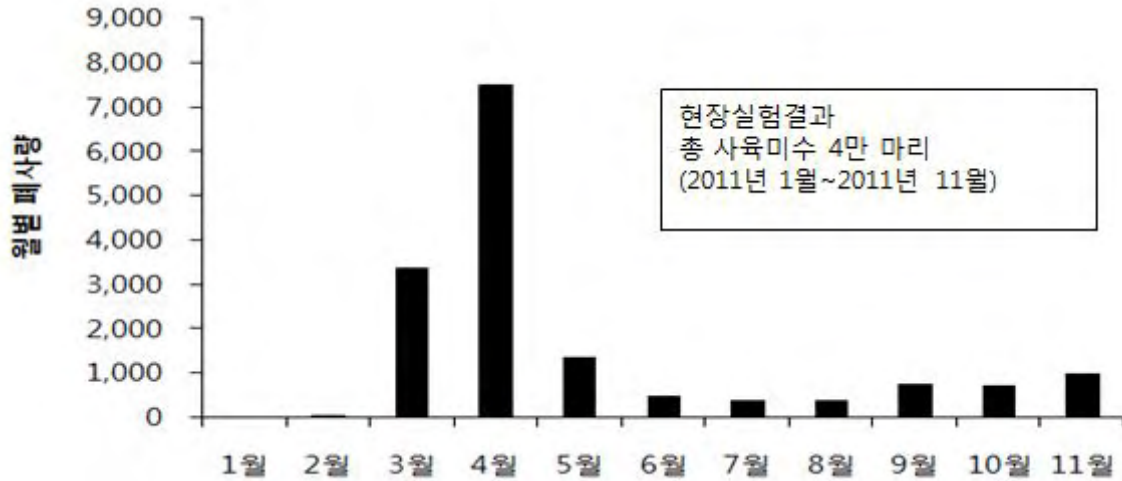


그림 4-11. 항생제 사용없이 사육할 경우 초기 폐사가 발생하여도 폐사 미수가 점차 감소됨을 나타내는 실험 결과

④ 치어 입식 후 어병에 감염되기 쉬운 시기인 8월부터 10월까지인 여름(고수온기)~가을(수온 변화 큼)은 어병 유발 세균, 기생충 및 바이러스의 감염률이 높다.

대책 = >> 친환경적으로 어병에 대체할 수 있는 것은 백신예방과 면역력 증강 방법 뿐이다.



현재까지 양식현장에서 백신을 사용하고 있지만 효과가 낮으며, 다양한 어병세균이나 바이러스에 대한 백신개발의 미진, 그리고 효과적인 백신예방법이 주로 주사법으로 행해지고 있어 치어에 대해서 백신을 처리하는데 있어 어려움이 크다. 특히 현재 백신사용 방법 중 주사법만이 효과적이라는 사실은 백신을 사용할 수 있는 어체중 200~300 그램까지 얼마나 생존율을 높일 것인가가 가장 중요한 문제가 될 수 있다. 이러한 시기에는 마늘과 같은 면역증강제를 꾸준히 투여하고 또 천연항생제 (넥스칸 등)를 주기적으로 사용함으로써 예방이 가능하다. 그림 4-12, 13, 14는 기생충 (스쿠티카, 익티오보드)이나 세균(활주, 비브리오)에 의해 발생하는 어병에 대하여 천연항생제인 넥스칸을 약욕함으로써 어병치료 효과가 나타난 것에 대한 실제 실험 결과이다.

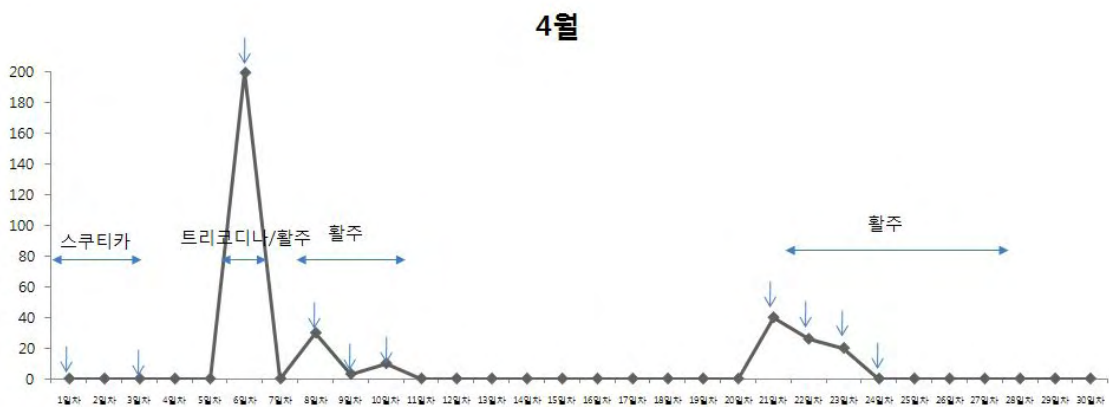


그림 4-12. 넥스칸 약욕에 의한 스쿠티카충 및 활주세균에 의한 어병의 치료효과

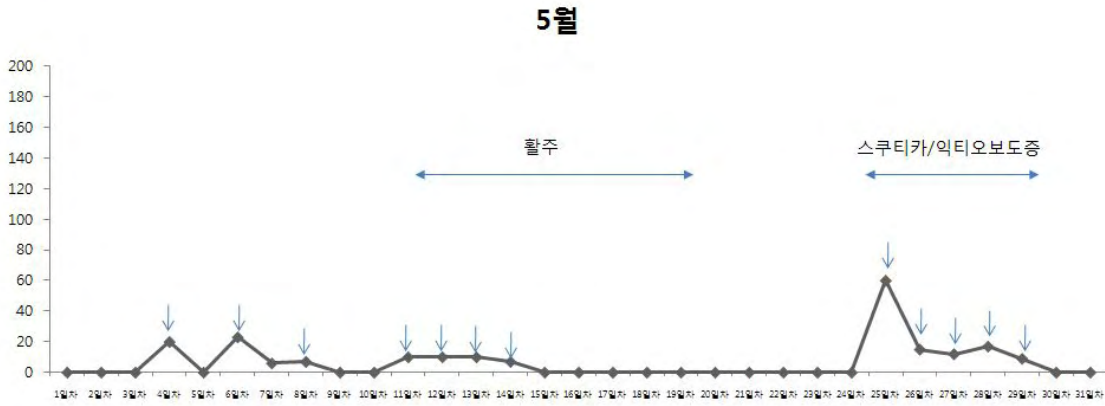


그림 4-13. 넥스칸 약육에 의한 기생충(스쿠티카충/익티오보드) 감염에 의한 어병 치료효과

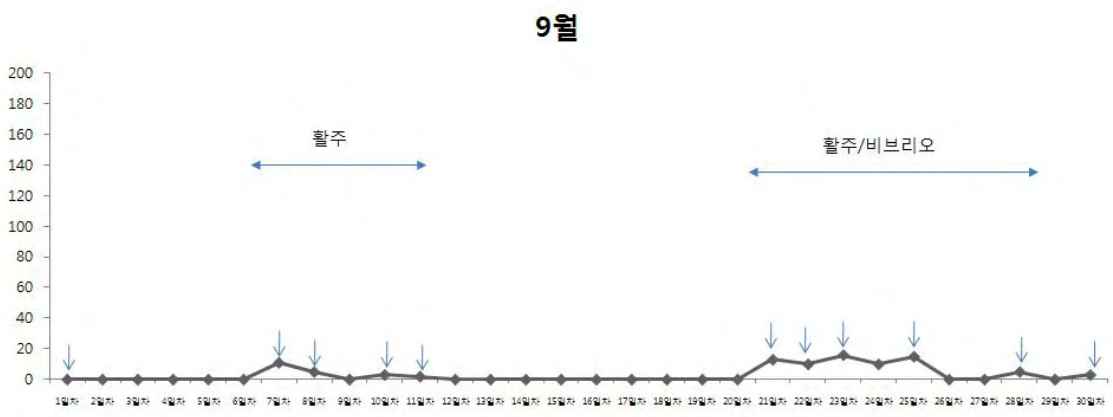


그림 4-14. 넥스칸 약육에 의한 비브리오균 및 활주균/비브리오균 복합감염에 의한 어병 치료효과

⑤ 본 실험에서 사용한 넥스칸은 천연항생제로서의 기능이 우수하여 활주세균, 비브리오균, 스쿠치카충 등에 대한 치유효과는 뛰어나지만, 에드워드균에 의한 어류질병에 대해서는 그 효과가 미비하다.

대책 1 =» 넥스칸을 천연항생제로 해서 사용할 경우 활주세균, 비브리오균 및 스쿠치카충 등에 의해서 발생하는 어병에 대해서는 명확한 효과가 입증되었지만 에드워드균에 의해서 발생한 어병은 제어하지 못하여 어병세균에 의한 넙치질병에 대하여 완벽하게 효과적이지는 못하다. 현재로서는 에드워드균을 제어하기 위해서는 항생제를 사용할 수 밖에 없어 무항생제 넙치를 사육할 수는 없다. 하지만 항생제의 사용량을 최소화함으로써 한 번의 항생제를 사용하더라도 그 효과가 극대화시킬 수 있으면 항생제 내성균 출현을 막을 수 있다.

대책 2 =» 현재까지 어류질병을 친환경적으로 예방 혹은 치료할 수 있는 수단으로는 면역 증강, 천연항생제 및 백신이며 이것만으로는 친환경 유기양식은 가능할 수 있으나 무항생제 넘치생산은 불가능하다. 따라서 순환여과수조를 이용한 양식법을 도입하여 수질환경을 개선하고 어류질병을 제거하며 해수온도를 조절하는 것이 완벽한 친환경 유기양식, 즉 무항생제 넘치 생산이 가능한 유일한 것이라 판단된다.

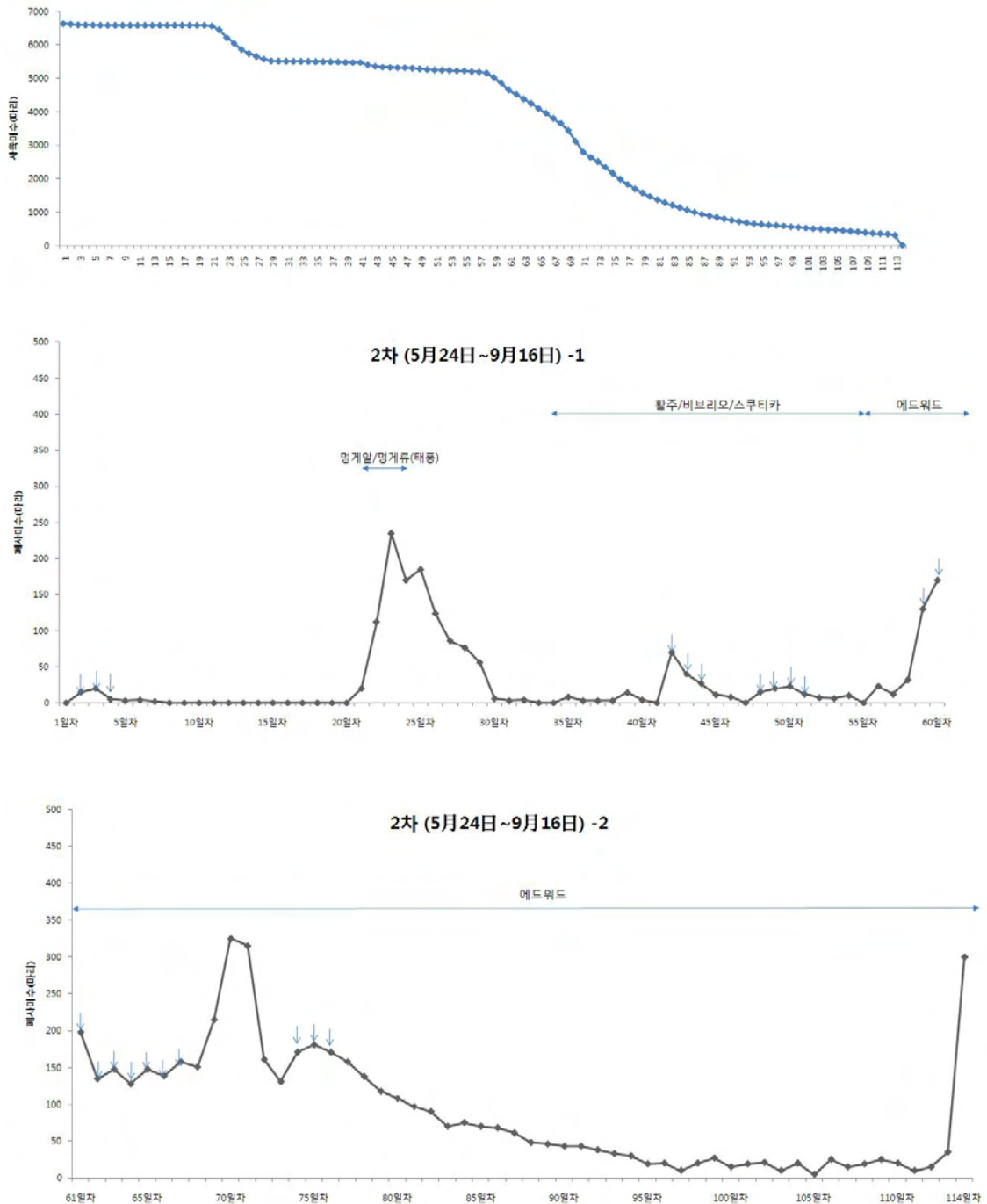


그림 4-15. 에드워드균에 의한 감염은 천연항생제 넥스칸에 의한 효과가 나타나지 않음을 나타내는 실험결과

(나) 친환경 유기양식 넙치를 생산하기 위한 매뉴얼

- ① 양질의 치어를 확보한다.
- ② 넙치 치어는 해수온도가 15℃ 이하일 경우에 입식을 하지 않는다. 저수온증에 의한 VHS 바이러스 감염으로 인한 대량 폐사 가능성이 높다.
- ③ 넙치 치어는 3월경 이후 해수온도가 최소 15℃ 이상은 유지해야 하며, 가능한 지하해수 등을 이용하여 양식장 사육수 온도를 18~24℃로 일정하게 유지한다.
- ④ 넙치 치어 입식은 양성장의 빈 수조에 입식하는 것이 아니라 치어 전용 수조를 청결하게 한 후 입식해야 한다.
- ⑤ 치어는 면역력이 약하기 때문에 입수하는 사육수를 고가수조, 침전조, 자외선살균 등을 처리하여 비교적 깨끗한 상태로 유지해야 한다.
- ⑥ 넙치 치어를 입식한 이후 초기에 무분별하게 항생제를 사용하는 것은 금한다. 다소 폐사가 발생하더라도 항생제나 화학약품을 초기에는 가급적 사용하지 않는다.
- ⑦ 입식 초기의 치어들의 건강상태는 다양하기 때문에 건강이 양호하지 않는 치어들의 일부 폐사는 감수해야 한다. 이때 폐사가 발생한다고 항생제를 사용하게 되면 이후 좀 더 강력하고 고농도의 항생제를 사용해야 효과가 있기 때문에 항생제 사용이 증가될 수 있어 매우 신중해야 한다.
- ⑧ 사료는 생사료를 사용하는 것 대신에 배합사료를 사용하여 사육수의 수질환경을 청결하게 유지하고, 배출수의 오염을 줄여 어병 발생율을 낮출 수 있다. 배합사료를 이용할 경우에는 과잉으로 공급하여 넙치가 복수로 인하여 폐사가 발생하지 않도록 교육을 철저히 이수 받은 후 실시한다.
- ⑨ 치어 때부터 면역증강제 (발효마늘)를 사용하여 넙치 치어의 면역능력을 최대한 높인다. 마늘과 같은 사료첨가제는 항균활성이 높을 뿐만 아니라 혈청이나 피부점막의 라이소자임 활성을 향상시켜 면역활성을 높인다.
- ⑩ 어병이 발생할 경우에 천연항생제인 넥스칸 등을 주기적으로 사용함으로써 항생제를 대신한다. 단, 초기에 무분별한 항생제나 수산용 포르말린을 과도하게 사용하게 되면 천연항생제의 효능이 약하여 기대하는 효과를 얻을 수 없을 경우가 있다. 항생제나 포르말린의 최소 사용은 천연항생제의 효능을 극대화시킬 수 있다.
- ⑪ 천연항생제인 넥스칸은 어병세균 중 비브리오균, 활주세균, 스킨카충 등에 의해 유발되는 어병에는 매우 효과적이며, 항생제를 충분히 대신할 수 있다. 즉, 상기와 같은 어병세균에 감염을 예상하거나 혹은 감염이 되었을 때 마늘첨가사료의 지속적 급이와 항생제 혹은 포르말린의 사용이 제한적일 경우에는 넥스칸을 3~5일간 약육할 경우 효과가 높다.
- ⑫ 하지만 천연항생제인 넥스칸은 에드워드병에는 효과가 미진하기 때문에 이때는 예외로 하

여 항생제 혹은 수산용 포르말린을 처방한다. (현재로서 완벽한 무항생제 넙치 생산은 불가능하지만 최소한의 항생제만을 사용함으로써 항생제 효능을 극대화 시키고 넙치생산을 친환경적으로 생산이 가능함). 항생제나 수산용 포르말린으로 치료한 이후에는 1개월 간의 휴약기를 둔다.

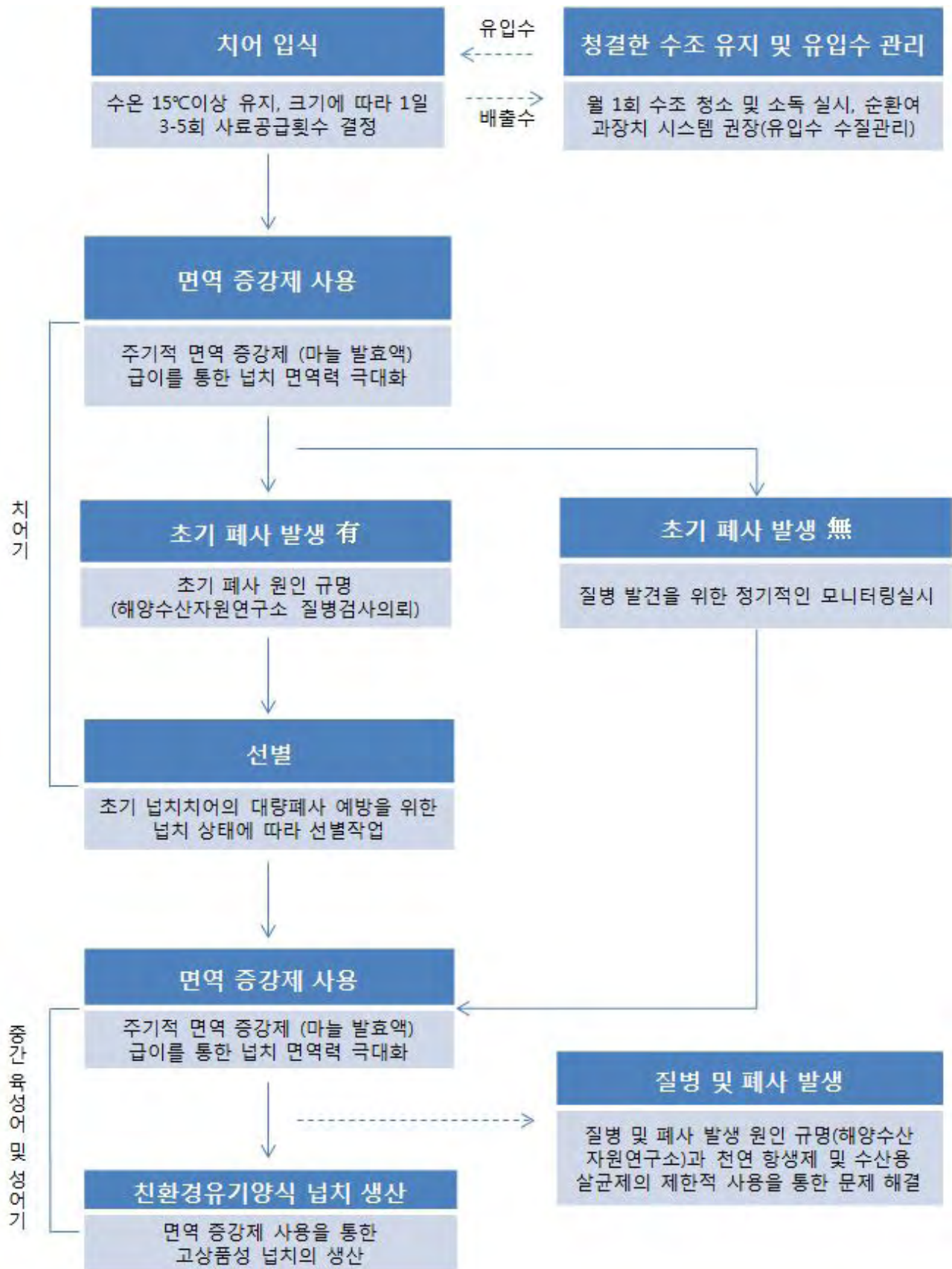
⑬ 수질관리, 해수온도 유지, 치어입식 시기 조절 및 어병세균의 제어 등을 위해서 가장 중요한 것이 순환여과수조를 이용한 어류양식법이다. 순환여과수조에서 사육수를 여과하면서 각종 유기질이나 어병세균을 제거할 수 있어 양식용 수질을 항상 청결한 상태로 유지시킬 수 있을 뿐만 아니라 해수온도를 조절할 수 있어 치어의 입식시기를 조절할 수 있다. 제주도와 같이 지하해수가 나오는 양식조건에서는 순환여과수조가 더욱 더 효과적이다.

⑭ 순환여과수조에 의한 넙치 양식은 초기 치어를 입식한 이후부터 면역이 충분히 갖추어지고 백신 주사제가 가능한 200~300 그램 정도의 어체중이 될 때까지 수행하는 것이 바람직하다. 그 이후 고성장기에서도 계속해서 순환여과수조를 사용하는 것은 생산비용의 상승이 예상되어 일반 양식으로 전환할 수 있으며, 이 때는 비교적 면역이 높은 상태로 어병에 대한 내성이 높고 폐사율은 낮아 일반 양식으로 전환함으로써 비용을 절감하여 경제성을 높일 수 있다.

⑮ 순환여과수조 이외의 조건에서 넙치를 양성할 경우에는 적정 사육밀도를 유지한다. 이때 사육밀도는 각 양어장에서 사용하고 있는 수조의 종류, 모양, 크기 그리고 사육수의 조건에 따라서 달라질 수 있으며, 경제적인 생산성과 어병발생 가능성을 고려하여 결정한다. 넙치의 양성기에 수조의 입식 밀도를 높여 생산성을 높이고자 할 경우에는 순환여과수조를 이용하여 수질을 깨끗한 상태로 유지하여 수행하는 것이 효과적이다.

친환경 양식수산물 생산을 위한 필수 사항

1. 수질관리를 위하여 배합사료 사용을 필수
2. 치어 입식은 적절한 수온 유지 (최소 15 이상)
3. 치어기에 무분별한 항생제 절대 사용 금지
4. 영양제와 천연 항생제 사용 권장
5. 면역 증강제 사용 권장
6. 항생제 주사 사용 절대 금지
7. 폐사 발생시 가급적 빠른 시간에 병어 제거
8. 양어장 수조시설 청결 유지
9. 적절한 활수 유지
10. 주기적인 어병 검사 실시



친환경 유기 양식 수산물 생산 메뉴얼

치어입식 및 양식장 시설 관리

1. 건강한 일정한 크기의 치어 입식
 - 전체적으로 색이 연하면서 체표의 무늬가 뚜렷함
 - 운반 시 청정해수 사용
 - 치어 어체 이상 유무 확인
 - 입식시 총 중량, 전체 마리수 계수
2. 저수온으로 인한 VHSV 바이러스 감염 및 치어기 대량 폐사 방지를 위하여 유입수 수온 온도 15°C 이상 유지
3. 유입수 수질의 체계적 관리를 위해 친환경 순환 여과 장치 시스템 도입권장
4. 사육수심 - 치어기 : 30-60 cm

사육 관리

1. 어류의 스트레스 및 질병 발생 최소화를 위하여 월 1회 수조 청소 및 소독을 실시
 - 기상악화(태풍)로 인한 모래 유입 시 수질오염 우려가 있기 때문에 수시 청소
2. 양식 생산의 체계적 관리를 위해 체중 별 선별 과정을 통하여 사료 효율을 높인다.
 - 총 3회 실시 : 300 g 이상/이하로 선별 후 일정기간 사육
 - 500 g 이상/이하로 선별 후 일정기간 사육
 - 700 g 이상/이하로 선별 후 일정기간 사육
3. 선별주기 - 치어기 : 1회/월, 체중 100 g 이상 : 1회/2-3개월
 선별요령 - 선별 전일 절식
 선별방법 : 크기에 따라 선별망, 손선별
 선별 후 천연항생제(넥스칸 등) 약욕 처리
4. 사료공급
 - 치어입식 직후에는 종묘생산시와 동일한 먹이를 공급하고 서서히 먹이 전환 실시
 - 치어입식후 초기에는 크기에따라 1일 3-5회 공급횟수결정
 - 먹이량은 만복시 80-90% 비율로 공급
 - 기상악화(태풍)로 인하여 스트레스를 받을 경우 절식
5. 계절관리
 - 적정수온 : 18-24°C
 - 하계 : 수온이 28°C 이상 상승시 먹이공급량 조절(먹이 섭취량 저하 및 성장이 되지않고 체중이 줄어듦)
 사육수 환수량 증대
 - 추계 : 먹이섭취량 증대 및 이로 인한 어체 성장 증가로 적정밀도 조절
 - 동계 : 수온이 12°C 이하 하강시 먹이공급량 조절(먹이 섭취량 및 성장률 저하)
 면역증강제(마늘발효액, 종합비타민 및 미네랄 등) 첨가 사료 공급 - 월동기의 관리가 봄철 성장과 생존율에 크게 영향을 미침

친환경 유기 양식 수산물 생산 메뉴얼

천연 면역 증강제 사용량 관리

1. 치어기에는 면역력이 약하므로 질병 감염 및 이로인한 대량 폐사를 예방하기 위하여 마늘 발효액(천연 면역 증강제)을 사료량의 1%로 첨가하여 1일 3회 급여

2. 중간 육성어 및 성어기 시기에도 면역력 유지 및 증강을 위하여 마늘 발효액의 사용량 동일하게 유지(사료 당 1%, 1일 3회)

항생제의 제한적 사용

1. 질병진단
- 사육어 유영상태, 사료섭취 이상 발견, 세균 감염증 및 폐사어 발견시 질병검사의뢰(해양수산자원연구소)

2. 수산양식중 발생할 수 있는 주요질병 (*E. siellatarda*, *S. iniae*, *S. parauberis* 등) 감염시 천연 항생제 (넥스칸 등, 제조사 : 바이넥스)로 1일 1회 약욕
- 투약 및 약욕 개시 전날은 절식
- 정상 사료공급량보다 줄여서 공급

3. 중증 감염 어류는 선별 후 수산용 포르말린을 사용하여 (수량 당 1%) 약욕
- 휴약기간 준수
- 출하시기 고려하여 투약 실시

4. 조기질병 발견을 위한 정기적인 모니터링 실시

5. 제주산 비규격 넙치의 생리활성 탐색(제주 비규격 넙치 근육 가수분해물의 생리활성)

가. 실험방법

(1) 넙치 근육의 일반성분 분석

제주 양식장에서 생산되는 500 g 이하의 넙치 근육을 Fillet 하여 수세 및 동결건조 후 균일하게 되도록 마쇄한 후 -70℃에 보관하면서 사용하였다. 일반성분 분석은 AOAC 법(1990)으로 측정하였으며, 동결건조된 시료를 사용하였다.

(2) 넙치 근육 가수분해물의 제조

넙치 근육 가수분해물은 단백질 가수분해 효소(pepsin, trypsin, α -chymotrypsin, papain, neutrase, alcalse, kojizyme, protamex) 8개를 사용하여 최적pH 및 온도에서 기질 대 효소비 500:1, 시간은 24 hr 동안 가수분해하였다. 단백질 가수분해 효소의 종류로 장내효소 3개(pepsin, trypsin, α -chymotrypsin), 식물유래 단백질 분해효소(papain), 식품용 상업적 효소(neutrased, alcalse, kojizyme, protamex) 4개를 사용하였다. 반응이 끝난 후에는 효소를 불활성화 시키기 위해 100℃에서 10분간 끓이고, pH를 7.0으로 맞춰주었다. 3,500 rpm에서 20분간 원심분리하여 필터한 후에 동결건조하여 -70℃에 보관하면서 시료로 사용하였다.

표 5-1. 단백질 가수분해 효소의 최적 pH 및 온도

효소	pH	온도
Papain	6.2	37℃
Pepsin	2.0	37℃
Trypsin	7.6	37℃
Neutrased	6.0	50℃
Alcalase	8.0	50℃
Kojizyme	6.0	40℃
Protamax	6.0	40℃
α -chymotrypsin	7.8	37℃

(3) 넙치 근육 가수분해물의 최적조건 설정

기질대 효소비 500:1, 24 hr 동안 가수분해시킨 넙치근육단백질 가수분해물의 항산화 및 항고혈압 활성을 측정하여 가장 활성이 뛰어났던 α -chymotrypsin 단백질 가수분해 효소(장내효소)를 선택하여 기질대 효소비율(1000:1, 500:1, 100:1)과 가수분해 시간(6 hr, 12 hr, 18 hr, 24 hr)에 따라 가수분해물을 제조하였다. 반응이 끝난 후에는 효소를 불활성화 시키기 위해 100℃에서 10분간 끓이고, pH를 7.0으로 맞춰주었다. 3,500 rpm에서 20분간 원심분리하여 필터한 후에 동결건조하여 -70℃에 보관하면서 시료로 사용하였다.

(4) 한외여과막을 이용한 가수분해물의 분자량별 분리

넙치 근육 가수분해물의 생리활성은 가수분해물의 분자량 분포에 따라 다르기 때문에 한외여과막을 이용하여 분자량에 따른 분리를 실시하였다. 가장 활성이 우수했던 가수분해물은 MWC(molecular weight cut-off)를 이용하여 5 kDa, 5-10 kDa 및 10 kDa 범위의 분자량별로 분획하여 동결건조한 후, 일정량을 취하여 항산화 및 항고혈압 활성을 측정하여 비교하였다.

(5) SDS-PAGE

단백질 가수분해효소에 의해 넙치 근육이 분해가 되었는지를 확인하기 위해 SDS-PAGE를 실시하였다. SDS-PAGE 겔 조성은 폴리아크릴아마이드 15%의 조성으로 만들었으며, 각각의 가수분해물 20 μ l를 로딩하여 running buffer로 채워준 후 20 mA에서 60 mA까지 순차적으로 전류를 높여주었다. 단백질 크기는 standard marker로 비교하였으며, 전기영동이 끝난 gel은 coomassie blue R-250 염색시약으로 염색하여 단백질 크기를 확인하였다.

(6) 넙치 근육 가수분해물로부터 생리활성 펩타이드의 분리 및 정제

(가) 겔 크로마토그래피에 의한 분리

한외여과막을 사용하여 분자량별로 분리한 가수분해물 중에서 생리활성이 뛰어났던 분자량 5 kDa 이하의 넙치 근육 가수분해물을 겔 크로마토그래피로 분리하였다. 겔 여과용 수지 Sephadex G-25를 충전시켜 증류수로 평형화한 컬럼(2.5 \times 100 cm)에 100 mg/ml의 가수분해물 1 ml를 주입하고, 증류수로 용출(유속, 1.5 ml/min; 분획량, 7.5 ml)하였다. 용출액의 각 분획물은 220 nm에서 흡광도를 측정하고, 동결건조한 후 항산화 및 항고혈압 활성을 측정하였다.

(나) HPLC에 의한 분리

Sephadex G-25 겔 크로마토그래피로부터 얻은 분획물 중에서 활성이 가장 높은 분획물을 0.1% trifluoroacetic acid(TFA/H₂O) 용액에 녹여 HPLC 시료용액으로 사용하였다. HPLC에 사용된 컬럼은 octadecyl sililane (ODS) reverse-phase 컬럼(JAI사, JAIGEL-ODS-BP-A, Size 150 \times 4.6 mm, 5 μ m)을 사용하였으며, 이동상은 0.1% TFA/H₂O와 0.1% TFA/Acetonitrile로 선형상 농도구배법으로 용출(유속 1.0 ml/min)시켜 220 nm에서 흡광도로 측정하여 분획하였다.

(7) 생리활성 탐색

(가) 항산화 활성 측정

① 전자스핀공명흡수분광기 (ESR : Electron spin Resonance Spectrometer)를 사용한 Radical 소거활성 측정

- DPPH free radical 소거활성 측정

DPPH free radical 소거활성은 Nanjo 등의 방법을 이용하였다. 즉, 메탄올에 용해시킨 DPPH 용액(60 $\mu\text{mol/L}$ in methanol)과 넙치근육 가수분해물을 1:1 비율로 ependorf tube(e-tube)에 넣어 잘 혼합시킨 후 2분간 반응시킨다. 반응이 끝나면 100 μL Teflon capillary tube로 옮기고 전자스핀공명흡수분광기 (ESR: Electron spin resonance, JESFA machine, JEOL, Tokyo, Japan)로 측정하였다. ESR 측정 조건은 표 5-2와 같다.

- Hydroxyl radical 소거활성 측정

Hydroxyl radical은 DMPD (5,5-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide)와 결합하여 생성된 DMPD-OH를 ESR spectrometer를 이용해 측정하였다. 넙치근육 가수분해물 20 μL 에 0.3 M DMPD(in 0.1 M phosphate buffer pH 7.4) 20 μL , 10mM FeSO_4 20 μL , 10 mM H_2O_2 20 μL 를 ependorf tube (e-tube)에서 잘 혼합시킨 후 2분 30초 동안 반응시킨다. 반응이 끝나면 100 μL 를 Teflon capillary tube로 옮기고 전자스핀공명흡수분광기(ESR: Electron spin resonance, JESFA machine, JEOL, Tokyo, Japan)로 측정하였다. ESR 측정 조건은 표 5-2와 같다.

- Alkyl radical 소거활성 측정

넙치근육 가수분해물 20 μL 에 증류수 20 μL , 40 mM AAPH(2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride)) 20 μL , 40 mM POBN(α -(4-Pyridyl-1-oxide)-N-tert-butyl nitron)) 20 μL 를 ependorf tube(e-tube)에서 잘 혼합시킨 후 37°C water bath에서 30분간 반응시킨다. 반응이 끝나면 100 μL 를 Teflon capillary tube로 옮기고 전자스핀공명흡수분광기(ESR: Electron spin resonance, JESFA machine, JEOL, Tokyo, Japan)로 측정하였다. ESR 측정 조건은 표 5-2와 같다.

표 5-2. ESR 측정조건

Measurement conditions
Central field 3475 G
Modulation frequency 100 kHz
Modulation amplitude 2 G
Microwave power 1 mW
Gain 6.3×10^5
Temperature 298 K

② Hydrogen peroxide 소거활성

- Hydrogen peroxide 소거활성은 Muller 등의 방법에 따라 수행하였다. 즉, 96 well plate에

0.1 M phosphate buffer(pH 5.0) 100 uL와 넙치근육 가수분해물 100 uL, 10 mM hydrogen peroxide 20 uL를 첨가하여 37°C incubator에서 5분간 반응시킨다. 반응 후 1.25 mM ABTs 30 uL, peroxidase (1 unit/ ml) 30 uL를 넣고 암실 37°C incubator에서 10분간 반응 후 ELISA reader를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(나) 항고혈압 활성 측정

ACE 저해활성 측정방법은 Cushman과 Cheung의 방법을 응용하여 기질인 hippuryl-L- histidyl-L-leucine(Hip-His-Leu)에 ACE가 작용하여 생성된 hippuric acid를 측정하는 방법을 사용하였다. 넙치근육 가수분해물 50 uL (Control과 Blank는 가수분해물 샘플 대신 증류수 50 uL 첨가)에 조효소 ACE 25 mU/ ml 50 uL를 넣고 37°C water bath에서 10분간 반응시킨다. 반응 후 기질 HHL 25 mM 100 uL (Blank는 기질 대신 1 M HCl 0.25 ml를 가하여 효소를 불활성 시킴)를 넣고 다시 37°C water bath에서 1시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후 1 M HCl 0.25 ml (Blank는 제외함)를 가하여 반응을 종결시키고, Ethyl acetate 350 uL를 첨가하여 잘 섞은 후 4,000 rpm에서 10분 동안 원심분리한다. 상층액 200 uL를 취하여 glass tube로 옮기고 80 °C dry oven에서 건조시킨 후 증류수 1 ml를 넣어 섞은 후 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ACE 저해활성은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{저해율(\%)} = (\text{Control-Sample})/(\text{Control-Blank}) \times 100$$

(8) 아미노산 서열 분석

아미노산 서열분석은 Q-TOF mass spectrometer (Micromass, Altrincham, UK)을 사용하여 분석하였다. 분리된 펩타이드를 증류수로 녹인 후 Q-TOF mass 기계에 주입시키면 이온화되어 분자량이 측정되어지는 원리로 측정되었다.

(9) 비교실험

① 마늘을 먹인 넙치 근육 가수분해물의 항산화 활성

전자스핀공명흡수분광기 (ESR : Electron spin Resonance Spectrometer)를 사용하여 Radical 소거활성을 측정하였다. 실험방법은 위의 “(5) 생리활성 탐색-(가) 항산화 활성 측정”에 설명한 내용과 같다.

나. 실험결과

(1) 넙치 근육의 일반성분 분석

제주 양식장에서 생산되는 500 g 이하 넙치 근육을 실험재료로 사용하였으며, AOAC 법(1990)에 따라 측정하였다. 표 41에 이들 양식넙치의 일반성분을 나타내었다. 수분, 조회분, 조단백질 및 조지방은 각각 1.0%, 1.63%, 91.82% 및 5.55%였다.

표 5-3. 제주산 비규격 넙치의 일반성분(건중량)

성분	함량 (%)
수분	1.00 ± 0.01
조회분	1.63 ± 0.14
조단백질	91.82 ± 1.37
조지방	5.55 ± 1.29

(2) 넙치 근육 가수분해물의 제조

단백질 가수분해 효소(pepsin, trypsin, α-chymotrypsin, papain, neutrase, alcalase, kojizyme, protamex) 8개를 사용하여 기질 대 효소비는 500:1, 가수분해는 24 hr 동안 진행하였다. 단백질 가수분해 효소의 종류로 장내효소 3개(pepsin, trypsin, α-chymotrypsin), 식물 유래 단백질 분해효소(papain), 식품용 상업적 효소(neutrase, alcalase, kojizyme, protamex) 4개를 사용하였다. 대조구로는 물 추출물과 비교하였다. 단백질 가수분해 효소로 가수분해 한 결과 물 추출물 수율이 9.13%인 것에 비해 효소 가수분해물은 38.74% ~ 61.71%로 높은 수율을 나타내었다(그림 5-1). 그 중에서도 Neutrase, α-chymotrypsin, Alcalase 및 Protamex는 각각 54.73%, 56.6%, 59.92%, 61.71%로 가장 높은 수율을 나타내었다. 또한, 총 단백질 함량에서도 물 추출물이 49.02 mg/g인 것에 비해 효소 가수분해물은 4배 이상의 총 단백질 함량을 나타내었다(그림 5-2). 그 중에서도 특히 Typsin과 α-chymotrypsin이 각각 301.50 mg/g과 446.51 mg/g으로 가장 높은 총 단백질 함량을 나타내었다. 따라서 효소 가수분해물이 물 추출물에 비해 월등한 가수분해 능력을 가지고 있고, 효소를 이용한 것이기 때문에 안전성에 문제가 없어 이용가치가 높을 것으로 생각되었다.

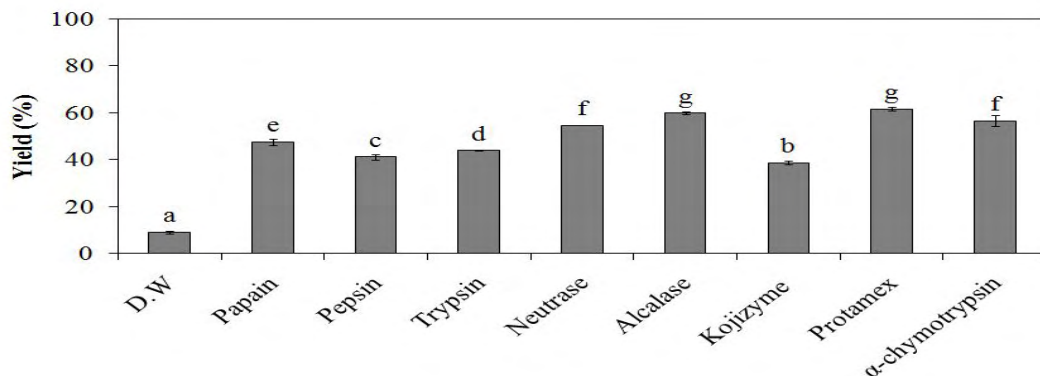


그림 5-1. 넙치 근육 단백질 가수분해물의 수율

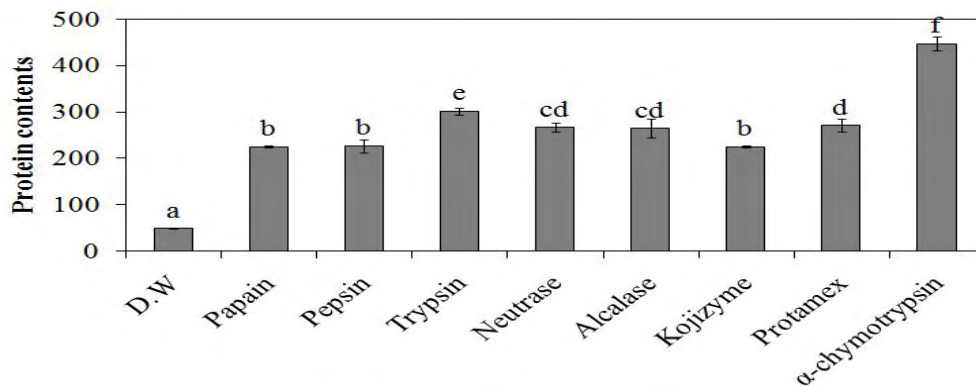


그림 5-2. 넙치 근육 단백질 가수분해물의 총 단백질 함량

(가) SDS-PAGE

단백질 가수분해 효소에 의해 가수분해가 되었는지를 확인하기 위해 SDS-PAGE를 통해 단백질 패턴을 확인하였다(그림 5-3). 물 추출물의 경우 가수분해가 일어나지 않아 단백질 사이즈가 큰 쪽에 몰려있는 것을 확인할 수 있었고, 가수분해물들은 단백질 사이즈가 6 kDa 밑으로 몰려있는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 효소를 사용하여 가수분해를 하였더니 단백질이 작은 사이즈로 가수분해 된 것을 확인할 수 있었다.

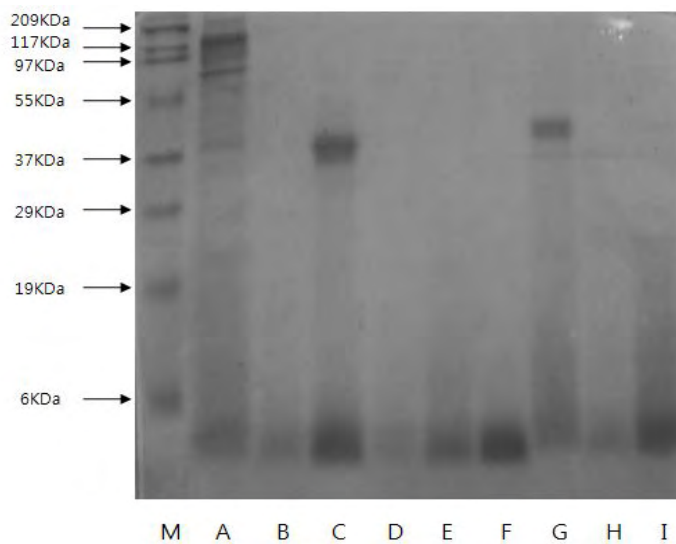


그림 5-3. 넙치 근육 가수분해물의 단백질 크기 확인

M: Marker, A: D,W, B: Papain, C: Pepsin, D: Trypsin, E: Neutrase, F: Alcalase, G: Kojizyme, H: Protamex, I: α-chymotrypsin

(나) 생리활성 탐색

① 항산화 활성 측정

㉔ 전자스핀공명흡수분광기 (ESR : Electron spin Resonance Spectrometer)를 사용한 Radical 소거활성 측정

산소는 인체 내 소화 및 에너지 생성 등 여러 대사과정에 관여하고 생물의 생존에 가장 필수적인 물질이지만, 반응성이 매우 큰 활성산소로 전환되면 생체에 악영향을 미치게 된다. 활성산소는 단백질 및 불포화 지방산 등과 결합하여 과산화지질을 생성하고, DNA 및 RNA 등에 손상을 일으키며, 생체막의 손상과 면역력을 약화시켜 각종질병과 노화를 유발시키게 된다. 따라서 활성산소들을 효과적으로 제어할 수 있는 천연물 유래 항산화 소재의 개발이 중요시되고 있다. 활성산소의 종류로는 hydroxyl radical($\cdot\text{OH}$), Alkyl radical($\text{RO}\cdot$)과 같은 radical 뿐만 아니라 비라디칼인 Hydrogen peroxide(H_2O_2) 성분들이 있으며, DPPH radical의 경우는 우리 몸 안에서 생성이 되지 않지만 천연 항산화제의 free radical 소거활성을 평가하는데 일반적으로 많이 쓰이는 radical이다. 넙치 근육 가수분해물의 활성산소 소거 능력을 측정한 결과는 표 5-4에 나타내었다.

표 5-4. 넙치 근육 가수분해물의 항산화 활성

넙치근육 가수분해물	IC ₅₀ values (mg/ml)			
	DPPH radical	Hydroxyl radical	Alkyl radical	Hydrogen peroxide
Distilled water	10 <	1.653	1.423	2.814
Papain	5.850	0.666	0.244	0.675
Pepsin	10 <	0.124	0.248	0.964
Trypsin	8.685	1.459	0.286	0.859
Neutrase	10 <	0.594	0.308	0.858
Alcalase	10 <	0.446	0.339	0.876
Kojizyme	3.227	0.461	0.184	1.039
Protamex	6.642	0.580	0.181	0.826
α -chymotrypsin	2.775	0.403	0.156	0.711

넙치 근육 가수분해물의 항산화 활성은 DPPH free radical 소거활성에서는 전체적으로 낮은 값을 나타내었지만 Hydroxyl radical과 Alkyl radical 소거활성에서는 물 추출물보다 매우 우수한 소거활성을 나타내었다. Hydroxyl radical 소거활성에서는 특히 pepsin 가수분해물과 α -chymotrypsin 및 alcalase 가수분해물이 각각 0.124 mg/ml, 0.403 mg/ml 및 0.446 mg/ml 로 낮은 IC₅₀ 값을 나타내었고, Alkyl radical 소거활성에서는 α

-chymotrypsin, protame, kojizyme 가수분해물이 각각 0.156 mg/ml, 0.181 mg/ml 및 0.184 mg/ml의 IC₅₀ 값을 가졌다. Hydrogen peroxide는 독성이 가장 강한 비라디칼로서 체내 각 기관들의 DNA에 심각한 손상을 일으켜 각종 질병과 노화를 유발한다고 알려져 있다. 이러한 hydrogen peroxide 소거에 papain과 α-chymotrypsin 가수분해물의 IC₅₀ 값이 0.675 mg/ml 및 0.711 mg/ml로 가장 높은 소거활성을 갖는 것을 확인할 수 있었다.

② 항고혈압 활성 측정

고혈압은 전 세계적으로 만연한 질병으로 성인의 15 ~ 20%에 달하며 동맥경화, 뇌졸중, 심근경색 및 당뇨병 등 심각한 만성 질병을 야기하는 무서운 질병이다. 고혈압의 원인은 Angiotensin I 이라는 10개의 펩타이드를 가진 물질이 renin에 의하여 분해되고, 이것은 angiotensin 전환효소(ACE)에 의해서 C말단의 dipeptide(His-Leu)가 절단되어 8개의 펩타이드를 가진 강력한 혈관 수축 물질인 angiotensin II을 생성하게 된다. 이렇게 생성된 angiotensin II은 동맥 혈관을 수축시키고 혈압을 상승시켜, 아드레날에서의 aldersterone의 분비를 촉진하여 신장의 sodium 및 수분의 재흡수를 증가시키는 역할을 한다. 또한 ACE는 혈관 확장, 장의 운동성 증대 등의 작용을 가진 bradykinin을 분해하여 불활성화시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다. 이러한 ACE의 저해제로 식품단백질의 효소 가수분해물로부터 얻어진 카제인, 젤라틴, 대두, 정어리육, 가다랑어육 및 고등어육 등의 펩타이드들이 있다. 따라서 넙치 근육 가수분해물 또한 ACE 저해 효과가 있는지 확인해 보았다. 가수분해물의 ACE 저해 효과는 표 5-5에 나타내었다.

표 5-5. 넙치 근육 가수분해물의 항고혈압 활성

넙치근육 가수분해물	IC ₅₀ values (mg/ml)
	ACE inhibition
Distilled water	4 <
Papain	2.141
Pepsin	1.262
Trypsin	1.470
Neutrase	0.975
Alcalase	0.881
Kojizyme	2.849
Protamex	0.857
α-chymotrypsin	0.859

넙치 근육 가수분해물의 항고혈압 활성은 물 추출물에 비해 우수한 항고혈압 저해 효과가 있었으며 그 중에서도 protamex, α -chymotrypsin 및 alcalase 가수분해물의 IC₅₀ 값이 각각 0.857 mg/ml, 0.859 mg/ml 및 0.881 mg/ml로 높은 저해활성을 나타내었다.

위의 결과를 종합하여 보면, 전체적으로 가수분해물의 수율, 총 단백질, 항산화 활성 및 항고혈압 활성에서 α -chymotrypsin(장내효소) 가수분해물이 가장 활성이 좋았다. 따라서 α -chymotrypsin 가수분해물의 최적조건을 설정하기 위한 실험을 진행하였다.

(3) 넙치 근육 가수분해물의 최적조건 설정

8개의 단백질 가수분해물 중에서 가장 효과가 좋았던 α -chymotrypsin 가수분해물의 최적조건을 설정하기 위하여 기질 대 효소비율(1000:1, 500:1 및 100:1) 및 가수분해 시간을 6 hr, 12 hr, 18 hr 및 24 hr 으로 달리하여 가수분해를 실시하였다. α -chymotrypsin의 기질 대 효소비율과 가수분해 시간이 증가할수록 가수분해물의 수율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (표 5-6).

표 5-6. 넙치근육 가수분해물의 기질 대 효소비 및 가수분해 시간에 따른 수율변화

넙치근육 가수분해물	기질 대 효소비	가수분해 시간			
		6	12	18	24
α -chymotrypsin	1000:1	39.80±0.10 ^a	43.52±0.45 ^b	43.83±0.00 ^b	54.48±0.60 ^{cd}
	500:1	44.51±0.44 ^b	45.44±0.34 ^b	53.64±1.27 ^c	56.60±2.38 ^d
	100:1	59.51±0.24 ^e	62.00±0.11 ^f	66.79±0.94 ^g	74.37±0.14 ^h

α -chymotrypsin 가수분해물의 총 단백질 함량 또한 기질 대 효소비율과 가수분해 시간이 증가할수록 가수분해물의 총 단백질 함량이 증가하였다. 또한 가수분해 시간이 24 시간일 때 기질 대 효소비율에 상관없이 가장 높은 총 단백질 함량을 가지고 있었다(표 5-7).

표 5-7. 넙치근육 가수분해물의 기질 대 효소비 및 가수분해 시간에 따른 총 단백질함량 변화

넙치근육 가수분해물	기질 대 효소비	가수분해 시간			
		6	12	18	24
α -chymotrypsin	1000:1	304.24±7.64 ^a	309.40±4.19 ^a	306.86±4.21 ^a	427.66±27.86 ^{ce}
	500:1	347.60±4.28 ^c	329.37±5.81 ^b	402.45±10.29 ^d	446.51±14.85 ^f
	100:1	403.38±4.73 ^d	399.56±17.86 ^d	411.14±23.52 ^d	443.84±19.02 ^f

(가) SDS-PAGE

기질 대 효소비 및 가수분해 시간에 따른 가수분해물의 단백질 패턴을 확인하기 위해 SDS-PAGE를 실시하였다(그림 5-4). 가수분해물들은 기질 대 효소비율과 가수분해 시간이 증가할수록 단백질 사이즈가 6 kDa 밑으로 몰려있는 것을 확인할 수 있었다.

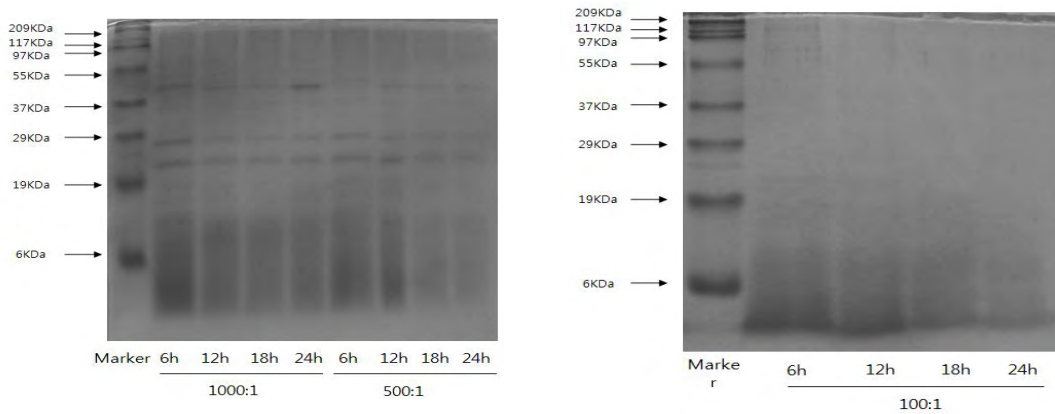


그림 5-4. 넙치근육 가수분해물의 기질 대 효소비 및 가수분해 시간에 따른 단백질 크기 확인

(나) 생리활성 탐색

① 항산화 활성 측정

㉠ 전자스핀공명흡수분광기 (ESR : Electron spin Resonance Spectrometer)를 사용한 Radical 소거활성 측정

넙치 근육 가수분해물의 기질 대 효소비율 및 가수분해 시간에 따른 항산화 활성은 DPPH free radical 소거활성에서는 전체적으로 낮은 값을 나타내었다. 하지만 Hydroxyl radical과 Alkyl radical 소거활성에서는 매우 우수한 소거활성을 나타내었다. 기질 대 효소비율 및 가수분해 시간에 따른 넙치 근육 가수분해물의 항산화 활성 결과는 수율과 총 단백질 함량과는 상관없이 기질 대 효소비율 1000:1, 가수분해 시간이 18 시간일 때 hydroxyl radical, alkyl radical 및 hydrogen peroxide 소거활성 IC₅₀ 값이 각각 0.347 mg/ml, 0.148 mg/ml 및 0.678 mg/ml 로 낮은 값을 나타내었다(표 5-8).

표 5-8. 넙치근육 가수분해물의 기질 대 효소비 및 가수분해 시간에 따른 항산화 활성

활성산소 종	기질대 효소비	가수분해 시간			
		6 (mg/ml)	12	18	24
DPPH radical	1000:1	1.963	2.890	1.968	3.803
	500:1	3.760	3.778	2.548	2.775
	100:1	3.379	7.945	7.668	2.919
Hydroxyl radical	1000:1	0.212	0.301	0.347	0.313
	500:1	0.366	0.324	0.353	0.403
	100:1	0.326	0.416	0.672	0.793
Alkyl radical	1000:1	0.172	0.228	0.148	0.200
	500:1	0.152	0.208	0.158	0.156
	100:1	0.177	0.326	0.156	0.209
Hydrogen peroxide	1000:1	0.794	0.750	0.678	0.677
	500:1	0.684	0.714	0.694	0.711
	100:1	0.668	0.628	0.613	0.783

② 항고혈압 활성 측정

넙치 근육 가수분해물의 기질 대 효소비 및 가수분해 시간에 따른 항고혈압 활성은 가수분해 시간에는 전혀 영향을 받지 않았다. 하지만 기질대 효소비율에서는 항 고혈압 활성에 영향을 미쳤다. 1000:1 및 500:1 비율에서보다 효소가 더 많이 들어간 100:1 비율에서 전체적으로 항고혈압 활성이 우수하였고, 그 중에서 18 시간 가수분해물이 IC₅₀ 값이 0.572 mg/ml로 가장 높은 활성을 나타내었다(표 5-9).

표 5-9. 넙치근육 가수분해물의 기질 대 효소비 및 가수분해 시간에 따른 항 고혈압 활성

	기질대 효소비	가수분해 시간			
		6 (mg/ml)	12	18	24
ACE inhibition	1000:1	0.814	0.731	0.780	0.858
	500:1	0.771	0.768	0.800	0.859
	100:1	0.638	0.584	0.572	0.702

위의 결과를 종합하여 보면, 가수분해물의 수율과 총 단백질에 있어서는 기질 대 효소비율 및 가수분해 시간의 증가에 따라서 점차 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 항산화 활성 및 항고혈압 활성에 있어서는 넙치 근육의 가수분해가 증가한다고 해서 활성이 증가하지는 않았다. 보통 5 kDa 이하의 저분자 펩타이드에서 항산화 활성 및 항고혈압 활성을 나타낸다고 알려져 있지만 이 경우는 활성을 나타내는 저분자 펩타이드를 더 가수분해 시켰기 때문에 활성이 낮아졌거나 또는 활성을 가지고 있지않은 저분자 펩타이드를 많이 생성시켜 버렸기 때문에 활성이 상대적으로 낮아진게 아닌가 생각할 수 있다.

(4) 한외여과막을 이용한 가수분해물의 분자량별 분리

한외여과막을 이용하여 최적조건에서 가장 활성이 우수했던 1000:1, 18 hr, α -chymotrypsin 가수분해물을 5 kDa, 5-10 kDa 및 10 kDa 분자량별로 분리하였다.

(가) SDS-PAGE

한외여과막에 의하여 분자량별로 분리가 되었는지를 확인하기위해 SDS-PAGE를 실시하였다 (그림 5-5). 10 kDa 이상의 분획물에서는 한외여과막을 돌리기 전의 샘플과 전기영동 패턴이 동일하게 나타났으나, 5-10 kDa 분획물에서는 19 kDa 밑으로 밴드가 나타나고, 5 kDa 이하 분획물에서도 6 kDa 이하에서 밴드가 나타났기 때문에 분자량에 따른 분리가 잘 되었음을 확인할 수 있었다.

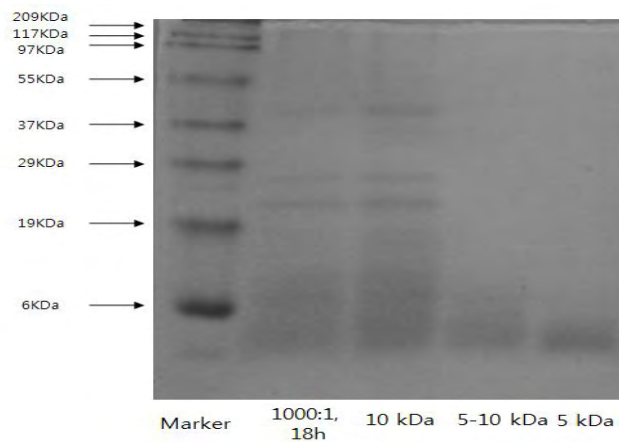


그림 5-5. 넙치근육 가수분해물의 한외여과막을 이용한 분자량별 단백질 크기 확인

(나) 생리활성 탐색

① 항산화 활성 측정

㉠ 전자스핀공명흡수분광기 (ESR : Electron spin Resonance Spectrometer)를 사용한 Radical 소거활성 측정

넙치 근육 가수분해물의 한외여과막을 이용한 분자량별 분획물의 항산화 활성은 Alkyl radical 소거활성에서는 매우 우수한 소거활성을 나타내었으며, 그 중 5 kDa 이하의 분획물 IC₅₀ 값이 0.130 mg/ml로 가장 우수하였고, Hydrogen peroxide 소거활성에서도 0.632 mg/ml로 가장 활성이 뛰어났다. 하지만 Hydroxyl radical 소거활성에서는 분자량이 큰 10 kDa 이상 분획물에서 0.165 mg/ml로 가장 활성이 우수하였다(표 5-10).

② 항고혈압 활성 측정

분자량에 따른 항고혈압 활성을 측정한 결과 분자량이 낮을수록 항고혈압 활성이 증가하는

것을 확인할 수 있었다. 5 kDa 이하의 분획물의 항고혈압 활성은 IC₅₀ 값이 0.732 mg/ml로 가장 뛰어났다(표 5-10).

표 5-10. 넙치 근육 가수분해물의 분자량에 따른 생리활성

분자량	IC ₅₀ values (mg/ml)			
	Hydroxyl radical	Alkyl radical	Hydrogen peroxide	ACE inhibition
> 10 kDa	0.165	0.296	0.938	1.462
5-10 kDa	0.413	0.250	0.727	0.915
< 5 kDa	0.332	0.130	0.632	0.732

위의 결과를 종합하여 보면, 보통 5 kDa 이하의 저분자 펩타이드에서 항산화 활성 및 항고혈압 활성을 나타낸다고 알려져 있는 결과와 일치한 것을 확인할 수 있었다.

(5) 넙치 근육 가수분해물로부터 생리활성 펩타이드 분리 및 정제

(가) 겔 크로마토그래피에 의한 분리

한외여과막에서 가장 활성이 우수하였던 5 kDa 이하의 분획물로 겔 크로마토그래피를 실시하여 얻은 각 분획물들을 220 nm에서 흡광도를 측정하여 총 4개의 peak를 확인하였다(그림 5-6). 4개의 Fractions의 항산화 활성 및 항고혈압 활성은 표 5-11에 나타내었다.

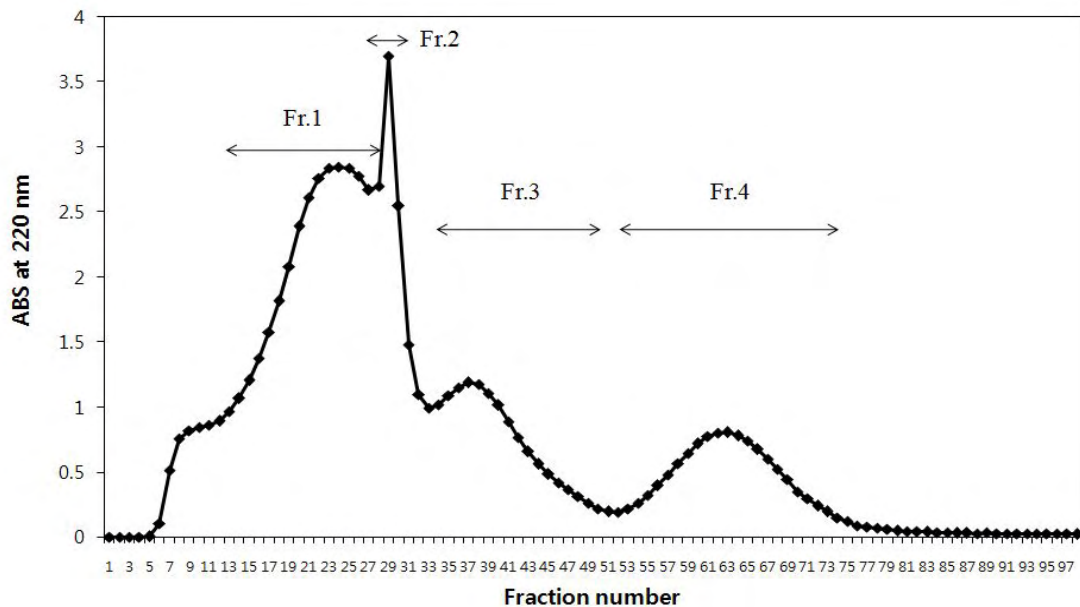


그림 5-6. Sephadex G-25을 이용한 넙치 근육가수분해물의 겔 크로마토그래프

표 5-11. 겔 크로마토그래피 Fractions의 생리활성

Fractions	IC ₅₀ values (mg/ml)		
	Hydroxyl radical	Alkyl radical	ACE inhibition
Fr. 1	2 <	0.837	2 <
Fr. 2	0.768	0.232	1.496
Fr. 3	0.975	0.361	1.779
Fr. 4	0.301	0.094	0.689

항산화 활성 및 항고혈압 활성은 Fraction 4에서 IC₅₀ 값이 0.301 mg/ml(hydroxyl radical), 0.094 mg/ml(alkyl radical) 및 0.689 mg/ml(ACE inhibition)로 다른 Fraction들에 비해 가장 우수하였다.

(나) HPLC에 의한 분리

Sephadex G-25에서 분리한 분획물 중 가장 생리활성이 우수했던 Fraction 4 를 ODS 컬럼을 이용하여 펩타이드를 분리하고자 하였다. 0.1% TFA/H₂O와 0.1% TFA/Acetonitrile 용액으로 선형상 농도구배법(0~100% acetonitrile, 30 min)으로 용출(1 ml/min)시켜 정제한 결과, 3개의 (Fr. 4-1, Fr. 4-2, Fr. 4-3)의 분획물을 얻을 수 있었으며(그림 5-7), 이들의 항산화 활성을 측정한 결과는 표 5-12에 나타내었다.

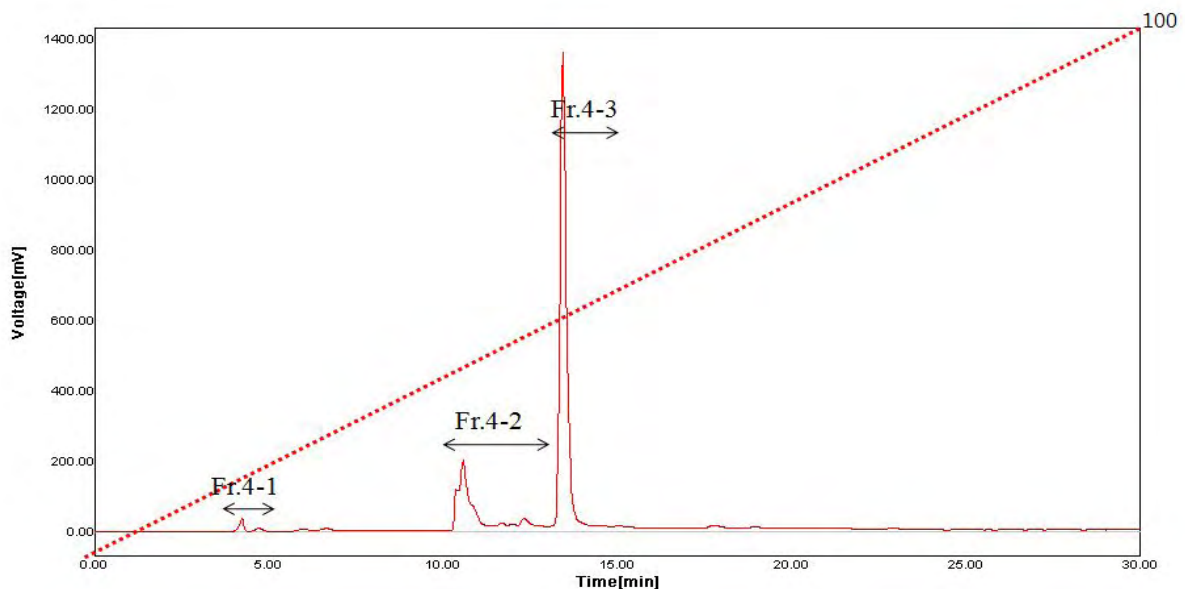


그림 5-7. ODS 컬럼을 이용한 넙치 근육가수분해물의 펩타이드 분리

표 5-12. ODS 컬럼에서 분리된 Fractions의 생리활성

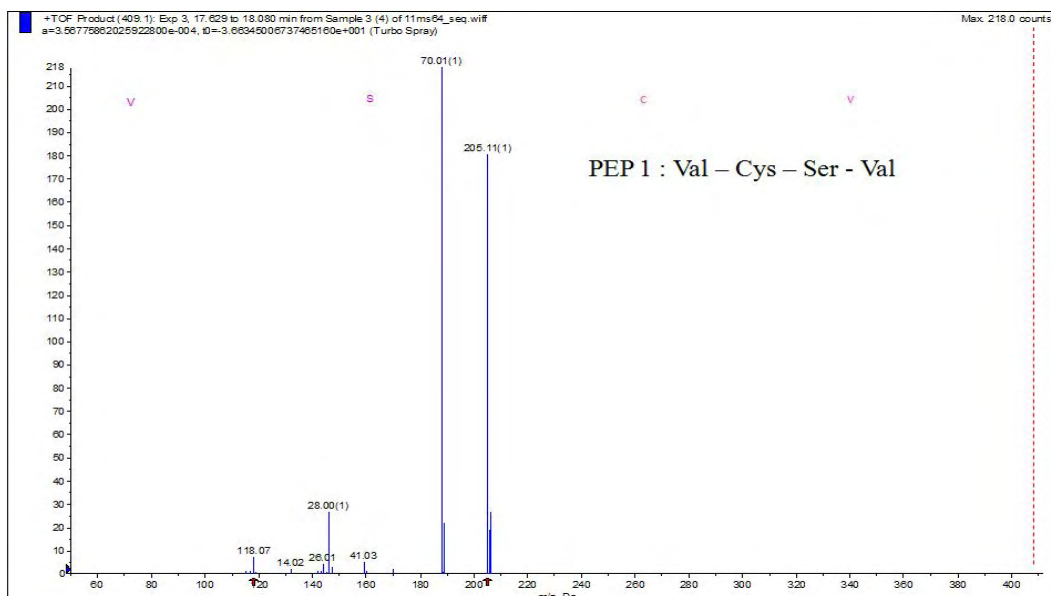
Fractions	IC ₅₀ values (mg/ml)		
	DPPH radical	Hydroxyl radical	Alkyl radical
Fr. 4-1	0.5 <	0.25 <	0.25 <
Fr. 4-2	0.193	0.300	0.071
Fr. 4-3	0.086	0.282	0.110

이들 분획물의 항산화 활성을 측정한 결과 Fr. 4-2와 Fr. 4-3이 우수한 라디칼 소거활성을 갖는 것을 확인할 수 있었다.

(6) 아미노산 서열 분석

넙치 근육 가수분해물로부터 최종적으로 정제된 두 펩타이드의 아미노산 서열은 그림 5-8에 나타내었다. 정제된 두 종류의 펩타이드 중에서 Fr. 4-2 분획물의 아미노산 서열은 Val-Cys-Ser-Val 이었으며, Fr. 4-3 분획물은 Cys-Ala-Ala-Pro 로 구성되어 있음을 확인하였다.

일반적으로 펩타이드는 구성아미노산의 성분과 위치에 의해 항산화성이 결정되어진다고 알려져 있다. Chen 등(1995)은 대두 β-conglycinin의 가수분해물에서 분리한 6개의 항산화 펩타이드가 N-말단 위치에 Val 또는 Leu의 소수성 아미노산을 포함하고 서열상에 His, Pro, Tyr를 포함하는 5~16 잔기의 펩타이드를 보고한 바 있다. 이 연구에서 밝혀진 두 펩타이드의 아미노산 서열의 경우, N-말단에 소수성 아미노산인 Val과 Cys가 있으며, 방향족 아미노산으로 Pro이 결합되어있어 우수한 항산화 활성을 나타내는 것으로 사료된다(표 5-13).



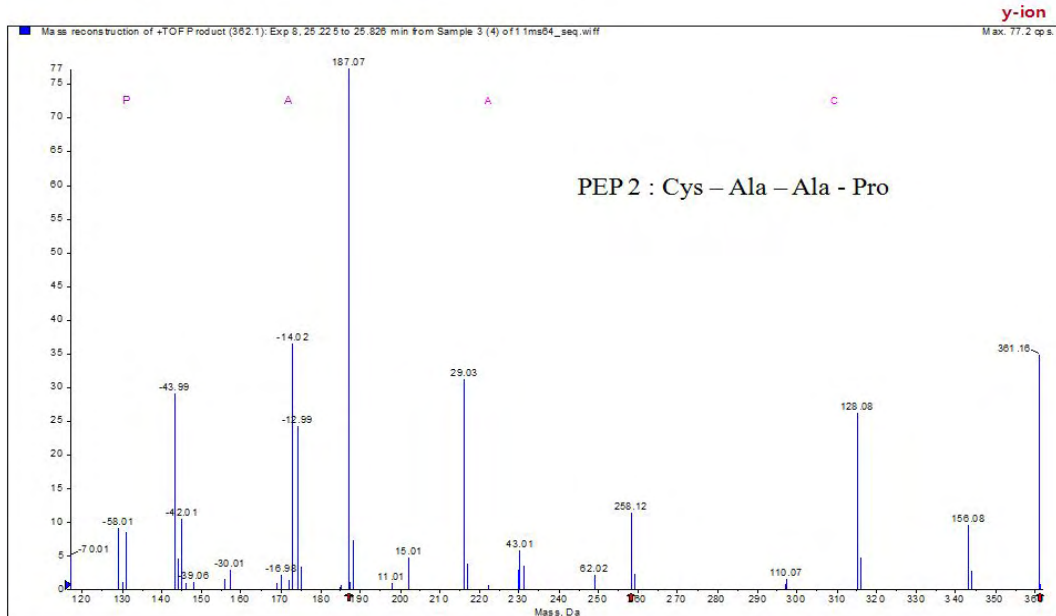


그림 5-8. 아미노산 서열 분석

표 5-13. 넙치 근육으로부터 분리되어진 펩타이드의 항산화 활성

	IC ₅₀ values (ug/ml)		
	DPPH radical	Hydroxyl radical	Alkyl radical
Peptide 1	45.42	0.253	6.23
Peptide 2	9.71	0.252	10.78

(7) 비교실험

(가) 마늘을 먹인 넙치 근육 가수분해물의 항산화 활성

마늘 발효액 첨가 사료를 급이한 넙치 근육 가수분해물의 항산화 활성을 측정하기 위하여 전자스핀공명흡수분광기 (ESR : Electron spin Resonance Spectrometer)를 사용하여 Radical 소거활성을 측정하였다(그림 5-9, 10, 11). 대조구로 마늘 발효액을 비급이한 넙치 근육 가수분해물을 제조하여 실험에 사용하였다.

그림 5-9. 넙치 가수분해물의 DPPH free radical 소거활성

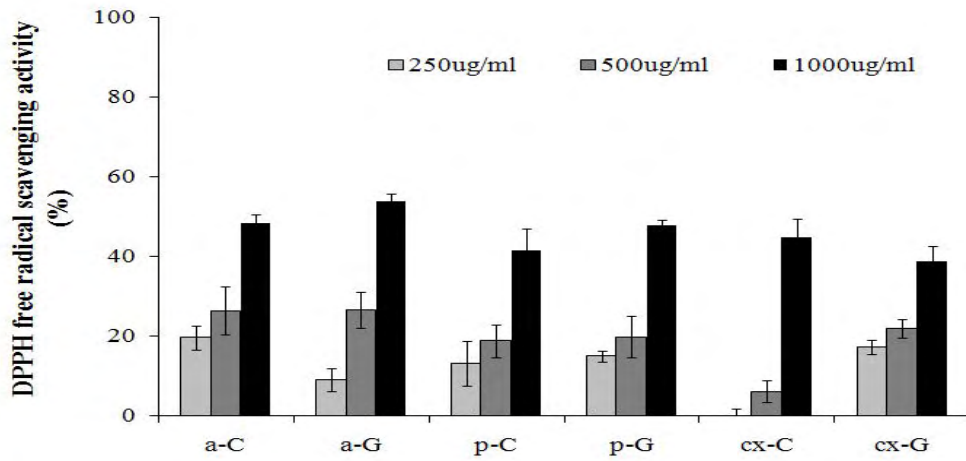
a-C : a-chymotrypsin 효소 넙치 가수분해물

a-G : a-chymotrypsin 효소 마늘 급이 넙치 가수분해물

p-C : pepsin 효소 넙치 가수분해물

p-G : pepsin 효소 마늘 급이 넙치 가수분해물

cx-C : 복합효소(pepsin과 a-chymotrypsin) 넙치 가수분해물



cx-G : 복합효소(pepsin과 α -chymotrypsin) 마늘 굵이 넙치 가수분해물

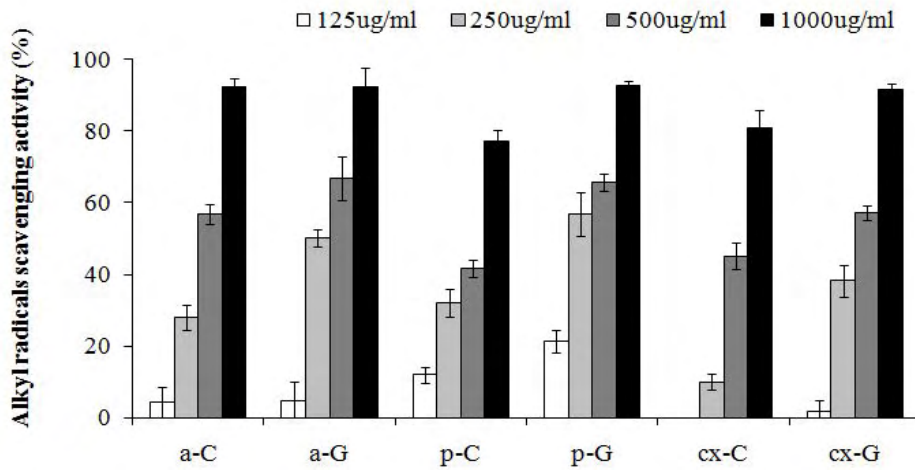


그림 5-10. 넙치 가수분해물의 Hydroxyl radical 소거활성

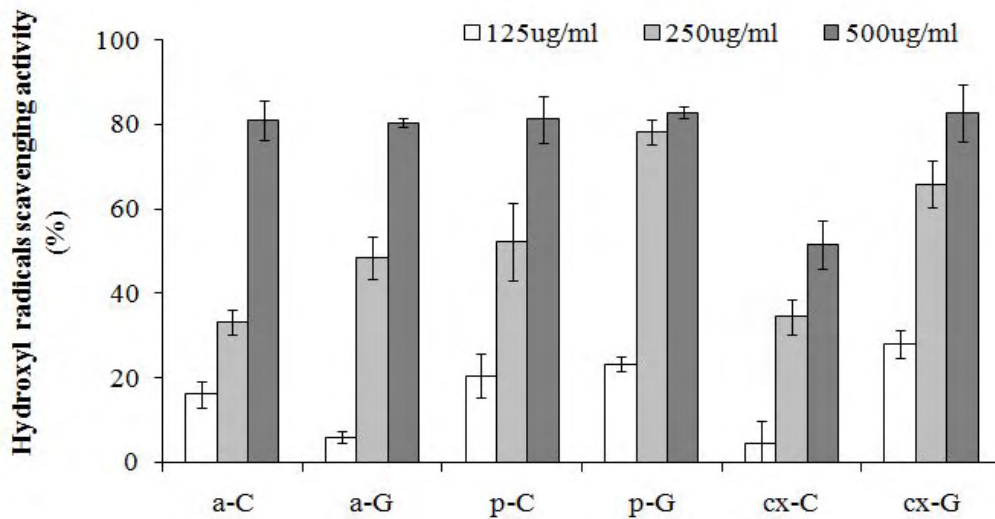


그림 5-11. 넙치 가수분해물의 Alkyl radical 소거활성

DPPH free radical 소거활성에서는 대조구와 마늘 발효액을 급이한 넙치의 가수분해물에서 전체적으로 낮은 소거활성을 나타내었다. 하지만 Hydroxyl radical과 Alkyl radical 소거활성에서는 우수한 소거활성을 나타내었고, 대조구에 비해 마늘 발효액 급이 넙치 가수분해물에서 더 뛰어난 소거활성을 가지고 있는 것을 확인할 수 있었다(표 5-14). 따라서 마늘 발효액을 급이한 넙치를 우리가 섭취하였을 경우 우리 몸에 항산화 활성 작용을 기대할 수 있을것이라 사료된다.

표 5-14. 넙치 가수분해물의 IC₅₀

활성산소종	α-C	α-G	p-C	p-G	cx-C	cx-G
DPPH free radical	1000 <	1000 <	1000 <	1000 <	1000 <	1000 <
Hydroxyl radical	328.9	261.4	282.8	185.5	389.3	224.9
Alkyl radical	293.8	249.4	615.0	310.1	567.3	418.9

6. 제주산 비규격 넙치를 이용한 넙치 가공품 개발

가. 실험방법

(1) 넙치 성형 연제품 개발

(가) 재료

넙치 유래 수리미 (surimi) 및 연제품 (heat-induced surimi gel)의 품질 비교를 위하여 사용한 시판 명태 (Alaska pollock, *Theragra chalcogramma*) 수리미는 SA급, FA급, AA급, KA급 및 A급의 경우 2009년 2월에 충청남도 당진군 소재 한성기업으로부터, 그리고, KB급 및 RA급의 경우 2009년 3월에 부산광역시 사하구 소재 (주) Bluecean으로부터 각각 구입하여 사용하였다. 이상에서 언급한 수리미의 사진은 사진 6-1에, 그리고 제조회사, 제조일 및 제조국가는 표 6-1에 각각 나타내었다.

본 실험에서 시료로 사용한 수리미의 등급은 일반적으로 SA급, FA급, AA급, A급, KA급, KB급 및 RA급으로 알려져 있으나, 제조사에 따라 AA급이 A급보다 낮게 생산되는 경우도 있다.

제주산 넙치 (bastard halibut, *Paralichthys olivaceus*)는 어체 크기에 관계없이 제주특별자치도 제주시 소재 제정수산에서 양식한 것을 부산광역시 남구 소재 서광수산으로부터 구입 하되 구입시기는 이용 목적에 따라 다음과 같이 달리 구입하였다. 즉, 제주산 넙치 중 small size (전장은 33-37 cm 범위이었고, 체중은 400-500 g 범위이었으며, 이하 S로 칭함)는 어획 시기별로 수리미 및 연제품의 특성을 살펴 볼 목적으로 사용하는 경우 2009년 3월부터 9월까지 격월로, 어체 크기 및 양식지역에 따른 수리미 및 연제품의 소재 특성을 살펴 볼 목적으로 사용하는 경우 2009년 5월에, 기타 고품질 연제품의 제조 조건을 구명할 목적과 시판 연제품과의 품질 비교 및 새로운 제품에 적용 가능성을 타진할 목적으로 사용하는 경우 2009년 9-10월에 각각 구입하였다. 또한, 어체 크기에 따른 수리미 및 연제품의 소재 특성을 살펴 볼 목적으로 사용한 제주산 넙치 중 medium size (전장은 37-41 cm 범위이었고, 체중은 600-800 g 범위이었으며, 이하 M으로 칭함) 및 large size (전장은 45-49 cm 범위이었고, 체중은 1,000 g 이상이었으며, 이하 L로 칭함)는 small size와 같이 2009년 5월에 각각 구입하였다. 또한,

완도산 및 거제산 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)는 모두 small size (전장은 33-37 cm 범위이었고, 체중은 400-500 g 범위이었으며, 이하 S로 칭함)로 전라남도 완도군 아쿠아뱅크 및 경상남도 거제시 소재 양화수산에서 각각 양식한 것을 2009년 5월에 경상남도 통영시 소재 원해수산 및 미강수산으로부터 각각 구입하였다.

표 6-1. 여러 가지 등급의 시판 명태 수리미의 제조 회사, 날짜, 회사 및 구입회사

등급	제조		생산국	구입회사
	회사	날짜		
SA	Premier Pacific Foods	08.09.19	USA	한성기업
FA	Premier Pacific Foods	08.07.17	USA	한성기업
AA	Trident Seafood Corperation	08.08.22	USA	한성기업
A	American Sea Food Company	08.07.26	USA	한성기업
KA	American Sea Food Company	08.07.06	USA	한성기업
KB	Trident Seafood Corperation	08.09.15	USA	블루오션
RA	Unisea INC	08.08.22	USA	블루오션

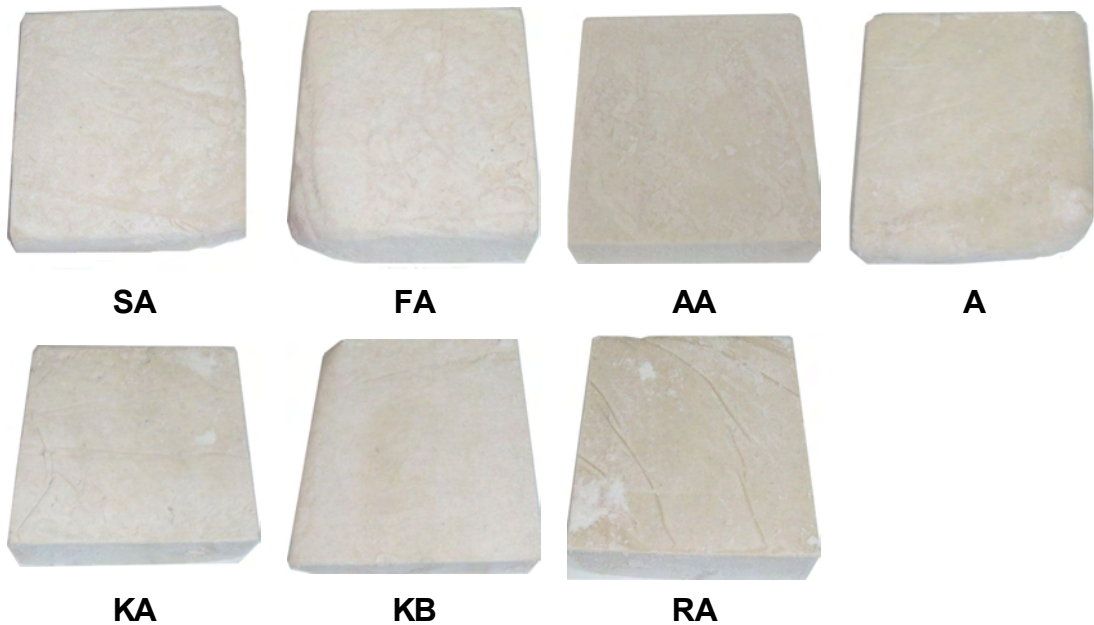
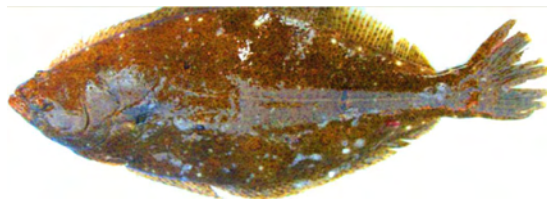


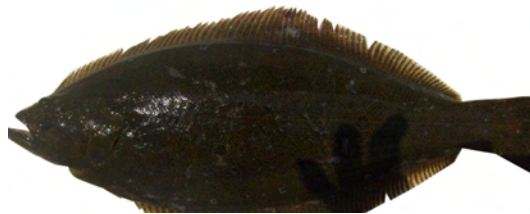
사진 6-1. 이 실험에서 사용한 여러 가지 등급의 시판 명태 수리미 사진
 : 수리미 등급 (SA, FA, AA, A, KA, KB and RA)의 생산 및 구입 조건은 표 6-1과 같음.

표 6-2. 실험에서 사용한 넙치들의 체중, 전장, 양식지역, 양식회사, 구입시기 및 시료코드

시료	시료어			시료 채취		시료코드	
	체중 (g)	전장 (cm)	지역	양식장	시기(월)		
체중	Heavy	1000 이상	45-49	제주	제정수산	L	
	Medium	600-800	37-41			M	
	Light					S	
양식지	제주				3	Jeju	
	거제			거제		Geoje	
	완도			완도		Wando	
채취 시기 (월)	3	400-500	33-37			Mar	
	5				5	May	
	7			제주	제정수산	7	Jul
	9					9	Sep
기타 다른목적의 시료					9-10	-	



Jeju

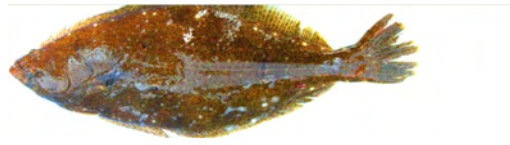


Wando



Geoje

사진 6-2. 이 실험에서 사용된 양식지역별 넙치의 사진



S



M



L

사진 6-3. 이 실험에서 사용된 어체 중량 별 넙치의 사진

S : Small size (400~500 g)

M : Medium size (600~800 g)

L : Large size (more than 1000 g)

이상에서 언급한 시료의 체장, 체중, 어획장소 및 양식회사, 구입시기 및 시료 코드 등은 표 6-2에, 제주산, 완도산 및 거제산 넙치와 같이 양식지역을 달리한 small size 넙치들의 사진은 사진 6-2에, 제주산 넙치의 어체 크기별 사진은 사진 6-3과 같다. 양식 지역에 따른 넙치의 체색은 확연히 차이가 있어 제주산 넙치의 경우 갈색을, 완도산 넙치의 경우 흑색을, 그리고, 거제산 넙치의 경우 이들의 중간인 연흑색을 나타내었다. 기타 시판 연제품과의 품질 특성 비교를 위하여 연제품 제조에 사용한 부원료 중 난백, 변성전분, 계향 및 계 엑기스는 2009년 2월에 충청남도 당진군 소재 한성기업으로부터 분양받아 사용하였고, 식염은 주 삼호 산업에서 제조한 것을 2009년 3월에 경상남도 통영시 소재 마트에서 구입하여 사용하였다.

최적조건으로 제조한 넙치 연제품의 품질비교를 위하여 대조구로 사용한 시판 찐어묵은 경상남도 양산시 소재의 동진 H&F, 충청북도 제천시 소재의 신라수산 (주) 및 경기도 안산시 소재의 사조대림에서 2009년 9월에 제조한 제품을 경상남도 통영시 소재 탐마트에서 구입하여 사용하였다

(나) 납치 수리미 (surimi) 및 연제품의 제조

납치 수리미는 납치로부터 두부 및 내장을 제거하고, 필레 (fillet)처리 및 탈피한 후 chopper (M-12S, 한국후지공업, 한국)로 마쇄, 수세 및 체거르기하여, 그리고, 명태 수리미는 시판 수리미를 구입한 후 해동하여 각각 납치 및 명태 연제품의 중간소재로 사용하였다. 이들 수리미를 이용한 연제품은 stephan mixer (774027-01, UMC 5 Electronic Co. LTD, Germany)에 납치 수리미 또는 명태 수리미와 이의 3% (w/w)에 해당하는 식염만을 첨가 [단, 전분 및 난백의 첨가조건 구명을 위한 실험의 경우 이들 이외에 일정량의 전분 (2.2~7.8%) 및 난백 (1.2~6.8%)과 전분에 대하여 2배 (v/w)에 해당하는 ice water를 각각 첨가하여 실험] 및 혼합하고, 연제품의 진공포장기를 이용하여 탈기한 후 stuffer (50501, Shanghai Machinery Co. LTD, China)로 충전하였으며, 이어서 자연응고 (자연응고 유무 및 조건 설정을 위한 실험의 경우 충전물을 제조 직후 즉시, 5℃에서 24시간, 25℃에서 3시간, 40℃에서 1시간 및 60℃에서 30분과 같은 5조건에서 자연응고를, 기타 납치 수리미 또는 연제품의 특성을 살펴보고자 하는 실험의 경우 충전물을 5℃에서 24시간동안 자연응고를 실시)시킨 다음, 열탕 (가열방법의 설정을 위한 실험의 경우 열탕과 증자와 같은 2조건에서 실시하였고, 열탕시간 설정을 위한 실험의 경우 15분, 30분 및 45분과 같은 3조건에서, 기타 납치 수리미 또는 연제품의 특성을 살펴보고자 하는 실험의 경우 95℃, 30분에서 실시), 냉각 (얼음물에서 15분) 및 저온 (5℃, 24시간)처리하여 제조하였고, 이들 연제품은 겔강도, 백색도 및 일반성분의 측정 시료로 사용하였다. 이상에서 언급한 납치 수리미 및 연제품의 제조공정은 (그림 6-1)과 같다. 또한, 시판 어묵들과 품질 특성 비교를 위하여 제조한 시제 연제품은 위에서 구명된 최적조건에 따라 제조하였다. 즉, 시제 연제품은 stephan mixer (774027-01, UMC 5 Electronic Co. LTD, Germany)에 납치 수리미 또는 명태 수리미와 이들에 대하여 식염 3.0% (w/w), 전분 2.4 % (w/w), 난백 4.0% (w/w), ice water 4.8% (w/w), 계역기스 2.0% (w/w) 및 계향 1.0% (w/w)를 각각 첨가하고, 고기같이 한 다음 진공포장기 (SH-400B, 삼호사, Korea)를 이용하여 탈기한 후 stuffer (50501, Shanghai Machinery Co. LTD, China)로 충전하였으며, 이어서 자연응고 (5℃에서 24시간)시킨 다음, 열탕 (30분), 냉각 (얼음물에서 15분) 및 저온 (5℃, 24시간)처리하여 제조하였고, 이들 시제 연제품은 물리화학적 특성 분석을 위한 시료로 사용하였다.

(다) 전분과 난백의 최적 첨가조건의 설정

어묵은 제조시에 투입되는 전분, 난백, 염 및 물 등의 여러 변수에 의해 탄력과 수율이 좌우될 수 있다. 본 실험에서는 어묵의 제조 특성 모니터링과 조건의 최적화를 위하여 반응표면 분석법 (response surface methodology, RSM)을 사용하였다. 중심합성계획 (central

composite design)에 의한 독립변수 (X_i)는 연제품의 제조공정에서 중요한 변수 즉, 전분 첨가량 (2.2~7.8%)과 난백 첨가량 (1.2~6.8%)을 5단계로 부호화하여 중심합성 계획에 따라 11구의 시료구, 즉 factorial design (4구), star points (4구) 및 central points (3구)를 무작위적으로 설정하여 실험을 진행하였다 (표 6-3). 이 때 2개의 독립변수의 범위와 center point value들은 예비 실험의 결과를 토대로 선정하였다. 또한 이들 독립변수에 의해 영향을 받는 종속변수는 연제품의 품질에 가장 크게 영향을 미치는 겔강도 (Y)로 하였으며, 이들은 3회 반복 측정하여 그 평균값을 회귀 분석에 사용하였다. 회귀분석에 의한 정준형식 확인은 statistical analysis system (SAS) program을 이용하였고, 최적점의 예측 및 확인은 MINITAB program을 이용하였으며, 독립변수와 종속변수 간에 관계는 Maple software를 이용하였다.

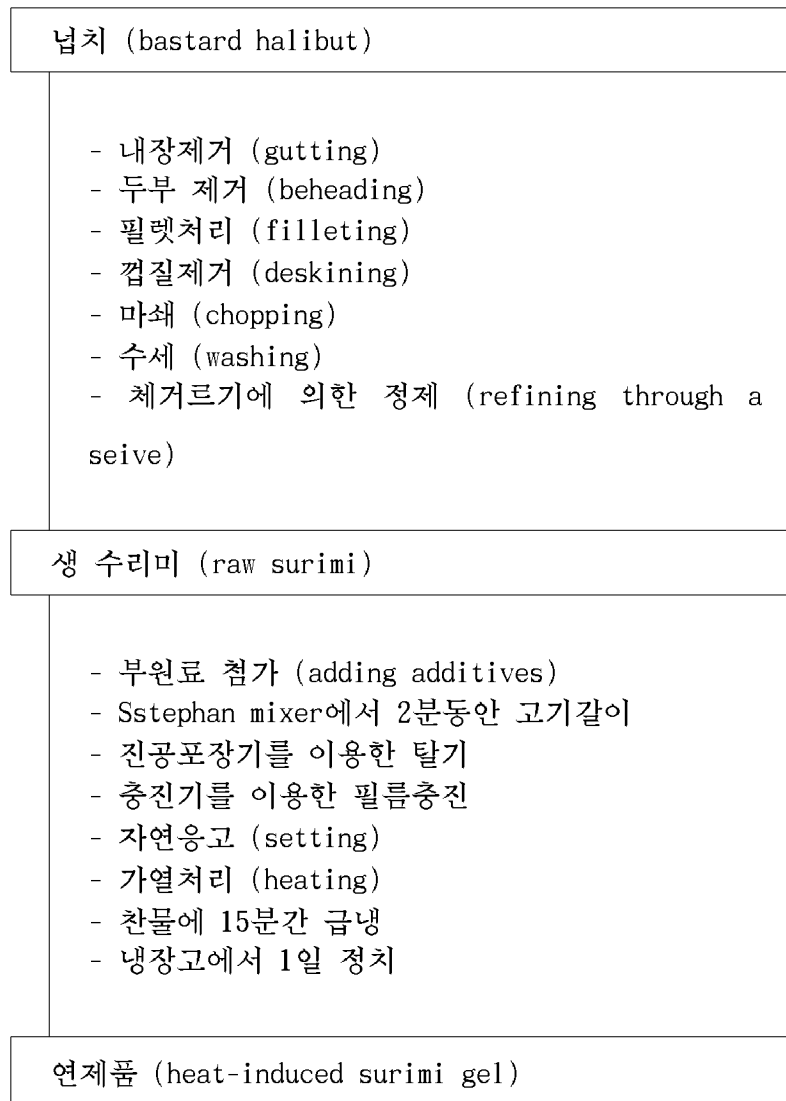


그림 6-1. 넙치를 이용한 수리미 및 연제품의 제조를 위한 가공공정도

표 6-3. RSM으로 고품질 연제품 제조 목적의 전분과 난백 최적 조건 구명을 위한 이들의 range level

독립변수	기호	Range levels				
		-1.414	-1	0	+1	+1.414
전분 (%)	X ₁	2.2	3.0	5.0	7.0	7.8
난백 (%)	X ₂	1.2	2.0	4.0	6.0	6.8

(라) 일반성분 조성, 수율 및 콜라겐 함량

일반성분은 AOAC법 (1995)에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semimicro Kjeldahl 법, 조회분은 건식회화법 및 조지방은 Soxhlet법으로 각각 측정하였다. 수율은 원료 납치에 대하여 생 수리미에 식염을 가하고, 탈기, 충전, 자연응고, 가열 및 냉각처리 하여 제조한 연제품의 상대비율 (%)로 나타내었다. 콜라겐 함량은 Reddy and Enwemeka (1996)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, cap tube에 분쇄된 시료 0.1 g과 6 N HCl 5 mL를 각각 넣고, cap을 닫은 다음 110℃에서 24시간 동안 가수분해하였다. 이어서 가수분해물을 glass filter로 여과하고, evaporator로 농축하여 HCl을 제거한 다음 acetate/citrate buffer 2 mL를 가한 후 0.3 M NaCl로서 정용 (25 mL)하여 시료액을 조제하였다. 시료액 300 uL에 oxidant solution 300 uL 와 isopropanol 600 uL를 넣어 실온에서 4분 동안 산화시킨 후 Ehrlich's reagent를 4 mL 첨가하고 가열 (60℃에서 25분) 및 실온에서 방냉한 후 흡광도를 측정 (558 nm)하였다. 이때 사용된 표준물질은 4-hydroxyproline (Sigma-Aldrich Co., USA)이었으며, 농도를 0~300 uL/mL의 범위로 하여 표준곡선을 작성한 후 시료 내 hydroxyproline의 양을 계산하여 collagen 함량으로 환산하였다.

(마) 납치 근육 유래 조효소의 추출 및 단백질 농도

분해활성을 측정하기 위한 조효소는 납치 근육에 대하여 약 2배량 (w/v)의 탈이온수와 지질 성분의 제거를 위하여 0.2배량 (w/v)의 사염화탄소를 가하여 균질화한 다음 균질액을 상온 (20±2℃)에서 3시간동안 교반하고, 원심분리 (10,000 x g, 20 min)하여 조제하였다. 이 때, 효소 활성을 계산하기 위한 단백질 농도는 Lowry et al. (1951)의 비색법에 따라 bovine serum albumin을 표준단백질로 하여 구한 검량선으로 측정하였다.

(바) 납치 근육 유래 조효소의 분해 활성

천연기질에 대한 활성은 1% hemoglobin (Hb, pH 3과 6)과 2% casein (pH 6과 9)을 사용하여 Anson (1938)의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 즉, 일정량의 효소액 (육, 200 uL)에

0.5 mL의 기질용액과 1.5 mL의 각 pH별 완충액을 가하여 혼합한 반응혼액을 40°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응정지를 위하여 2 mL의 5% TCA용액을 가하고, 30분간 정치시킨 후, 원심분리 (3,000 x g, 20분)하여 얻어진 상층액을 파장 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. 합성기질에 대한 활성은 10 mM Na-benzoyl-arginine-p-nitroanilide (BAPNA), N-succinyl-alanylalanyl-pronilyl-phenylalanine-p-nitroanilide (SAAPPPNA), L-leucine-p-nitroanilide (LeuPNA) 그리고 L-arginine-p-nitroanilide (ArgPNA)을 사용하여 Erlanger et al. (1961, 1966)의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 즉, 일정량의 각 효소액 (육, 100 μ L)에 150 μ L의 각 10 mM 기질용액 (반응혼액 중, 최종 농도 0.5 mM)과 2.8 mL의 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.0)를 가하여 혼합한 반응혼액을 40°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응정지를 위하여 300 μ L의 33% acetic acid용액을 가하고, 30분간 정치시킨 후, 원심분리 (3,000 x g, 20분)하여 얻어진 상층액을 파장 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 (U/mg)은 효소단백질 1 mg이 1시간동안 변화시키는 흡광도 0.1을 1 U/mg으로 하였다.

(사) 겔강도

겔강도는 Okada (1963)의 방법을 약간 변형하여 측정하였고, 시료는 원형 어묵을 일정한 크기 (2.5x2.5 cm)로 절단하여 사용하였다. 즉, 겔강도는 Sun rheometer (CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 시료의 하중과 깊이를 각각 측정한 다음, 하중 x 깊이로 나타내었다. 이 때, rheometer의 load는 1 kg으로 하였고, plunger의 속도는 20 mm/min로 하였으며, plunger는 직경 5 mm의 구형을 사용하였다.

(아) 백색도

백색도는 Park (1994)이 언급한 방법을 약간 변형하여 직시색차계 (ZE 2000, Nippon Denshoku Industries Co., Japan)로 측정하였다. 즉, 백색도는 해동한 수리미의 경우 용기에 채워서, 그리고 원형 어묵의 경우 표면이 일정한 크기 (2.5 x 2.5 cm)로 평형되게 절단한 전 단면을 시료로 하여 직시색차계로 Hunter L 및 b값을 측정한 다음 L-3b로 계산하였다. 이 때 직시색차계의 표준백판은 L값이 96.82, a값이 -0.39 및 b값이 0.63이었다.

(자) 보수력

보수력은 Kocher and Foegeding (1993)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 보수력은 일정량의 연제품 (약 4 g)을 45 μ m filter unit (Millipore Ultrafree-MC)의 내관에 넣고 정확히 칭량한 다음 원심분리 (5,500 x g, 10분)한 후 내관 무게를 측정하여 다음과 같은 방법으로 계산하였다.

$$\text{WRA (\%)} = \frac{\text{Total g water} - \text{g Water released}}{\text{weight of sample}} \times 100$$

(차) 무기질

수은을 제외한 납, 칼슘, 인 및, 칼륨, 마그네슘 및 철 무기질은 Kim et al.(23)이 언급한 방법에 따라 질산으로 유기질을 습식 분해하여 시료를 조제한 다음 inductively coupled plasma spectrophotometer(ICP, Atomscan 25, TJA)로 분석하였다. 그리고, 수은은 KFDA (1999)에서 제시한 gold amalgamation method에 의하여 측정하였다.

(카) 관능검사 및 통계처리

관능검사는 조직감 및 색조에 대하여 잘 훈련된 10인의 pannel member를 구성한 다음 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 조직감 및 색조를 기준점인 3점으로 하고, 넙치 연제품이 이보다 우수한 경우 4점 및 5점으로 하고, 이보다 못한 경우 2 점 및 1점으로 하는 5단계 평점 법으로 상대평가하여 평균값으로 나타내었다. 그리고, 이 실험에서 분석한 데이터들은 ANOVA test를 이용하여 분산분석한 후, Duncan의 다중위검정 (Steel and Torrie, 1980)으로 최소 유의차 검정 (5% 유의 수준)을 실시하여 나타내었다.

(2) 전통수산물발효식품의 개발

(가) 재료

① 시제 식해의 재료

넙치 식해의 제조를 위한 주재료인 제주산 넙치 (bastard halibut, *Paralichthys olivaceus*)는 2010-2011년 2-9월에 제주특별자치도 제주시 소재 제정수산에서 양식한 것을 부산광역시 남구 소재 서광수산으로부터 250 g 이하 (전장 26-28 cm 범위, 체중 220-250 g 범위, 이하 TS로 칭함), 250-400 g 범위 (전장 28-31 cm 범위, 이하 DS로 칭함) 및 400 g 이상 (전장 30-34 cm 범위, 체중 400-500 g 범위, 이하 S로 칭함)으로 구분하여 구입하되, 뼈의 연화 정도를 위한 실험의 경우 이 3종의 넙치를 모두 사용하였으나, 기타 시제 식해의 제조에는 TS 만을 사용하였다. 그리고, 넙치 식해의 제조를 위한 부재료인 쌀 (형제 영농법인)은 경상남도 통영시 소재 M마트로부터, 메조 (두보식품 주), 맥아 (남양식품 주), 고춧가루 (롯데쇼핑 주), 다진마늘 (CJ 제일제당 주), 다진생강 (뉴푸드 주), 밀가루 (CJ 제일제당 주), 설탕 (CJ 제일제당 주), 소금 (호남염전) 및 무 등은 경상남도 통영시 소재 E마트로부터 구입하여 사용하였다.

② 항균성 측정을 위한 미생물

식해 추출물의 항균활성을 측정하기 위해 사용한 그람 양성균 1종 (*Staphioccoccus aureus*) 과 그람 음성균 2종 (*Escherichia coli*, *Vibrio parahaemo -lyticus*)은 한국미생물보존센터에서 분양받아 사용하였고, 이에 대한 자세한 내용은 표 6-4와 같다.

③ 식해의 shelf-life 연장을 위한 굴 패각 및 녹차 추출물

비규격 넙치를 활용한 식해의 shelf-life 연장을 위한 굴패각 및 녹차 추출물 중 굴패각은 2011년 9월에 경상남도 고성군 소재의 주식회사 해광으로부터 비료로 사용할 목적으로 제조한 해광 1호 (분말상, 굴 패각을 소성, 선별하고 분쇄, 체치기 및 건조하여 제조한 제품)를 구입하여 체 (100 mesh)로 체치기하여 이를 통과한 미세 분말을 사용하였다. 녹차 추출물은 2011년 9월에 경상남도 양산시 소재의 주 MSC로부터 분양받아 사용하였다.

표 6-4. 항균 활성을 측정하기 위하여 사용한 미생물

그람 염색	사용 세균	균주 No. ¹⁾	배지
(+)	<i>Staphioccoccus aureus</i>	KCCM 11764	Muller-Hinton agar
(-)	<i>Escherichia coli</i>	KCCM 11569	Muller-Hinton agar
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	KCCM 11965	Muller-Hinton agar

이때 분양 받은 녹차 추출물의 고형물 농도 (brix 69°)가 높아 사용 시에는 농도가 0, 0.5, 1.0, 1.5 %(v/v)가 되도록 희석하여 사용하였다. 이상에서 언급한 굴 패각과 녹차 추출물의 사진은 사진 6-4와 같다.

④ 시판 식해

시판 식해는 2011년 7월에 가자미 식해 5종 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10), 명태 식해 (sample code 2 및 5), 도루묵 식해 (sample code 3), 멸치 식해 (sample code 6) 및 횡대 식해 (sample code 9)가 각각 1종으로 모두 10종을 전자상거래로 구입하여 사용하였다. 이 때 시판 식해의 구입처는 sample code 1 (가자미 식해), 2 (명태 식해) 및 3 (도루묵 식해)은 강원도 속초시 소재의 KAF이었고, sample code 4 (가자미 식해), 5 (명태 식해) 및 6 (멸치 식해)은 강원도 속초시 소재의 C이었으며, sample code 7 (가자미 식해)은 강원도 속초시 소재의 LF이었다. 그리고, sample code 8 (가자미 식해) 및 9 (횡대 식해)는 경상북도 영덕군 소

재의 HF이었고, sample code 10 (가자미 식해)은 강원도 삼척시 소재의 SFS이었다. 구입한 시판 식해의 원료 원산지는 명태를 제외한 4종의 어종 (sample code 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9 및 10의 원료어)은 모두 국내산이었고, 근년 국내에서 어획량이 거의 없는 명태 (sample code 2 및 5의 원료어)는 수입산 (러시아산)이었다. 이들 10종의 시판 식해의 구입 가격은 7,900-17,000 원 범위이었고, 판매 단위는 500 g(sample code 1-9)과 1,000 g (sample code 10)의 2종이었다. 이상에서 언급한 시판 식해의 사진은 그림 6-2에, 그리고, sample code 및 이들의 간략한 정보는 표 6-5와 같다.

⑤ 기타



굴 패각



굴 패각 분말



녹차 추출물 농축물

사진 6-4. 이 실험에서 비규격 넙치 식해의 저장성 개선제로 사용한 녹차 추출물 농축물과 굴 패각 분말의 사진

분리 젯산균의 인공 위액에 대한 내성을 살펴보기 위하여 사용한 pepsin은 Sigma에서 구입하여 사용하였고, 기타 배지는 Difico, 시약은 분석급 이상의 것을 구입하여 사용하였다.

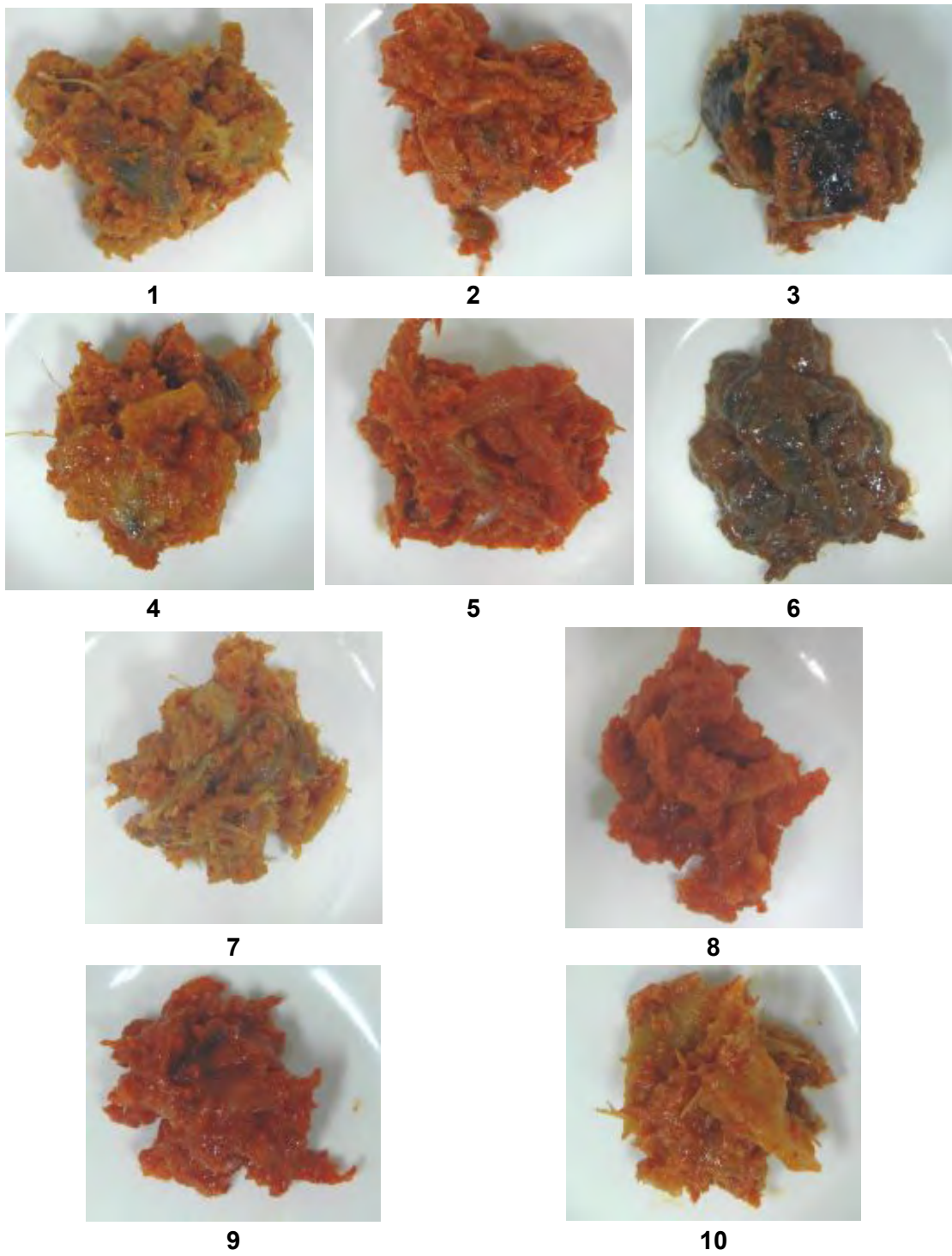


그림 6-2. 이 실험에서 사용한 시판 식해의 사진

표 6-5. 이 실험에서 사용한 시판 식해의 간단한 정보

시료 기호	제조사		원료어		제조 상품		가격 (won /bottle)
	Initial	위치	어종	원산지	상품명	무게 (g)	
1	KAF	속초	가자미	국내산	특 가자미 식해	500	12,000
2	KAF	속초	명태	수입산 (러시아)	명태 식해	500	10,000
3	KAF	속초	도루묵	국내산	도루묵 식해	500	10,000
4	C	속초	가자미	국내산	찬예찬 가자미 식해	500	8,900
5	C	속초	명태	Imported (Russia)	찬예찬 명태 식 해	500	8,900
6	C	속초	멸치	국내산	찬예찬 멸치 식 해	500	8,900
7	LF	속초	가자미	국내산	가자미 식해	500	11,900
8	HF	영덕	가자미	국내산	가자미 밥 식해	500	7,900
9	HF	영덕	횃대	국내산	횃대 밥 식해	500	7,900
10	SFS	삼척	가자미	국내산	삼척 가자미 식 해	1,000	17,000

(나) 넙치 식해의 제조

넙치 식해는 예로부터 가정에서 식해를 제조하여 즐겨 식용하여 오던 포항시 소재의 어른들로부터 조언을 얻어 다음과 같은 방법으로 제조하였다. 즉, 식해 소재로서 적정한 넙치의 크기를 구명하고자 하는 실험에서는 어체 크기가 다른 3종 (TS, DS 및 S)의 넙치를, 기타 실험에서는 어체 크기가 가장 작은 넙치인 TS를 소재로 하여 두부, 지느러미, 내장 및 비늘을 제거하고 물에 수세 및 탈수한 후 폭 2.5 cm 간격으로 dice 처리한 다음 여기에 식염을 2% (w/w)가 되게 가하여 30분 동안 염지처리 하였다. 이어서 염지 처리한 넙치 무게에 대하여 메조밥 [쌀과 메조를 1:1 (w/w)로 혼합하여 제조한 된밥] 이 50% (w/w), 고춧가루가 30% (w/w), 맥아가루가 10% (w/w), 밀가루가 3% (w/w), 다진 마늘이 15% (w/w), 다진 생강이 5% (w/w), 물이 50% (v/w), 무채 [무 무게의 5% (w/w)에 해당하는 소금에 30분동안 절인 다음 손으로 짜

서 물기를 제거한 것] 가 40% (w/w), 설탕이 1% (w/w)가 되도록 각각 가한 다음 잘 혼합하고, 플라스틱병 (직경x높이, 14x18 cm, 용량 2 L)에 넣어 밀봉한 후 15℃로 조정된 인큐베이터 (EYELA LTI-400E, Rilalilai Co., Japan)에서 일정시간동안 숙성시켰다. 이상에서 언급한 비규격 넙치 식해를 제조하기 위한 배합비는 표 6-6과 같다.

(다) 어류뼈의 수율 및 경도

식해의 숙성 중 넙치 뼈의 수율은 생넙치로부터 분리한 어류뼈 무게에 대한 숙성 후 식해에서 분리한 어류뼈 무게의 상대 비율 (%)로 하였다. 생넙치 어류뼈의 무게는 분리한 생넙치의 어류뼈를 수세 및 건조한 다음 이의 무게로 하였고, 넙치 식해 어류뼈의 무게는 15℃에서 12일간 숙성시키면서 3일 간격으로 분리한 어류뼈를 수세 및 건조한 다음 이의 무게로 하였다. 넙치 식해 어류뼈의 경도는 15℃에서 12일간 숙성시키면서 3일 간격으로 분리한 어류뼈를 250g의 추로 눌러 붕괴 여부로 나타내었다.

(라) 젖산균의 분리 및 동정

① 젖산균의 분리

식해의 숙성 기간 단축 및 건강 기능성 강화를 위하여 사용할 목적으로 유용 젖산균의 분리를 시도하였고, 이의 목적으로 사용하기 위한 유용 젖산균의 분리는

표 6-6. 넙치 식해의 제조를 위한 배합비

원료	배합비 (%)	원료	배합비 (%)
세절된 넙치	100	다진 마늘	15
밥 ¹⁾	50	다진 생강	5
고추가루	30	설탕	1
메조	10	물	50
밀가루	3	무 ²⁾	40

¹⁾ 메조와 쌀을 1:1로 혼합하여 제조한 밥

²⁾ 무는 염장 (5% 소금으로 30분간 마른간)한 다음 손으로 물을 제거한 것.

Lactobacillus MRS agar (Difco, Detroit, USA)를 이용하는 Miyao and Ogawa⁵⁴의 방법 따라 실시하였다. 즉, 식해로부터 젖산균의 분리를 위하여 최적 숙성기에 해당하는 식해를 마쇄한 다음 멸균수를 이용하여 단계별로 희석하였고, 이 희석액 0.1 mL를 MRS agar (Difco, Detroit, USA)에 도말 및 배양 (37℃에서 48시간)하였다. 이어서 MRS agar에 배양하여 형성된 colony 중에서 생육이 잘되고, 모양이 선명한 우세 균주를 선별한 다음 다시 수회 계대 배양하고 순

수하게 얻어진 7종의 균주를 선발하여 생리 및 형태학적 특성, 동정 및 기타 가공 및 건강 기능 특성의 검토를 위한 실험 균주로 사용하였다.

② 젖산균의 동정

선발한 균주는 배양학적, 형태학적, 생화학적 특성을 분석하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology⁵⁵ 색인에 따라 동정하였고, 당의 이용성은 API kit (API 50 CHB, Bio Merieux Co., Lyon, France)로 살펴보았으며, 이의 결과는 API kit 동정 프로그램인 <http://apiweb.biomerieux.com>에 적용하여 판독하였다.

③ 주사형전자 현미경 촬영

평판배지위에 고온고압멸균기로 멸균한 membrane filter를 얹고 filter 위에 MRS broth에 배양 (37°C, 24시간)한 젖산균을 접종, 배양 한 후 다음과 같은 방법으로 전처리를 하였다. 먼저 filter 위에 증식한 균주의 원활한 현미경 관찰을 목적으로 균체를 고정시키기 위해 균주가 증식한 필터를 2.5% gluteraldehyde 용액에서 1시간 동안 담구어 균체를 1차 고정시키고 1% Osmium tetroxide 용액에서 1시간 동안 담구어 균체를 2차 고정시킨다. 50%, 70%, 90, 및 95% ethanol 용액에서 농도별 순서로 15분씩 차례대로 탈수시킨 후 다시 100% ethanol 용액에서 10분 동안 2차례 탈수시킨다. 탈수한 균체를 HMDS (hexmethyldisilazane)에서 2차례 10분씩 처리한 후 건조하여 Au로 코팅하여 주사형 전자현미경 (Jeol JSM-6380LV, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

(마) 젖산균의 가공 기능 특성

젖산균의 고도 이용을 목적으로 분리 젖산균의 가공 기능 특성에 대하여 살펴보려고 시도하였다. 이때 사용한 분리 젖산균은 식해로부터 분리한 그대로를 *Lactobacillus* MRS broth (Difco, Detroit, USA)에 2회에 걸쳐 계대 배양한 후 균체를 원심분리 (1,600 × g 10분)하여 회수하고 세척한 것으로 하였다.

① pH 및 온도에 대한 특성

분리 젖산균의 pH 및 온도에 대한 특성은 Shin 과 Shin⁴⁰의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 분리 젖산균의 특성 중 pH 특성은 멸균한 *Lactobacillus* MRS broth (Difco, Detroit, USA)의 pH를 0.1 N HCl과 0.1 N KOH를 이용하여 pH 3.6-9.2 범위로 조정한 것에 전처리한 분리 젖산균을 접종한 다음 37°C에서, 그리고, 온도 특성은 멸균한 *Lactobacillus* MRS broth (Difco, Detroit, USA)에 전처리한 분리 젖산균을 접종한 다음 배양 (pH 특성 측정의 경우 37°C에서, 온도 특성 측정의 경우 10-50°C 범위에서 각각 24-48시간)한 후 이의 흡광도들을 측

정하여 검토하였다.

② 인공 위액에 대한 내성

분리 젖산균의 인공 위액에 대한 내성 실험은 Kobayashi 등⁵⁶이 기술한 방법에 따라 다음과 같이 실시하였다. 분리 젖산균의 인공 위액에 대한 내성의 측정을 위하여 전처리한 분리 젖산균을 1 N HCl로 pH 2.5로 조정하고 1% pepsin이 함유된 *Lactobacillus* MRS broth의 인공 위액에 접종하였다. 이어서 인공 위액을 가볍게 진탕 배양 (37°C, 3시간)한 후 0.1 mL를 취하여 MRS agar 상에 도말한 다음 인체 온도인 37°C에서 배양하여 생성된 집락수를 계수하였다. 분리 젖산균의 인공 위액에 대한 내성 활성 (%)은 인공 위액에 배양 전의 생균수에 대한 배양 후 생균수의 상대 비율로 나타내었다.

③ 내담즙성

분리 젖산균의 내담즙성은 Christiaens 등⁵⁷의 방법을 약간 변형하여 다음과 같이 실시하였다. 분리 젖산균의 내담즙성의 측정을 위하여 전처리한 분리 젖산균을 0.3% oxgall이 포함된 MRS agar에, 그리고, 대조구는 oxgall이 포함되지 않은 MRS agar에 각각 도말하고 배양 (37°C, 48시간)하여 생성된 집락수를 계수하였다. 분리 젖산균의 내담즙 활성 (%)은 oxgall이 포함되지 않은 MRS agar의 생균수에 대한 0.3% oxgall이 포함된 MRS agar의 생균수의 상대 비율로 나타내었다.

④ 젖산 생성 활성

분리된 젖산균의 산생성 활성 측정은 Lee 와 Yu⁵⁸가 언급한 방법에 따라 측정하였고, 식해의 숙성 중 생성한 젖산량으로 나타내었다. 즉, 젖산균의 산생성 활성을 측정하기 위하여 전처리한 분리 젖산균을 *Lactobacillus* MRS broth (Difco, Detroit, USA)에 접종하여 배양 (30°C, 24시간)하고, 원심분리 (8000 × g, 5분)한 후 상층액의 젖산량을 측정하여 계산하였다. 젖산량은 원심분리한 상층액 10 mL에 1% phenolphthalein 용액을 2-3방울 가하고 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 측정하였고, 이 적정량에 젖산계수를 곱하여 계산하였다.

(바) 일반성분

일반성분 함량은 AOAC법⁵⁹에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semimicro Kjeldahl 법, 조회분은 건식회화법 및 조지방은 Soxhlet법으로 각각 측정하였다.

(사) 위생성

① 중금속

중금속 중 총 수은은 시료를 동결건조한 다음 수은분석기(SP-3A, Nippon instrument Co., Tokyo, Japan)를 이용하는 combustion gold amalgamation법⁶⁰으로 분석하였고, 남은 질산으로 유기질을 습식 분해하여 시료를 조제⁶¹한 다음 inductively coupled plasma spectrophotometer(ICP) (Atomscan 25, TJA, USA)로 분석하였다.

② 휘발성 염기질소

휘발성 염기질소 함량은 Conway unit를 사용하는 미량확산법⁶²으로 측정하였다. 휘발성 염기질소 함량의 측정을 위한 시료는 식해 10 g에 증류수를 약 30 mL을 가하여 균질기 (System Polytron PT 1200A, KINEMATICA AG, EU)로 1분간 균질화 시킨 후 여과하여 제조하였다. 휘발성 염기질소 함량은 Conway unit의 외실의 경우 왼쪽에 전처리 시료 용액 1 mL를, 오른쪽에 50% K₂CO₃ 1mL를, 내실의 경우 0.01 N H₂BO₃ 1mL와 지시약 500 μL를 각각 가한 다음 글리세린을 바른 뚜껑으로 밀폐하고 조심스럽게 흔들여 준 다음 37℃에서 120분간 반응시켰고, 이어서 반응이 끝난 Conway unit 외실에 0.01 N H₂SO₄ 적정하여 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{휘발성 염기질소 (mg\%)} = \frac{(\text{시료 적정치}-\text{대조구 적정치})\times 0.14 \times \text{factor} \times \text{희석비}}{\text{시료 량 (g)}} \times 100$$

③ 대장균

대장균은 전처리한 시료의 각 단계별 희석을 5개 시험관법으로 실시하였는데, 추정시험은 lauryl tryptose broth를, 확정시험은 brilliant green lactose bile (2% BGLB) broth를 사용하여 35±1℃에서 24-48시간 동안 각각 배양하여 측정하였고, 이때 나타난 양성관을 계측한 후 최확수(most probable number, MPN)/100 g으로 나타내었다.

(아) 젖산균수 및 생균수

젖산균수 및 생균수의 계측을 위한 시료는 Lee 와 Oh⁶³가 언급한 방법에 따라 식해 20 g을 무균적으로 취하여 180 mL의 멸균 생리 식염수 (0.85% NaCl)를 넣고 90초간 균질화한 후 10진 희석법으로 희석하여 제조하였다. 생균수 및 젖산균수는 전처리한 시료를 각각 plate count agar (Difco, Lab, USA)와 MRS agar (Difco, Lab, USA)에 1 mL씩 각각 접종하고 이를 배양 (총균수의 경우 30℃에서 24-28시간, 젖산균수의 경우 37℃에서 48-72시간)하여 형성된 집락을 colony counter (JS-CC-100, Johsam Co., Korea)로 계수하여 각각 나타내었다.

(자) 영양 특성

① 총 아미노산

총 아미노산의 분석을 위한 시료는 일정량의 식해 (약 50 mg)에 6 N HCl 2 mL를 가하고, 밀봉한 다음, 이를 heating block (HF21, Yamato, Japan)에서 가수분해 (110°C, 24시간)한 후 glass filter로 여과, 감압건조하고, 이를 sodium citrate buffer (pH 2.2)로 정용하여 제조하였다. 총아미노산의 분석은 전처리 시료의 일정량을 아미노산 자동분석기 (Pharmacia Biotech Biochrom 30, England)로 분석 및 정량하여 계산하였다.

② 무기질

무기질의 분석을 위한 시료는 Tsutagawa 등⁶¹이 실시한 방법에 따라 질산으로 유기질을 습식 분해하여 시료를 조제하였다. 무기질은 전처리한 시료를 이용하여 inductively coupled plasma spectrophotometer (ICP, Atomscan 25, TJA)로 분석, 정량 및 동정하여 계산하였다.

③ 지방산 조성

지방산 조성의 분석을 위한 시료유는 Bligh와 Dyer법⁶⁴으로 추출하여 사용하였다. 지방산 조성은 추출한 시료유를 이용하여 AOCS법⁶⁵에 따라 지방산 메틸에스테르화한 후에 capillary column (Supelcowax-10 fused silica wall-coated open tubular column, 30 m×0.25 mm I.d., Supelco Japan Ltd., Tokyo)이 장착된 gas chromatography (Shimadzu 14A; carrier gas, He; detector, FID)를 이용하여 분석하였다. 분석 조건은 injector 및 detector(FID) 온도를 각각 250°C로 하고, 칼럼 온도는 230°C까지 승온시킨 다음 15분간 유지하였다. Carrier gas는 He (1.0 kg/cm²)을 사용하였으며, split ratio는 1:50으로 하였다. 지방산의 동정은 표준 지방산 (Applied Science Lab. Co., USA)과의 retention time을 비교하여 실시하였다.

(차) 관능적 요인의 분석 및 검사

① 헌터 색조

헌터 색조는 식해를 food mixer (FM-700W, Hanil Electrics Co., Korea)로 5분간 마쇄한 것을 헌터 직시색차계 (ZE 2000, Nippon Denshoku Industries Co., Tokyo, Japan)의 페이스트상 용기에 담아 색조 (명도, 황색도 및 색차)를 측정된 다음 L값, b값 및 ΔE값으로 나타내었다. 이때 헌터 색차계의 표준 백판은 L값이 96.85, a값이 -0.43 및 b값이 0.64이었다.

② 유리 아미노산 및 taste value

유리 아미노산 분석을 위한 시료는 다음과 같은 방법으로 조제하였다. 일정하게 균질화한

식해에 20% trichloroacetic acid (TCA) 30 mL를 가하여 균질화하고 정용(100 mL) 및 원심분리 (1,000 × g, 10 min)하였다. 이어서 상층액 중 80 mL를 분액 깔때기에 취하여 동량의 에테르를 사용하여 TCA 제거 공정을 4회 반복하였고, 다시 이를 농축 및 lithium citrate buffer (pH 2.2)로 정용 (25 mL)하여 제조하였다. 유리아미노산은 전처리 시료의 일정량을 이용하여 아미노산 자동분석기 (Pharmacia Biotech Biochrom 30, Biochrom Ltd., England)로 분석한 다음, 동정 및 계산하였다. 식해의 맛에 대한 강도를 살펴보기 위하여 검토한 taste value는 식해의 유리아미노산 함량을 Kato 등⁶⁶이 제시한 유리아미노산 역치를 이용하여 Cha 등⁶⁷과 같은 방법으로 계산하여 나타내었다.

③ pH, 적정산도 및 아미노질소

pH, 적정산도 및 아미노 질소 함량의 측정을 위한 시료는 넙치 식해 5 g에 탈이온수 20 mL를 가하고 균질화한 다음 50 mL로 정용하고, 여과하여 제조하였다. pH는 위에서 언급한 전처리 시료를 pH meter (Metrohm 691, Metrohm, Switzerland)로 측정하여 나타내었고, 적정산도는 Chang 등⁶⁸의 방법에 따라 시료액 25 mL에 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.4가 될 때까지 적정한 다음 그 소비량 (mL)을 젖산으로 환산 (환산계수 0.009)하여 나타내었다. 아미노 질소 함량은 KOAC에서 제시한 Formol⁶⁹법에 따라 적정산도 측정이 종료된 시료에 중성 포르말린 용액 20 mL를 가하고, 여기에 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.4가 될 때까지 적정한 다음 그 소비량 (mL)을 아미노 질소 함량으로 환산 (환산 계수 0.0014)하여 나타내었다.

④ 관능검사

관능검사는 신맛, 향, 냄새에 잘 훈련된 10인의 pannel member를 구성하여 실시하였다. 여기서 시제품의 품질을 관능적으로 평가하기 위한 대조구는 시판 식해의 관능적 특성을 살펴보는 연구, 양식산 넙치 식해의 최적 발효 일수의 구명에 관한 연구 및 젖산균 첨가 넙치 식해의 식품 성분에 관한 연구의 경우 시판 가자미 식해 중 sample code 1로, 식해의 소재로서 양식산 넙치의 적정 크기 구명을 위한 연구의 경우 250 g 이하로 제조한 식해로, 넙치 식해의 shelf-life 연장을 위한 연구의 경우 굴 패각과 녹차 농축물을 첨가하지 않은 넙치 식해로 하였다. 이들 식해의 관능 특성은 대조구 식해의 색, 맛 및 냄새에 대하여 기준점인 5점으로 하고 이보다 우수한 경우 각각 6-9점으로 하고, 이보다 열악한 경우 4-1점으로 하는 9단계 평점 방법으로 상대평가하여 평균값으로 나타내었다.

(카) 효소 활성의 측정

① 조효소액의 제조

조효소액은 마쇄 식해 2 g에 탈이온수 10배량 (v/w) (20 mL)을 가해 균질화한 후 원심분리 (3,000 rpm, 30 min) 및 여과하여 조제하였다. 이들 조효소액은 단백질 농도, UV-Visible spectrum (200~1,100 nm), 산성 (hemoglobin, pH 3), 약산성 (casein, pH 6) 및 알칼리성 영역 (casein, pH 9)에서 단백질 분해 효소 활성을 측정하기 위한 시료로 사용하였다.

② 단백질 농도

식해로부터 추출한 조효소액의 단백질 농도는 Schleif and Wensink (1981)⁷⁰의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 조효소액을 5배 희석하여 자외선 영역인 파장 280 nm와 260 nm에서 각각 흡광도를 측정한 후, 다음 식으로 단백질 농도를 구하였다.

$$\text{Protein concentration (mg/mL)} = (1.5 \times A_{280}) - (0.75 \times A_{260})$$

③ UV-Visible spectrum

식해의 제조 조건별 숙성 중의 일어난 변화 정도를 상호 비교하기 위하여 자외선 및 가시광선 영역에서 분광광도계 (Hitachi U-2900, Hitachi, Japan)를 사용하여 측정하고자 하였다. 즉, 조효소액을 5배 희석하여 파장 범위 200~1,100 nm에서 200 nm/min의 scan 속도로 UV-Visible spectrum을 측정하였다.

④ 효소 활성

식해로부터 추출한 조효소액의 단백질 분해 효소 활성은 산성 단백질 분해 효소는 1% hemoglobin 기질, 약산성 및 알칼리성 단백질 분해 효소는 2% casein 기질을 사용하였으며, buffer는 0.1 M glycine-HCl (pH 3), 0.1 M sodium phosphate (pH 6) 및 0.1 M Tris-HCl (pH 9)을 사용하여 Anson (1938)⁷¹의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 식해로부터 추출한 조효소액 0.5 mL에 1 mL의 각 pH 별 buffer 및 0.5 mL의 기질 용액을 반응 혼액으로 하여, 40°C에서 1 시간 동안 진탕 항온수조 (SWD-10, JEIO TECH, Korea)에서 반응시켰다. 이어서 2 mL의 5% TCA 용액을 가해 반응을 정지 시키고, 원심분리 (3,000 rpm, 15분)한 후, 상층액을 파장 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 단위 (U/mg)는 1 mg의 효소가 1 시간 동안 변화시키는 흡광도 0.1 digit을 1 U/mg으로 나타내었다.

(타) 건강 기능성의 특성

식해의 생리 활성 물질은 저온실 (4°C)에서 균질화된 식해 100 g에 6배가량 (v/w)의 메탄올을

가하고 6시간 동안 교반하여 추출하고 여과한 후 회전식 진공증발기 (Eyela N-1000, Rikakika Co., Japan)로 농축시킨 다음 농축물에 대하여 10배 (v/w)의 물로 용해 및 여과하여 제조하였고, 이들은 angiotensin-I converting enzyme (ACE) 저해활성, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 소거 활성, alpha-glucosidase 저해 활성, xanthin oxidase 저해 활성, 아질산 소거능 및 항균 활성을 측정하기 위한 시료로 사용하였다.

① ACE 저해 활성

ACE 저해 활성은 정제 ACE를 이용하여 Horiuchi 등⁷²의 방법에 따라 Zorbax 300SB C₈ column (Hewlett Packard Co., 4.6×150 mm)이 장착된 HPLC (LC-10AVP, Shimadzu Co., Japan)로 측정하였다. 이때 ACE 저해능을 측정하기 위한 시료는 전처리하여 얻은 식해의 생리 활성 물질 15 µL에 정제 ACE (60 mU/mL) 50 µL를 가한 후 37°C에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 붕산 완충액 (pH 8.3, 400 mM NaCl 함유)에 용해한 5 mM의 hippuryl-histidyl-leucine 용액 125 µL를 가하여 다시 37°C에서 30분 반응시킨 후 10% trifluoroacetic acid (TFA) 20 µL를 가하여 반응을 정지시켜 조제하였다. 이때 대조구는 식해의 생리 활성 물질 대신에 증류수 15 µL를 사용하여 동일한 방법으로 조제하였다. 이어서 반응 용액 20 µL를 Zorbax 300SB C₈ column이 장착된 HPLC에 주입한 다음 분석하였다.

② DPPH 소거 활성

식해 생리 활성 물질의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 소거 활성은 Blois⁷³의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 식해 생리 활성 물질 0.3 mL에 4 × 10⁻⁵ M DPPH 용액 2.7 mL를 가하고 교반한 후 30분간 반응시킨 다음 516 nm에서 흡광도를 측정하여 다음에 제시한 식에 따라 계산하여 나타내었다.

$$\text{DPPH free radical 소거 활성 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \right) \times 100$$

③ Alpha-glucosidase 저해 활성

Alpha-glucosidase 저해 활성은 Watanabe 등⁷⁴의 방법으로 측정하였다. 이때 효소의 경우 호모로부터 얻어진 alpha-glucosidase [0.2% bovine serum albumin과 0.02% NaN₃가 포함된 100 mM phosphate buffer (pH 7.0)를 이용하여 0.7 µg/mL로 되게 조제하여 사용] 를, 기질의 경우 p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside [100 mM phosphate buffer (pH 7.0)를 이용하여 5 mM로 되게 조제하여 사용] 를, 그리고, 전처리 시료의 경우 식해 생리 활성 물질 100 µL를 dimethyl sulfoxide (DMSO) 900 µL에 녹여 조제한 것을 사용하였다. Alpha-glucosidase 저해

활성은 기질 첨가 전 흡광도 [전처리 시료 용액 (대조구의 경우 DMSO)과 효소 용액을 차례로 각각 10 μ L 및 50 μ L씩 첨가 하고 혼합한 다음, 5분 동안 실온에서 반응시킨 후에 405 nm에서 측정된 흡광도] 와 기질 첨가 후 흡광도 [전처리 시료 용액과 효소 용액을 차례로 각각 10 μ L 및 50 μ L씩 첨가하고 혼합한 혼합물들에 기질 용액 50 μ L를 각각 첨가 및 재혼합한 다음 5분 동안 실온에서 반응시킨 후에 405 nm에서 측정된 흡광도] 를 각각 측정 한 후에 기질 첨가 전후의 변화된 흡광도의 차이로부터 산출하였고, 각 실험은 3회 반복 수행하였으며, 이들의 평균치로 나타내었다.

④ Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase 저해 활성은 Stirpe 와 Corte⁷⁵의 방법에 따라 측정하였다. 즉, xanthine oxidase 저해 활성의 측정을 위하여 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 0.4 mL에 xanthine oxidase (0.2 unit/mL) 0.2 mL와 식해 생리 활성 물질 0.2 mL (대조구에는 시료액 대신 증류수를 0.2 mL)를 가하고, 37°C에서 5분간 반응시킨 다음 20% trichloroacetic acid(TCA) 1 mL를 가하여 반응을 종료시켰다. 이어서 반응물을 원심분리 (20,000 \times g, 10분)하고 여과하여 여액에 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하여 다음에 제시한 식에 따라 계산하여 나타내었다.

$$\text{Xanthine oxidase 저해 활성 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \right) \times 100$$

⑤ 항균활성

항균 활성은 Kim 등⁷⁶이 언급한 방법에 따라 paper disk 법으로 실시하였다. 식해 생리 활성 물질의 항균을 살펴볼 목적으로 식중독에 크게 문제가 되는 *Staphioccoccus aureus*, *Escherichia coli* 및 *Vibrio parahaemolyticus*와 같은 균주를 각각 도말된 평판 배지 위에 6 mm 직경의 paper disk (Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)를 놓고 0, 0.5, 1.0, 1.5%(v/v)의 농차 추출물을 40 μ L 씩 일정하게 가한 후에 37°C에서 24시간 동안 배양하여 생육 저지환의 직경을 측정하였다. 이때, 항균성은 농차 추출물 또는 시료에 의하여 생성된 생육 저지환의 직경 크기 (mm)로 나타내었다.

⑥ 아질산염 소거활성

아질산염의 소거 활성은 2종의 시료, 즉 젖산균과 식해를 대상으로 하여 측정하였다. 젖산균에 의한 아질산염의 소거 활성은 Dodds 와 Collins-Thompson⁷⁷의 방법에 따라 *Lactobacillus*

MRS broth (Difco, detroit, USA)의 액체 배지를 사용하여 다음과 같이 실시하였다. 즉, 젖산균에 의한 아질산염의 소거 활성은 액체 배지에 아질산염의 경우 최종 농도가 100 µg/mL가 되도록, 젖산균 (10⁹ CFU/mL)의 경우 100 µL (대조구의 경우 젖산균 대신에 멸균 증류수 100 µL)를 각각 가한 다음 배양 (37°C, 18시간)한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{아질산염 소거 활성 (\%)} = \frac{\text{대조구 흡광도} - \text{젖산균 처리구 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

식해 생리 활성 물질의 아질산염 소거 활성은 Gray와 Dugan⁷⁸의 방법에 따라 측정 하였다. 즉, 식해 생리 활성 물질의 아질산염 소거 활성을 측정하기 위하여 식해 생리 활성 물질 (A) 0.5 mL [대조구 (C)의 경우 시료 대신에 증류수를 0.5 mL 첨가] 에 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL를 가하고 혼합한 다음, 1 N HCl로 혼합 용액의 pH를 1.2로 조절 후 37°C에서 1시간 동안 반응을 시켰다. 이어서 반응액 1 mL를 취하여 여기에 2% acetic acid 용액 5 mL와 Griess 시약 [30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 (v/v)의 비율로 혼합하여 제조한 교것] 0.4 mL [보정용 (B, 시료 자체의 흡광도를 보정하기 위한 시료)의 경우 식해 생리 활성 물질을 사용하되 Griess 시약 대신에 증류수를 0.4 mL 첨가]를 각각 가한 다음 혼합하고 25°C에서 15분간 방치한 후 spectrophotometer (UV-VIS 1700, Shimadzu, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였고, 이를 토대로 아질산염 소거 활성은 다음에 제시한 식에 따라 계산하여 나타내었다.

$$\text{아질산염 소거 활성 (\%)} = \left(1 - \frac{A - B}{C}\right) \times 100$$

여기서 A는 시료와 Griess 시약을 첨가하여 반응시킨 반응물의 흡광도이고, B는 Griess 시약을 첨가하지 않고 시료 대신 증류수 만을 가하여 반응시킨 반응물의 흡광도이며, C는 시료 대신 첨가한 증류수와 Griess 시약을 첨가하여 반응시킨 반응물의 흡광도이다.

(파) 굴 패각의 특성

① pH 완충능

굴 패각 분말의 완충능은 Assoumani⁷⁹의 방법을 약간 수정하여 일정량의 시료에 탈이온수 (100 mL) 를 가하고 0.1 N HCl 용액을 10 mL 씩 첨가하면서 일정 pH에 도달할 때까지 측정하였다.

② X-ray 회절

굴 패각 분말의 주요 구성 성분을 알아보기 위하여 실시한 XRD 상분석은 40 KV, 30 mA의 조

건과 10-70℃의 온도 조건에서 x-ray diffractometer (Phlips expert system, Netherland)를 이용하여 측정하였다.

(하) 통계처리

본 실험에서 얻어진 데이터의 표준 편차 및 유의성 검정 (5% 유의 수준)은 SPSS 통계 패키지 [spss window, release 10.0.1 (1 Jun 2000)] 에 의한 ANOVA test를 이용하여 분산분석한 후 Duncan의 다중위 검정을 실시하였다.

나. 실험결과

(1) 납치 성형 연제품 개발

(가) 여러 가지 시판 명태 수리미 및 연제품의 특성 비교

① 수리미의 일반성분 및 백색도

여러 가지 등급을 가진 시판 명태 수리미의 일반성분은 표 6-7와 같다. 수리미의 일반성분은 수분 함량의 경우 73.8-75.1% 범위, 단백질 함량의 경우 15.5-16.9% 범위, 지질 함량 및 조회분 함량은 두성분 모두 0.1-0.9% 범위이었고, 탄수화물 함량은 7.2-9.0% 범위이었다. 일반성분 결과로 미루어 보아 건물당 시판 명태 수리미의 주성분은 단백질과 탄수화물이었다. 이와 같이 시판 명태 수리미의 주성분 중 1종이 단백질인 것은 수리미의 경우 어육으로부터 염용성 단백질을 분리한 제품이기 때문이며, 주성분 중 또 다른 1종이 탄수화물인 것은 동결 변성방지를 위하여 솔비톨 (일반적으로 4% 첨가)과 설탕 (일반적으로 4% 첨가)을 첨가하기 때문이라 판단되었다 (Kim et al., 1996). 일반적으로 선상동결 수리미의 등급 규격 항목 중 일반성분은 수분 함량 만이 제시되어 있고, 그 규격은 SA급의 경우 75.0-75.5% 범위, FA급의 경우 75.5-76.0% 범위, A급의 경우 75.5-76.5% 범위 및 RA급의 경우 76.5-77.5% 범위로 규정되어 있다 (Kim et al., 2007). 본 실험에서 검토한 수리미의 수분 함량을 선상동결 수리미의 수분 함량에 대한 규정에 적용하는 경우 SA급, FA급 및 A급은 오차 범위에 있었으나, RA급은 규정보다 약간 낮은 범위에 있었다. 동결 시판 명태 수리미를 해동한 다음 이의 백색도를 측정한 결과는 그림 6-3과 같다. 해동한 시판 명태 수리미의 백색도는 SA급이 40.3, FA급이 37.2, AA급이 36.6, A급이 30.5, KA 급이 28.3, KB급이 27.0 및 RA급이 18.6이었다. 한편, 선상동결 수리미의 등급 규격에서는 SA급과 FA급이 30이상, A급 및 RA급이 25-30 범위로 규정하고 있다 (Kim et al., 2007). 본 실험에서 검토한 수리미의 백색도를 선상동결 수리미의 백색도에 대한 규정에 적용하는 경우 SA급, FA급 및 A급은 규정을 충족하였으나, RA급은 규정을 충족하지 못하였다.

표 6-7. 여러 가지 등급 시판 명태 수리미의 일반성분 함량

등급 ¹⁾	일반성분 (%)				
	수분	조단백질	조지방	회분	탄수화물 ²⁾
SA	74.3±0.8	16.9±0.1	0.1±0.0	0.9±0.2	7.8
FA	74.6±0.9	15.5±0.1	0.5±0.1	0.4±0.1	9.0
AA	74.6±0.2	16.7±0.1	0.8±0.1	0.6±0.1	7.3
A	74.7±0.8	15.7±0.1	0.5±0.1	0.2±0.1	8.9
KA	73.8±0.1	16.2±0.2	0.9±0.0	0.1±0.0	9.0
KB	75.1±0.3	16.0±0.0	0.7±0.1	0.6±0.1	7.6
RA	74.9±0.4	16.8±0.0	0.7±0.1	0.4±0.0	7.2

¹⁾수리미 (SA, FA, AA, A, KA, KB and RA)는 표 5-1의 설명과 같음.

²⁾탄수화물(%) = 100 - (수분 + 조단백질 + 조지방 + 회분)

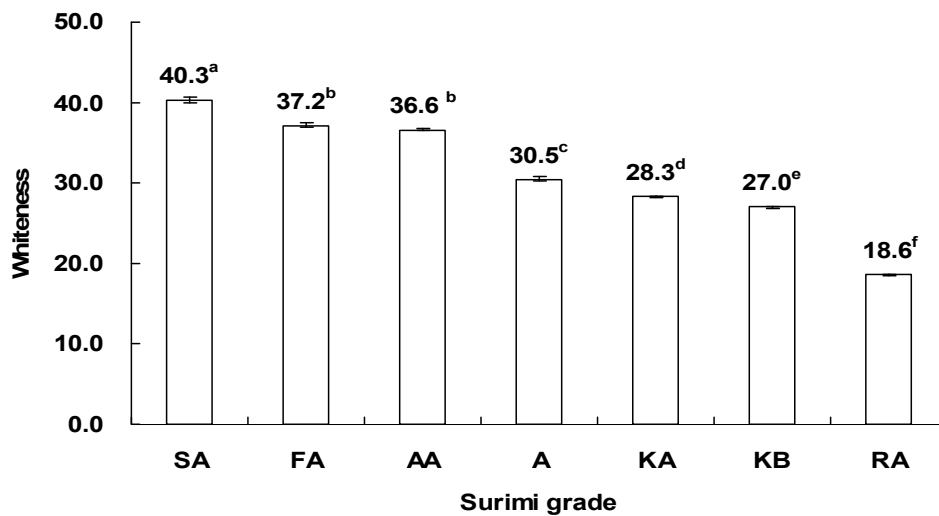


그림 6-3. 여러 가지 등급의 시판 명태 수리미의 백색도.

: 수리미 (SA, FA, AA, A, KA, KB and RA)는 그림 6-1의 설명과 같음.

② 연제품의 겔강도 및 백색도

시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도는 그림 6-4과 같다.

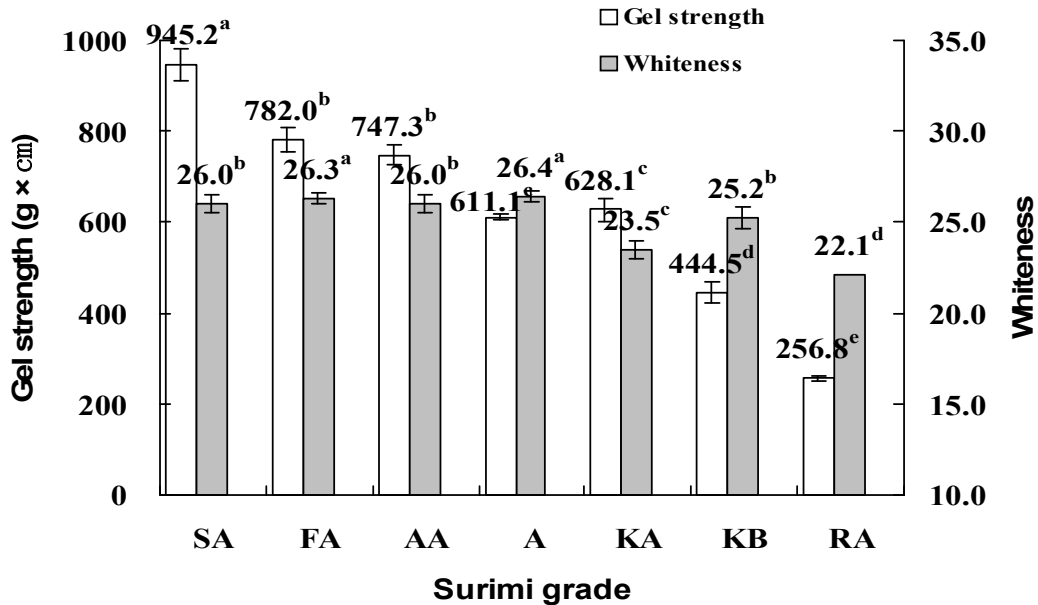


그림 6-4. 여러 가지 등급의 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도 : 수리미 (SA, FA, AA, A, KA, KB and RA)에 대한 설명은 표 6-1과 같음

수리미로 제조한 연제품의 겔강도는 SA급이 945 gxcn, FA급이 782 gxcn, AA급이 747 gxcn, A급이 611 gxcn, KA급이 628 gxcn, KB급이 445 gxcn, 그리고 RA급이 257 gxcn로, 등급이 우수할수록 높게 나타났다. 한편, 선상동결 수리미의 등급 규격에서는 SA급이 1200-1400 gxcn 범위, FA급이 1100-1400 gxcn범위, A급이 900-1100 gxcn 범위 및 RA급이 600-900 gxcn 범위에 있어야 한다고 규정하고 있다. 본 실험에서 검토한 시판 명태 수리미로부터 제조한 연제품의 겔강도를 선상동결 수리미의 겔강도에 대한 규정에 적용하는 경우 등급에 관계없이 197-318 gxcn 범위에서 낮은 범위에 있었다. 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 백색도는 SA급, FA급, AA급 및 A급이 26.0-26.4 범위로 5% 유의수준에서 차이가 없었고, 나머지 등급에 비하여 다소 높았다. 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 백색도 역시 일반적으로 알려진 등급의 순으로 높았으나, KB급의 경우 25.2로 KA에 비하여 다소 높아 차이가 있었다.

(나) 제주산 비규격 넙치의 수리미 및 연제품 소재로의 특성

① 양식지역이 다른 비규격 넙치의 수리미 및 연제품 소재로의 특성

- 양식지역이 다른 비규격 넙치 간의 일반성분 함량 및 콜라겐 함량 비교

제주, 완도 및 거제와 같이 양식지역이 다른 small size 넙치의 일반성분 함량 및 콜라겐 함량을 비교한 결과는 표 6-8과 같다. 넙치 간의 일반성분 함량은 양식지역에 관계없이 수분 함량의 경우 75.6-76.0% 범위, 조단백질 함량의 경우 20.8-21.9% 범위, 조지방 함량의 경우

0.6-0.7% 범위 및 조회분 함량의 경우 1.2-1.4% 범위로, 양식지역이 다른 넙치 간의 일반성분 함량의 차이는 거의 인정되지 않았다. 이와 같은 양식지역이 다른 3종의 넙치 간 일반성분 함량에서 차이가 없는 것은 시료 채취시기가 동일시기에 이루어진 것 이외에 동일한 사료 (고등어)에 의하여 양식되어졌기 때문이라 판단되었다. 양식지역이 다른 3종의 넙치 일반성분은 수리미 소재로 가장 널리 이용되고 있는 명태 근육의 일반성분 함량 (수분 함량이 80.9±0.2%, 조단백질 함량이 17.1±0.1%, 조지방 함량이 0.4±0.2% 및 회분 함량이 0.8±0.2%) (Park et al., 2004)에 비하여 조단백질 함량의 경우 약 4%가 높았고, 수분 함량의 경우 약 5%가 낮았으며, 조지방 함량과 회분 함량은 1% 미만의 차이를 나타내었다.

표 6-8. 양식지역이 다른 3종 넙치의 일반성분 함량 및 콜라겐 함량

양식지역	일반성분 (g/100 g)				콜라겐 (g/100 g)
	수분	조단백질	조지방	회분	
제주	75.7±0.1	21.9±0.1	0.7±0.2	1.3±0.1	1.96±0.16
완도	75.6±0.2	21.8±0.0	0.7±0.0	1.2±0.1	1.58±0.07
거제	76.0±0.3	20.8±0.9	0.6±0.1	1.4±0.2	1.68±0.04
명태 ¹⁾	80.9±0.2	17.1±0.1	0.4±0.2	0.8±0.2	-

¹⁾이 데이터는 Kim and Park (2004)에 의하여 인용되었음

한편, Park et al. (1995)은 넙치의 단백질 조성 중 근원섬유 단백질은 73-79% 범위이며, 다른 어류의 단백질 조성 중 근원섬유 단백질의 조성 (대구 76%, 전기가오리 64%, 상어 73%, 잉어 70-72%)과 유사하거나 높았다고 보고한 바 있다. 이와 같은 단백질 함량, 근원섬유 조성 및 수리미의 제조 공정 중 이물질에 해당하는 조지방 함량과 회분 함량으로 미루어 보아 수리미의 수율은 양식지역의 차이에 관계없이 넙치를 소재로 하는 경우가 다른 어류를 소재로 하는 경우보다 높으리라 추정되었고, 양식지역을 달리한 넙치 간에는 차이가 없으리라 판단되었다. 한편, Kim et al. (2000)은 완도산과 통영산 넙치의 일반성분을 분석한 결과 수분 함량의 경우 각각 76.4% 및 77.7%, 조단백질 함량의 경우 각각 19.0% 및 20.1%, 조지방의 경우 각각 2.6% 및 2.7%, 회분 함량의 경우 각각 0.7% 및 0.8%이었다고 보고한 바 있다. 양식지역에 따른 넙치 근육의 콜라겐 함량은 제주산 넙치 근육이 1.96 g/100 g으로 가장 많았고, 다음으로 완도산 넙치 근육(1.90 mg/100 g) 및 거제산 넙치 근육(1.60 g/100 g)의 순이었다. 이와 같이 양식지역에 따른 근육의 콜라겐 함량 차이는 서식지의 조류 영향이 상당히 크리라 판단되었다. 한편, 제주산 넙치의 콜라겐 함량은 정어리 근육(0.34 g/100 g), 셋멸 근육(0.43 g/100 g), 무지개송어 근육(0.47 g/100 g), 고등어 근육(0.50 g/100 g), 전갱이 근육(0.51 g/100 g), 잉어 근육(0.60 g/100 g), 말쥐치 근육(0.68 g/100 g), 참돔 근육(0.73 g/100 g),

농어 근육(0.88 g/100 g), 노랑가오리 근육(0.94 g/100 g), 송어 근육(1.16 g/100 g) 및 갯장어 근육(1.54 g/100 g)보다는 높았으나, 뱀장어 근육(1.99 g/100 g), 까치상어 근육(2.12 g/100 g) 및 붕장어 근육(2.19 g/100 g)보다는 낮았다. 따라서 이들 넙치근육의 콜라겐 함량에 대한 결과로부터 양식지역에 관계없이 넙치를 연제품의 소재로 이용하고자 하는 경우 연제품 제조과정 중 수세 공정 이후에 염용성 단백질의 정제공정이 반드시 도입되어야 할 것으로 판단되었다.

- 양식지역이 다른 비규격 넙치 근육 조효소 간의 활성분포

양식지역 (제주, 거제 및 완도)이 다른 small size 넙치 근육 조효소 간의 천연 및 합성기질에 대한 활성 분포를 비교 검토한 결과는 그림 6-5와 같다. 양식지역이 다른 3종 넙치 근육의 추출 단백질 함량은 완도산 넙치 근육이 3,094 mg/100g으로 가장 높았고, 다음으로 거제산 넙치 (2,844 mg/100 g) 및 제주산 넙치 근육 (2,528 mg/100 g)의 순이었으며, 5% 유의 수준에서 차이가 있었다. 양식지역에 관계없이 small size 넙치 근육 조효소의 천연기질에 대한 활성은 Hb (pH 3)을 기질로 하였을 때 0.38-0.43 U/mg 범위, Hb (pH 6)을 기질로 하였을 때 0.40-0.45 U/mg 범위, casein (pH 6)을 기질로 하였을 때 0.42-0.47 U/mg 범위, casein (pH 9)을 기질로 하였을 때 0.30-0.48 U/mg 범위들로, 양식지역별 (제주, 거제 및 완도), 기질별 (천연기질 및 합성기질) 및 pH별 (pH 3, 6 및 9)에 관계없이 모든 넙치 근육 조효소의 단백질 분해 활성은 0.30-0.48 U/mg 범위로 낮아 크게 차이가 없었다. 한편, 일반적인 연제품 소재의 pH 범위인 pH 6에서 넙치 근육 조효소의 분해활성은 기질의 종류와 양식지역에 관계없이 0.40-0.47 U/mg 범위로 아주 낮았다.

한편, Ting et al. (1968)은 연어 육중에 분포하는 cathepsin의 부분 정제에 관한 연구에서 pH 3.7 부근에서 Hb 기질에 대하여 강한 활성을 보이는 효소군과 pH 7 및 8.7에서도 활성을 보이는 효소가 분포한다고 하였고, Makinodan and Ikeda (1969)는 잉어, 날개다랑어, 고등어, 정어리, 방어, 대구 등의 육 중에 분포하는 단백질 분해효소에 관한 연구에서 pH 3 부근에서 Hb 기질에 대해, pH 8부근에서 casein에 대해 활성을 보이는 산성 및 알칼리성 단백질 분해 효소가 분포한다고 하였다. 또한 Makinodan et al. (1983)은 수종의 해산어류의 근육 조효소 추출액으로부터 Hb 및 casein 기질을 사용하여 pH 별로 활성을 측정된 결과, 산성 (pH 3), 중성 (pH 7), 그리고 알칼리성 (pH 8)에서 활성을 보이는 효소들이 각각 분포하였다고 보고한 바 있다.

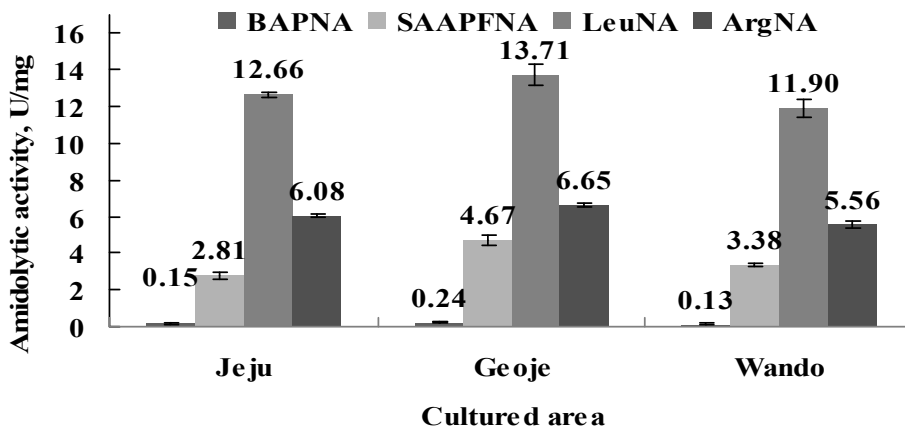
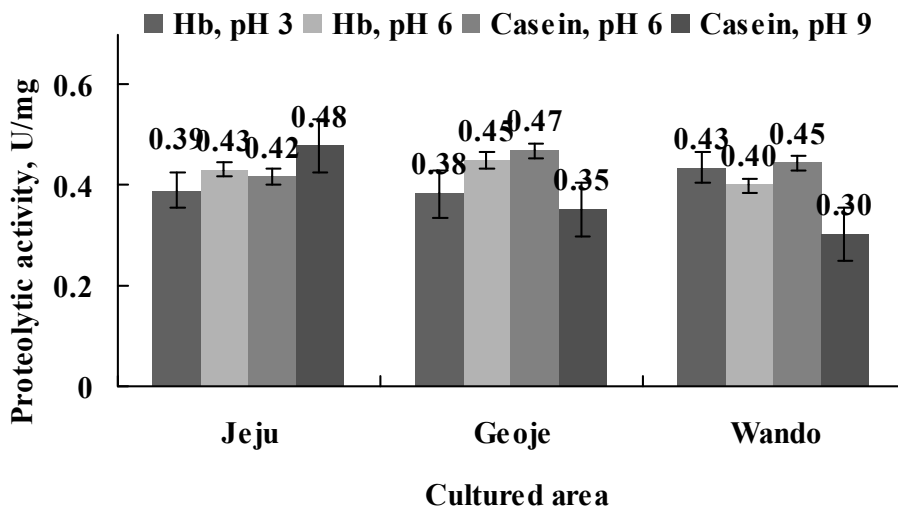
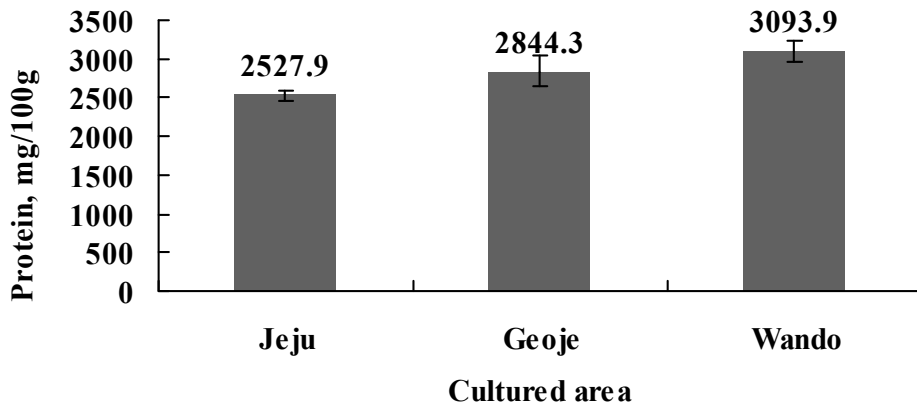


그림 6-5. 양식지역 (제주, 거제 및 완도)이 다른 small size 넙치 근육 조효소 간의 단백질 함량, 천연 및 합성기질에 대한 활성 분포

합성기질에 대한 효소활성 분포를 살펴보기 위하여, cysteine proteinase로서 cathepsin B 및 L 그리고 serine proteinase인 trypsin과 같은 trypsin like enzyme에 대해 분해 활성을 나타내는 기질로서 BAPNA, cysteine proteinase인 cathepsin G 그리고 serine proteinase로서 chymotrypsin과 같은 chymotrypsin like enzyme에 대해 분해활성을 나타내는 기질로서 SAAPFNA, exoeptidase로서 aminopeptidase와 dipeptidyl peptidase로서 cathepsin H에 대한 분해 활성을 나타내는 기질인 LeuPNA 및 ArgPNA를 각각 사용하여 양식지역이 다른 넙치 근육 조효소의 분해활성을 살펴보았다. 넙치 근육 조효소의 분해 활성은 양식지역에 관계없이 exoeptidase 기질인 LeuPNA 및 ArgPNA에 대한 분해활성이 각각 11.9-13.7 U/mg 및 5.6-6.7 U/mg으로 endoprotease 기질인 SAAPFNA 및 BAPNA에 대한 분해활성의 각각 2.8-4.7 U/mg 및 0.1-0.2 U/mg에 비하여 훨씬 높았다. 따라서 양식지역에 관계없이 넙치 근육 중에 LeuPNA에 대한 분해활성과 ArgPNA에 대한 분해활성이 높은 것으로 미루어 aminopeptidase와 cathepsin H 유사효소가 상대적으로 다량 분포하고 있는 것으로 추정되고, 또한, SAAPFNA와 BAPNA에 대한 분해활성이 낮은 것으로 미루어 serine계 protease인 trypsin, trypsin 유사 효소, chymotrypsin 및 chymotrypsin 유사효소 등과 cathepsin G와 cathepsin B 및 L 유사효소가 상대적으로 소량 분포하고 있는 것으로 추정되었다. 한편, Park et al. (1995)은 고기같이한 수리미를 가열할 때 겔화온도에서 형성된 탄력있는 겔이 50-70°C의 온도 영역을 통과할 때 탄력이 떨어지고, 심지어는 겔이 붕괴하는 겔의 되풀림 현상(modori)이 일어나며, 이들은 어종에 따른 차이가 있으나 주 원인은 근육 중에 존재하는 serine계 protease가 myosine heavy chain을 분해하기 때문이라고 보고한 바 있다. 제주도 넙치 근육 유래 조효소의 어묵의 탄력과 연관이 있는 SAAPFNA 및 BAPNA 기질에 대한 분해활성은 SAAPFNA에 대한 분해활성의 경우 2.8 U/mg으로 거제 및 완도와 같은 타지역 넙치 근육 유래 조효소의 3.4-4.7 U/mg보다 낮았고, BAPNA에 대한 분해활성의 경우 0.2 U/mg으로 타지역 넙치 근육 유래 조효소의 0.1-0.2 U/mg 범위에 비하여 차이가 없었다. 이상의 제주, 거제 및 완도와 같이 양식지역과 기질에 따른 넙치 근육의 조효소 활성은 양식지역에 관계없이 모두 합성기질이 천연기질에 비하여 높았고, 합성기질 간에는 LeuPNA와 ArgPNA와 같은 기질을 분해하는 exoeptidase가 SAAPFNA 및 BAPNA와 같은 기질을 분해하는 endoprotease에 비하여 월등히 높았다. 또한, 연제품의 가공시에 품질저하 요인인 겔 되풀림 현상에 관여하는 효소인 serine계 protease가 기질로 이용하는 SAAPFNA 및 BAPNA와 같은 기질에 대한 분해활성은 제주도 넙치근육 유래 조효소가 기타지역 근육유래조효소에 비하여 SAAPFNA를 기질로 하는 경우 낮았고, BAPNA를 기질로 하는 경우 차이가 없어 제주도 비규격넙치의 경우 수리미 및 연제품 소재로서 상당히 의미가 있으리라 판단되었다.

- 양식지역이 다른 비규격 넙치로 제조한 수리미의 위생성

양식지역이 다른 3종의 넙치로부터 제조한 수리미와 시판 명태 수리미 (SA급)의 위생성을 살펴보기 위하여 수은과 납을 수은분석기와 ICP로 분석한 결과는 표 6-9과 같다. 수은은 양식지의 종류에 관계없이 모든 넙치 수리미에서 검출되지 않았고, 납은 제주산 및 완도산 넙치 수리미의 경우 검출되지 않았으나, 거제산 넙치 수리미의 경우 모두 0.1 ppm이 검출되었다.

한편, 수산물품질검사법에서는 해산어패류 (단 심해성 어패류 및 참치류 제외)로 제조한 수리미의 경우 총수은이 0.5 ppm 이하, 납이 0.5 ppm 이하로 규정하고 있고 (Kim et al. 2007), KFDA에서는 총수은이 0.5 ppm 이하, 납이 2.0 ppm 이하로 규정하고 있다. 이러한 일면에서 제주산, 완도산 및 거제산 넙치들로부터 수리미를 제조하여도 중금속적인 식품위생면에서는 문제가 되지 않으리라 판단되었다. 한편, 시판 명태 수리미 (SA급)의 총수은과 납은 모두 검출되지 않았다.

표 6-9 양식지역을 달리한 넙치 근육 유래 수리미의 수은 및 납 함량

중금속 (mg/kg)	양식지역			시판 명태 수리미(SA급)
	제주	완도	거제	
수은	ND	ND	ND	ND
납	ND	ND	0.1	ND

- 양식지역이 다른 비규격 넙치로 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도

양식지역이 다른 3종의 넙치로부터 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도는 그림 6-6과 같다. 넙치 연제품의 겔강도는 제주산 넙치 연제품이 1059 gxcml로 가장 높았고, 다음으로 거제산 넙치 연제품 (988 gxcml) 및 완도산 넙치 연제품 (900 gxcml)의 순이었다. 이와 같이 연제품의 겔강도는 본 실험에서 검토한 다양한 등급의 시판 SA급 명태 수리미로 제조한 연제품 (945.2 gxcml)에 비하여 5% 유의수준에서 제주산 넙치 연제품의 경우 우수하였고, 거제산 넙치 연제품의 경우 차이가 없었으며, 완도산 넙치 연제품의 경우 약간 낮았다. 그러나 완도산 넙치 연제품의 겔강도도 시판 명태 수리미 중 고급품으로 분류되는 FA급으로 제조한 연제품의 겔강도 (782.0 gxcml)보다는 높았다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 지역에 관계없이 비규격 넙치의 경우 우수한 수리미 및 연제품의 소재로 판단되었고, 그 중에서도 제주산 넙치가 가장 우수하였다. 이와 같은 양식지역이 다른 3종의 넙치로부터 제조한 연제품 간의 겔강도에서 차이가 있는 것은 3종의 넙치를 구성하는 염용성 단백질 간에 다소 차이가 있으리라 추정되었고, 이러한 사실에 대하여 추후 전기영동 등의 방법에 의하여 자세히 검토되어야 할 것으로 사료되었다. 넙치 연제품의 백색도는 제주산 넙치 연제품이 28.4로 가장 높았고, 다음으로

거제산 넙치 연제품 (27.1) 및 완도산 넙치 연제품 (25.6)의 순이었다. 이와 같이 넙치 연제품의 백색도를 본 실험에서 검토한 다양한 등급의 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 백색도와 비교하는 경우 5% 유의수준에서 제주산 넙치 연제품은 명태

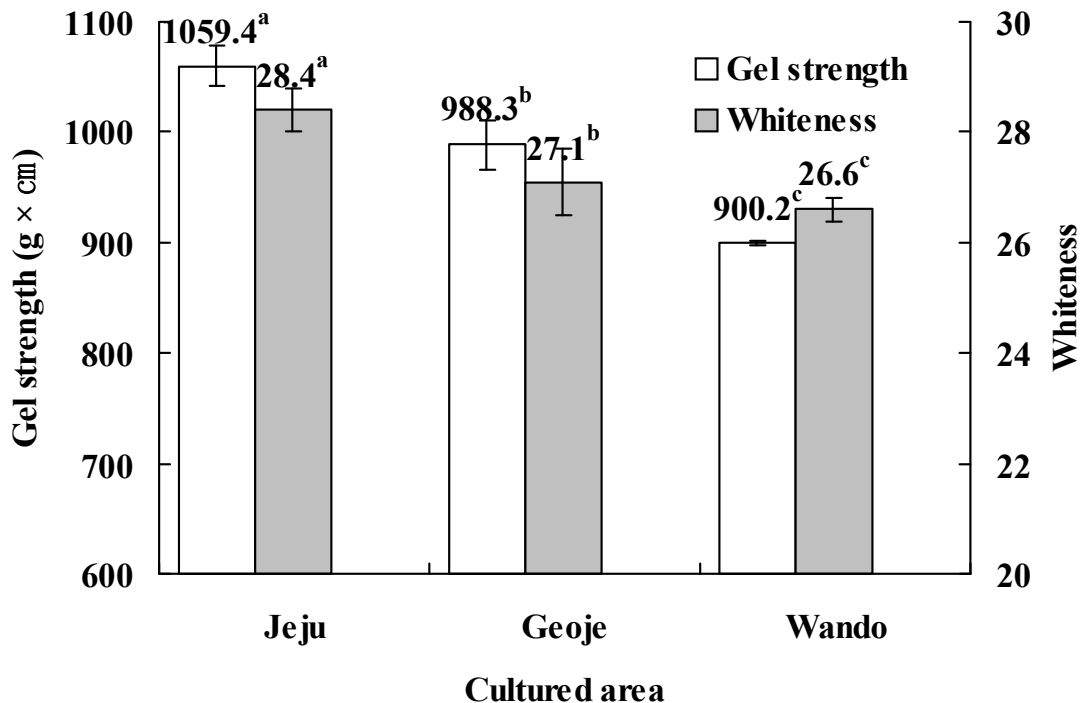


그림 6-6. 다른 지역에서 양식한 넙치 유래 연제품의 겔강도 및 백색도

연제품 중 고품질의 백색도를 가진 SA급 (26.0), FA급 (26.3), AA급 (26.0) 및 A급 (26.4)으로 제조한 연제품보다 우수하였고, 거제산 넙치 연제품은 이들 명태 수리미로 제조한 연제품 이외에 이보다 약간 낮은 KB등급 (25.2)의 명태 수리미로 제조한 연제품과도 차이가 없었으나 KA 등급 (23.5) 및 RA 등급 (22.1) 명태 수리미로 제조한 연제품보다는 우수하였으며, 완도산 넙치 연제품은 SA등급, AA등급 및 KB등급 명태 수리미로 제조한 연제품과 차이가 없었으나 FA등급 및 A등급 명태 수리미로 제조한 연제품보다는 낮았고, KA등급 및 RA등급 명태 수리미로 제조한 연제품보다는 높았다. 이상의 넙치 연제품의 겔강도 및 백색도의 결과로 미루어 보아 지역이 다른 3종의 비규격 넙치로 제조한 연제품 중 제주산 넙치로부터 제조한 연제품의 품질이 가장 우수하였고, 다음으로 거제산 넙치로부터 제조한 연제품 및 완도산 넙치로부터 제조한 연제품의 순이었다. 또한, 제주산 넙치로부터 연제품을 제조하는 경우 현재 시판되고 있는 고급 수리미 제품인 명태 수리미 SA급으로 제조한 연제품보다 우수하였다.

② 어체 중량이 다른 제주산 넙치의 수리미 및 연제품 소재로의 특성

- 어체 중량이 다른 제주산 넙치의 일반성분 및 콜라겐 함량

어체 중량이 다른 3종의 제주산 넙치 근육의 일반성분 함량 및 콜라겐 함량은 표 6-10과 같다. 어체 중량이 다른 3종 넙치 근육의 일반성분 함량은 수분함량의 경우 74.6-75.9% 범위, 조단백질 함량의 경우 21.4-22.4% 범위, 조지방 함량의 경우 0.4-0.8% 범위 및 회분 함량의 경우 1.3-1.8% 범위로 유사하였다. 이와 같이 어체 중량이 다른 3종의 넙치 일반성분은 수리미 소재로 가장 널리 이용되고 있는 명태 근육의 일반성분 함량 (수분 함량이 80.9±0.2%, 조단백질 함량이 17.1±0.1%, 조지방 함량이 0.4±0.2% 및 회분 함량이 0.8±0.2%) (Park et al., 2007)에 비하여 조단백질 함량의 경우 약 4%가 높았고, 수분 함량의 경우 약 6%가 낮았으며, 조지방 함량 및 회분 함량은 1% 미만의 차이를 나타내었다. 이와 같은 단백질 함량, 근원섬유 조성 및 수리미의 제조 공정 중 이물질에 해당하는 조지방 함량과 회분 함량으로 이루어 보아 수리미의 수율은 어체 중량에 관계없이 넙치를 소재로 하는 경우가 다른 어류를 소재로 하는 경우보다 높으리라 추정되었고, 어체 중량이 다른 넙치 간에는 차이가 없으리라 판단되었다.

표 6-10. 어체 중량에 따른 넙치 근육의 일반성분 및 콜라겐 함량

시료 ¹⁾	일반성분 (g/100 g)				콜라겐 (g/100 g)
	수분	조단백질	조지방	회분	
S	75.7±0.1	21.9±0.1	0.7±0.2	1.3±0.1	1.58±0.07
M	75.9±0.1	21.4±0.0	0.4±0.2	1.8±0.1	1.68±0.04
L	74.6±0.3	22.4±0.0	0.8±0.5	1.4±0.1	1.96±0.16
명태 ²⁾	80.9±0.2	17.1±0.1	0.4±0.2	0.8±0.2	

¹⁾S : Small size (400~500 g)

M : Medium size (600~800 g)

L : Large size (more than 1000 g)

²⁾이 데이터는 Kim and Park (2004)에 의하여 인용되었음

어체 중량이 다른 3종의 넙치 근육 간의 콜라겐 함량은 large size 넙치 근육이 1.96 g/100 g으로 가장 많았고, 다음으로 medium size 넙치 근육 (1.68 g/100 g) 및 small size 넙치 근육(1.58 g/100 g)의 순이었다. 그러나, medium size 넙치 근육과 small size 넙치 근육 간의 콜라겐 함량은 5% 유의수준에서 차이가 없었다. 일반적으로 넙치의 콜라겐 함량은 어체 중량에 관계없이 정어리 근육, 셋멸 근육, 무지개송어 근육, 고등어 근육, 전갱이 근육, 잉어 근육, 말 쥐치 근육, 참돔 근육, 농어 근육, 노랑가오리 근육, 송어 근육 및 갯장어 근육보다는

높아 넙치의 증량에 관계없이 넙치를 이용하여 수리미를 제조하고자 하는 경우 콜라겐과 엘라스틴과 같은 근기질 단백질을 위시한 이물질 제거공정인 정제공정은 반드시 도입이 되어야 하리라 판단되었다.

- 어체 증량이 다른 제주산 넙치의 효소활성 분포특성

생선횃감으로 상품성이 떨어지는 small size 넙치를 대상으로 고부가가치의 연제품 가공원료로서 이용 가능성을 검토하기 위하여, 연제품 가공원료 품질에 주요 영향인자의 하나인 내인성 단백질 분해효소의 분포 및 그 효소적 특성에 대하여 살펴보았다. 증량(small, medium, large)이 다른 3종의 제주산 넙치의 근육으로부터 추출한 효소용액의 추출단백질 함량, 천연기질 및 합성기질에 대한 활성분포는 그림 6-7과 같다. 어체 증량이 다른 제주산 넙치 근육의 추출 단백질 함량은 small size 넙치 근육의 경우 2,528 mg/100 g, medium size 넙치 근육과 large size 넙치 근육의 경우 각각 2,692 mg/100 g 및 2,754 mg/100 g으로, 어체 증량이 무거울수록 추출 단백질의 함량이 많았다. 어체 증량에 관계없이 제주산 넙치 근육 조효소의 천연기질에 대한 활성은 Hb (pH 3)을 기질로 하였을 때 0.34-0.39 U/mg 범위, Hb (pH 6)을 기질로 하였을 때 0.34-0.43 U/mg 범위, casein (pH 6)을 기질로 하였을 때 0.42-0.43 U/mg 범위, casein (pH 9)을 기질로 하였을 때 0.46-0.48 U/mg 범위들로, 어체 증량별(small size, medium size, large size), 기질별 (천연기질 및 합성기질) 및 pH별 (pH 3, 6 및 9)에 관계없이 모든 넙치 근육 조효소의 단백질 분해활성은 0.34-0.48 U/mg 범위로 낮았고, 또한 서로 간에 크게 차이가 없었다.

여러 가지 합성기질 (BAPNA, SAAPFNA, LeuNA 및 ArgNA)에 대한 넙치 근육 조효소의 분해 활성은 어체 증량에 관계없이 LeuPNA에 대한 분해활성이 11.0-12.7 U/mg 범위로 가장 높았고, 다음으로 ArgPNA에 대한 분해활성 (5.4-6.1 U/mg), SAAPFNA에 대한 분해활성(2.3-2.9 U/mg)의 순이었으며, BAPNA에 대한 분해활성이 0.1-0.2 U/mg 범위로 아주 미미하였다. 따라서 어체증량에 관계없이 넙치 근육 조효소의 합성기질에 대한 분해 활성이 LeuPNA에 대한 분해활성과 ArgPNA에 대한 분해활성이 높은 것으로 미루어 aminopeptidase와 cathepsin H 유사효소가 상대적으로 다량 분포하고 있는 것으로 추정되었고, 또한, SAAPFNA와 BAPNA에 대한 분해활성이 낮은 것으로 미루어 serine계 효소 (trypsin, trypsin 유사 효소, chymotrypsin 및 chymotrypsin 유사 효소), cathepsin G와 cathepsin B 및 L 유사효소가 상대적으로 소량 분포하고 있는 것으로 추정되었다. 한편, 어체 증량에 따른 넙치 근육 조효소의 연제품 가공 중 겔의 되풀림 현상 (modori)에 관여하는 serine계 protease의 SAAPFNA 및 BAPNA에 대한 분해활성은 small size 넙치 근육 조효소가 각각 0.2 U/mg 및 2.8 U/mg으로 medium size 넙치 근육 조효소의 각각 0.1 U/mg 및 2.3 U/mg에 비하여 차이가 없거나 높았으나, large size 넙치 근육 조

효소의 각각 0.2 U/mg 및 2.9 U/mg에 비하여 차이가 없거나 낮았다. 한편, Pyeun et al. (1996)은 멸치, 전어, 농어 및 도다리의 육으로부터 단백질 분해효소를 추출한 다음 합성기질에 대하여 활성을 살펴 본 결과 주로 cysteine proteinase인 cathepsin L, B 및 H 유사효소가 분포한다고 보고하였으며, SAAPFNA 및 Hb에 대한 분해활성으로 cathepsin G 및 D 유사효소도 다소 분포한다고 하였다. Makinodan and Ikeda (1971)는 잉어 육에서 benzoyl-arginine-amide (BAA)와 glycyllarginine amide에 대한 활성으로 cathepsin A, B 및 C의 분포를 확인하였다. Bonete et al.(1984)은 송어 육에 BANA 기질에 대하여 분해능을 보이는 lysosomal protease가 분포한다고 하였으며, Ueno et al. (1988)은 고등어 백색육 중의 pepstatin insensitive protease인 cysteine protease의 분포를, 그리고 Hara et al. (1988)은 잉어 육에서 BANA 기질을 사용하여 cathepsin B를 정제하였다고 보고한 바 있다. 이상의 어체 중량에 따른 넙치 근육의 조효소 활성은 천연기질과 합성기질 간에 넙치 근육의 조효소 활성은 어체 중량에 관계없이 모두 합성기질이 천연기질에 비하여 높았으나, 연제품의 가공시에 품질 저하 요인인 겔 되풀림 현상에 관여하는 효소인 serine계 protease의 분해활성 (SAAPFNA와 BAPNA에 대한 분해활성)은 small size 넙치 근육 조효소가 medium size 넙치 근육 조효소에 비하여 활성이 높았으나, large size 넙치 근육 조효소에 비하여는 낮았다.

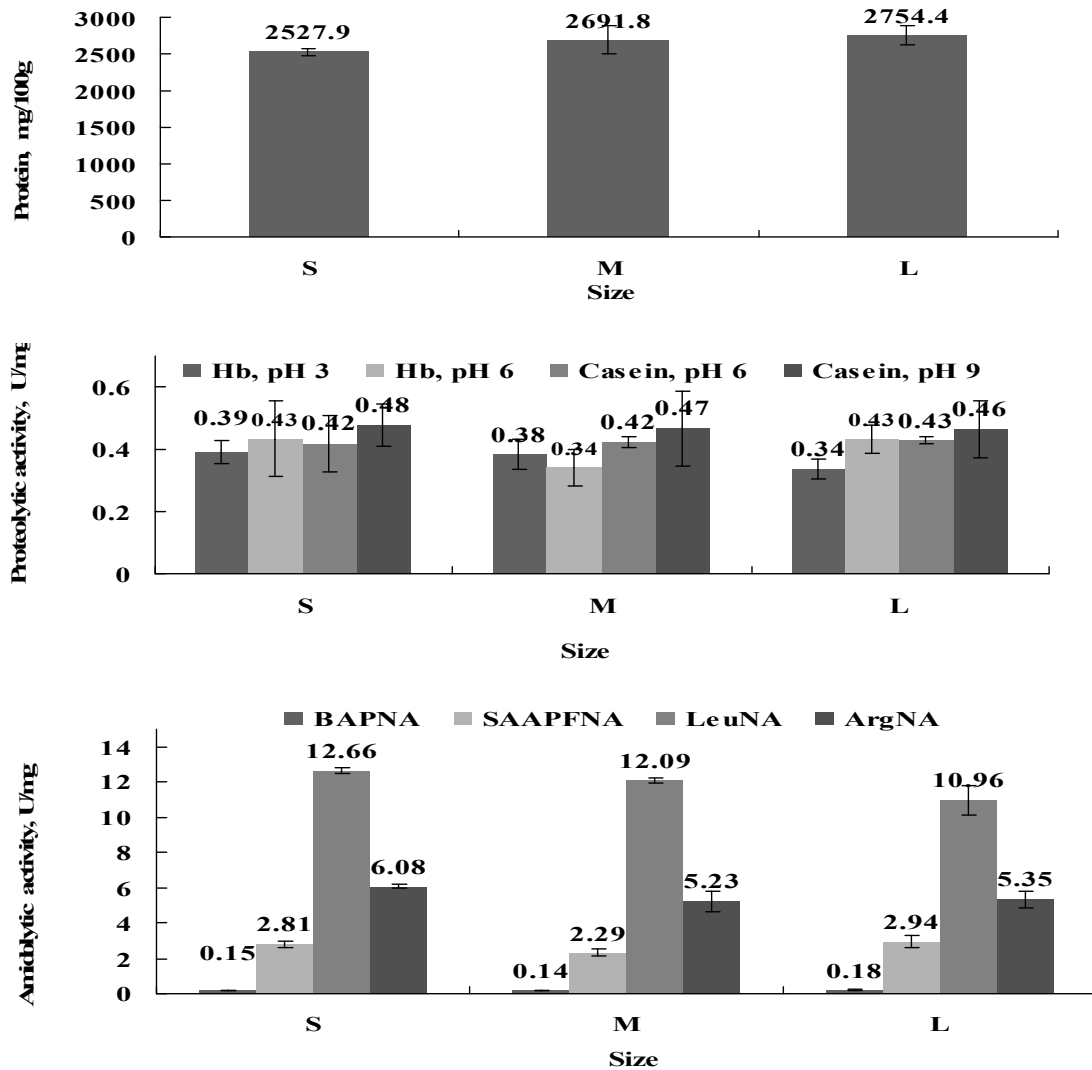


그림 6-7. 어체 중량에 따른 넙치 근육 유래 물추출물의 단백질 함량, 조효소의 합성기질 및 천연기질의 활성

- 어체 중량이 다른 제주산 넙치로 제조한 수리미의 수율

어체 중량이 다른 3종의 넙치 연제품의 수율 (생 수리미에 첨가물로는 3%에 해당하는 식염만을 가하고 일정공정을 거쳐 제조한 연제품/원료로 사용한 넙치 전어체의 중량)은 그림 6-8과 같다. 수율은 small size 넙치 수리미가 24.4%를 나타내어, medium size 넙치 수리미의 25.5%에 비하여 5% 유의수준에서 차이가 없었으나, large size 넙치 수리미의 19.8%에 비하여는 훨씬 높아 경제적인 차원에서 상당히 의미가 있었다. 이와 같이 수율이 small size 및 medium size 넙치들로 제조한 수리미들에 비하여 large size 넙치로부터 제조한 수리미가 낮은 것은 5월에 어획한 large size 넙치가 산란을 함과 동시에 내장의 비율이 높았기 때문이라 판단되었다.

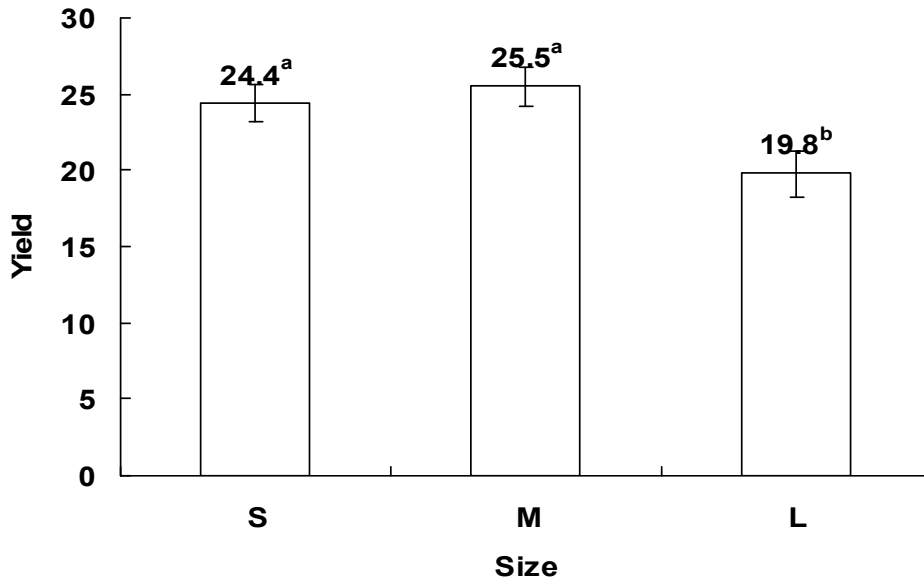


그림 6-8. 어체 크기에 따른 넙치 수리미의 수율

S : Small size (400~500 g)

M : Medium size (600~800 g)

L : Large size (more than 1000 g)

- 어체 중량이 다른 제주산 넙치로 제조한 연제품의 겹강도, 백색도 및 수율

어체 중량이 다른 3종의 넙치로부터 제조한 연제품의 겹강도 및 백색도는 그림 6-9와 같다. 넙치 연제품의 겹강도는 medium size의 넙치로부터 제조한 넙치 연제품이 1119 gxc㎝로 가장 높았고, 다음으로 large size 넙치로 제조한 연제품 (1070 gxc㎝) 및 small size 넙치 연제품 (1059 gxc㎝)의 순이었다. 하지만, medium size 넙치로 제조한 연제품과 small size 넙치로 제조한 연제품 간의 겹강도는 5% 유의수준에서 차이가 없었다. 이와 같은 넙치 연제품의 겹강도를 본 실험에서 검토한 다양한 등급의 시판 명태 수리미로 제조한 연제품과 비교하는 경우 5% 유의수준에서 어체 중량에 관계없이 제주산 넙치로 제조한 모든 연제품이 SA급 시판 명태 수리미로 제조한 연제품보다 우수하였다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 어체 중량이 낮아 단가가 낮게 형성되어 유통질서를 어지럽히고 있는 비규격 넙치의 경우도 규격 넙치와 같이 우수한 수리미 소재로 이용 가능하리라 판단되었다. 따라서, 비규격 넙치의 연제품 소재로의 이용은 비규격 넙치의 새로운 용도 개발에 의하여 넙치 활어 시장의 가격 안정화에 일익을 담당할 수 있으리라 보아진다.

연제품의 백색도는 small size로 제조한 넙치 연제품이 28.4로 가장 높았고, 다음으로 medium size 넙치 연제품 (27.5) 및 large size 넙치 연제품 (27.0)의 순이었으며, 5% 유의수준에서 연제품 간에 차이가 있었다. 이와 같은 넙치 연제품의 백색도를 본 실험에서 검토한 다양한 등급의 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 백색도와 비교하는 경우 중량에 관계없

이 5% 유의수준에서 제주산 넙치 연제품 모두가 명태 연제품 중 고품질의 백색도를 가진 SA급 (26.0), FA급 (26.3), AA급 (26.0) 및 A급 (26.4) 보다 우수하였다. 이상의 증량에 따른 넙치 연제품의 겔강도 및 백색도의 결과로 미루어 보아 비규격인 small size의 제주산 넙치로부터 수리미를 제조하는 경우 현재 시판되고 있는 고급 수리미 제품인 명태 수리미 SA급보다 우수하였다. 따라서, 품질 규격만으로 미루어 보아 제주산 비규격 넙치를 수리미 소재로 이용하는 경우 생산된 수리미가 아주 우수하여 시장성을 갖출 수 있으리라 판단되었다.

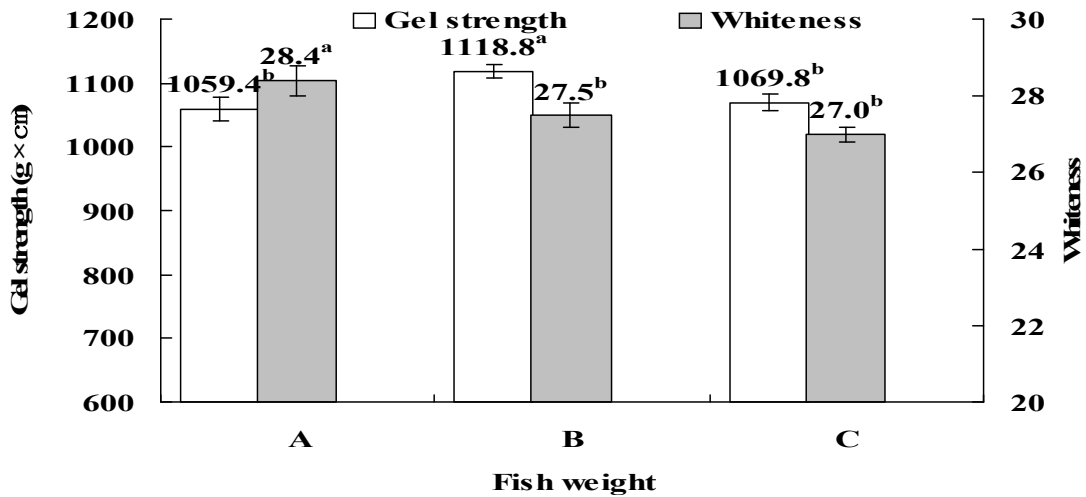


그림 6-9. 어체 크기에 따른 넙치 연제품의 겔강도 및 백색도

S : Small size (400~500 g)

M : Medium size (600~800 g)

L : Large size (more than 1000 g), 1069.8

③ 어획시기가 다른 비규격 넙치의 수리미 및 연제품 소재로서 특성

- 어획시기가 다른 비규격 넙치의 일반성분 및 콜라겐 함량

어획시기 (5월, 7월 및 9월)를 달리한 넙치의 일반성분 함량 및 콜라겐 함량은 표 6-11과 같다. 넙치의 일반성분 함량은 어획시기에 관계없이 수분함량의 경우 75.7-77.9% 범위, 조단백질 함량의 경우 19.1-21.9% 범위, 조지방 함량의 경우 0.7-1.6% 범위 및 회분 함량의 경우 1.1-1.4% 범위로, 어획시기에 따른 넙치 간의 일반성분 함량은 수온이 상승하는 7월이 다른 어획시기에 비하여 수분의 경우 약 2%가 증가하였고, 조단백질의 경우 약 2%가 감소하여 차이가 있었다. 어획시기를 달리한 3종 넙치의 일반성분은 수리미 소재로 가장 널리 이용되고 있는 명태 근육의 일반성분 함량 (수분 함량이 80.9±0.2%, 조단백질 함량이 17.1±0.1%, 조지방 함량이 0.4±0.2% 및 회분 함량이 0.8±0.2%) (Park et al., 2007)에 비하여 조단백질 함량의 경우 약 2-5%가 높았고, 수분 함량의 경우 약 3-5%가 낮았으며, 조지방 함량과 회분 함량은 1% 내외의 차이를 나타내었다. 이와 같은 단백질 함량, 근원섬유단백질 조성 및 수리미의

제조 공정 중 이물질에 해당하는 조지방 함량과 회분 함량으로 미루어 보아 근육에 대한 수리미의 수율은 어획시기에 관계없이 넙치를 소재로 하는 경우가 다른 어류를 소재로 하는 경우보다 높으리라 추정되었고, 어획시기를 달리한 넙치 간에는 7월에 어획한 넙치보다 기타 시기에 어획한 넙치가 높으리라 추정되었다.

표 6-11. 어획시기가 다른 비규격 넙치의 일반성분 함량 및 콜라겐 함량

어획시기	일반성분 (g/100 g)				콜라겐 (g/100 g)
	수분	조단백질	조지방	회분	
3	ND ¹⁾	ND	ND	ND	ND
5	75.7±0.1	21.9±0.1	0.7±0.2	1.3±0.1	1.96±0.16
7	77.9±0.1	19.1±0.0	1.6±0.1	1.1±0.2	1.76±0.13
9	76.9±0.8	20.2±0.0	0.8±0.2	1.4±0.0	1.81±0.02

ND: 측정하지 않음.

어획시기에 따른 넙치의 콜라겐 함량은 5월에 어획한 넙치 근육이 1.96 g/100 g으로 가장 많았고, 다음으로 9월에 어획한 넙치 근육 (1.90 mg/100 g) 및 7월에 어획한 넙치 근육 (1.60 g/100 g)의 순으로 차이가 있었으나 5% 유의수준에서는 차이가 없었다. 일반적으로 넙치의 콜라겐 함량은 어획시기에 관계없이 정어리 근육, 샛멸 근육, 무지개송어 근육, 고등어 근육, 전갱이 근육, 잉어 근육, 말쥐치 근육, 참돔 근육, 농어 근육, 노랑가오리 근육, 송어 근육 및 갯장어 근육보다는 높아 어획시기에 관계없이 넙치를 이용하여 수리미를 제조하고자 하는 경우 근기질 단백질을 위시한 이물질 제거공정인 정제공정은 수세 다음에 반드시 이루어져야 하리라 판단되었다.

- 어획시기에 따른 넙치 근육 유래 조효소의 활성 분포

어획시기 (3월, 5월, 7월 및 9월)에 따른 small size 넙치 근육 유래 조효소의 분포특성을 단백질 분해능의 경우 casein (pH 6 및 9)에 대하여, peptide 분해능의 경우 LeuPNA에 대하여 살펴본 결과는 그림 6-10과 같다. 어획시기별 넙치 근육의 추출 단백질 함량은 3월과 5월에 어획한 넙치 근육의 경우 각각 2,324 mg/100 g 및 2,528 mg/100 g으로, 7월과 9월에 어획한 넙치 근육의 각각 2,885 mg/100 g 및 2,763 mg/100 g에 비하여 높았다. Casein (pH 6)에서 어획시기별 넙치 근육 조효소의 분해활성은 봄철 (3월 및 5월)에 어획된 넙치 근육이 0.42-0.50 U/mg 범위로 여름철 (7월 및 9월)에 어획된 넙치 근육의 0.54-0.59 U/mg 범위에 비하여 약 20% 낮았으나, casein (pH 9)에 대한 넙치 근육 조효소의 분해활성은 오히려 봄철에 어획된

넙치 근육이 0.48 U/mg으로 여름철에 어획된 넙치 근육의 0.31-0.33 U/mg 범위에 비하여 높아 넙치의 어획시기에 따른 차이가 있었다. 하지만, 어획시기 및 기질의 pH에 관계없이 제주산 넙치 근육 조효소의 분해 활성은 0.31-0.59 U/mg 범위로 아주 낮아 이들 효소에 의한 연제품의 탄력 약화는 문제가 되지 않으리라 추정되었다. 어획시기를 달리하여 채취한 넙치 근육 조효소의 합성기질 (LeuNA)에 대한 peptide 분해 활성은 넙치의 어획시기에 관계없이 11.7-12.7 U/mg 범위로 어획시기에 따른 차이는 나타나지 않았고, 천연기질에 대한 protease에 대한 활성보다 훨씬 높았다.

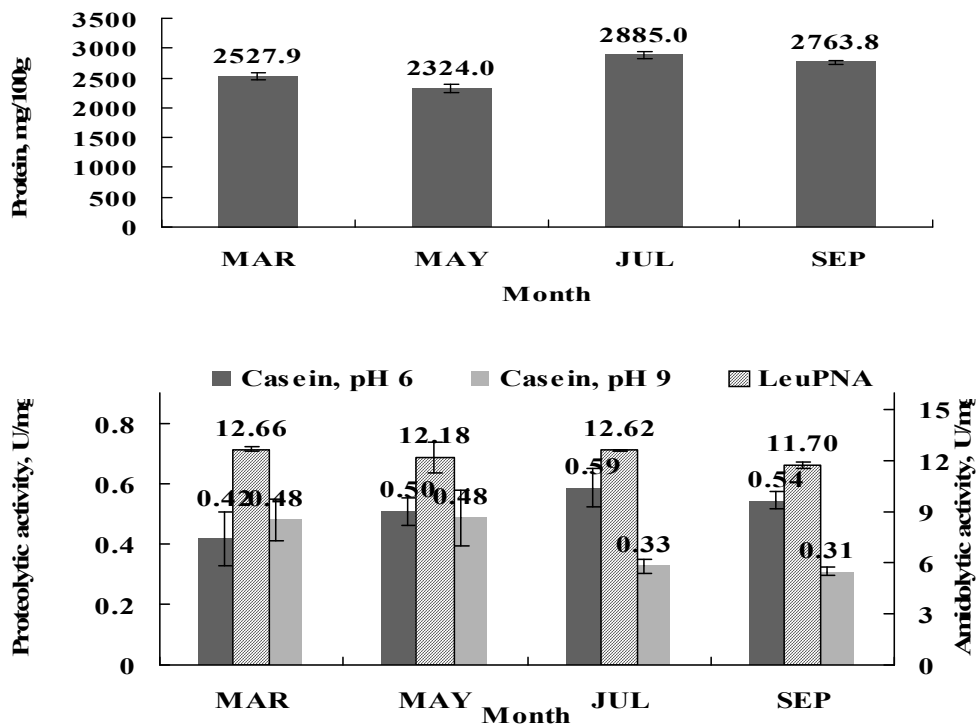


그림 6-10. 어획시기에 따른 비규격 넙치 유래 수추출물의 단백질 함량, 천연기질 및 합성기질에 대한 효소활성

- 어획시기가 다른 넙치로부터 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도

어획시기 (3월, 5월, 7월 및 9월)가 다른 3종의 넙치로부터 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도는 그림 6-11과 같다. 어획시기를 달리한 넙치 유래 연제품의 겔강도는 9월에 어획한 넙치 유래 연제품이 1108 gxc_m로 가장 높았고, 다음으로 3월에 어획한 넙치 유래 연제품 (1059 gxc_m) 및 5월에 어획한 넙치 유래 넙치 연제품 (1048 gxc_m)의 순이었고, 7월에 어획한 넙치 유래 연제품이 992 gxc_m로 가장 낮아 차이가 있었다. 그러나 3월과 5월에 어획한 넙치 유래 연제품 간의 겔강도는 5% 유의수준에서 차이가 없었다. 이와 같은 넙치 연제품의 겔강도를 SA 등급의 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 겔강도와 비교하는 경우 5% 유의수준에서 3

월, 5월 및 9월에 어획한 넙치 유래 연제품은 우수하였고, 7월에 어획한 넙치 유래 연제품은 차이가 없었다. 어획시기를 달리한 넙치 유래 연제품의 백색도는 28.3-28.8 범위로, 연제품 간의 백색도는 5% 유의수준에서 차이가 인정되지 않았다. 원료 넙치의 어획시기에 관계없이 모든 넙치 연제품의 백색도는 시판 명태 수리미로 제조한 전 연제품의 백색도 (22.1-26.4 범위)에 비하여 5% 유의수준에서 우수하였다. 이상의 어획시기를 달리한 넙치 유래 연제품들의 겔강도 및 백색도의 결과로 미루어 보아 비규격 넙치를 연제품의 소재로 이용하고자 하는 경우 수온이 높은 7월보다는 그 이외의 기간에 어획한 넙치가 적절하리라 판단되었다.

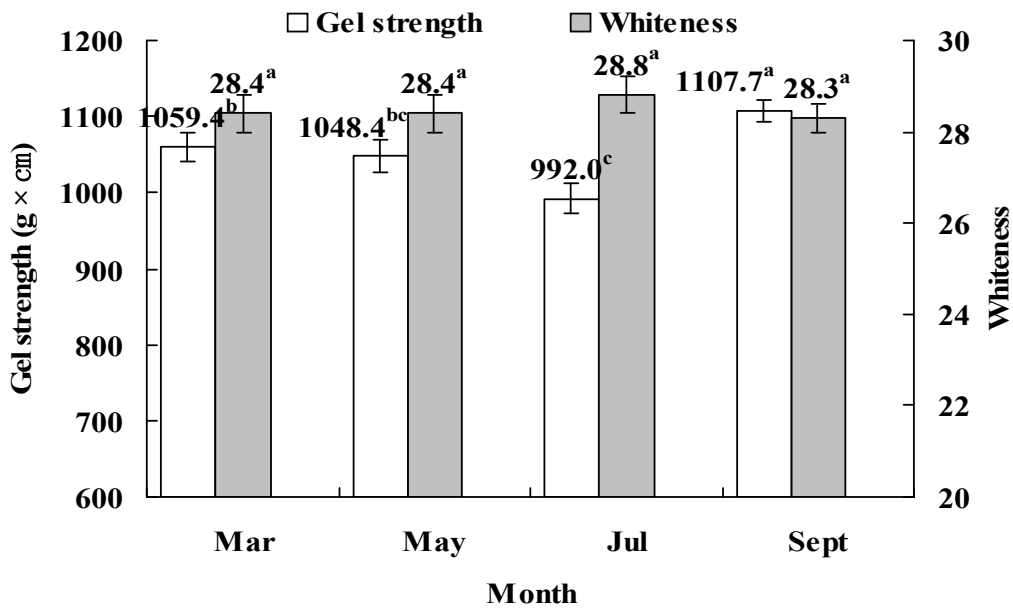


그림 6-11. 어획시기가 다른 small size 넙치로부터 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도

(다) 비규격 제주산 넙치로부터 고품질 연제품의 제조를 위한 조건 구명

① 효소 저해제의 첨가 유무

일반적으로 어육을 이용하여 연제품을 제조하는 경우 겔화온도에서 형성된 탄력있는 겔이 50-70℃의 온도 영역을 통과할 때 탄력이 떨어지고, 심지어는 겔이 붕괴하는 겔의 되풀림 현상 (modori)이 일어나며, 이들은 어종에 따른 차이가 있으나 주원인은 근육 중에 존재하는 serine계 protease가 myosine heavy chain을 분해하기 때문이라고 알려져 있다 (Park et al., 1995). 이러한 일면에서 제주산 비규격 넙치 근육 유래 조효소 중 serine계 protease가 분해 활성을 나타내는 기질인 SAAPFNA 및 BAPNA에 대한 분해활성은 각각 2.8 U/mg 및 0.2 U/mg으로, 제주산 비규격 넙치로부터 연제품을 제조하고자 하는 경우 trypsin 및 trypsin like enzyme에 의한 겔의 되풀림 현상은 우려되지 않으나, chymotrypsin 및 chymotrpsin enzyme에 의한 되풀림 현상은 소혈장 단백질이나 chymotrypsin 및 chymotrypsin like enzyme inhibitor을 이용한 겔 되풀림 현상에 대하여 검토하여 보아야 하리라 판단되었으나, 무첨가

구들의 겔강도로 미루어 큰 영향은 없으리라 사료되었다.

② setting 조건

일반적으로 고기같이한 어육을 즉시 가열처리 하기보다는 적정온도에서 적정시간 방치한 후 가열하는 경우 탄력이 개선되므로 수산연제품 산업에서는 이 방법을 많이 권장하고 있다 (Park et al., 1995). 이러한 일면에서 넙치 수리미의 가공공정 개발의 일환으로 9월에 어획된 small size의 넙치로부터 수리미를 제조한 다음 여러 가지 setting 조건 (무 setting, 5℃에서 24시간 동안 처리, 25℃에서 3시간동안 처리, 40℃에서 1시간동안 처리 및 60℃에서 0.5시간동안 처리)에서 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도를 살펴 본 결과는 그림 6-12와 같다. Setting 처리 시간과 온도를 달리한 연제품의 겔강도는 무처리 연제품이 893 gxc㎝인데 반하여, 처리 연제품 중 5℃에서 24시간 동안 처리한 연제품이 1108 gxc㎝로 24%가 증가하여 개선된 반면, 25℃에서 3시간동안 처리한 연제품이 680 gxc㎝로 24%, 40℃에서 1시간동안 처리한 연제품이 491 gxc㎝로 45%, 60℃에서 0.5시간동안 처리한 연제품이 472 gxc㎝로 47%가 낮아져 열화되었고, 그 정도는 온도를 높게 처리할수록 뚜렷하였다. 이와 같은 결과는 넙치로부터 연제품의 제조를 위하여 25℃에서 3시간 이상 setting 처리하는 경우 일단 형성되었던 망상구조가 붕괴되는 되풀림 현상 (modori effect)이 발생하였기 때문이라 판단되었다 (Park et al., 1995). 한편, Park et al. (1995)은 고기같이한 수리미를 가열할 때 겔화온도에서 형성된 탄력있는 겔이 50-70℃의 온도 영역을 통과할 때 탄력이 떨어지고, 심지어는 겔이 붕괴하는 겔의 되풀림 현상 (modori)이 일어난다고 보고한 바 있다. 또한, Park et al. (1995)은 겔 되풀림 현상의 경우 어종에 따른 차이가 있으나 대체로 60-65℃ 온도대에서 통과 시간이 길 때 발생하기 쉬우나 50℃ 이하에서도 가열시간이 길어지면 발생하며, 주원인은 근육 중에 존재하는 serine계 protease가 myosine heavy chain을 분해하기 때문이라고 보고한 바 있다.

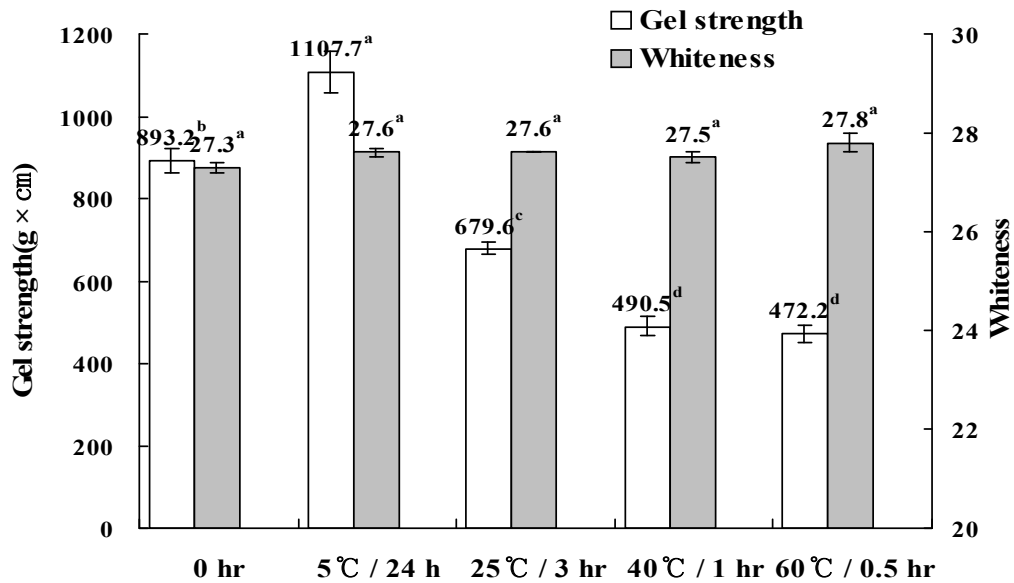


그림 6-12. Setting 조건에 따른 제주산 비규격 넙치 유래 연제품의 겔강도 및 백색도의 비교

그리고, SA등급 시판 명태 수리미 유래 연제품의 겔강도(945 g×cm)에 비하여 넙치 연제품의 겔강도는 5% 유의수준에서 setting 무처리 제품의 경우 차이가 없었으나, 5°C에서 24시간 동안 처리한 제품의 경우 우수하였고, 25°C에서 3시간동안 처리한 제품의 경우 A등급과 KA등급의 중간정도이었다. 9월에 어획된 small size의 넙치로부터 수리미를 제조한 다음 여러 가지 setting 조건에서 제조한 연제품 간의 백색도는 27.3-27.8 범위로 5% 유의수준에서 차이가 인정되지 않았다. 이상의 결과로 미루어 보아 제주산 비규격 넙치로부터 연제품을 제조하고자 하는 경우 어육을 고기같이 및 충전한 후 고온에서 단시간 setting 처리보다는 5°C에서 24시간동안 setting 처리하는 것이 좋으리라 판단되었다.

③ 가열조건 (방법 및 시간)

일반적으로 연제품의 탄력은 가열조건에 따라 차이가 많고, 일반적으로 가열온도가 높고, 가열속도가 빠를수록 탄력이 강하여지며, 저온에서 장시간 가열하는 경우 탄력이 약한 제품이 얻어진다고 알려져 있다 (Park et al., 1995). 이러한 일면에서 넙치 연제품의 가공공정 중 열처리 방법을 구명하기 위하여 9월에 어획된 small size 제주산 비규격 넙치로부터 수리미를 제조한 다음 열처리 방법 (열탕 및 증자)을 달리하여 제조한 연제품의 겔강도 및 백색도를 살펴 본 결과는 그림 6-13과 같다. 넙치 연제품의 겔강도는 탕자처리 제품이 1108 g×cm로, 증자처리 제품의 819 g×cm에 비하여 높았다. 한편, Park et al. (1995)은 연제품의 제조를 위한 고기같이 육의 경우 가열온도에 따라 탄력이 달라져, 녹새치는 60-80°C에서, 보구치는 45-50

℃에서 배통이는 45-55℃ 및 85℃이상에서, 그리고 명태는 45℃이상의 범위에서 가열하여야 탄력이 우수하고, 이들의 범위를 벗어나면 약하여진다고 보고한 바 있다. 열처리 방법 (열탕 및 증자)을 달리한 연제품의 백색도는 열탕과 증자와 같이 열처리 방법에 관계없이 두 제품 모두 27.8로 차이가 없었다.

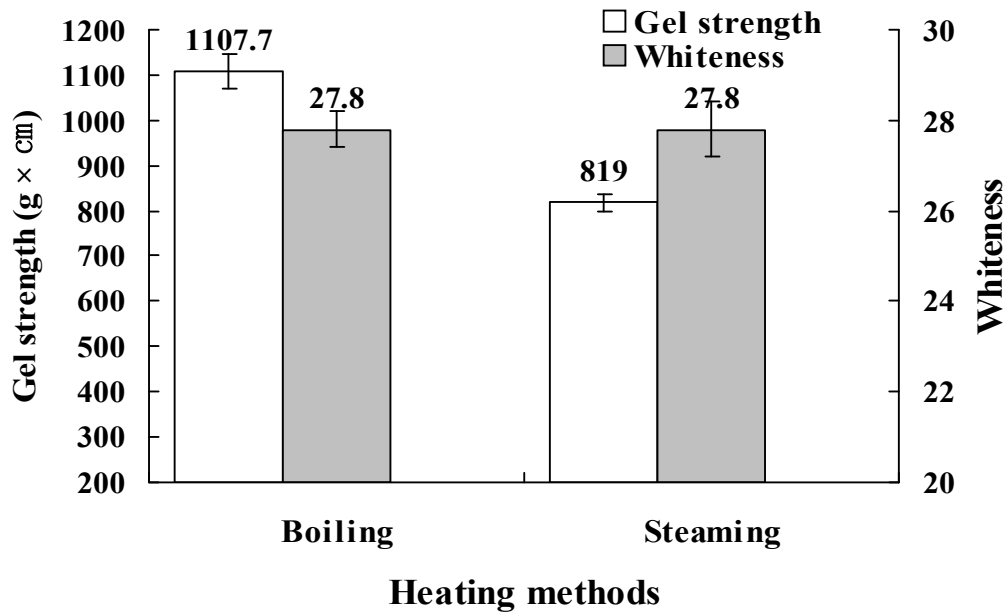


그림 6-13. 가열방법을 달리한 제주산 비규격 넙치 연제품의 겔강도 및 백색도

이상의 결과로 미루어 보아 제주산 비규격 넙치로부터 고품질의 찢어묵을 제조하고자 하는 경우 가열방법은 탕자가 적절하리라 판단되었다. 넙치 연제품의 열처리 조건을 구명할 목적으로 9월에 어획된 small size의 넙치로부터 수리미를 제조한 다음 열탕 처리시간에 따른 연제품의 겔강도 및 백색도를 살펴 본 결과는 그림 6-14와 같다. 열탕처리 시간에 따른 넙치 연제품의 겔강도는 30분처리 제품이 1108 g×cm로 가장 높았고, 다음으로 45분처리 제품 (1094 g×cm) 및 15분처리 제품 (915 g×cm) 등의 순이었으나 30분 처리 제품 및 45분 처리 제품 간에는 5% 유의수준에서 차이가 없었다. 열탕처리 시간에 따른 넙치 연제품의 백색도는 15분처리 제품이 28.3으로 가장 높았고, 다음으로 45분처리 제품 및 30분 처리 제품의 순이었으나 세 제품 모두 5% 유의수준에서 차이가 없었다. 이상의 결과로부터 제주산 비규격 넙치로부터 고품질의 찢어묵을 제조하고자 하는 경우 어육을 고기같이, 충전 및 setting 처리한 후 열탕으로 30분간 이상 처리하는 것이 좋으리라 판단되었다.

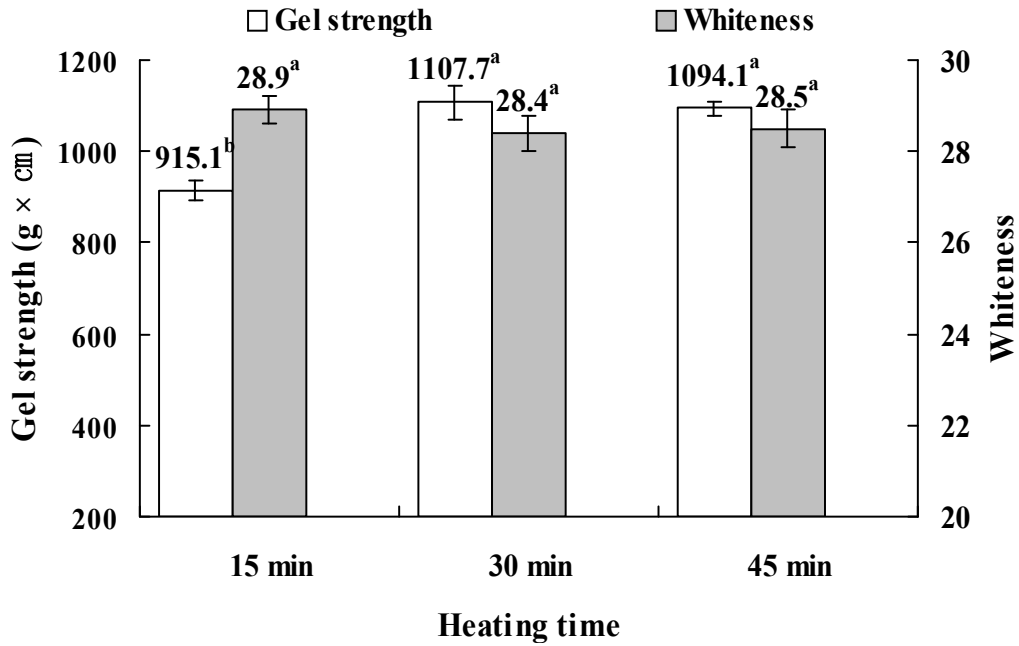


그림 6-14. 가열처리 시간을 달리한 제주산 비규격 납치 연제품의 겔강도 및 백색도

④ 전분 및 난백의 첨가 조건

고품질 납치 연제품의 제조를 위한 독립변수 (난백농도 및 전분농도)의 최적 첨가량을 구명하기 위하여 중심합성계획에 따라 11구의 시료를 제조하여 종속변수인 겔강도를 측정하고 결과는 표 6-12와 같고, 이들 독립변수 (난백농도와 전분농도)와 종속변수인 겔강도와의 관계를 살펴볼 목적으로 MINITAB 통계 프로그램을 이용하여 RSREG (response surface analysis by least-squares regression)를 실시한 다음 겔강도에 대한 두 독립변수 상호 간의 관계를 Maple software로 각각 3차원 도식화한 결과는 그림 6-15와 같다. 연제품의 겔강도는 X1 (전분농도)이 -1.414에서 -1.293 범위까지, X2 (난백농도)가 -1.414에서 0.519 범위까지의 경우 독립변수가 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었으나, 이들의 범위 이상에서는 독립변수가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다. 표 6-12의 결과치를 이용하여 MINITAB program의 RSREG로 일차항 (linear; X1, X2), 이차항 (quadratic; X1², X2²) 및 교차항 (cross-product; X1X2)과 같은 여러 가지 2차 회귀 방정식의 계수들과 이들의 유의성을 살펴 본 결과는 표 6-13과 같고, 이들 계수를 이용하여 작성한 반응 모형 방정식은 Table 4와 같다. 일반적으로 MINITAB program의 RSREG로 작성한 2차 회귀방정식 즉, 반응 모형 방정식은 일차항, 이차항 및 교차항과 같은 다양한 항을 구성하고 있어 표 5-11과 같이 복잡하나, 그 유의성을 검토하는 경우 유의성이 인정되지 않는 다수의 항이 존재하여 이를 제거하는 경우 간결하게 나타낼 수 있다 (Kim, 2008).

표 6-12. 중심합성계획에 따라 설계된 11구 시료의 겔강도 결과

번호	독립변수의 부화된 값		반응값	
	X ₁ 전분농도 (%)	X ₂ 난백농도 (%)	Y 겔강도 (g)	Coefficients assessed by
1	-1	-1	830.3	Fractional factorial design (4 points)
2	1	-1	778.6	
3	-1	1	1029.3	
4	1	1	831.5	
5	-1.414	0	1124.7	Star points (4 points)
6	1.414	0	804.6	
7	0	-1.414	808.3	
8	0	1.414	1000.2	
9	0	0	1086.6	Central points (3 points)
10	0	0	1088.2	
11	0	0	1087.9	

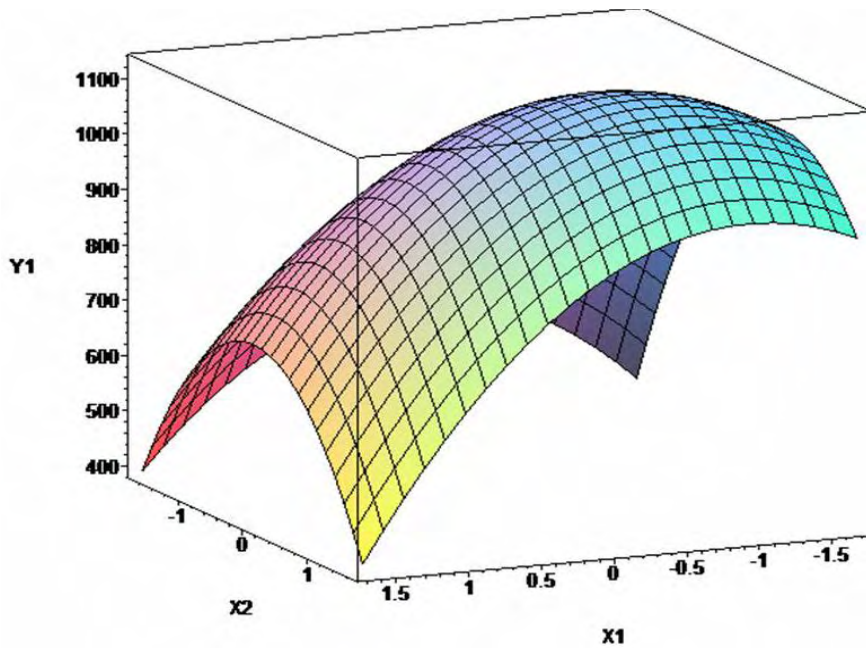


그림 6-15. 겔강도에 대한 두 독립변수 상호 간의 관계를 Maple software로 각각 3차원 도식화한 결과

: Y (겔강도, g×cm), X1 (전분농도, %), X2 (난백농도, %).

표 6-13. 여러 가지 2차 회귀 방정식의 계수들 간의 유의성 결과

	Coefficient	P-value
Intercept	1087.57	0.000
X1	-87.77	0.006
X2	65.41	0.018
X1X1	-78.21	0.018
X2X2	-108.41	0.005
X1X2	-36.53	0.229

따라서 MINITAB program의 RSREG로 분석한 젤강도의 반응 모형 방정식 중 일차항 (linear; X1, X2), 이차항 (quadratic; X12, X22) 및 교차항 (cross-product; X1X2)에 대한 유의성은 일차항 (X1과 X2)과 이차항 (X12와 X22)이 $p < 0.05$ 이어서 유의성이 인정되었으나, 교차항 (X1X2)은 $p > 0.05$ 이어서 유의성이 인정되지 않았다. 이와 같은 결과로부터 표 6-14에 나타난 젤강도에 대한 여러 가지 회귀방정식의 항들 중 유의성이 인정된 것만으로 재정리하여 나타내는 경우 다음과 같이 간결하게 표시할 수 있다.

$$Y (\text{젤강도, gxcn}) = 1087.57 - 87.77X_1 + 65.41X_2 - 78.21X_{12} - 108.41X_{22}$$

독립변수와 종속변수 간의 상관관계를 ANOVA 분석으로 살펴 본 결과는 표 6-15와 같다. 젤 강도에 대한 반응 모형 방정식은 일차항과 이차항의 경우 $p > 0.05$ 이어서 유의성이 인정되었으나, 교차항의 경우 $p > 0.05$ 이어서 유의성이 인정되지 않았다. 젤강도에 대한 반응모형 방정식 모델의 적합성 여부를 나타내는 적합 결여 검증 (lack of fit test)은 $p < 0.05$ 이어서 설계된 모형이 완전하지 않는 것으로 나타났으나, 결정계수 (R^2)가 0.927로서 1에 가까우며 model 값이 0.007로 0.05보다 낮아 설계된 반응모형이 완전하진 않으나 적합한 것으로 나타났다. 한편, 위의 반응 모형 반응식을 정상점 (stationary point)이 최대점 (maximum point, 반응식의 계수 부호가 모두 음인 경우), 최소점 (minimum point, 반응식의 계수 부호가 모두가 양인 경우), 안장점 (saddle point, 반응식의 계수 부호가 양과 음이 혼재하는 경우) 및 정상 능선(이 하나이상 존재하는 경우)의 여부를 살펴보기 위하여 SAS program을 이용하여 정준형식(canonical form)으로 변환시켰을 경우 다음과 같은 형식을 얻을 수 있었다. 이 정준형식에서 Y의 고유값 (eigenvalues)들의 부호가 모두 동일하므로 위 간편 반응 모형방정식에서 얻어진 정상점은 최대점을 나타내었다.

한편, 고품질 납치 연제품의 제조를 위하여 젤강도 (gxcn)가 최대로 할 수 있는 독립변수 (난백농도 및 전분농도)의 최적 첨가농도 구명이 필요하다. 이러한 목적으로 표 6-16의 결과를 MINITAB 통계 프로그램을 구동하여 얻은 젤강도에 대한 독립변수의 최적조건과 그리고 이

들 조건에서 겔강도의 예측치를 표 6-17에 나타내었다. 겔강도에 대한 최적 전분농도와 최적 난백농도는 coded value로는 각각 -1.293 및 0.520이었고, 이를 uncoded value로 환산하는 경우 각각 2.4% 및 5.0%이었다. 이들 조건 즉 전분농도 2.4% 및 난백농도 5.0%에서 겔강도는 1130 gxc㎝로 예측되었다. 이들 전분농도와 난백농도를 적용하여 납치 연제품을 제조한 결과, 납치 연제품의 겔강도의 실측치는 각각 1124 gxc㎝로 예측치와 실측치 간에 0.4%의 차이로 거의 무시할 수 있는 수준이었다. 이상의 결과로 미루어 보아 제시된 반응표면 모델은 고품질 납치 연제품의 제조를 위한 최적 모델이라 판단되었다.

표 6-14. 제주산 비규격 납치로부터 고품질 연제품의 제조를 위한 표면반응 모델식

이차 다중항	R2	P-value
Y = 1087.57 - 87.77X1 + 65.41X2		
- 78.21X12 - 108.41X22 - 36.53X1X2	92.7	0.0072
Y (겔강도, gxc㎝), X1 (전분농도, %), X2 (난백농도, %)		
Y (겔강도, gxc㎝) = 1129.91 - 139.23(W1)2 - 234.00(W2)2		

표 6-15. 독립변수와 종속변수 간의 상관관계를 ANOVA 분석으로 살펴 본 결과

Sources	DF	SS	MS	F-value	P-value
모델	5	180841	36168.1	12.74	0.007
일차항	2	95863	47931.3	16.88	0.006
이차항	2	79642	39820.9	14.03	0.009
교차항	1	5336	5336.3	1.88	0.229
잔차	5	14194	2838.9		
적합 결여 검증	3	14193	4731.0	6540.52	0.000
순수 에러	2	1	0.7		
합계	10	195035			

표 6-16. 제주산 비규격 납치로부터 겔강도가 우수한 고품질 연제품의 제조를 위한 전분농도 및 난백농도의 최소조건과 겔강도의 예측치

종속변수	이차 다중항	Critical value		예측값	정상점
		부호값	비부호값		
Y (겔강도, gxc㎝)	X1	-1.293	2.4	1129.9 gxc㎝	최대점
	X2	0.520	5.0		
X1 (전분농도, %), X2 (난백농도, %)					

표 6-17. RSM에 의하여 이차 다중항으로부터 예측된 고품질 납치 연제품
겔강도의 예측치와 실측치

종속변수	예측치	실측치
Y (겔강도, gxcM)	1130	1125

X1 (전분농도, %), X2 (난백농도, %)

(라) 비규격 제주산 납치로부터 고품질 연제품의 제조를 위한 최적공정 및 수리미 제조를 위한 단가 계산

① 비규격 제주산 납치로부터 고품질 연제품의 제조를 위한 최적 공정

제주산 비규격 납치로부터 겔강도가 우수한 고품질 연제품의 제조를 위하여 효소 저해제 첨가 유무, setting 조건, 가열조건 (방법 및 시간) 및 전분 및 난백의 첨가 조건 등을 검토하였고, 그 결과를 재정리하여 최적공정으로 정리한 결과는 그림 6-16과 같다. 납치 수리미는 납치로부터 두부 및 내장을 제거하고, 필레 (fillet)처리 및 탈피한 후 chopper로 마쇄, 수세 및 체거르기하여 제조하였고, 이를 납치 연제품의 중간소재로 사용하였다. 이들 수리미를 이용한 고품질의 납치 연제품의 제조를 위하여는 stephan mixer 에 납치 수리미를 가하고, 이를 기준으로 식염 3.0% (w/w), 전분 2.4 % (w/w), 난백 5.0% (w/w), ice water 4.8% (v/w), 계액기스 2.0% (w/w) 및 계향 1.0% (w/w)를 각각 첨가한 다음 혼합한다. 이어서, 진공포장기를 이용하여 이들 혼합물을 탈기, stuffer로 충전한 후 5℃에서 24시간 동안 자연응고 시켰다. 그리고, 응고물은 30분동안 열탕처리한 다음 얼음물에서 15분동안 냉각하고 냉장고에서 하룻밤 방치한 후 유통시켰다.

제주산 비규격 넙치
<ul style="list-style-type: none"> - 내장 제거 (gutting) - 두부 제거 (beheading) - 필렛 처리 (filleting) - 탈피 처리 (deskining) - 마쇄 처리 (chopping) - 수세 처리 (washing) - 정제 (refining through a seive)
생 수리미 (raw surimi)
<ul style="list-style-type: none"> - 부원료 및 냉수 첨가 (전분 2.4%, 난백 5.0%, 식염 3.0%, 계 엑기스 2.0%, 계향 1.0% 및 냉수 4.8%) - 고기같이 (stephan mixer for 2 min) - 탈기 - 케이싱 - 자연응고 (1 day, 5℃) - 가열처리 (95℃, 30 min) - 냉각 (15 min into ice water) - 저온에서 정치 (1 day, 5℃)
연제품 (heat-induced surimi gel)

그림 6-16. 제주산 비규격 넙치를 이용한 고품질 연제품의 제조를 위한 최적 공정

② 제주산 비규격 넙치로부터 수리미의 제조를 위한 이론적 수율

일반적으로 수리미 산업공정에서 수리미의 생산을 위하여 생어체로부터 내장 제거, 두부 절단, fillet 처리, 탈피, 마쇄, 수세 및 정제하여 생수리미를 제조하고, 이어서 변성방지제인 설탕과 솔비톨의 적정량을 첨가한 다음 동결하여 동결 수리미를 제조한다. 이 때 각 공정에서 수율의 증감이 발생하는데, 그 개략적인 mass balance는 그림 6-17과 같다. 즉, 수리미 제조 공정 중에 mass balance는 전어체에 대하여 내장 제거 공정 중에 내장이 약 3%, 두부 제거 공정 중에 두부가 약 19%, fillet 처리 공정 중에 frame이 약 17%, 탈피 처리 공정 중에 껍질이 약 6% 제거되고, 수세공정 중에 수용성 단백질이 약 14%, 정제공정 중에 콜라겐 및 엘라스틴과 같은 근기질 단백질, 기타 껍질, 비늘 등과 같은 잔사가 약 3%가 제거되며, 이로 인하여 전어체에 대하여 약 33%의 생 수리미를 얻을 수 있다. 이 때 저장성 부여를 위하여 실시하는 동결 저장 중에 단백질의 변성 억제를 위하여 설탕과 솔비톨을 각각 4%정도씩 첨가하므로 전체 동결 수리미의 수율은 전어체에 대하여 약 36%가 예상되어진다. 이와 같은 생 수리미 및 동결 수리미의 정확한 수율은 넙치 근육 1,000 kg (최소 투입량)의 투입에 의하여 산출될 수 있으리라 보아지나 본 이론적 산출과 크게 다르지 않으리라 보아진다.

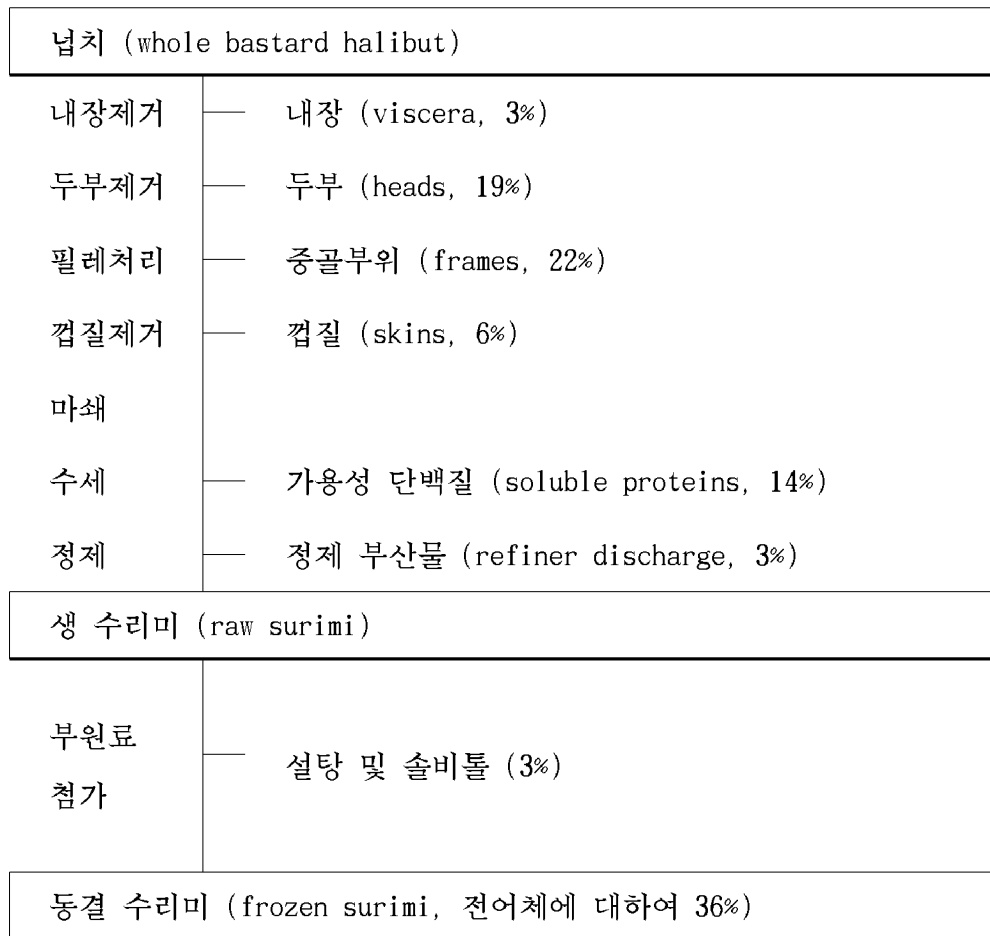


그림 6-17. 제주산 비규격 넙치 수리미 가공공정도 및 mass balance.

③ 제주산 비규격 넙치로부터 수리미의 생산을 위한 이론적 단가 산출

현재 넙치는 일반적으로 1000 g 이상의 것이 유통되고 있고, 일부 600 g 이상의 것도 유통되고 있으나 그 가격에서 큰 차이를 나타내고 있다. 이러한 일면에서 비규격 넙치 (500 g 이하)는 유통되지 못하고 있으나, 일부 양식회사에서 자사의 이익을 위하여 비규격 넙치를 저상품성 핏감용이나 뼈채 핏감용으로 제조하는 세꼬시용으로 핏집들에 다량 공급됨으로 인하여 넙치 시장을 어지럽히고 있다. 이러한 일면에서 제주특별자치도와 제주어류양식수협에서는 넙치의 가격 안정화를 위하여 비규격 넙치의 경우 수산연제품 즉 수리미의 자원으로 이용하여 넙치의 과잉공급을 억제함으로써 규격 넙치의 가격 안정화를 시도하고자 한다. 한편, 2008년 시판 명태 수리미 중 최고의 등급으로 알려져 있는 SA급 수리미의 경우 7000-10000원/kg의 가격을 형성하였다. 2009년에는 이 정도의 가격을 이루고 있으면서 추후 이보다 상승하리라 예측하고 있다. 이러한 일면에서 제주특별자치도와 제주어류양식수협에서 과잉 생산되고 있는 비규격 넙치를 kg당 1500원 정도로 조절 할 수 있다는 가정하에서 원가를 산출하고자 한다. 위

에서 산출한 이론적 제주산 비규격 넙치를 이용한 냉동 넙치 수리미의 수율은 36%로 산출되었고, 이 내용을 토대로 하는 경우 원료만을 고려한 수리미 kg당 단가는 4167원으로 산출된다. 일반적으로 단가는 원료비, 포장비, 노무비, 제조경비 (전기, 장갑, 기타 운영경비), 판매관리비 (운송 및 광고 등) 및 이윤 등을 고려하여 계산을 실시한다. 이 때 원료비를 50%, 포장비, 노무비, 제조경비 및 판매관리비를 각각 10%로 하여 결정한다고 가정하는 경우 넙치 수리미의 단가는 8333원/kg으로 책정된다. 이와 같은 가격에서 넙치 수리미가 생산될 수 있다면 품질면에서 넙치 수리미가 시판 명태 수리미의 고급등급인 SA등급보다 우수하여 가격 및 품질면에서 시장성과 경쟁성을 가지고 있다고 보아진다. 하지만, 제주특별자치도와 제주어류양식수협에서는 넙치 산업을 활성화하기 위하여 1) 비규격 넙치는 생선 핏감의 물량 조절의 수단임을 명백히 하여 단가 개념을 버려야 하고, 2) 비규격 넙치의 단가 손실은 규격 넙치에 의하여 보상되어야 하며, 3) 제주 특유의 청정 이미지와 관광 이미지를 결합한 고부가 신제품의 개발이 꾸준히 이루어져야 하고, 4) 상승하고, 품귀화 현상을 겪는 수리미 산업을 대한 투자 및 5) 제주 1차 수산업을 2차 수산업으로 산업안정화에 의한 고용 창출 등에 노력하여야 한다.

(마) 최적공정에서 제조되어진 제주산 비규격 넙치 연제품과 시판 연제품과의 품질 비교

① 일반성분 및 pH 본 실험에서 구명한 최적공정에 의하여 제조한 제주산 비규격 넙치 연제품과 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 일반성분과 pH를 비교하여 나타낸 결과는 표 6-18과 같다. 본 실험에서 제조한 넙치 연제품과 시판 명태 수리미로 제조한 연제품들의 일반성분은 수분 함량의 경우 각각 72.9% 및 69.9%, 조단백질 함량의 경우 각각 20.2% 및 16.6%, 조지방 함량의 경우 각각 0.3% 및 0.2%, 그리고 회분 함량의 경우 각각 3.7% 및 4.3%으로, 넙치 수리미로 제조한 연제품의 수분 함량과 조단백질 함량이 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 그것들에 비하여 각각 3.0% 및 3.6%가 높아 차이가 있었다. 이와 같은 결과는 시판 명태 수리미의 제조공정 중냉동저장 시에 단백질 변성을 억제할 목적으로 첨가한 설탕 (일반적으로 4%)과 솔비톨 (일반적으로 4%)의 영향이라 판단되었다. 한편 넙치 연제품과 시판 명태 수리미로 제조한 연제품들의 pH는 각각 6.91 및 7.06으로 0.15의 차이를 나타내었는데, 이는 원료 어종 및 선도의 차이 이외에 시판 냉동 수리미에 첨가 (일반적으로 0.2-0.3%)되어 있는 중합인산염의 pH 완충능 때문이라 판단되었다 (Cha et al., 2009). 한편, 제조회사가 다른 3종의 찢어묵의 일반성분은 수분 함량의 경우 66.4-71.7% 범위, 조단백질 함량의 경우 9.9-12.9% 범위, 조지방 함량의 경우 0.2-0.6% 범위 및 회분이 2.0-2.1% 범위를 나타내었다. 따라서 넙치 연제품의 일반성분은 시판 연제품에 비하여 수분 함량, 조단백질 함량 및 조회분 함량은 높았고, 조지방 함량의 경우 유사하였는데, 이는 시판 연제품의 경우 시판 수리미를 원료로 사용함과 동시에 증량의 목적으로 다량 첨가한 전분 (Cha et al., 2009)의 영향이라 판단되었다. 하지만,

3종의 찐어묵의 pH는 6.79-6.86 범위로 넙치 연제품의 pH와는 큰 차이가 없었다.

표 6-18. 제주산 비규격 넙치 유래 찐어묵, 시판 명태 수리미 유래 찐어묵 및 시판 찐어묵의 일반성분과 pH

	이 실험에서 제조한 찐어묵		시판 연제품		
	명태 수리미	넙치	A	B	C
수분	69.9±0.1	72.9±0.2	71.7±0.3	68.8±0.1	66.4±0.0
일반 성분 (g/100g)	조단백질	20.2±0.1	9.9±0.1	10.3±0.1	12.9±0.0
		1			
	조지방	0.2±0.0	0.6±0.1	0.4±0.0	0.2±0.1
			0.3±0.1		
	회분	4.3±0.1	2.0±0.0	2.1±0.0	2.0±0.1
			3.7±0.1		
pH	7.06	6.91	6.86	6.80	6.79

이상의 넙치 연제품의 일반성분 결과로 미루어 보아 생 수리미로 이용하는 경우 시판 연제품에 비하여 훨씬 고단백이어서 영양적으로 의미가 있으리라 판단되었다.

② 조직감, water holding capacity 및 백색도

본 실험에서 제조한 넙치 연제품과 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 겔강도 및 water holding capacity, 그리고 백색도를 시판 연제품의 이들 성분과 비교하여 나타낸 결과는 각각 그림 6-19 및 그림 6-20과 같다. 연제품의 겔강도는 본 실험에서 제조한 제품이 1125 gxcml로, SA급 시판 명태 수리미로 제조한 제품의 984 gxcml보다 14%이상 높았고, 시판 고급 연제품의 하나인 찐어묵의 732-1033 gxcml 범위보다 9-54%가 높았다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 넙치 수리미는 게맛살 등과 같은 고급 연제품의 소재로 이용 가능하리라 판단되었다. 연제품의 water holding capacity는 넙치 연제품이 86.1%로 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 89.1%에 비하여는 낮았으나 시판 연제품의 82.4-83.1%에 비하여는 높았다. 연제품의 백색도는 본 실험에서 제조한 넙치 제품이 24.61로, 시판 명태 수리미로 제조한 제품의 5% 유의 수준에서 시판 연제품 A (24.73)에 비하여는 차이가 없었으나, B (24.26) 및 C (24.09)에 비하여는 높았다.

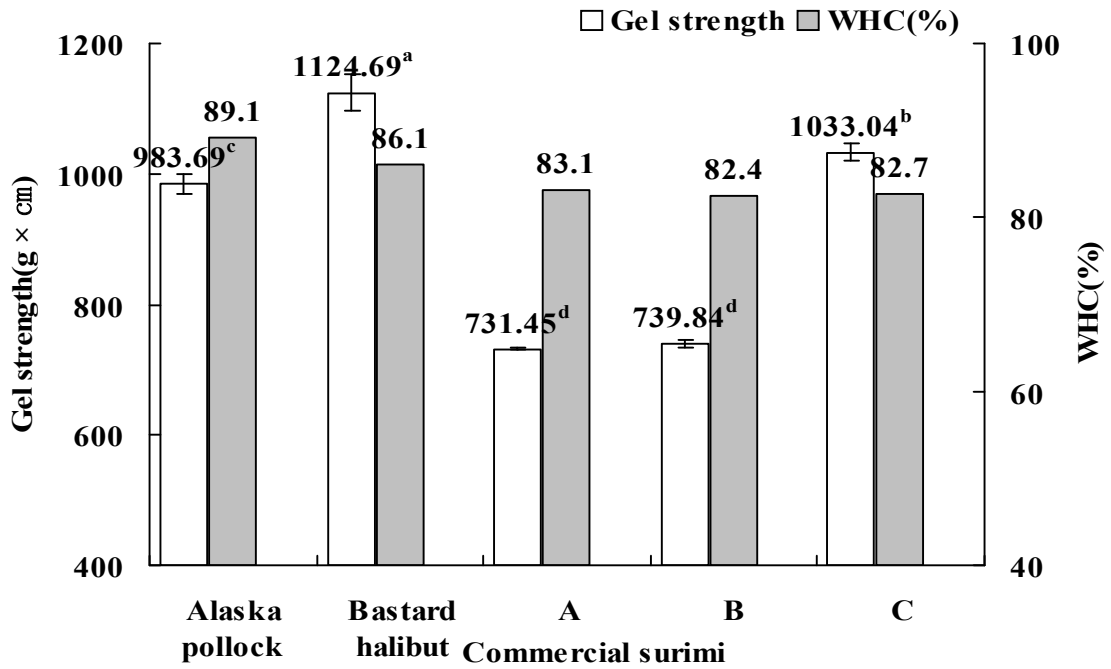


그림 6-19. 제주산 비규격 넙치 연제품, 시판 명태 수리미로 제조한 연제품 및 시판 연제품의 겔강도 및 water holding capacity

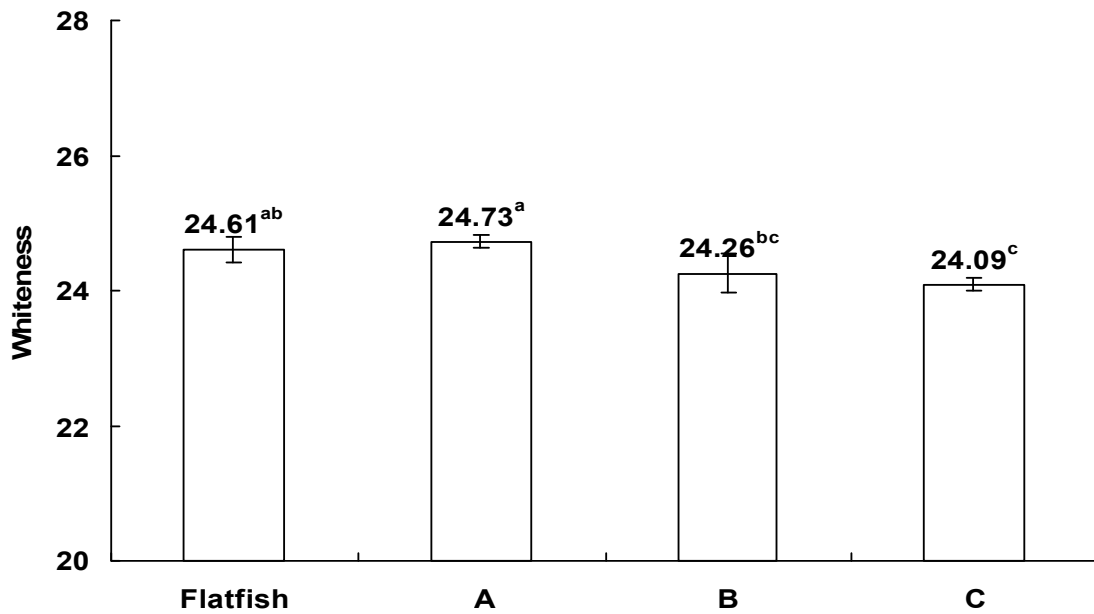


그림 6-20. 제주산 비규격 넙치 연제품, 시판 명태 수리미로 제조한 연제품 및 시판 연제품의 백색도

③ 관능검사

시판 명태 수리미로부터 제조한 시제 연제품의 조직감과 색조를 기준점인 3점으로 하고, 넙

치 연제품과 시판 연제품의 이들 항목이 이보다 우수한 경우 4점 및 5점, 그리고, 이보다 열악한 경우 2점 및 1점으로 하여 관능검사를 실시한 결과는 표 6-19와 같다. 넙치 연제품은 SA급 시판 명태 수리미로 제조한 시제 연제품과 시판 연제품에 비하여 5% 유의수준에서 조직감의 경우 우수하였고, 색조의 경우 차이가 없었다. 이와 같은 관능검사의 결과로 미루어 보아 넙치 수리미의 경우 경제성만 동반 된다면 고품질 어묵 또는 게맛살 등의 소재로 이용 가능하리라 판단되었다.

표 6-19. 시판 명태 수리미로 제조한 연제품의 조직감과 색을 기준점으로 하여 넙치 연제품과 시판 연제품의 이들에 대한 관능검사 결과

	시제 연제품		시판 연제품
	시판 명태 수리미	넙치	
조직감 (texture)	3.0±0.0	4.0±0.6	2.8±0.5
색조 (color)	3.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0

(바) 비규격 넙치 수리미의 새로운 제품으로의 응용

제주산 비규격 넙치 유래 수리미의 여러 가지 제품소재로 응용 가능성을 타진 할 목적으로 집게 맛살, 연어 맛살 및 새우 맛살을 제조한 것은 사진 6-5와 같다. 넙치 수리미로 제조한 이들 제품은 실제 형상뿐만이 조직감도 우수하였다. 따라서 넙치 수리미는 제주 특성을 살릴 수 있는 옥돔, 갈치 및 넙치 등과 같은 여러 가지 제품으로 제조되어 진다면 제주특별자치도의 청정 이미지와 더불어 관광 상품으로서 각광을 받을 수 있으리라 판단되어진다.



사진 6-5. 제주산 비규격 넙치 유래 수리미를 이용한 여러 가지 제품의 형상 (shrimp, crab, salmon)

(2) 전통수산물발효식품의 개발

(가) 시판 식해의 식품 성분 및 건강기능 특성

① 일반성분 및 염도

가자미 식해 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10), 명태 식해 (sample code 2 및 5), 도루묵 식해 (sample code 3), 멸치 식해 (sample code 5) 및 횡대 식해 (sample code 9)와 같은 시판 식해 10종의 일반 성분 함량을 살펴 본 결과는 표 6-20과 같다. 시판 식해 10종의 수분 함량은 65.0-74.4% 범위로, 제품 간에 차이가 컸다. 식해 제품으로 가장 많이 유통되고 있는 가자미 식해 5종과 명태 식해 2종의 수분 함량은 각각 68.9-70.4% 범위 및 66.5-69.8% 범위로, 제조원 간에 가자미 식해의 경우 거의 차이가 인정되지 않았으나, 명태 식해의 경우 다소 차이가 인정되었고, 가자미 식해와 명태 식해 간에는 가자미 식해가 명태 식해보다 높아 차이가 있었다. 이들 주요 시판 제품인 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해의 수분 함량은 각각 74.4%, 65.0% 및 68.6%로 시판 식해 10종 중 도루묵 식해의 경우 가장 높은 함량을 나타내었고, 멸치 식해의 경우 가장 낮

표 6-20. 시판 식해의 일반 성분

원료어	시료 코드 ¹⁾	일반성분 (g/100 g)			
		수분	조단백질	조지방	회분
가자미	1	70.4±0.3	16.0±0.0	4.2±0.3	5.7±0.3
	4	70.2±0.5	8.8±0.1	4.0±0.2	5.1±0.1
	7	68.9±0.1	15.6±0.1	4.9±0.6	5.5±0.1
	8	69.1±0.4	7.5±0.4	4.1±0.1	5.7±0.0
	10	69.5±0.1	13.5±0.1	3.4±0.7	6.8±0.7
	Range	68.9-70.4	7.5-16.0	3.4-4.9	5.1-6.8
	Mean	69.6±0.7	12.3±3.9	4.1±0.5	5.8±0.6
명태	2	69.8±0.1	17.2±0.0	3.1±0.4	4.8±0.1
	5	66.5±0.5	15.8±0.0	5.5±0.6	6.0±0.0
	Range	66.5-69.8	15.8-17.2	3.1-5.5	4.8-6.0
	Mean	68.2±2.3	16.5±1.0	4.3±1.7	5.4±0.8
기타	3	74.4±0.3	12.8±0.0	4.4±0.8	5.0±0.1
	6	65.0±0.3	12.9±0.0	6.4±0.3	8.9±0.5
	9	68.6±0.5	6.8±0.1	3.6±0.1	6.9±0.5
Total range		65.0-74.4	6.8-17.2	3.1-6.4	4.8-8.9
Total Mean		69.2±2.5	12.7±3.8	4.4±1.0	6.0±1.2

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

은 함량을 나타내었으며, 횡대 식해의 경우 명태 식해와 유사한 범위이었다.

시판 식해 10종의 조단백질 함량 및 조지방 함량은 각각 6.8-17.2% 범위 및 3.1-6.4% 범위로 제품 간에 이들 성분의 차이가 상당히 컸다. 식해의 조단백질 함량 및 조지방 함량은 가자미 식해 5종이 각각 7.5-16.0% 범위 및 3.4-4.9% 범위이었고, 명태 식해 2종이 각각 15.8-17.2% 범위 및 3.1-5.5% 범위로 명태 식해의 조단백질 함량을 제외한다면 모두 동일 원료어 제품 간에는 차이가 인정되었고, 특히 가자미 식해의 조단백질 함량은 상당히 차이가 있었다. 유통량이 많은 이들 두 종류의 식해를 제외한 나머지 식해들의 조단백질 함량 및 조지방 함량은 도루묵 식해가 각각 12.8% 및 4.4%, 멸치 식해가 각각 12.9% 및 6.4%, 횡대 식해가 각각 6.8% 및 3.6%로, 원료어를 달리한 시판 식해 간에 이들 성분의 차이는 컸다. 시판 식해의 회분 함량은 4.8-8.9% 범위로 제품 간에 차이가 컸다. 시판 식해의 회분 함량은 가자미 식해 5종이 5.1-6.8% 범위로 제품 간에 차이가 크게 인정되지 않았고, 명태 식해 2종이 4.8-6.0% 범위로 이 역시 크게 차이가 없었으며, 이들 가자미 식해와 명태 식해 간에도 크게 차이가 인정되지 않았다. 이들 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 식해의 회분 함량은 전체 시판 식해의 회분 함량에 비하여 도루묵 식해가 5.0%, 멸치 식해가 8.9%, 횡대 식해가 6.9%로, 멸치 식해의 경우 높았으나, 이를 제외한다면 크게 차이가 없었다. 멸치 식해의 회분 함량이 다른 시판 식해에 비하여 다소 높은 것은 멸치의 경우 아무런 전처리를 하지 않고 어제 그대로를 사용하면서 원료어의 배합 비율이 높았기 때문이라 판단되었다.

한편, Choi 등 (2001)⁴⁷은 경상도 전통 마른 오징어 식해의 제법 조사 및 품질 특성을 조사하는 연구에서 오징어 식해 5종을 재래식 방법으로 재현한 결과 수분 함량은 68.0-71.9% 범위, 조단백질 함량 및 조지방 함량은 각각 9.7-11.3% 범위 및 1.7-2.8% 범위, 조회분 함량은 3.1-4.2% 범위이었다고 보고한 바 있다. 이상의 결과로 미루어 보아 시판 식해의 일반성분 함량 차이는 원료어와 첨가물의 종류, 배합 비율 및 수확 시기, 숙성 조건 및 숙성 방법 등에 따른 차이 때문이라 판단되었다. 가자미 식해 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10), 명태 식해 (sample code 2 및 5), 도루묵 식해 (sample code 3), 멸치 식해 (sample code 5) 및 횡대 식해 (sample code 9)와 같은 시판 식해 10종의 염도는 그림 6-21과 같다. 시판 식해의 염도는 3.0-6.7% 범위로 상당히 차이가 있었다. 시판 식해의 염도를 원료어에 따라 살펴보는 경우 가자미 식해 5종은 3.0-4.6%로, 제품 간에 차이가 있다고 판단되었고, 약간의 염미가 느껴질 것으로 생각되었으며, 명태 식해 2종은 4.1-5.2% 범위로 큰 차이가 없었으나, 가자미 식해에 비하여 고염도를 나타내었다. 이들 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 염도는 도루묵 식해가 3.2%, 멸치 식해가 6.7%, 횡대 식해가 4.7%로, 도루묵 식해와 횡대 식해의 경우 명태 식해와 가자미 식해의 이들 함량과 유사한 범위이었으나, 멸치 식해의 경우 나머지 시판 식해 9종에 비하여 아주 높은 함량이었다.

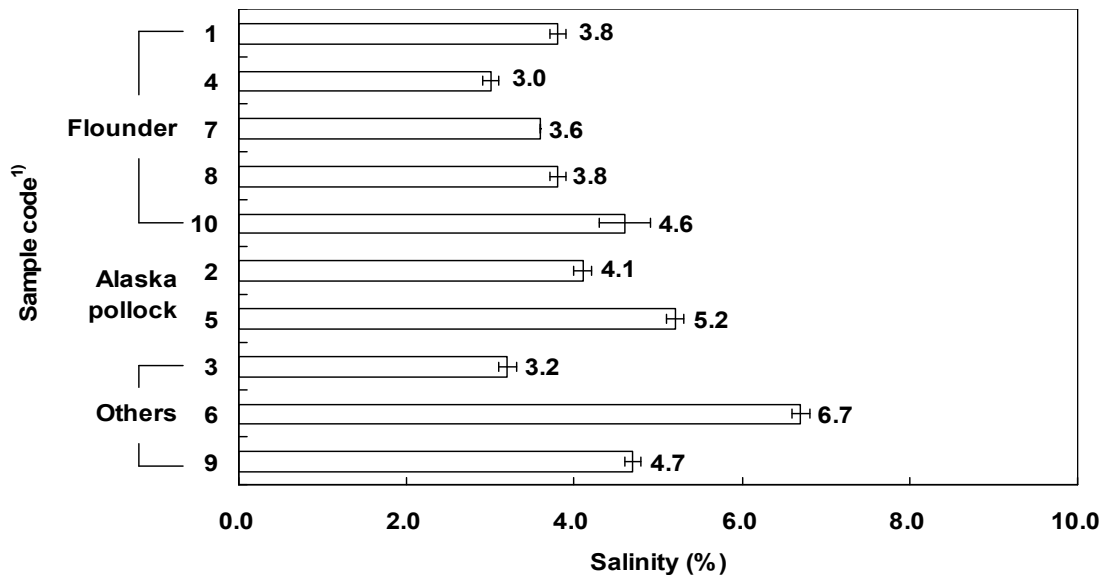


그림 6-21. 시판 식해의 염도

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

한편, Kim 등 (1994)⁴²은 강릉지방의 오징어 식해 개발을 위한 연구에서 제조한 오징어 식해의 염도는 숙성기간에 관계없이 3.2-3.6% 범위를 유지하였다고 보고한 바 있다. 이상의 시판 식해 10종의 염도에 대한 결과로 미루어 보아 시판 식해의 염도는 식해 유사 수산 전통발효식품의 하나인 액젓의 염도인 약 25% (Kim et. al. 2000)⁸⁰에 비하여 확연히 낮아, 현대인들의 수산물 거부 요인 중의 하나인 고염도를 탈피한다는 점에서 상당히 의미가 있다고 판단되었고, Kim 등 (1994)⁴²의 오징어 식해 염도에 대한 결과로 미루어 보아 약간 더 저염화가 가능하리라 판단되었다. 한편, 시판 식해 10종 중에서 멸치 식해의 염도가 6.7%로 나머지 식해의 염도인 5.2% 이하보다 단연히 높았는데, 이는 원료어인 멸치의 선도 저하가 아주 신속 (Heu et. al. 1995)⁸¹하여 이의 저장을 위하여 다소 고염을 사용하으리라 추정되었다. 그리고, 명태 식해의 회분과 염도 간에 차이가 나머지 다른 어류 식해의 회분과 염도 간에 차이에 비하여 낮은 것은 칼슘과 인의 apatite (Hamada and Kumagai, 1988. ; Kim et. al. 2000)^{82,83}와 콜라겐으로 구성된 어류뼈의 첨가 유무에 따른 차이 때문이라 판단되었다. 따라서 칼슘 섭취의 의미에서는 명태 식해보다는 다른 어류를 이용하여 제조한 식해가 더 의미가 있을 것으로 추정되었다. 이상의 시판 식해의 일반성분 함량 및 염도의 결과로 미루어 보아 식해의 산업화를 위한 품질 규격 항목으로 염도를 설정하는 것이 적절하리라 판단되었고, 가이드 라인 (guide line)으로는 5% 이하로 제시하여 소비자의 기호에 맞추는 것도 의미가 있으리라 판단되었다. 여기에서 제시한 식해의 염도에 대한 품질 규격 (안)인 염도 5% 이하를 시판 식해 10종에 적용하는 경우 이를 통과하지 못하는 제품으로는 명태 식해 1종 (sample code 5, 5.2%)과 멸치 식해 1종 (sample code 6, 6.7%)이었다.

② 효소 활성

가자미 식해 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10), 명태 식해 (sample code 2 및 5), 도루묵 식해 (sample code 3), 멸치 식해 (sample code 5) 및 횡대 식해 (sample code 9)와 같은 시판 식해 10종의 효소 활성을 검토할 목적으로 살펴 본 단백질 함량은 그림 6-22와 같다. 시판 식해 10종의 물 추출물에 대한 단백질 함량은 1.30-6.90 mg/mL 범위로 제품 간에 차이가 상당히 컸다. 시판 식해의 물 추출물에 대한 단백질 함량은 가자미 식해 5종이 1.86-1.90 mg/mL 범위로 제품 간에 크게 차이가 없었고, 명태 식해 2종의 1.30-1.47 mg/mL 범위에 비하여 다소 높았다. 시판 식해 중 많이 유통되고 있는 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해의 물 추출물에 대한 단백질 함량은 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해의 경우 각각 3.53 mg/mL, 6.90 mg/mL 및 2.25 mg/mL로 가자미 식해와 명태 식해에 비하여 훨씬 높아 차이가 있었다. 이와 같이 멸치 식해와 같이 일부 식해의 경우 단백질 함량이 상당히 높았는데, 이는 숙성 중 상대적으로 활성이 높은 단백질 분해 효소의 작용에 의하여 유리된 단백질 및 아미노산이 많아진 결과 이외에도 맛의 상승을 목적으로 첨가한 monosodium glutamate (MSG)의 영향으로 추정되었다.

시판 식해 10종으로부터 추출한 조효소액의 pH 영역 (pH 3, 6 및 9)별 단백질 분해 효소 활성을 검토한 결과는 Fig. 1-2와 같다. 산성 기질 (Hb 기질, pH 3)에 대한 시판 식해 10종으로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성은 0.10-2.74 U/mg 범위로 제품 간에 차이가 상당히 컸다. 산성 기질 (Hb 기질, pH 3)에 대한 시판 가자미 식해 5종으로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성은 0.35-2.32 U/mg 범위로 제품 간에 차이가 컸고, sample code 4가 2.32 U/mg으로 가장 높았고, 다음으로 sample code 1 (2.27 U/mg, sample code 7 (1.18 U/mg)의 순이었으며, sample code 8이 0.35 U/mg으로 가장 낮았다. 산성 기질 (Hb 기질, pH 3)에 대한 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)으로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성은 각각 0.55 U/mg 및 0.10 U/mg으로 시판 가자미 식해로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성에 비하여 sample code 8을 제외한다면 훨씬 낮았다. 산업적으로 유통량이 많은 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해로부터 추출한 단백질 분해 효소의 산성 기질 (Hb 기질, pH 3)에 대한 활성은 각각 1.17 U/mg, 2.74 U/mg 및 1.08 U/mg으로 가자미 식해로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성에 비하여 도루묵 식해 및 횡대 식해 유래 단백질 분해 효소들의 경우 다소 낮은 편이었고, 멸치 식해 유래 단백질 분해 효소의 경우 이보다 높았다. 이와 같은 결과로부터 산성 기질 (Hb 기질, pH 3)에 대한 시판 식해 유래 단백질 분해 효소의 활성은 멸치 식해가 가장 높았고, 다음으로 가자미 식해 sample code 4 및 1이었다.

중성 기질 (casein 기질, pH 6)에 대한 시판 식해 10종으로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성은 0.37-1.28 U/mg 범위로 제품 간에 차이가 상당히 컸으나, 이는 산성 기질에 대한 단백

질 분해 활성보다 낮았다. 중성 기질에 대한 시판 가자미 식해 5종으로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성은 0.37-1.28 U/mg 범위로 시판 식해 10종의 그것과 차이가 없었고, sample code 1이 1.28 U/mg으로 가장 높았고, 다음으로 sample code 10 (0.99 U/mg), sample code 4 (0.81 U/mg)의 순이었으며, sample code 8이 0.37 U/mg으로 가장 낮았다. 중성 기질 (casein 기질, pH 6)에 대한 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)으로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성은 각각 1.11 U/mg 및 0.60 U/mg으로 시판 가자미 식해로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성에 비하여 sample code 2의 경우 높은 편이었고, sample code 5의 경우 낮은 편이었다. 산업적으로 유통량이 많은 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해로부터 추출한 단백질 분해 효소의 중성 기질에 대한 활성은 각각 0.66 U/mg, 1.14 U/mg 및 0.46 U/mg으로 가자미 식해로부터 추출한 단백질 분해 효소의 활성에 비하여 도루묵 식해 및 횡대 식해 유래 단백질 분해 효소들의 경우 다소 낮은 편이었고, 멸치 식해 유래 단백질 분해 효소의 경우 유사한 편이었다. 이와 같은 결과로부터 중성 기질에 대한 시판 식해 유래 단백질 분해 효소의 활성은 가자미 식해 sample code 1이 가장 높았고, 다음으로 멸치 식해 및 명태 식해 sample code 2이었다. 이상의 결과로 미루어 보아 시판 식해 제품의 속성에 중요한 역할을 할 것으로 판단되는 단백질 분해 효소의 pH별 효소 활성 분포는 산성 영역에서의 효소 활성이 가장 강하였고, 다음으로 약산성영역에서의 활성이었다. 이는 시판 식해의 속성 중 pH가 6부근에서 4.5부근으로 이동한다는 것을 가정할 때 식해의 속성 중 효소 활성은 초기에는 다소 활성이 약하게 작용을 하다가 점차 강하게 작용하리라 판단되었다. 또한, 산성 기질과 중성 기질에 대한 식해 유래 단백질 분해 효소의 활성 결과로 미루어 보아 가자미 식해 2종 (sample code 1 및 4)과 멸치 식해는 분해가 상당히 이루어졌으리라 판단되었으나, 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)과 가자미 식해 1종 (sample code 8)은 분해가 크게 이루어지지 않았다고 판단되었다.

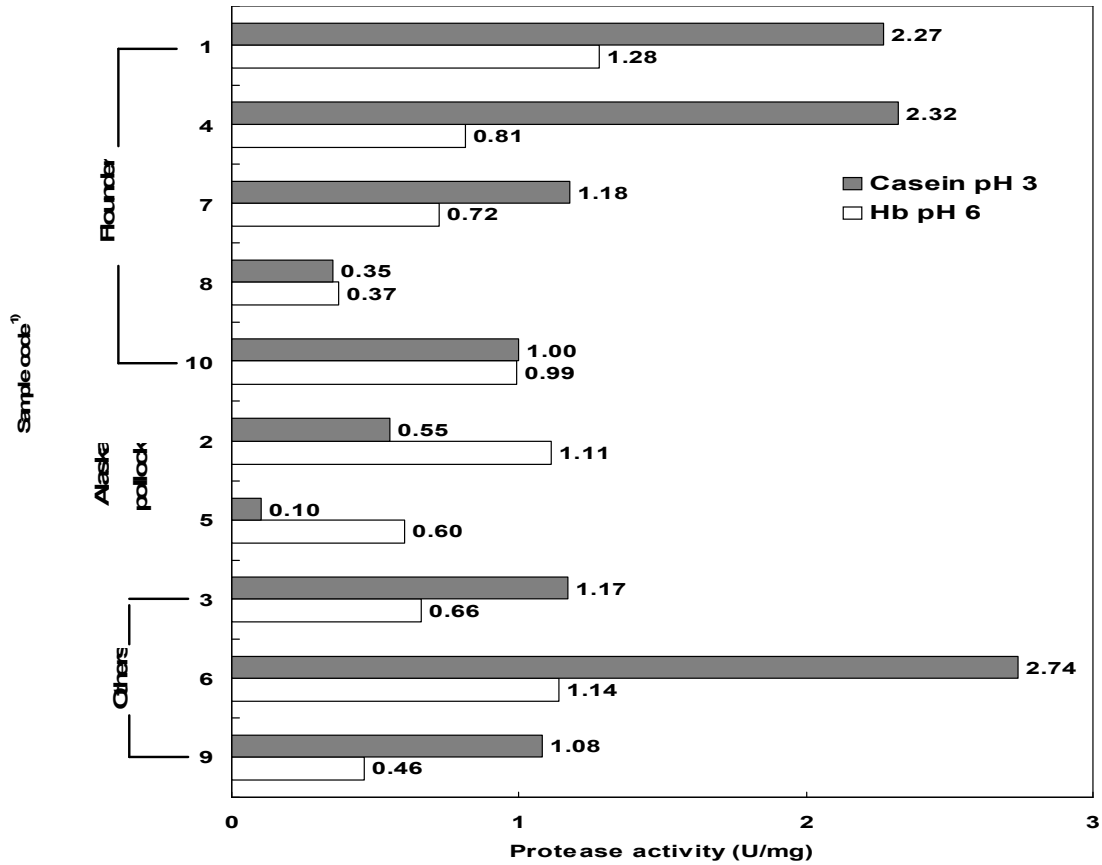


그림 6-22. pH에 따른 시판 식해 유래 효소의 활성

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

③ 생균수, 젖산균 및 대장균

가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 생균수와 젖산균수를 살펴 본 결과는 그림 6-23과 같다. 시판 식해의 생균수는 6.18-7.92 log(CFU/g) 범위로, 제품 간에 1.7 log(CFU/g) 정도로 차이가 있었다. 시중에서 가장 많이 유통되고 있는 가자미 식해 5종 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10)의 생균수는 6.18-7.72 log(CFU/g) 범위이었고, sample code 8이 7.72 log(CFU/g)으로 가장 높았고, 다음으로 sample code 1 [7.45 log(CFU/g)], 10 [7.32 log(CFU/g)] 및 4 [7.11 log(CFU/g)] 의 순이었으나 4종 간에는 차이가 없었으나 sample code 7은 [6.18 log(CFU/g)] 로 이들 4종과는 다소 차이가 있었다. 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 생균수는 각각 [6.95 log(CFU/g)] 및 [7.08 log(CFU/g)] 으로 가자미 식해 5종에 비하여 sample code 7을 제외한다면 다소 낮은 편이었다. 식해로 주로 유통되고 있는 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해의 생균수는 각각 [7.08 log(CFU/g)], 6.94 log(CFU/g) 및 [7.92 log(CFU/g)] 으로 도루묵 식해와 멸치 식해의 경우 sample code 7

을 제외한다면 가자미 식해보다는 낮았으나 명태 식해와는 유사하였고, 횡대 식해의 경우 시판 10종의 식해 중 가장 높았다.

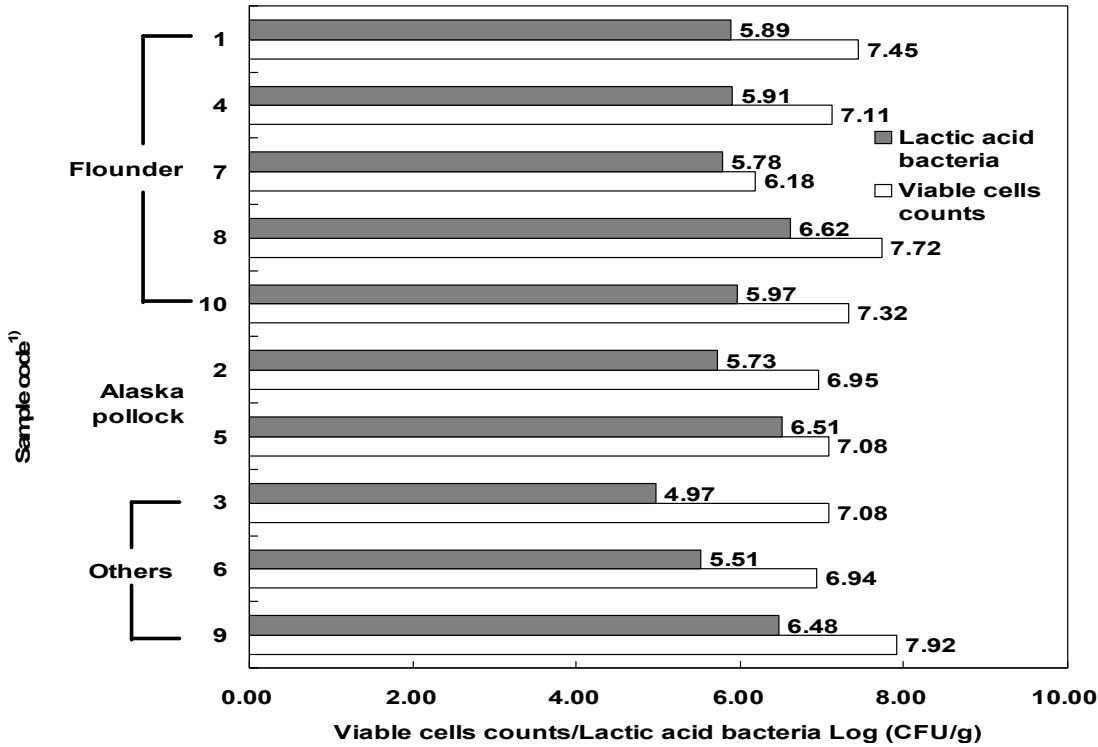


그림 6-23. 시판 식해의 생균수와 젖산균수.

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

시판 식해의 젖산균수는 4.97-6.62 log(CFU/g) 범위로, 제품 간에 1.7 log(CFU/g) 정도로 차이가 있어 생균수의 차이와 유사하였다. 시중에서 가장 많이 유통되고 있는 가자미 식해 5종 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10)의 젖산균수는 5.78-6.62 log(CFU/g) 범위이었고, sample code 8이 6.62 log(CFU/g)으로 가장 높았으며, 다음으로 sample code 10 [5.97 log(CFU/g)], 4 [5.91 log(CFU/g)], 1 [5.89 log(CFU/g)] 및 7 [5.78 log(CFU/g)]의 순이었다. 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 젖산균수는 각각 5.73 log(CFU/g) 및 6.51 log(CFU/g)으로 가자미 식해 5종에 비하여 sample code 2의 경우 낮은 쪽에서 유사하였고, 5의 경우 높은 쪽에서 유사하였다. 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해의 젖산균수는 각각 4.97 log(CFU/g), 5.51 log(CFU/g) 및 6.48 log(CFU/g)으로 도루묵 식해와 멸치 식해의 경우 가자미 식해와 명태 식해보다 낮았고, 횡대 식해의 경우 가자미 식해 sample code 8 및 명태 식해 sample code 5를 제외한 나머지 식해보다 높았다. 한편, Kim 등⁴³은 강릉지방의 오징어 식해 개발에 관한 연구에서 오징어 식해는 15°C에서 20일간 발효시켰을 때 생균수의 경우 발효 10일째에 9.3×10^9 (CFU/g)으로 최대치를, 젖산균수의 경우 발효 15일째에 3.6×10^8 CFU/g으로 최대치를 나타낸 이후 감소하였다고 보고

한 바 있고, Cha 등⁸⁴ 은 명태 식해의 숙성 중 미생물 및 효소학적 특성에 관한 연구에서 20℃에 발효시켰을 때 생균수와 젖산균는 숙성 10일경에 각각 2.6×10^9 CFU/g 및 1.2×10^9 CFU/g으로 최대치를 나타낸 후 서서히 감소하였다고 보고하였으며, Koo 등¹⁹ 은 백합 식해 발효 중 생화학 및 미생물학적 특성 변화에 관한 연구에서 상온에서 7일간 발효 시킨 후 4℃에서 38일간 발효시킨 결과 생균수는 15일째에 4.4×10^8 CFU/g, 젖산균수는 저장 9일째에 5.0×10^8 CFU/g으로 증가한 후 모두 감소하였다고 보고한 바 있다. 이상의 식해의 생균수와 젖산균수의 결과로 미루어 보아 본 실험에서 시료로 이용한 시판품 10종이 Kim 등⁴³, Cha 등⁸⁴ 및 Koo 등¹⁹ 의 최적 발효조건에서 제조한 시제품들보다 훨씬 낮아 시판 식해는 유통을 고려하여 최적 발효 기간 이전에 숙성을 완료하였으리라 추정되었다. 시판 식해 10종의 위생성을 조사하기 위하여 대장균을 검토했던 결과 제품의 종류에 관계없이 모두 18 (MPN/100 g) 이하이어서 대장균의 면에서는 위생적이었다고 판단되었다(데이터 미제시).

④ pH 및 총 산도

가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 pH와 총산도를 살펴 본 결과는 그림 6-24와 같다. 시판 식해 10종의 pH는 4.45-5.24 범위로 제품 간에 차이가 컸다. 산업적으로 많이 유통되고 있는 시판 가자미 식해 5종 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10)의 pH는 4.46-4.88 범위로, sample code 8 (4.46)이 가장 낮았고, 다음으로 sample code 10 (4.74), 4 (4.76), 7 (4.86) 및 1 (4.88)의 순이었으나, sample code 8을 제외한다면 나머지 4종의 식해 간 pH는 큰 차이가 없었다. 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 pH는 각각 4.85 및 4.47로 두 제품 간에는 차이가 컸으나 시판 가자미 식해 5종과 비교하는 경우 sample code 2는 sample code 8과 유사하였고, sample code 5는 나머지 4종과 유사한 범위이었다. 산업적으로 생산량이 많은 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종, 즉 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해의 pH는 각각 5.13, 5.24 및 4.45으로, 도루묵 식해와 멸치 식해의 경우 시판 식해 10종 중 pH가 가장 높은 쪽에 속하였고, 횡대 식해는 낮은 쪽인 가자미 식해의 sample code 8과 명태 식해 sample code 5와 유사한 정도이었다. 이상의 시판 식해의 pH에 대한 결과와 Kim 등⁴³, Choi 등⁴⁷ 및 Koo 등¹⁹ 의 보고로 미루어 보아 식해의 산업화를 위한 품질 규격 항목으로 pH를 선정하는 것이 타당하리라 판단되었고, 이들의 가이드 라인으로는 4.8 이하가 적절하리라 판단되었다. 이와 같은 식해의 품질 규격 (안)을 시판 식해 10종에 적용하는 경우 이를 충족하지 못하는 제품은 가자미 식해의 경우 2종 (sample code 1 및 7), 명태 식해의 경우 1종 (sample code 2), 도루묵 식해, 멸치 식해를 포함하여 모두 5종이 해당되었다. 시판 식해 10종의 총산도는 0.84-1.46 g/100 g으로 역시 제품 간에 차이가 컸다. 시판 가자미 식해 5종의 총산도는

1.18-1.42 g/100 g 범위로, sample code 8 이 1.42 g/100 g으로 가장 낮았고, 나머지 제품의 경우 1.18-1.28 g/100 g 범위로 큰 차이가 없었다. 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5) 의 총산도는 각각 1.22 g/100 g 및 1.39 g/100 g으로 sample code 2의 경우 가자미 식해 sample code 8을 제외한 나머지 4종과 유사하였으나 sample code 5의 경우 가자미 식해 sample code 8과 유사하였다. 산업적으로 많이 유통되고 있는 식해인 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 총산도는 도루묵 식해와 멸치 식해가 각각 0.86 g/100 g 및 0.84 g/100 g으로 시판 식해 10종 중 가장 낮은 범위에 있었고, 횡대 식해가 1.46 g/100 g으로 시판 식해 10종 중 가장 높은 범위에 있었다.

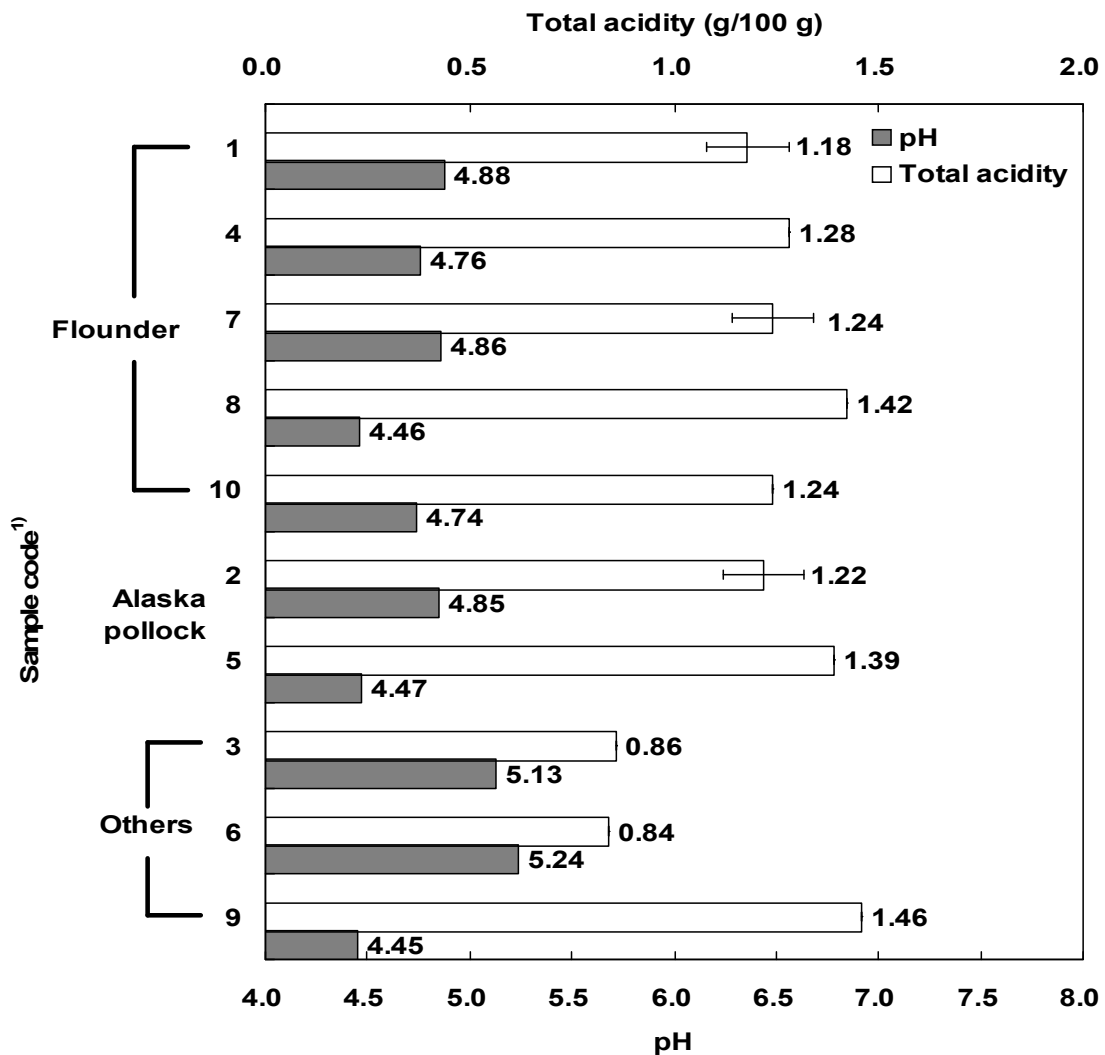


그림 6-24. 시판 식해의 pH와 총산도

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

시판 식해 10종의 pH 및 총산도의 결과로 미루어 보아 시판 식해의 pH와 총산도는 상당히 비례적인 상관관계를 나타내어 대체적으로 총산 함량이 많은 경우 pH가 저하하였다. 일반적으

로 젓갈과 같이 단백질이 근간인 수산물의 발효 시에는 휘발성 염기물질을 다량 생산하여 pH가 5.0 이하로 내려가기 어려우나, 김치와 같이 탄수화물이 근간인 농산물의 발효 시에는 유기산을 다량 생산하여 pH가 5.0 이하로 내려가기 용이하다. 이와 같은 사실로 미루어 볼 때 이들 시판 식해의 pH와 총산도가 낮은 제품은 sample code 5와 같이 일부 유기산을 첨가하는 경우를 제외한다면 대체로 단백 자원인 수산물의 조성비보다 탄수화물 자원인 곡류의 조성비를 높이면서 저염의 조건에서 발효시켜 젖산균의 활성화에 의한 다량의 유기산을 생성시켰기 때문이라 판단되었다. 이상의 시판 식해 10종과 여러 연구자들 (Kim et. al. ; Koo et. al.)^{43,19}의 오징어, 명태 및 백합 식해에 대한 결과로 미루어 보아 시판 식해 10종의 젖산균의 농도, pH와 총산도에 있어 현격한 차이들은 원료 및 첨가물의 종류, 선도, 조성비, 발효 조건과 방법 등에 있어 차이 때문이라고 판단되었다.

⑤ 아미노 질소, 유리 아미노산 및 taste value

가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 맛의 지표로서 살펴 본 아미노 질소 함량과 유리아미노산 함량 (단 sample code 10은 제외)은 각각 그림 6-25 및 표 6-21과 같다. 시판 식해 10종의 아미노 질소 함량은 72.0-333.0 mg/100 g의 범위로 제품 간에 차이가 상당히 컸다. 시판 가자미 식해 5종 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10)의 아미노 질소 함량은 82.1-283.9 mg/100 g 범위로, 차이가 상당히 컸고, sample code 7이 283.9 mg/100 g으로 가장 높았고, 다음으로 sample code 1 (262.8 mg/100 g), 4 (175.2 mg/100 g) 및 10 (134.4 mg/100 g)의 순이었으며, sample code 8이 82.1 mg/100 g으로 가장 낮았다. 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 아미노 질소 함량은 각각 321.5 mg/100 g 및 72.1 mg/100 g으로 상당히 차이가 컸고, 시판 가자미 식해에 비하여 sample code 2의 경우 높은 편에 속하였으나, sample code 5의 경우 가장 낮아 범위 내에 속하지 못하였다. 한편, 산업적으로 많이 유통되고 있는 이들 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 기타 시판 식해의 아미노 질소 함량은 시판 가자미 식해에 비하여 도루묵 식해의 경우 242.4 mg/100 g으로 보통 정도에 해당되었고, 멸치 식해의 경우 333.0 mg/100 g으로 아주 높아 범위에 속하지 않았으며, 횡대 식해의 경우 92.6 mg/100 g으로 상당히 낮은 범위에 있었다. 이상의 시판 식해 10종의 아미노 질소의 결과로 미루어 볼 때 어류로 제조한 식해의 식해들 간의 아미노 질소의 현격한 차이는 원료의 종류, 배합비, 발효 조건 등과 같은 차이 이외에도 발효 시에 맛의 상승을 위하여 첨가한 monosodium glutamate MSG) 등의 영향이라 판단되었으며, 품질 규격 항목 (안)으로 아미노 질소가 타당하리라 판단되었고, 이들의 품질 관리를 위한 가이드 라인 (안)으로는 200 mg/100 g 이상이 적절하리라 판단되었다. 이와 같은 식해의 품질 관리를 위하여 설정한 품질 규격 (안)을 시판 식해 10종에 적용하는 경우 가자미

식해의 경우 2종 (sample code 1 및 7), 명태 식해의 경우 1종 (sample code 2), 도루묵 식해, 멸치 식해와 같이 5종이 규정 (안)을 충족하였다.

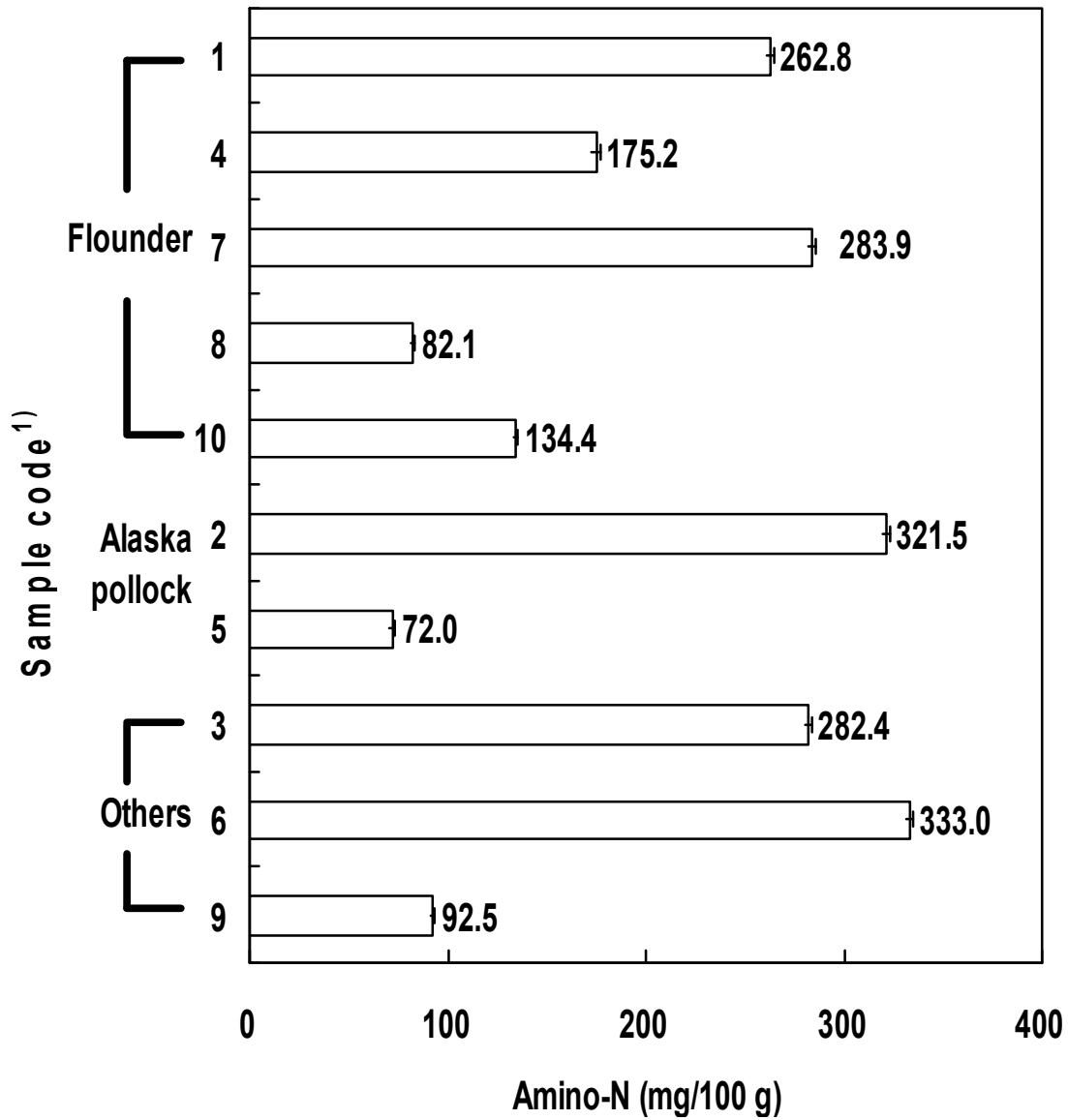


그림 6-25. 시판 식해의 아미노 질소 함량

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

표 6-21. 시판 식해의 유리아미노산 함량

아미노산	가자미 식해							
	1		4		7		8	
Phosphoserine	7.9	(0.6)	6.7	(0.8)	8.6	(0.6)	3.0	(0.7)
Taurine	72.3	(5.5)	41.7	(5.0)	67.4	(4.7)	23.0	(5.4)
Phenylethylamine	19.7	(1.5)	15.8	(1.9)	27.2	(1.9)	11.1	(2.6)
Aspartic acid	21.0	(1.6)	15.0	(1.8)	34.4	(2.4)	11.5	(2.7)
Hydroxyproline	7.9	(0.6)	4.2	(0.5)	8.6	(0.6)	3.4	(0.8)
Threonine	64.4	(4.9)	34.2	(4.1)	67.4	(4.7)	22.1	(5.2)
Serine	30.2	(2.3)	17.5	(2.1)	37.3	(2.6)	13.6	(3.2)
Glutamic acid	181.4	(13.8)	251.6	(30.2)	452.9	(31.6)	49.8	(11.7)
Sarcosine	-	-	-	-	-	-	-	-
α -Amino adipic acid	2.6	(0.2)	0.8	(0.1)	2.9	(0.2)	0.9	(0.2)
Proline	126.2	(9.6)	67.5	(8.1)	120.4	(8.4)	38.7	(9.1)
Glycine	61.8	(4.7)	38.3	(4.6)	53.0	(3.7)	20.0	(4.7)
Alanine	119.6	(9.1)	70.8	(8.5)	126.1	(8.8)	41.7	(9.8)
Valine	63.1	(4.8)	29.2	(3.5)	64.5	(4.5)	20.4	(4.8)
Cysteine	3.9	(0.3)	5.8	(0.7)	7.2	(0.5)	1.7	(0.4)
Methionine	34.2	(2.6)	21.7	(2.6)	28.7	(2.0)	10.6	(2.5)
Cystathionine-1	1.3	(0.1)	2.5	(0.3)	4.3	(0.3)	0.4	(0.1)
Isoleucine	38.1	(2.9)	15.8	(1.9)	27.2	(1.9)	8.1	(1.9)
Leucine	73.6	(5.6)	40.8	(4.9)	65.9	(4.6)	24.7	(5.8)
Tyrosine	2.6	(0.2)	2.5	(0.3)	1.4	(0.1)	1.7	(0.4)
β -Alanine	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenylalanine	49.9	(3.8)	23.3	(2.8)	48.7	(3.4)	16.2	(3.8)
γ -Aminobutyric acid	173.5	(13.2)	32.5	(3.9)	21.5	(1.5)	43.4	(10.2)
Ethanolamine	18.4	(1.4)	1.7	(0.2)	12.9	(0.9)	3.4	(0.8)
Hydroxylysine	2.6	(0.2)	3.3	(0.4)	2.9	(0.2)	0.9	(0.2)
Ornithine	17.1	(1.3)	14.2	(1.7)	21.5	(1.5)	9.4	(2.2)
Lysine	84.1	(6.4)	45.8	(5.5)	71.7	(5.0)	30.6	(7.2)
1-Methylhistidine	-	-	1.7	(0.2)	-	-	0.4	(0.1)
Histidine	14.5	(1.1)	10.8	(1.3)	21.5	(1.5)	6.8	(1.6)
3-Methylhistidine	1.3	(0.1)	-	-	-	-	-	-
Anserine	-	-	-	-	-	-	-	-
Carnosine	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine	21.0	(1.6)	17.5	(2.1)	27.2	(1.9)	8.1	(1.9)
Total	1314.2	(100)	833.2	(100)	1433.3	(100)	425.6	(100)

표 6-21. 계속

아미노산	명태 식해				기타 식해					
	2		5		3		6		9	
Phosphoserine	13.9	(0.9)	2.6	(0.6)	6.5	(0.5)	3.5	(0.2)	3.4	(0.7)
Taurine	49.6	(3.2)	17.2	(4.0)	27.3	(2.1)	58.7	(3.4)	54.3	(11.2)
Phenyl-ethylamine	18.6	(1.2)	6.4	(1.5)	22.1	(1.7)	13.8	(0.8)	6.8	(1.4)
Aspartic acid	43.4	(2.8)	11.1	(2.6)	15.6	(1.2)	84.6	(4.9)	15.0	(3.1)
Hydroxyproline	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Threonine	74.4	(4.8)	17.2	(4.0)	55.8	(4.3)	65.6	(3.8)	19.9	(4.1)
Serine	55.8	(3.6)	14.2	(3.3)	39.0	(3.0)	65.6	(3.8)	21.8	(4.5)
Glutamic acid	234.0	(15.1)	68.6	(16.0)	76.6	(5.9)	348.7	(20.2)	72.3	(14.9)
Sarcosine	4.6	(0.3)	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Amino adipic acid	1.5	(0.1)	0.4	(0.1)	2.6	(0.2)	-	-	-	-
Proline	130.2	(8.4)	34.3	(8.0)	116.9	(9.0)	60.4	(3.5)	38.3	(7.9)
Glycine	55.8	(3.6)	18.0	(4.2)	79.2	(6.1)	98.4	(5.7)	17.5	(3.6)
Alanine	139.5	(9.0)	39.0	(9.1)	167.5	(12.9)	93.2	(5.4)	43.2	(8.9)
Valine	85.2	(5.5)	18.0	(4.2)	27.3	(2.1)	89.8	(5.2)	26.7	(5.5)
Cysteine	6.2	(0.4)	2.6	(0.6)	2.6	(0.2)	5.2	(0.3)	4.4	(0.9)
Methionine	44.9	(2.9)	9.9	(2.3)	13.0	(1.0)	44.9	(2.6)	5.8	(1.2)
Cystathionine-1	1.5	(0.1)	0.4	(0.1)	1.3	(0.1)	3.5	(0.2)	0.5	(0.1)
Isoleucine	54.2	(3.5)	15.4	(3.6)	31.2	(2.4)	60.4	(3.5)	13.6	(2.8)
Leucine	89.9	(5.8)	25.7	(6.0)	57.1	(4.4)	98.4	(5.7)	23.3	(4.8)
Tyrosine	13.9	(0.9)	5.6	(1.3)	9.1	(0.7)	41.4	(2.4)	5.8	(1.2)
β-Alanine	3.1	(0.2)	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenylalanine	65.1	(4.2)	18.0	(4.2)	48.0	(3.7)	62.2	(3.6)	18.4	(3.8)
γ-Aminobutyric acid	27.9	(1.8)	7.7	(1.8)	286.9	(22.1)	6.9	(0.4)	27.7	(5.7)
Ethanolamine	12.4	(0.8)	4.7	(1.1)	10.4	(0.8)	6.9	(0.4)	4.4	(0.9)
Hydroxylysine	7.7	(0.5)	0.4	(0.1)	1.3	(0.1)	3.5	(0.2)	1.0	(0.2)
Ornithine	9.3	(0.6)	0.9	(0.2)	6.5	(0.5)	8.6	(0.5)	18.9	(3.9)
Lysine	137.9	(8.9)	39.0	(9.1)	131.1	(10.1)	139.8	(8.1)	23.8	(4.9)
1-Methylhistidine	12.4	(0.8)	3.4	(0.8)	1.3	(0.1)	-	-	1.5	(0.3)
Histidine	23.2	(1.5)	4.7	(1.1)	13.0	(1.0)	100.1	(5.8)	4.4	(0.9)
3-Methylhistidine	3.1	(0.2)	-	-	-	-	5.2	(0.3)	-	-
Anserine	23.2	(1.5)	9.4	(2.2)	6.5	(0.5)	5.2	(0.3)	-	-
Carnosine	-	-	-	-	-	-	5.2	(0.3)	-	-
Arginine	106.9	(6.9)	33.9	(7.9)	42.8	(3.3)	146.7	(8.5)	12.6	(2.6)
Total	1549.3	(100)	428.7	(100)	1298.5	100	1726.4	100	485.3	100

1) 시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

시판 식해 9종 (sample code 1-9)의 총 유리아미노산 함량은 425.6-1,726.4 mg/100 g의 범위로 제품 간에 차이가 상당히 컸다. 이들 시판 식해 9종 간의 총 유리아미노산 함량의 많고 적은은 아미노 질소 함량의 그것들과 유사한 경향을 나타내었다. 시판 식해 9종의 유리아미노산은 시판 가자미 식해 4종 중 sample code 1이 3-methylhistidine의 1종이 더 함유되어 28종이 동정되었고, 나머지 3종은 27종이 동정되었다. 시판 명태 식해의 유리아미노산의 종류는 sample code 2가 31종, sample code 5가 28종이 동정되어 다소의 차이가 있었다. 나머지 시판 식해의 유리아미노산의 종류는 도루묵 식해 및 멸치 식해가 모두 28종이 동정되었고, 횡대 식해가 26종이 동정되어 가장 적은 종이 동정되었다. 한편, 시판 가자미 식해 4종과 명태 식해의 총 유리아미노산 함량은 각각 425.6-1,433.3 mg/100 g의 범위 및 428.7-1,549.3 mg/100 g 범위로 제품 간에 가자미 식해의 경우 3.37배, 명태 식해의 경우 3.61배의 차이가 있었다. 이들 시판 식해 이외에 나머지 식해의 총 유리아미노산 함량은 도루묵 식해가 1,298.5 mg/100 g, 멸치 식해가 1,726.4 mg/100 g 및 횡대 식해가 485.3 mg/100 g을 나타내었다. 이들 시판 가자미 식해의 맛에 관여하는 주요 유리아미노산을 조성적으로 살펴본다면 sample code 4 및 7의 경우 glutamic acid (각각 251.6 mg/100 g 및 30.2%, 452.9 mg/100 g 및 31.6%), proline (각각 67.5 mg/100 g 및 8.1%, 120.4 mg/100 g 및 8.4%), alanine (각각 70.8 mg/100 g 및 8.5%, 126.1 mg/100 g 및 8.8%)의 3종이었고, sample code 1 및 8의 경우 이들 3종 이외에도 γ -aminobutyric acid (GABA)가 각각 13.2% (173.5 mg/100 g) 및 10.2% (43.4 mg/100 g)이 함유되어 있어 4종으로 이루어져 있었다. 가자미 식해와 함께 산업적으로 궤도에 올라와 있는 시판 명태 2종 (sample code 2 및 5)의 주요 유리 아미노산은 제조원에 관계없이 glutamic acid (각각 230.4 mg/100 g 및 15.1%, 68.6 mg/100 g 및 16.0%), proline (각각 130.2 mg/100 g 및 8.4%, 34.3 mg/100 g 및 8.0%), alanine (각각 139.5 mg/100 g 및 9.0%, 39.0 mg/100 g 및 9.1%) 및 lysine (각각 137.9 mg/100 g 및 8.9%, 39.0 mg/100 g 및 9.1%)와 같은 4종으로, 시판 가자미 식해에 비하여 glutamic acid, proline 및 alanine은 동일하였으나 lysine이 1종 더 포함되어 있어 차이가 있었다. 이들 시판 가자미 식해, 명태 식해 이외에 식해로서 유통되고 있는 도루묵 식해는 proline (116.9 mg/100 g 및 9.0%), alanine (167.5 mg/100 g 및 12.9%), GABA (286.9 mg/100 g, 22.1%) 및 lysine (131.1 mg/100 g 및 10.1%)와 같은 4종, 멸치 식해의 경우 glutamic acid (348.7 mg/100 g 및 20.2%), lysine (139.8 mg/100 g 및 8.1%) 및 arginine (146.7 mg/100 g 및 8.5%) 등과 같은 3종, 횡대 식해의 경우 taurine (54.3 mg/100 g 및 11.2%), glutamic acid (72.3 mg/100 g 및 14.9%), proline (38.3 mg/100 g 및 7.9%) 및 alanine (43.2 mg/100 g 및 8.9%) 등으로 식해의 종류 간에 차이가 있었고, 또한 동일 식해 간에도 차이가 컸으며, 특히 도루묵 식해의 경우 감칠맛의 증성분이면서 식해 맛에 결정적으로 관여하는 glutamic acid가 젖산균에 의하여 γ -aminobutyric acid로

의 전환으로 인하여 상당히 감소 Lee(2011)⁸⁷하여 주요 유리아미노산에 포함되지 않았다는 것이 특징적이었다. 한편, 여기서 가자미 식해 2종 (sample code 4 및 7), 명태 식해 1종 (sample code 5), 그리고, 멸치 식해 (sample 6)의 경우 다른 유리아미노산 조성에 비하여 glutamic acid 조성비가 월등히 높았는데, 이는 단백질로부터 유리된 glutamic acid 이외에도 맛의 상승을 고려하여 가공업자에 의하여 첨가된 MSG 때문이라 판단되었다. 멸치 식해 이외의 8종 식해에서는 근년에 항산화성 등의 기능이 알려져 있는 histidine 관련 물질인 histidine, 1-과 3-methylhistidine, dipeptide인 anserine과 carnosine이 검출되지 않거나 미량이 검출되었는데, 이는 이들 성분이 대부분 적색육 어류에서 유래되기 때문이라 판단되었다. 일반적으로 장기 고염 발효에 의하여 제조되는 멸치 젓같은 멸치에 다량 함유되어 있는 arginine이 arginine decarboxylase 등의 효소에 의하여 agmatine과 같은 biogenic amine으로의 전환 Yoon, (2010)⁸⁸에 의하여 미량만이 함유되어 있는데 Im 등(2001)⁸⁹ 반하여, 단기 저염 단기 발효에 제조된 멸치 식해의 경우 arginine이 거의 잔존하고 있어 다소 위생적이라 판단되었다. 한편, 식해는 혈중 콜레스테롤과 중성지방의 저하, 저밀도 및 초저밀도 지질 단백질 중의 콜레스테롤량 감소에 의한 동맥경화성 질환의 억제, 담즙산 생합성 촉진에 의한 항담석 작용, 간효소 대사 및 간기능 개선, 담즙 분비 촉진 등에 의한 급성 간질환 환자의 증상 개선, 뇌의 교감 신경에 대한 억제 작용으로 혈압 강하, 뇌졸중의 예방 등과 같은 건강 기능성이 인정되고 있는 taurine Lee 등, (1999)⁹⁰, 성장 호르몬의 분비 조절, 통증 완화, 정신 신경 안정 작용, 혈압 강하 작용 등과 같은 건강 기능성이 인정되고 있는 GABA Phend 등, (1992)⁹¹ 등과 같은 유리아미노산의 조성비가 높아 식해는 근년에 소비자들이 선호하고 있는 건강 식품으로서도 의미가 있다고 판단되었다. 한편, Kato 등⁹² 은 백합 식해를 45일간 숙성한 결과 alanine, taurine, glutamic acid 및 aspartic acid가 주성분이라 보고한 바 있고, Cha 등⁹³ 은 명태 식해의 발효 중 맛성분의 변화에 관한 연구에서 최적 숙성기에 glutamic acid, alanine, leucine 및 lysine 등이었다고 보고한 바 있다. 일반적으로 식품의 맛은 유리아미노산에 의하여 크게 영향을 받고, 그 강도는 함량도 고려되어야 하나, 이보다 맛의 역치를 우선적으로 고려하여야 한다 Kato 등⁹² 이러한 일면에서 시판 식해의 맛을 taste value (유리아미노산 함량/유리아미노산의 맛에 대한 역치)로 나타낸 결과는 표 6-22와 같다. Kato 등⁹² 이 보고한 식품 100 g에 대한 맛의 역치는 aspartic acid가 가장 낮아 3 mg/100 g 이었고, 다음으로 glutamic acid (5 mg/100 g)의 순이었으며, 이들은 나머지 유리아미노산에 비하여 aspartic acid의 경우 6.67-86.67배가, glutamic acid의 경우 4.00-52.00배가 높아 확연히 맛에 민감하였다. 시판 식해의 total taste value는 17.0-115.8의 범위로 제품 간에 차이가 상당히 컸다. 시판 가자미 식해의 taste value는 sample code 7이 111.1로 가장 높아 맛이 가장 진하리라 판단되었고, 다음으로 sample code 4 (60.6) 및 1 (52.4)의 순이었으며, sample code 8의 경우 17.0으

로 가장 낮아 맛이 가장 연하리라 추정되었다. 이에 반하여 기타 시판 식해의 taste value는 명태 식해인 sample code 2 및 5의 경우 각각 75.1 및 21.1이 었고, 도루묵 식해의 경우 30.7, 멸치 식해의 경우 115.9 및 횡대 식해의 경우 22.5이었다. 이와 같이 맛의 강도가 강한 시판 식해는 대부분이 MSG를 첨가한 식해 (sample code 4-7)이었고, 도루묵 식해의 경우 맛에 결정적 영향을 미치면서 다량 함유되어 있었으리라 추정되는 glutamic acid가 GABA로의 전환에 의하여 오히려 대폭 감소됨으로서 상대적으로 낮아졌다고 판단되었다. Taste value로 살펴본 식해의 맛에 관여하는 주요 유리아미노산으로는 식해의 종류에 관계없이 모두 glutamic acid이었고, 보조적으로 aspartic acid가 관여하리라 판단되었다. 한편, Hayashi 등⁹⁴ 은 자숙한 게다리살 추출물의 유리아미노산 함량과 동일하게 제조한 합성물로 omission test를 실시한 결과 glutamic acid와 aspartic acid가 감칠맛과 신맛의 주체이었다고 보고한 바 있다. 그리고, Cha 등⁸⁵도 명태 식해의 숙성 중 맛성분의 변화를 살펴보는 연구에서 맛의 강도를 taste value로 살펴본 결과 주 맛은 glutamic acid와 aspartic acid가 관여하였다고 보고한 바 있다.

표 6-22. 시판 식해의 taste value

아미노산	Taste threshold (mg/100 g)	가자미 식해			
		1	4	7	8
Aspartic acid	3	7.0	5.0	11.5	3.8
Threonine	260	0.2	0.1	0.3	0.1
Serine	150	0.2	0.1	0.2	0.1
Glutamic acid	5	36.3	50.3	90.6	10.0
Proline	300	0.4	0.2	0.4	0.1
Glycine	130	0.5	0.3	0.4	0.2
Alanine	60	2.0	1.2	2.1	0.7
Valine	140	0.5	0.2	0.5	0.1
Methionine	30	1.1	0.7	1.0	0.4
Isoleucine	90	0.4	0.2	0.3	0.1
Leucine	190	0.4	0.2	0.3	0.1
Phenylalanine	90	0.6	0.3	0.5	0.2
Lysine	50	1.7	0.9	1.4	0.6
Histidine	20	0.7	0.5	1.1	0.3
Arginine	50	0.4	0.4	0.5	0.2
Total	-	52.4	60.6	111.1	17.0

표 6-22. 계속

아미노산	Taste threshold (mg/100g)	명태 식해		기타 식해		
		2	5	4	7	8
Aspartic acid	3	14.5	3.7	5.2	28.2	5.0
Threonine	260	0.3	0.1	0.2	0.3	0.1
Serine	150	0.4	0.1	0.3	0.4	0.1
Glutamic acid	5	46.8	13.7	15.3	69.7	14.5
Proline	300	0.4	0.1	0.4	0.2	0.1
Glycine	130	0.4	0.1	0.6	0.8	0.1
Alanine	60	2.3	0.7	2.8	1.6	0.7
Valine	140	0.6	0.1	0.2	0.6	0.2
Methionine	30	1.5	0.3	0.4	1.5	0.2
Isoleucine	90	0.6	0.2	0.3	0.7	0.2
Leucine	190	0.5	0.1	0.3	0.5	0.1
Phenylalanine	90	0.7	0.2	0.5	0.7	0.2
Lysine	50	2.8	0.8	2.6	2.8	0.5
Histidine	20	1.2	0.2	0.7	5.0	0.2
Arginine	50	2.1	0.7	0.9	2.9	0.3
Total	-	75.1	21.1	30.7	115.9	22.5

이상의 시판 식해의 유리아미노산 함량에 대한 결과와 Cha 등⁸⁵, Koo 등¹⁹의 보고로 미루어 보아 식해의 유리아미노산 중 glutamic acid가 25% 이상 검출되는 경우 이는 식해에 MSG를 첨가하였다고 생각할 수 있을 것으로 예측되었다. 이와 같은 견해에 시판 식해 9종의 식해를 적용하는 경우 가자미 식해의 경우 2종 (sample code 4 및 7)은 MSG를 첨가한 제품으로 추정되었다.

⑥ 휘발성 염기질소

가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 휘발성 염기질소 함량을 살펴 본 결과는 그림 6-26과 같다. 시판 식해 10종의 휘발성 염기질소 함량은 24.5-80.9 mg/100 g으로 제품 간에 차이가 컸다. 시판 가자미 식해 5종 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10)의 휘발성 염기질소 함량은 24.7-53.3 mg/100 g 범위로 동일 원료어를 사용하였음에도 불구하고도 차이가 상당히 컸는데, sample code 1이 53.3 mg/100 g으로 가장 높았고, 다음으로 sample code 4와 7 (모두 약 39 mg/100 g), 8 (34.7 mg/100 g)이었고, sample code 10이 32.0 mg/100 g으로 가장 낮았다. 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 휘발성 염기질소 함량은 각각 65.3 mg/100 g 및 24.5 mg/100 g으로, 두 제품이 모두 가자미 식해의 범위를 벗어났는데, sample code 2의 경우 높은

범위를, sample code 5의 경우 낮은 범위를 벗어났다. 시판 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 휘발성 염기질소 함량은 시판 식해 10종에 비하여 도루묵 식해 (78.5 mg/100 g)와 멸치 식해 (80.9 mg/100 g)의 경우 가장 높은 쪽에 해당하였고, 횡대 식해의 경우 27.3 mg/100 g으로 명태 식해 sample code 5를 제외한다면 낮은 쪽에 해당되었다. 이와 같이 시판 식해 간에 휘발성 염기질소 함량의 큰 차이는 원료어의 선도 상태, 배합 비율, 발효 조건 등에 의한 차이 때문이라 판단되었다.

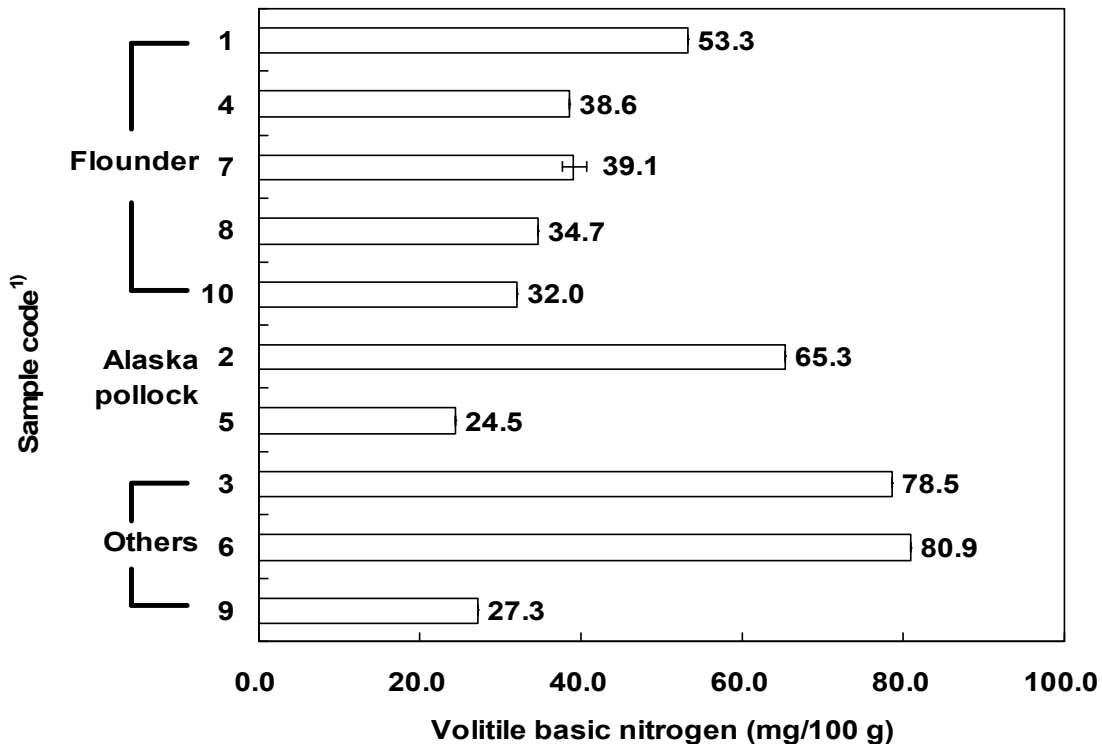


그림 6-26. 시판 식해의 휘발성 염기질소

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

⑦ 적색도

가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 관능적 색에 대한 지표로서 측정된 헨터 색조 중 소비자의 기호도를 자극할 수 있는 적색도에 대한 결과는 그림 6-27과 같다. 시판 식해 10종의 적색도는 10.9-28.5 범위로 제품 간에 차이가 컸다. 시판 가자미 식해 5종 (sample code 1, 4, 7, 8 및 10)의 적색도는 18.3-27.6 범위로 제품 간에 차이가 있었는데, sample code 8이 27.6으로 가장 높았고, 다음으로 sample code 4 (22.6), 1 (21.2), 10 (18.7)의 순이었으며, sample code 7이 18.3으로 가장 낮았다. 이와 같은 가자미 식해의 적색도의 차이는 다른 요인들보다는 고춧가루의 사용량에 의한 차이 때문으로 판단되었다. 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 적색도는 각각 28.0 및 25.6으로 두 종류 모두 선홍색을 나타내어 관능적으로는 먹음직

스러웠고 시판 가자미 식해 중 적색도가 가장 높았던 sample code 6과 유사하거나 약간 낮은 편이었다. 시판 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 적색도는 시판 식해 10종의 적색도에 비하여 도루묵 식해의 경우 껏잎 등의 부원료가 혼입됨으로 인하여 16.9의 다소 낮은 값을 나타내었고, 멸치 식해의 경우 멸치가 숙성됨으로 인한 검은색을 느끼게 함으로 인하여 10.9로 가장 낮았으며, 횡대 식해의 경우 28.5로 가장 높았고, 또한 먹음직스럽게 보였다.

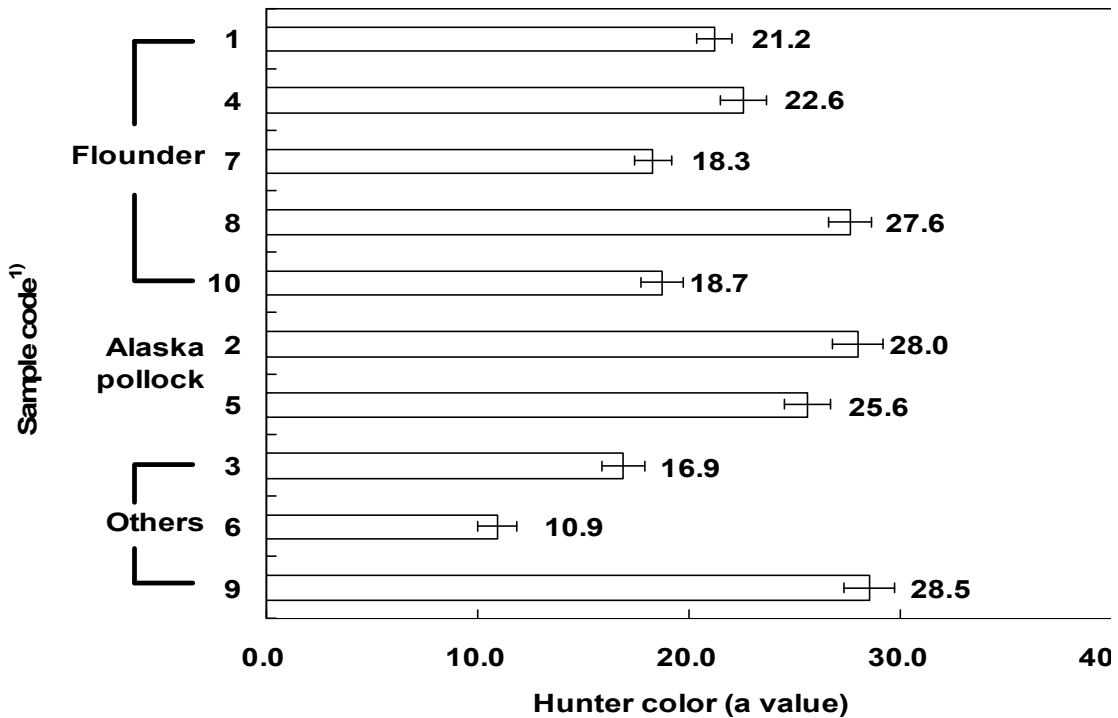


그림 6-27. 시판 식해의 헌터 색조

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

⑧ 총 아미노산, 지방산 및 무기질

시판 식해 10종의 일반 성분 함량은 조단백질 함량이 6.8-17.2% 범위, 조지방 함량이 3.1-6.4% 범위 및 조회분 함량이 4.8-8.9% 범위로 함유되어 있어, 이들을 구성하는 총아미노산, 지방산 및 무기질들이 영양적으로 의미가 있을 것으로 판단된다. 이러한 일면에서 시판 식해 10종의 영양 특성을 살펴 볼 목적으로 총 아미노산을 분석하여 그 결과를 표 6-23에 나타내었다. 시판 식해의 총아미노산은 제품의 종류에 관계없이 모두가 16종이 동정되었다. 시판 식해 10종의 총아미노산 함량은 5.65-16.32 g/100 g으로 제품 간에 차이가 컸다. 이와 같은 시판 식해의 총아미노산 함량의 차이는 식해의 제조를 위하여 적용한 배합 조성 중 어류의 첨가 비율에 의한 영향이 절대적이라 판단되었다. 시판 가자미 식해 5종 (sample code 1, 4, 7, 8, 10)의 총 아미노산 함량은 6.60-14.56 g/100 g으로, sample code 7 및 1이 각각 14.56

g/100 g 및 14.52 g/100 g으로 다소 높았고, 다음으로 sample code 10 (12.08 g/100 g) 및 4 (8.09 g/100 g)의 순이었으며, sample code 8이 6.60 g/100 g으로 가장 낮았다. 이와 같이 시판 가자미 식해 간에 총 아미노산 함량의 차이는 몇가지 요인이 있겠지만, 가장 우선적으로 고려되는 것이 단백질원인 원료어의 첨가 조성비이었다. 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 총아미노산 함량은 각각 16.32 g/100 g 및 15.38 g/100 g으로 시판 가자미 식해는 물론이고, 다른 원료어로 제조한 시판 식해에 비하여도 높았다. 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 총아미노산 함량은 도루묵 식해의 경우 12.04 g/100 g이었고, 멸치 식해의 경우 11.54 g/100 g이었으며, 횡대 식해의 경우 5.65 g/100 g으로 10종의 시판 식해 중 가장 낮았다. 시판 식해 10종의 단백질을 구성하는 아미노산 중 주요 아미노산 (전체 아미노산의 10% 이상)은 제품의 종류에 관계없이 aspartic acid와 glutamic acid이었다. 한편, 시판 식해 10종의 tryptophan을 제외한 9종의 필수아미노산(threonine, valine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, histidine 및 arginine)의 함량 및 조성은 각각 4.54-11.94 g/100 g 및 68.8-74.0% 범위들로 전체 아미노산의 약 70%를 차지하여 제품의 종류에 관계없이 영양적으로 상당히 의미가 있다고 판단되었다. 시판 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 이들 lysine 및 threonine의 함량 및 조성은 lysine의 경우 각각 1.58 g/100 g과 9.7%, 1.44 g/100 g과 9.3%이었고, threonine의 경우 각각 0.77 g/100 g과 4.7%, 0.74 g/100 g과 4.8%로, 시판 가자미 식해와는 달리 함량과 조성이 유사하였다. 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 lysine 및 threonine의 함량 및 조성은 lysine의 경우 각각 0.34-1.06 g/100 g 범위 및 5.8-8.8% 범위, threonine의 경우 각각 0.24-0.60 g/100 g 범위 및 4.3-4.9% 범위를 나타내었다. 이와 같은 시판 식해 10종에 대한 곡류 제한 아미노산의 함량과 조성으로 미루어 보아 곡류를 주식으로 하는 우리나라 사람들을 위시한 동양권 사람들이 밥과 함께 부식으로 섭취하는 경우 영양 균형적인 면에서 의미가 있다고 판단되었고, 이 중에서도 원료 어종에 의한 차이보다는 원료 어종의 첨가 비율이 영양적인 면에서는 절대적으로 중요하다고 판단되었다.

표 6-23. 시판 식해의 총아미노산

아미노산	가자미 식해 (g/100 g)									
	1		4		7		8		10	
Asp	1.47	(10.1)	0.75	(9.3)	1.59	(10.9)	0.77	(11.6)	1.32	(10.8)
Thr	0.70	(4.8)	0.35	(4.3)	0.68	(4.7)	0.28	(4.3)	0.54	(4.4)
Ser	0.67	(4.6)	0.35	(4.3)	0.67	(4.6)	0.33	(4.9)	0.59	(4.7)
Glu	2.56	(17.6)	1.78	(21.9)	2.78	(19.1)	1.12	(16.9)	2.02	(16.4)
Pro	0.77	(5.3)	0.65	(8.0)	0.84	(5.8)	0.54	(8.2)	0.97	(7.9)
Gly	0.90	(6.2)	0.45	(5.6)	0.87	(6.0)	0.40	(6.1)	0.93	(7.6)
Ala	1.04	(7.2)	0.55	(6.8)	0.95	(6.5)	0.41	(6.1)	0.95	(7.8)
Val	0.78	(5.4)	0.45	(5.6)	0.77	(5.3)	0.38	(5.7)	0.63	(5.0)
Met	0.36	(2.5)	0.16	(2.0)	0.34	(2.3)	0.15	(2.3)	0.28	(2.3)
Ile	0.70	(4.8)	0.34	(4.3)	0.68	(4.7)	0.29	(4.5)	0.51	(4.2)
Leu	1.26	(8.7)	0.62	(7.7)	1.18	(8.1)	0.52	(7.8)	0.96	(7.8)
Tyr	0.28	(1.9)	0.10	(1.3)	0.23	(1.6)	0.13	(2.0)	0.18	(1.5)
Phe	0.67	(4.6)	0.35	(4.4)	0.61	(4.2)	0.31	(4.7)	0.55	(4.5)
His	0.32	(2.2)	0.17	(2.0)	0.34	(2.3)	0.15	(2.3)	0.27	(2.2)
Lys	1.26	(8.7)	0.63	(7.8)	1.27	(8.7)	0.42	(6.5)	0.98	(8.0)
Arg	0.78	(5.4)	0.39	(4.8)	0.76	(5.2)	0.40	(6.1)	0.60	(4.9)
Total	14.52	(100)	8.09	(100)	14.56	(100)	6.60	(100)	12.28	(100)
EAA	10.42	(71.8)	5.74	(71.0)	10.50	(72.0)	4.54	(68.8)	3.98	(70.3)

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

표 6-23. 계속

아미노산	명태 식해 (g/100 g)				기타 식해 (g/100 g)					
	2		5		3		6		9	
Asp	1.65	(10.1)	1.78	(11.6)	1.23	(10.2)	1.12	(9.7)	0.72	(12.7)
Thr	0.77	(4.7)	0.74	(4.8)	0.60	(4.9)	0.52	(4.5)	0.24	(4.3)
Ser	0.70	(4.3)	0.69	(4.5)	0.56	(4.6)	0.45	(3.9)	0.28	(4.9)
Glu	2.90	(17.8)	2.66	(17.3)	1.95	(16.2)	2.11	(18.3)	1.04	(18.4)
Pro	0.82	(5.0)	0.76	(4.9)	0.73	(6.0)	0.73	(6.3)	0.44	(7.8)
Gly	0.82	(5.0)	0.70	(4.6)	0.79	(6.6)	0.97	(8.4)	0.28	(4.9)
Ala	1.11	(6.8)	0.93	(6.1)	0.90	(7.5)	0.69	(6.0)	0.37	(6.5)
Val	0.95	(5.8)	0.86	(5.6)	0.65	(5.4)	0.62	(5.4)	0.34	(6.1)
Met	0.47	(2.9)	0.43	(2.8)	0.33	(2.8)	0.30	(2.6)	0.12	(2.1)
Ile	0.82	(5.0)	0.80	(5.2)	0.57	(4.8)	0.55	(4.8)	0.25	(4.5)
Leu	1.42	(8.7)	1.34	(8.7)	0.95	(7.8)	0.88	(7.6)	0.44	(7.8)
Tyr	0.32	(2.0)	0.25	(1.6)	0.23	(1.9)	0.19	(1.6)	0.09	(1.7)
Phe	0.72	(4.4)	0.69	(4.5)	0.55	(4.6)	0.51	(4.4)	0.28	(5.0)
His	0.37	(2.3)	0.36	(2.4)	0.26	(2.2)	0.38	(3.3)	0.12	(2.2)
Lys	1.58	(9.7)	1.44	(9.3)	1.06	(8.8)	0.90	(7.8)	0.34	(5.8)
Arg	0.90	(5.5)	0.95	(6.1)	0.68	(5.7)	0.62	(5.4)	0.30	(5.3)
Total	16.32	(100)	15.38	(100)	12.04	(100)	11.54	(100)	5.65	(100)
EAA	11.94	(73.2)	11.38	(74.0)	8.48	(70.6)	8.06	(69.9)	8.44	(68.9)

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

시판 식해 10종의 영양 특성을 지질 구성성분인 지방산 조성으로 살펴 볼 목적으로 이들을 GC로 분석하여 살펴 본 결과는 표 6-24와 같다. 시판 식해의 동정된 지방산의 수는 가자미 식해의 경우 sample code 4 및 7은 모두 29종이었고, sample code 10은 27종이었으며, sample code 1 및 8은 26종으로 제품 간에 차이가 있었고, 시판 명태 식해의 경우 sample code 2가 21종이었고, sample code 5가 24종으로 시판 가자미 식해에 비하여 적었다. 이와 같은 시판 가자미 식해와 명태 식해 간에 동정된 지방산의 수에서 차이가 있는 것은 명태 식해의 지방산 조성이 일부 지방산 (18:2n-6)에서 과다하게 많아 아주 조성비가 낮은 지방산이 검출되지 않았기 때문이라 판단되었다. 시판 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 동정된 지방산의 수는 도루묵 식해의 경우 27종, 멸치 식해의 경우 28종 및 흰대 식해의 경우 25종이 동정되어 대체로 가자미 식해와 유사하였다. 시판 식해의 지방산 조성은 포화산이 16.9-31.9% 범위, 모노엔산이 12.4-39.2% 범위, 폴리엔산이 34.7-70.7% 범위로 제품 간에 차이가 너무 컸다. 시판 가자미 식해 5종의 지방산 조성은 모든 제품이 폴리엔산이 42.8-53.5%

범위로 가장 높아 차이가 없었으나, 다음으로 sample code 1, 7, 10의 경우 모노엔산 (각각 26.6%, 30.0% 및 32.0%), 포화산 (각각 22.4%, 26.0% 및 25.2%)의 순이었고, sample code 4 및 8의 경우 포화산 (각각 26.9% 및 24.2%) 및 모노엔산 (각각 26.0% 및 22.3%)의 순으로 제품 간에 차이가 있었다. 시판 명태 식해 2종의 경우 모두 폴리엔산이 각각 63.2% 및 70.7%로 가장 높았고, 다음으로 포화산 (각각 22.8% 및 16.9%) 및 모노엔산 (각각 14.0% 및 12.4%) 등의 순으로 경향에서는 차이가 없었으나 조성비에서는 다소 차이가 있었고, 시판 가자미 식해에 비하여도 경향에서 동일한 것 간에도 조성에서는 확연히 차이가 있었다. 시판 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종 중 도루묵 식해의 경우 모노엔산이 39.2%로 가장 높았고, 다음으로 폴리엔산 (35.6%) 및 모노엔산 (25.2%)의 순이어서 전체 시판 식해 10종의 지방산 조성 경향과 완전히 차이가 있었다. 그러나 멸치 식해와 횡대 식해의 지방산 조성은 폴리엔산이 각각 38.7% 및 67.5%로 가장 높았고, 다음으로 포화산이 각각 35.9% 및 19.0%, 모노엔산이 각각 25.4% 및 13.5%이었다. 시판 가자미 식해의 주요 지방산 (10% 이상 함유 지방산)은 sample code 7과 8을 제외한 나머지 sample code 1, 4 및 10은 16:0 (각각 15.0%, 16.3% 및 16.5%), 18:1n-9 (각각 12.1%, 12.2% 및 13.3%), 18:2n-6 (각각 26.2%, 22.9% 및 14.6%) 및 20:5n-3 (각각 10.6%, 10.5% 및 12.7%) 등으로 차이가 없었고, sample code 7의 경우 이들 이외에도 22:6n-3 (10.5%가 더 포함되어 5종이었으며, sample code 8의 경우 20:5n-3 (4.8%)를 제외한 16:0 (17.2%), 18:1n-9 (11.4%), 18:2n-6 (39.8%)와 같은 3종으로 차이가 있었다. 시판 명태 식해의 주요 지방산 (10% 이상 함유 지방산)은 sample code 2의 경우 16:0 (17.1%), 16:2n-6 (41.0%) 및 22:6n-3 (11.4%)와 같은 3종이었으나, sample code 5의 경우 22:6n-3를 제외한 16:0 (12.6%) 및 18:2n-6 (59.9%)와 같은 2종으로 차이가 있었다. 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 식해 3종 중 도루묵 식해와 횡대 식해의 주요 지방산은 모두 16:0 (각각 16.6% 및 14.8%), 18:1n-9 (각각 20.6% 및 10.6%) 및 18:2n-6 (각각 11.6% 및 59.9%) 등과 같은 3종이었고, 멸치 식해의 경우 16:0 (20.8%), 18:1n-9 (14.1%) 및 22:6n-3 (17.7%)로 상당히 차이가 있었다. 이와 같이 식해의 종류 간에 지방산 조성에 있어 차이가 있는 것은 원료어의 종류, 어획시기, 어획 장소, 저장 기간, 첨가물의 종류 및 조성 등과 제조 조건, 저장 방법과 저장 시기 등에 의한 차이 때문이라 판단되었다.

표 6-24. 시판 식해의 지방산 조성

(Area %)

지방산	가자미 식해					Sub-range(Average)
	1	4	7	8	10	
12:0	1.0	3.0	1.0	1.3	0.8	0.8-3.0(1.4±0.9)
14:0	2.7	3.7	3.4	2.2	4.1	2.2-4.1(3.2±0.8)
15:0	0.3	0.3	0.4	0.2	0.4	0.2-0.4(0.3±0.1)
16:0	15.0	16.3	17.0	17.2	16.5	15.0-17.2(16.9±0.4)
18:0	2.0	2.1	2.1	2.0	1.8	1.8-2.1(2.0±0.1)
20:0	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1-0.2(0.2±0.1)
22:0	0.1	0.2	0.2	0.3	0.3	0.1-0.3(0.2±0.1)
24:0	1.2	1.1	1.7	0.8	1.2	0.8-1.7(1.2±0.3)
포화산	22.4	26.9	26.0	24.2	25.2	22.4-26.9(24.9±1.7)
16:1n-9	2.2	1.5	3.1	-	2.4	0.0-3.1(1.8±1.2)
16:1n-7	6.5	6.7	8.4	5.6	8.3	5.6-8.4(7.4±1.6)
16:1n-5	0.2	0.1	0.3	0.3	0.4	0.1-0.4(0.3±0.1)
18:1n-9	12.1	12.2	11.8	11.4	13.3	11.4-13.3(12.2±0.7)
18:1n-7	4.5	4.5	5.3	3.8	5.3	3.8-5.3(4.7±0.6)
20:1n-9	1.0	0.7	0.7	1.0	1.2	0.7-1.2(1.0±0.3)
20:1n-7	0.1	0.1	0.1	0.1	0.7	0.1-0.7(0.3±0.3)
22:1n-9	-	0.2	0.3	0.1	0.4	0.0-0.4(0.2±0.2)
22:1n-7	-	-	-	-	-	-
모노엔산	26.6	26.0	30.0	22.3	32.0	22.3-32.0(27.4±3.8)
16:2n-4	0.2	0.2	0.9	0.8	-	0.0-0.9(0.6±0.5)
18:2n-6	26.2	22.9	13.6	39.8	14.6	14.6-39.8(22.7±14.8)
18:3n-6	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1-0.2(0.1±0.1)
18:3n-4	-	0.2	0.2	0.2	-	0.0-0.2(0.1±0.1)
18:3n-3	1.9	2.0	1.6	2.3	1.9	1.6-2.3(1.9±0.3)
18:4n-3	1.6	1.8	1.6	0.4	2.3	0.4-2.3(1.5±0.7)
20:2n-6	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2-0.3(0.2±0.1)
20:3n-3	0.3	0.2	0.2	-	0.3	0.0-0.3(0.2±0.1)
20:4n-6	1.4	1.0	1.6	0.6	1.3	0.6-1.6(1.2±0.4)
20:4n-3	-	0.4	0.4	-	0.5	0.0-0.5(0.3±0.2)
20:5n-3	10.6	10.5	12.7	4.8	12.7	4.8-12.7(10.3±3.2)
22:5n-3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2-0.2(0.2±0.0)
22:6n-3	8.3	7.4	10.5	4.1	8.6	4.1-10.5(7.8±2.3)
폴리엔산	51.0	47.1	44.0	53.5	42.8	42.8-53.5(47.7±4.5)

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

표 6-24. 계속

지방산	명태 식해		기타 식해			Sub-range(Average)
	2	5	3	6	9	
12:0	1.1	0.9	2.7	1.4	0.7	0.7-2.7(1.4±0.8)
14:0	1.2	0.8	2.6	7.8	1.1	0.8-7.8(2.7±2.9)
15:0	-	-	0.3	0.7	-	0.0-0.7(0.2±0.3)
16:0	17.1	12.6	16.6	20.8	14.8	12.6-20.8(16.4±0.3)
18:0	2.3	2.0	1.9	3.5	1.8	1.8-3.5(2.3±0.7)
20:0	-	0.2	0.1	0.3	0.3	0.0-0.3(0.2±0.1)
22:0	0.3	0.2	0.5	0.3	0.2	0.2-0.5(0.3±0.1)
24:0	0.8	0.2	0.5	1.1	0.1	0.1-1.1(0.5±0.4)
포화산	22.8	16.9	25.2	35.9	19.0	26.9-35.9(24.0±7.4)
16:1n-9	0.7	0.2	2.4	2.2	0.4	0.2-2.2(1.2±1.0)
16:1n-7	1.4	0.6	7.3	5.2	0.2	0.2-7.3(2.9±3.1)
16:1n-5	-	0.1	0.1	0.3	0.1	0.0-0.3(0.2±0.1)
18:1n-9	8.2	9.4	20.6	14.1	10.6	8.2-20.6(12.6±5.0)
18:1n-7	1.8	1.4	5.2	1.3	1.8	1.3-5.2(2.3±1.6)
20:1n-9	1.3	0.4	1.7	1.7	0.2	0.2-1.7(1.1±0.7)
20:1n-7	-	0.2	-	0.2	0.1	0.0-0.2(0.1±0.1)
22:1n-9	0.6	0.1	1.6	0.2	0.1	0.1-1.6(0.5±0.6)
22:1n-7	-	-	0.3	0.2	-	0.0-0.3(0.1±0.1)
모노엔산	14.0	12.4	39.2	25.4	13.5	13.5-39.2 (20.9±11.5)
16:2n-4	-	-	-	-	0.1	0.0-0.1(0.0±0.0)
18:2n-6	41.0	59.9	11.6	6.5	59.9	6.5-59.9(35.8±25.7)
18:3n-6	-	-	0.1	0.1	-	0.0-0.1(0.0±0.0)
18:3n-4	0.4	-	-	-	0.6	0.0-0.6(0.2±0.3)
18:3n-3	1.2	1.6	1.4	2.0	3.4	1.2-3.4(1.9±0.9)
18:4n-3	0.1	0.1	1.4	2.6	0.1	0.1-2.6(0.9±1.1)
20:2n-6	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1-0.2(0.1±0.1)
20:4n-6	0.1	0.2	1.7	0.7	0.2	0.1-1.7(0.6±0.7)
20:3n-3	-	-	0.1	0.1	-	0.0-0.1(0.0±0.1)
20:4n-3	-	0.1	0.5	0.5	-	0.0-0.5(0.2±0.3)
20:5n-3	8.7	3.7	9.9	8.1	1.1	1.1-9.9(6.3±3.7)
22:5n-3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.9	0.2-0.9(0.3±0.3)
22:6n-3	11.4	4.8	8.5	17.7	1.1	1.1-17.7(8.7±6.4)
폴리엔산	63.2	70.7	35.6	38.7	67.5	35.6-67.5 (55.1±16.7)

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

한편, 시판 식해 10종의 지방산 조성의 분석 결과 근년에 건강 기능성을 인정받아 각광받고 있는 eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5)와 docosahexaenoic acid (DHA, 22:6)와 같은 고도불포화지방산이 횡대 식해를 제외하고는 각각 3.7-12.7% 범위 및 4.1-17.7% 범위로 함유되어 있어 건강 기능적으로 상당히 의미가 있으리라 보아진다.

무기질은 인체의 필요량을 기준으로 하여 하루에 100 mg 이상을 필요로 하는 다량 무기질(macro mineral)과 하루에 그 이하를 필요로 하는 미량 무기질(micro mineral)로 나눌 수 있다. 또한, 무기질은 바다에서 서식하는 수산물에 다양한 종류와 높은 함량이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 식해는 중골을 포함하고 있는 어류에 곡류 등과 같은 부원료를 첨가하여 발효시킨 수산 전통발효식품이어서 칼슘 강화가 기대되는 건강식품 중의 하나이다. 이러한 일면에서 시판 식해 10종의 영양 특성을 살펴 볼 목적으로 칼슘, 인, 칼륨, 마그네슘 및 철 등과 같은 5종의 무기질 함량을 분석하여 그 결과를 표 6-25에 나타내었다. 시판 식해 10종의 칼슘 함량과 인 함량은 각각 38.3-495.8 mg/100 g 범위 및 68.4-506.0 mg/100g 범위로 함유되어 있어 두 종류의 무기질이 모두 제품 간에 차이가 상당히 컸다. 시판 가자미 식해 5종의 칼슘 및 인 함량은 각각 67.2-327.9 mg/100 g 및 82.0-236.8 mg/100 g으로 차이가 컸는데, 두 성분 모두 sample code 7이 각각 327.9 mg/100 g 및 236.8 mg/100 g으로 가장 높았고, 다음으로 sample code 4 (각각 208.7 mg/100 g 및 190.3 mg/100 g)의 순이었으며, 원료어의 첨가 비율이 가장 낮은 sample code 8이 각각 67.2 mg/100 g 및 82.0 mg/100 g으로 가장 낮았다. 뼈를 제거한 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 칼슘 및 인의 함량은 각각 38.3 mg/100 g 및 68.4 mg/100 g, 47.3 mg/100 g 및 73.6 mg/100 g으로 두 제품 간에 약간의 차이만이 인정되었고, 대체로 시판 가자미 식해의 칼슘과 인 함량에 비하여는 아주 낮은 편이었다. 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 칼슘과 인 함량은 도루묵 식해의 경우 각각 179.2 mg/100 g 및 139.7 mg/100 g, 멸치 식해의 경우 각각 495.8 mg/100 g 및 506.0 mg/100 g, 횡대 식해의 경우 각각 85.2 mg/100 g 및 92.0 mg/100 g으로, 시판 식해 10종에 비하여 도루묵 식해의 경우 보통에 해당하였고, 멸치 식해의 경우 높은 편에 속하였으며, 횡대 식해의 경우 낮은 편에 속하였다. 시판 식해 10종의 칼륨 함량은 127.2-318.6 mg/100 g 범위로 역시 제품 간에 차이가 컸다. 시판 가자미 식해 5종의 칼륨 함량은 194.1-318.6 mg/100 g 범위로 차이가 컸고, sample code 8과 10이 각각 318.6 mg/100 g 및 312.3 mg/100 g으로 높은 편에 속하였고, 다음으로 sample code 4 (280.8 mg/100 g), 7 (210.1 mg/100 g)이었고, sample code 1이 194.1 mg/100 g으로 가장 낮았다. 한편 가자미 식해의 칼륨 함량은 원료어인 가자미의 배합 비율이 높은 sample code 10과 배합비율이 낮은 sample code 8 간에 차이가 거의 없어, 원료어의 배합에 의한 영향보다는 다른 부원료의 영향이 크다고 판단되었다. 뼈를 제거하고 제조한 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 칼륨 함

량은 각각 127.2 mg/100 g 및 176.0 mg/100 g으로 제품 간에 다소의 차이가 인정되었으나, 이들의 함량은 가자미 식해에 비하여는 낮았다. 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 칼륨 함량은 도루묵 식해의 경우 170.5 mg/100 g, 멸치 식해의 경우 189.7 mg/100 g, 횡대 식해의 경우 315.8 mg/100 g으로 전체 시판 식해 10종의 칼륨 함량에 비하여 횡대 식해의 경우 높은 편이었고, 도루묵 식해와 멸치 식해는 다소 낮은 편이었다.

시판 식해 10종의 마그네슘 함량은 24.2-126.4 mg/100 g 범위로 역시 제품 간에 차이가 컸다. 시판 가자미 식해 5종의 마그네슘 함량은 24.2-56.8 mg/100 g 범위로 차이가 컸고, sample code 7, 10 및 1이 51.8-56.8 mg/100 g 범위로 높은 편이었고, sample code 4가 중간 범위 (35.6 mg/100 g)이었으며, sample code 8이 24.2 mg/100 g으로 가장 낮았다. 따라서, 원료어인 가자미의 배합 비율이 높은 sample code 10의 경우 54.2 mg/100 g으로 높았고, 배합비율이 낮은 sample code 8의 경우 24.2 mg/100 g으로 낮아 가자미의 배합 비율에 따른 차이가 인정되었다. 뼈를 제거하고 제조한 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 마그네슘 함량은 각각 43.6 mg/100 g 및 31.0 mg/100 g으로 제품 간에 다소의 차이가 인정되었으나 가자미 식해에 비하여는 모두 낮은 함량이었다. 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 마그네슘 함량은 도루묵 식해의 경우 42.7 mg/100 g, 멸치 식해의 경우 126.4 mg/100 g, 횡대 식해의 경우 30.8 mg/100 g으로, 전체 시판 식해 10종의 마그네슘 함량에 비하여 도루묵 식해의 경우 중간 정도이었고, 멸치 식해의 경우 아주 높은 범위이었고 횡대 식해의 경우 낮은 범위이었다.

시판 식해 10종의 철 함량은 0.4-2.0 mg/100 g 범위로 제품 간에 차이가 컸다. 시판 가자미 식해 5종의 철 함량은 0.4-1.6 mg/100 g 범위로 차이가 컸었는데, sample code 4가 1.6 mg/100 g으로 가장 높았고, 다음으로 sample code 1 (1.1 mg/100 g)의 순이었으며, sample code 8이 0.4 mg/100 g으로 가장 낮았다. 따라서 원료어인 가자미의 배합 비율이 높은 sample code 10의 경우 0.6 mg/100 g이었고, 배합비율이 낮은 sample code 8의 경우 0.4 mg/100 g으로 두 제품 간에 크게 차이가 없어 원료 가자미의 배합 비율에 따른 차이는 크게 인정되지 않았다. 뼈를 제거하고 제조한 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5)의 철 함량은 각각 0.6 mg/100 g 및 1.3 mg/100 g으로 제품 간에 차이가 인정되었고, 시판 가자미 식해의 철 함량에 비하여 sample code 2의 경우 낮은 편이었고, sample code 5의 경우 높은 편에 해당하였다. 따라서, 뼈를 첨가하여 제조한 가자미 식해와 제거하고 제조한 명태 식해 간에 철 함량이 크게 인정되지 않아 식해의 철 함량에 뼈의 첨가 유무는 영향을 미치지 않는다고 판단되었다. 시판 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 철 함량은 도루묵 식해의 경우 1.0 mg/100 g, 멸치 식해의 경우 2.0 mg/100 g, 횡대 식해의 경우 0.6 mg/100 g으로, 전체 시판 식해 10종의 철 함량에 비하여 도루묵 식해의 경우 중간 정도의 함량이었다고 판단되었다.

경우 높은 함량이었으며, 흰대 식해의 경우 낮은 함량이었다. 이상의 시판 식해 간에 무기질 함량의 차이는 칼슘, 인 및 마그네슘의 경우 원료어의 첨가 비율과 어종에 따른 영향이 컸고, 칼륨과 철의 경우 이들 원인보다는 기타 부원료 등의 차이가 더 기인하였으리라 추정되었다.

표 6-25. 시판 식해의 무기질 함량

원료어	시료 기호 ¹⁾	무기질 함량 (mg/100 g)				
		Ca	P	K	Mg	Fe
가자미	1	134.0±0.8	137.0±1.1	194.1±2.4	51.8±0.3	1.1±0.0
	4	208.7±1.1	190.3±1.0	280.8±3.2	35.6±0.2	1.6±0.0
	7	327.9±1.8	236.8±2.2	210.1±1.9	56.8±0.3	0.7±0.0
	8	67.2±0.4	82.0±0.8	318.6±3.7	24.2±0.2	0.4±0.0
	10	121.4±0.7	145.4±2.7	312.4±3.5	54.2±0.3	0.6±0.0
	범위	67.2-327.9	82.0-236.8	194.1-318.6	24.2-56.8	0.4-1.6
	Mean	171.8±100.8	158.3±58.4	263.2±57.9	44.5±14.1	0.9±0.5
명태	2	38.3±0.4	68.4±0.6	127.2±1.1	43.6±0.3	0.6±0.0
	5	47.3±0.5	73.6±0.9	176.0±4.1	31.0±0.3	1.3±0.0
	Range	38.3-47.3	68.4-73.6	127.2-176.0	31.0-43.6	0.6-1.3
	Mean	42.8±6.4	71.0±3.7	151.6±34.5	37.3±8.9	1.0±0.5
기타	3	179.2±1.1	139.7±0.3	170.5±2.4	42.7±0.2	1.0±0.0
	6	495.8±4.1	506.0±4.1	189.7±2.7	126.4±1.1	2.0±0.0
	9	85.2±0.4	92.0±0.8	315.8±4.7	30.8±0.1	0.6±0.0
	Total range	38.3-495.8	68.4-506.0	127.2-318.6	24.2-126.4	0.4-2.0
	Total Mean	170.5±143.9	167.1±130.7	229.5±70.6	49.7±29.1	1.0±0.5

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

이상의 결과로 미루어 보아 무기질의 공급원으로서 식해는 칼슘과 인의 경우 가자미의 배합 비율이 낮은 sample code 8을 제외한 가자미 식해, 도루묵 식해, 멸치 식해가 의미있었고, 마그네슘과 철의 경우 멸치 식해가 의미가 있었고, 나머지 식해들도 이들 무기질 면에서는 무시할 정도는 아니었다. 따라서, 다른 식품들과는 달리 식해는 무기질 공급원으로서 상당히 의미가 있는 식품이라 판단되었다.

⑨ 건강 기능성

㉑ ACE 저해 활성

식해의 고도 이용을 목적으로 가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 ACE 저해 활성을 검토한 결과는 그림 6-28과 같다. 시판 식해 10종의 ACE 저해활성은 29.0-46.3%이었고, 이의 평균은 37.8%로 강력하지는 않았으나 무시할 정도는 아니었다. 시판 가자미 식해 5종의 ACE 저해 활성은 29.3-38.7% 범위이었고, 이 중 sample code 1, 4 및 7이 38.1-38.7% 범위로 대체로 높은 편이었으며, 가자미의 배합 비율이 낮은 sample code 8이 이보다 약간 낮은 34.2%를 나타내었고, sample 10이 29.3%로 가장 낮았다. 한편, 중골이 제거된 명태 식해의 ACE 저해 활성은 sample code 2가 40.1%로 가자미 식해에 비하여 높았고, 빙초산이 첨가된 sample code 5가 29.0%로 다소 낮은 값을 나타내었다. 시판 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 ACE 저해 활성은 시판 식해 10종의 ACE 저해 활성에 비하여 도루묵 식해의 경우 46.3%로 가장 높았고, 멸치 식해의 경우 45.3%로 두 번째로 높았으며, 횡대 식해의 경우 38.9%로 평균치보다 높았다.

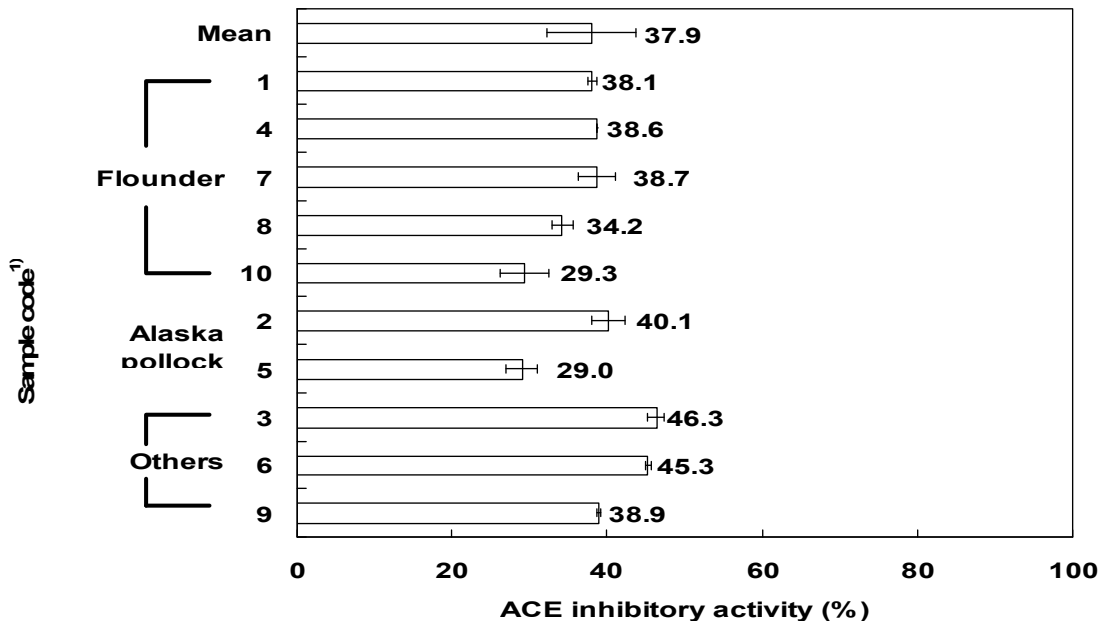


그림 6-28. 시판 식해의 angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해 활성

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

㉔ 항산화 활성

식해가 항산화 기능을 가져 노화와 발암 등을 억제시킬 수 있다면 건강식품의 하나로 상당히 의미가 있으리라 생각되어 가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 항산화 활성을 DPPH radical 소거 활성으로 살펴본 결과는 그림 6-29와 같다. 시판 식해 10종의 DPPH radical 저해 활성은 35.5-65.4%이었고, 이의 평균은 55.9%로 의미있는 활성이었으나 ascorbic acid (20 mM)의 96.3%에 비하여는 훨씬 낮았다. 시판 가자미 식해 5종의 DPPH radical 저해 활성은 58.6-63.6% 범위로 제품간에는 크게 차이가 없었다. 이들 가자미 식해의 DPPH radical 소거 활성은 횡대 식해의 65.4%를 제외한다면 중골을 제거한 명태 식해 (sample code 2 및 5)의 각각 50.1% 및 46.0%, 도루묵 식해의 52.9%, 멸치 식해의 35.5% 등에 비하여는 높아 의미가 있었다. 또한, 가자미의 배합 비율이 다소 낮은 가자미 식해인 sample code 8의 DPPH radical 저해 활성이 나머지 가자미 식해인 sample code 1, 4 및 7의 DPPH radical 저해 활성에 비하여 차이가 없어, 원료어가 숙성 중에 산생하는 peptide 이외에 기타 부원료에 의한 영향도 있다고 판단되었다.

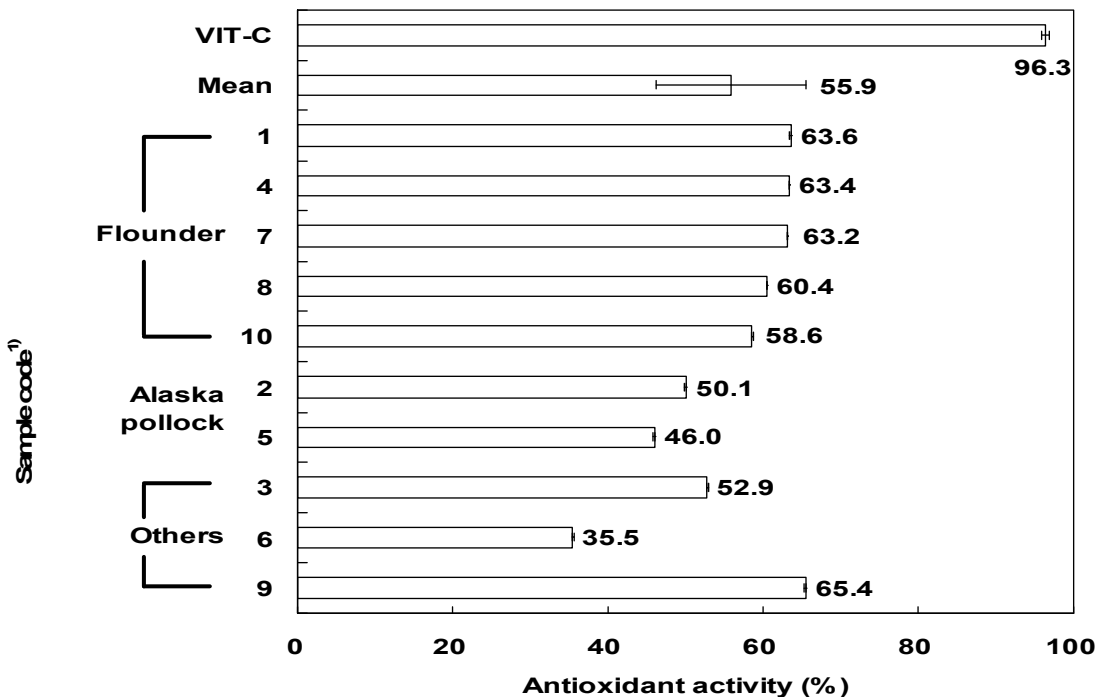


그림 6-29. 시판 식해의 DPPH radical 소거 활성

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

㉔ α-Glucosidase 저해 활성

가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종을 수거하여 당뇨병 관여 인자인 α-glucosidase 저해 활성에 대하여 살펴 본 결과는 그림 6-30과 같다. 시판 식해 10종의 α-glucosidase 저해 활성은 횡대 식해 (sample code) (20.0%)와 가자미 식해 1종 (sample code 4) (4.0%)과 같은 2종만이 검출되었고, 나머지 8종은 검출되지 않았다. 또한, α-glucosidase 저해 활성이 검출된 횡대 식해와 가자미 식해와 같은 시판 식해의 경우도 그 활성이 낮아 시판 식해의 섭취에 의한 당뇨 효과를 기대하기는 어려우리라 판단되었다.

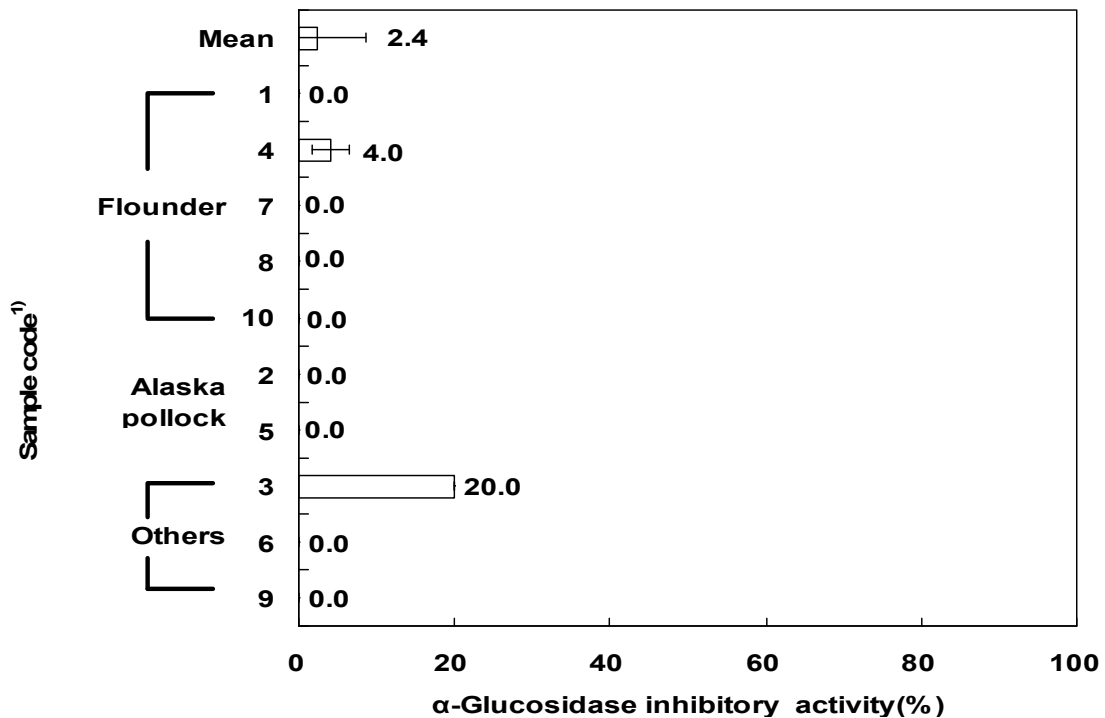


그림 6-30. 시판 식해의 항당뇨 활성

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

㉕ Xanthine oxidase 저해활성

통풍은 일반적으로 퓨린대사계에서 xanthine oxidase에 의하여 xanthine에서 생성되는 요산 (uric acid)의 관절낭 축적에 기인되는 것으로 알려져 있으며, 최근 통풍 발병률이 크게 증가하고 있는 추세이다. 가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 요산을 생성하는 xanthine oxidase 저해 활성을 살펴 본 결과는 그림 6-31과 같다. 시판 식해 10종의 xanthine oxidase 저해 활성은 20.1-78.8% 범위이었고, 이의 평균은 62.7%로 의미있는 활성이었다. 시판 가자미 식해의 xanthine oxidase 저해 활성은 56.4-78.8% 범위로 제품 간에 약간의 차이가 있었는데, sample

code 1이 78.8%로 가장 높았고, 다음으로 sample code 7 (72.3%), 4 (66.6%), 8(65.5%)의 순이었고, sample code 10이 56.4%로 가장 낮았다. 명태 식해의 경우 sample code 2가 70.6% 및 5가 68.7%으로 두 종의 제품 간에는 차이가 없었고, 시판 가자미 식해에 비하여는 약간 높거나 유사한 수준이었다. 시판 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 나머지 식해 3종의 xanthine oxidase 저해 활성은 시판 식해 10종의 xanthine oxidase 저해 활성에 비하여 도루묵 식해의 경우 71.5%로 높은 편이었고, 멸치 식해의 경우 20.1%로 아주 낮은 편이었으며, 횡대 식해의 경우 56.3%로 보통 정도에 해당하였다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 우리나라 수산 전통발효식품인 식해는 통풍 환자를 위한 건강식품으로 다소 의미가 있다고 판단되었다. 해 활성은 시판 식해 10종의 xanthine oxidase 저해 활성에 비하여 도루묵 식해의 경우 71.5%로 높은 편이었고, 멸치 식해의 경우 20.1%로 아주 낮은 편이었으며, 횡대 식해의 경우 56.3%로 보통 정도에 해당하였다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 우리나라 수산 전통발효식품인 식해는 통풍 환자를 위한 건강식품으로 다소 의미가 있다고 판단되었다.

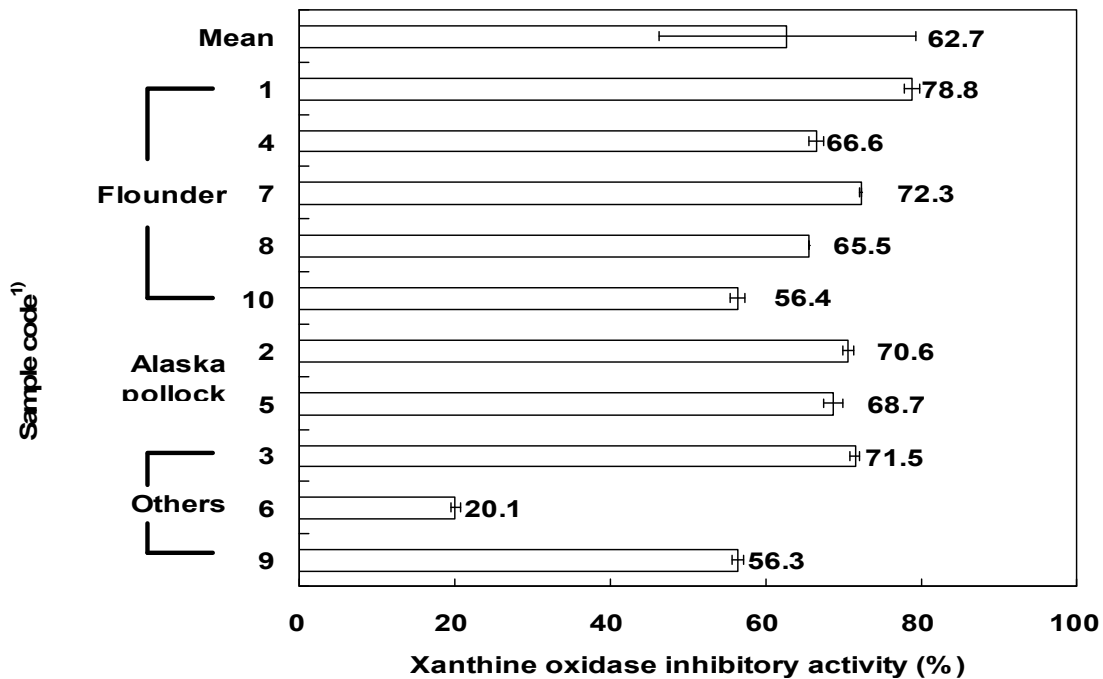


그림 6-31. 시판 식해의 통풍 저해 활성

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

㉔ 항균활성

그람 음성균 2종 (대장균의 원인균인 *Escherichia coli*와 비브리오 패혈증의 원인균인 *Vibrio parahaemolyticus*)과 양성균 1종 (황색포도상구균 식중독의 원인균인 *Staphylococcus aureus*)에 대한 항균성을 살펴본 결과는 그림 6-32와 같다. 시판 식해 10종의 *E. coli*에 대한 항균 활성은 가자미 식해 2종 (sample code 7 및 8)과 횡대 식해 1종 (sample code 9)이

clear zone 7 mm로 아주 미미한 정도에서 활성을 나타내었고, 나머지는 이마저도 인지되지 않았다. 시판 식해 10종의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균 활성은 가자미 식해 1종 (sample code 10)을 제외한 가자미 식해 4종 (sample code 1, 4, 7 및 8), 명태 식해 2종 (sample code 2 및 5), 도루묵 식해 (sample code 3), 멸치 식해 (sample code 6) 및 횡대 식해 (sample code 9)와 같은 9종이 인정되었으나, 그 정도는 clear zone 7 mm가 대부분이었고, 도루묵 식해 및 횡대 식해가 8 mm, 멸치 식해가 9 mm를 나타내어 모두 10 mm 이하를 나타내었다. 시판 식해 10종의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성은 10종 모든 제품에서 전혀 인지되지 않았다. 이상의 시판 식해 10종의 항균 활성을 검토한 결과 그 효과는 미미하였으나, 대체로 그람 음성균인 *E. coli*와 *Vibrio parahaemolyticus*보다는 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*에 효과가 있었다고 판단되었다. 이와 같이 그람 양성균과 음성균 간에 항균 활성의 차이는 그람 양성균의 세포벽의 경우 peptidoglycan이 표면에 노출되어 있어 항균 물질에 영향을 받기 쉬우나, 그람 음성균의 세포벽의 경우 lipopolysaccharide를 주성분으로 하는 외투막이 peptidoglycan을 보호하고 있기 때문에 항균 물질에 영향을 받기 어렵기 때문이라 판단되었다 (Nakamura 등¹³; Cha 등¹⁷).

그림 6-32. 시판 식해의 항균 활성

시료 기호 ¹⁾	저해 활성 (mm)		
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	- ²⁾	7.0±0.0	-
2	-	7.0±0.0	-
3	-	8.0±0.2	-
4	-	7.0±0.0	-
5	-	7.0±0.0	-
6	-	9.0±0.0	-
7	-	7.0±0.0	7.0±0.0
8	-	7.0±0.0	7.0±0.0
9	-	8.0±0.2	7.0±0.0
10	-	-	-
Range	-	6.0-9.0	6.0-7.0
(Mean±S.D)	-	(7.3±0.8)	(6.3±0.5)

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

²⁾Not detected

㉞ 질산염 소거활성

아질산염 소거 활성을 측정한 결과는 그림 6-33과 같다. 시판 식해 10종의 아질산염 소거 활성은 17.9-82.6%로 제품 간에 차이가 상당히 컸다. 한편 시중에 다량 유통되고 있는 가자미 식해 5종의 아질산염 소거 활성은 50.5-82.6% 범위로 상당히 의미있는 수준이었고, sample code 10이 82.6%로 가장 높았고, 다음으로 sample code 7 (62.3%) 및 8 (54.9%)의 순이었다. 시판 명태 식해 (sample code 2 및 5)의 아질산염 소거 활성은 각각 67.5% 및 17.9%로 상당히 차이가 있었고, sample code 5의 경우 시판 식해 10종 중 가장 낮은 활성이었다. 이들 시판 가자미 식해와 명태 식해를 제외한 나머지 시판 식해 3종, 즉 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해의 아질산염 소거 활성은 각각 54.9%, 80.6% 및 67.3%로 의미있었다. 한편, Park 등,¹¹⁵은 식해와 함께 전통 수산발효식품으로 알려져 있는 것같이 아질산염 소거 활성이 인정되었다고 보고한 바 있다. 이상의 시판 식해에 대한 아질산염 소거 활성의 결과와 Park 등,¹¹⁵의 것같이 아질산염 소거 활성의 보고로 미루어 보아 식해는 아질산염 소거 활성이 인정되었고, 따라서 아질산염에 노출이 우려되는 육가공품 등의 식품과 함께 혼식을 하는 경우 이들 아질산염 소거에 의미가 있으리라 보아진다.

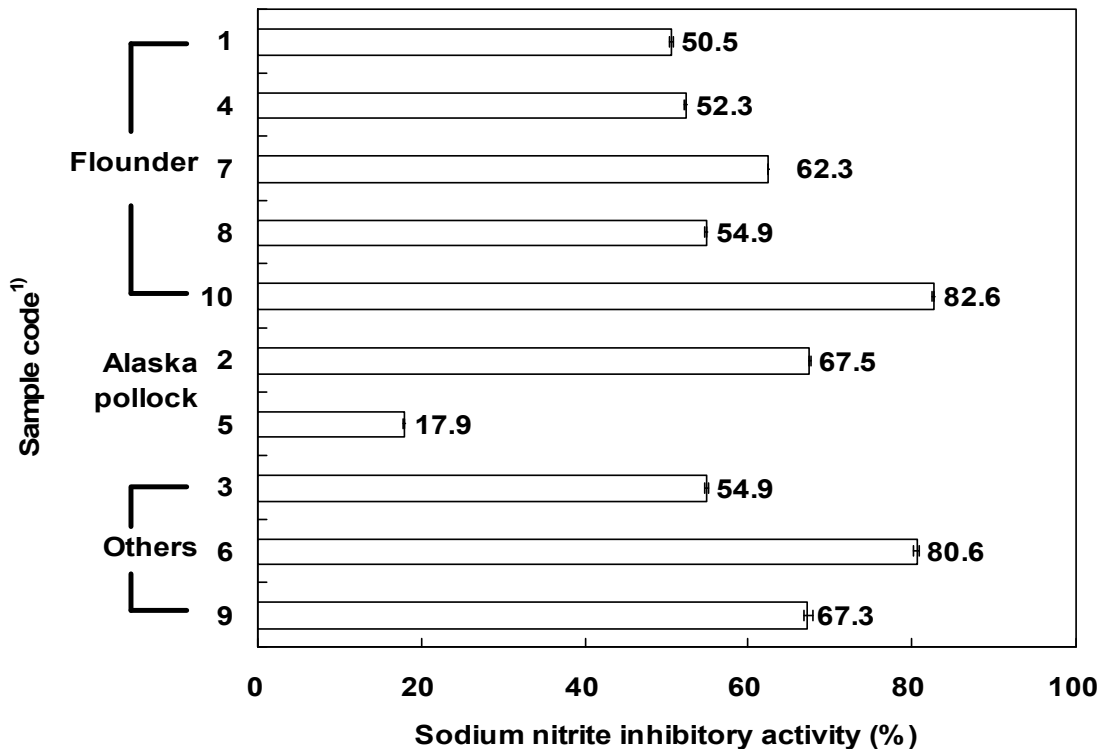


그림 6-33. 시판 식해의 아질산염 소거 활성

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

㉔ 관능검사

가자미 식해 (5종), 명태 식해 (2종), 도루묵 식해 (1종), 멸치 식해 (1종) 및 횡대 식해 (1종)와 같은 시판 식해 10종의 맛, 향미 및 색에 대한 관능검사 결과는 표 6-26과 같다. 관능검사는 맛, 향미 및 색에 대하여 가자미 식해 sample code 1을 기준점인 5점으로 하고, 이보다 우수한 경우 6-9점으로, 이보다 열악한 경우 4-1점으로 하는 9단계 평가법으로 실시하였다. 식해의 향미는 김치와 같이 신맛이 있으면서 특유의 향미를 가지나, 어류를 사용함으로 인하여 공정에서 약간만 부주의하여도 비린내가 발생하기 쉽다. 이러한 일면에서 시판 식해 10종의 향미에 대하여 관능검사를 실시하였는데, 가자미 식해 중 대조군으로 사용한 sample code 1은 특유의 식해 향을 나타내었으나 미미하게 비린내가 감지되었고, 대조군을 제외한 나머지 4종의 가자미 식해는 관능 평점이 5.0-5.8 범위로 대조군에 비하여 약간 우수하거나 유사하였으나 5% 유의수준에서는 모두 차이가 인정되지 않았다. 시판 명태 식해 2종의 향미는 sample code 2의 경우 약간의 비린내가 감지됨으로 인하여 대조군에 비하여 낮은 평점 (4.0)을 받았고, sample code 5의 경우 비린내가 감지되지 않아 대조군에 비하여 높은 평점 (7.4점)을 받아, 두 종류의 시판 명태 식해 간에도 향미에서 차이가 있었다. 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해와 같은 나머지 3종의 시판 식해의 향미는 도루묵 식해와 멸치 식해의 경우 두 종류가 모두 적정산도가 낮고, 휘발성 염기질소 함량이 높아 비린내가 강하게 느껴져 낮은 평점 (각각 3.6점 및 2.2점)을 받았고 횡대 식해의 경우 비린내가 인지되지 않아 우수한 평점 (6.8점)을 받았다.

표 6-26. 시판 식해의 관능검사 결과

원료어	시료 기호 ¹⁾	관능 검사		
		맛	냄새	색
가자미	1	5.0±0.0 ^b	5.0±0.0 ^b	5.0±0.0 ^d
	4	5.6±0.6 ^{ab}	5.4±0.6 ^b	6.4±0.5 ^{bc}
	7	6.4±0.5 ^a	5.0±0.6 ^{bc}	4.4±0.9 ^{de}
	8	5.0±0.6 ^b	5.2±0.8 ^{bc}	8.0±0.8 ^a
	10	4.5±0.8 ^{bc}	5.8±0.8 ^{ab}	5.9±0.5 ^c
명태	2	4.4±0.8 ^{bc}	4.0±0.4 ^{cd}	7.0±0.6 ^{abc}
	5	5.6±0.8 ^c	7.4±0.8 ^a	7.7±0.6 ^a
기타	3	4.0±0.4 ^c	3.6±0.5 ^d	3.9±0.5 ^e
	6	3.8±0.8 ^c	2.2±0.8 ^e	2.6±1.1 ^e
	9	3.8±0.5 ^c	6.8±0.5 ^a	7.5±0.5 ^a

¹⁾시료 코드 (1-10) 는 Table 2에 설명되어진 바와 같음.

식해의 색조는 고춧가루에 의존적이어서, 이의 함량이 높은 경우 선홍색을, 그렇지 않는 경우 연노랑색의 강도가 높아지는 특징이 있으나, 이 이외에 사용하는 부원료와 어류에 따라 많은 차이를 나타낼 수 있다. 대조군으로 사용한 시판 가자미 식해는 고춧가루의 사용량이 적음으로 인하여 다소 선홍색의 강도가 낮았다. 시판 식해 10종의 색조를 기준점인 대조군 (sample code 1)에 대하여 관능평가를 실시한 결과 대조군을 제외한 나머지 가자미 식해 4종 중 sample code 7은 고춧가루의 사용량이 적어 대조군과 유사하였으나, 기타 가자미 식해의 경우 5.9-8.0점 범위로 확연히 우수한 평점을 얻었고, 특히 sample code 8은 상당히 우수한 평점을 받았다. 시판 명태 식해 2종의 색조는 이 역시 고춧가루의 사용량이 많아 대조군에 비하여 확연히 높은 평점 (각각 7.0점 및 7.9점)을 얻었다. 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 나머지 3종의 시판 식해 중 도루묵 식해는 비린내 등을 마스킹 (masking)할 목적으로 사용한 깻잎 등의 암녹색의 영향으로 상당히 어둡게 보여 낮은 평점을 받았고, 멸치 식해의 경우 과다 발효에 의하여 검은 내장의 노출로 낮은 평점을 받았으나, 횡대 식해의 경우 다량의 고춧가루 사용으로 인한 선홍색으로 높은 평점을 받았다. 식해의 맛은 고염미를 나타내지 않고, 신맛과 감칠맛이 어우러진 우리나라 특유의 수산 전통발효식품의 하나이다. 따라서 식해의 맛은 짠맛, 신맛 및 감칠맛이 어루러진 독특한 맛으로 평가되어야 한다. 대조군으로 사용한 시판 가자미 식해는 약간 짠맛이 인지되었고, 신맛과 감칠맛은 엷게 어우러져 나타났으며, 그 강도는 강하지 않았다. 이를 대조군으로 하여 나머지 가자미 식해 4종의 맛을 관능평가한 결과 4.5-6.4점 범위이었고, 이들 중 sample code 7 (6.4점)은 대조군에 비하여 5% 유의수준에서 차이가 있었으나, 나머지 시판 식해 3종 (sample code 4, 7 및 10)은 차이가 없었다. 대조군 (sample code)을 기준점으로 두고 시판 명태 식해 (sample code 2 및 5)의 맛을 평가한 결과 각각 4.4점 및 5.6점을 낮거나 높아 차이가 있었으나, 5% 유의수준에서는 두 제품 모두 차이가 없었다. 가자미 식해 및 명태 식해를 제외한 나머지 3종의 시판 식해의 맛을 대조군의 맛과 비교한 경우 도루묵 식해, 멸치 식해 및 횡대 식해의 관능 평점은 각각 4.0점 3.8점 및 3.8점으로 낮았고, 5% 유의수준에서 또한 낮아 차이가 있었다. 한편, sample code 4와 5의 경우 아미노 질소 함량이 다소 낮음에도 불구하고 맛의 강도가 다소 나타났던 것은 상업용 조미소재 (monosidoum glatamate, MSG)로 맛을 강화하였기 때문이었다. 이들 제품 이외에도 sample code 6과 7의 경우도 맛의 강화를 위하여 이들 MSG를 사용한 것으로 제품에 표기되어 있었다. 이상의 맛, 향 및 색의 결과로 미루어 보아 시판 식해의 신맛, 짠맛 및 감칠맛을 고려한 맛, 비린내와 특유의 냄새를 고려한 향미 및 선홍색을 고려한 색조 등으로 미루어 보아 대체로 가자미 식해가 선호도가 높았으나, sample code 10을 제외한다면 모두 화학조미료를 사용하였다는 점에서 다소 문제가 있다고 판단된다.

(나) 식해 소재로서 넙치의 크기 구멍 및 이를 이용한 식해의 품질 특성

① 넙치 크기에 따른 어류뼈의 콜라겐 함량 및 회분 함량

넙치 크기에 따른 어류뼈의 콜라겐 및 회분 함량은 그림 6-34와 같다. 넙치의 어체 크기에 따른 콜라겐 함량은 TS가 10.3 g/100 g으로 가장 높았고, 다음으로 DS (8.7 g/100 g)이었으며, S가 7.3 g/100 g으로 가장 낮아, 어체의 크기가 작을수록 콜라겐 함량은 높았다. 이와는 달리 넙치의 어체 크기에 따른 회분 함량은 TS가 11.6 g/100 g으로 가장 낮았고, 다음으로 DS가 13.0 g/100 g이었으며, S가 14.6 g/100 g으로 가장 높아, 어체의 크기가 클수록 회분 함량은 높았다. 이와 같이 넙치 크기가 클수록 어류뼈의 collagen 함량이 낮고, 회분 함량이 높은 것은 어류뼈의 경우 collagen을 주로 하는 단백질과 칼슘 및 인을 주로 하는 무기질이 주성분으로 구성되어 있고, 어체 크기가 클수록 무기질의 조성비가 높은 반면, 콜라겐의 조성비가 낮기 때문이라 생각되었다 (Suzuki¹¹⁷; Kim 등¹¹⁸). 이와 같은 어체 크기에 따른 어류뼈의 콜라겐 함량과 회분 함량의 결과로 미루어 보아 어체 크기가 클수록 어류뼈의 경도는 강하리라 추정되었다. 따라서 어류뼈의 경도를 고려한 식해 소재로서는 넙치 크기가 작을수록 적절하리라 추정되었다.

② 숙성 중 넙치 식해 뼈의 수율 및 경도 변화

일반적으로 식해는 숙성 중 뼈가 유연화되어 뼈채 식용하는 것으로 알려져 있다. 이러한 일면에서 최적 숙성기 식해에 함유되어 있는 뼈의 유연화 정도를 알아볼 목적으로 넙치 식해의 숙성 중 넙치 뼈 (숙성 직전에 넙치로부터 분리한 다음 식해 제조를 위한 믹스에 첨가)의 수율 변화를 살펴 본 결과는 그림 6-35와 같다. 숙성 중 넙치 식해로부터 분리한 어류 뼈의 수율은 어체 크기에 관계없이 모두 저하하는 경향을 나타내었고, 그 변화 정도는 TS로 제조한 식해 (이하 TS 식해로 칭함)가 가장 컸으며, 다음으로 DS 및 칭함)가 가장 컸으며, 다음으로 DS로 제조한 식해 (DS 식해로 칭함) 및 S로 제조한 식해 (S 식해로 칭함)의 순으로 어체 크기가 작을수록 컸다. 이와 같이 숙성 기간이 경과할수록 어류뼈의 수율이 감소하는 것은 일반적으로 식해의 경우 숙성 중 젖산균에 의하여 젖산이 다량 생성되어 pH가 저하하게 되고, 이와 같은 낮은 pH에 의하여 어류뼈의 주성분인 일부의 콜라겐과 무기질이 용출되기 때문이라 판단되었다.

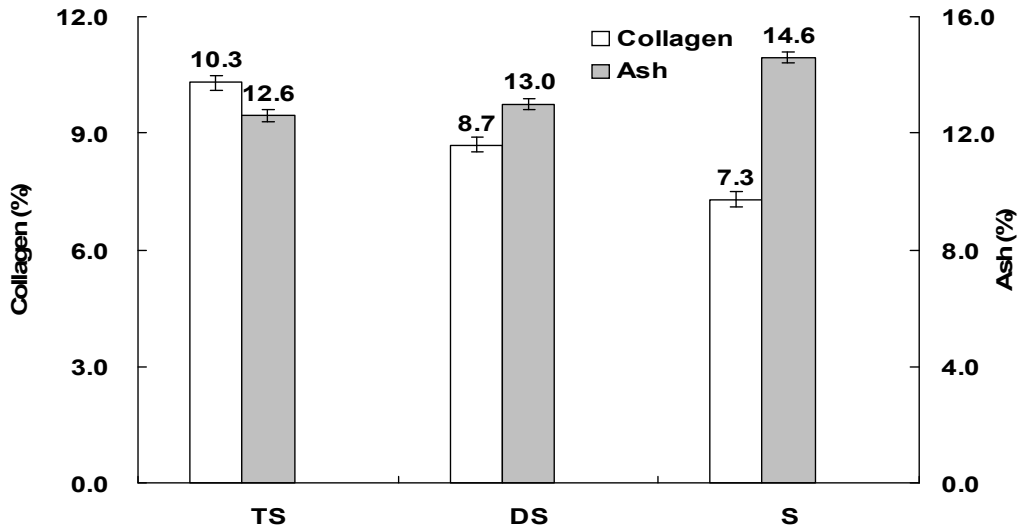


그림 6-34. 어체 크기에 따른 뼈의 콜라겐 함량과 회분 함량
 TS: less than 250 g, DS: 250-400 g, S: 400-500 g

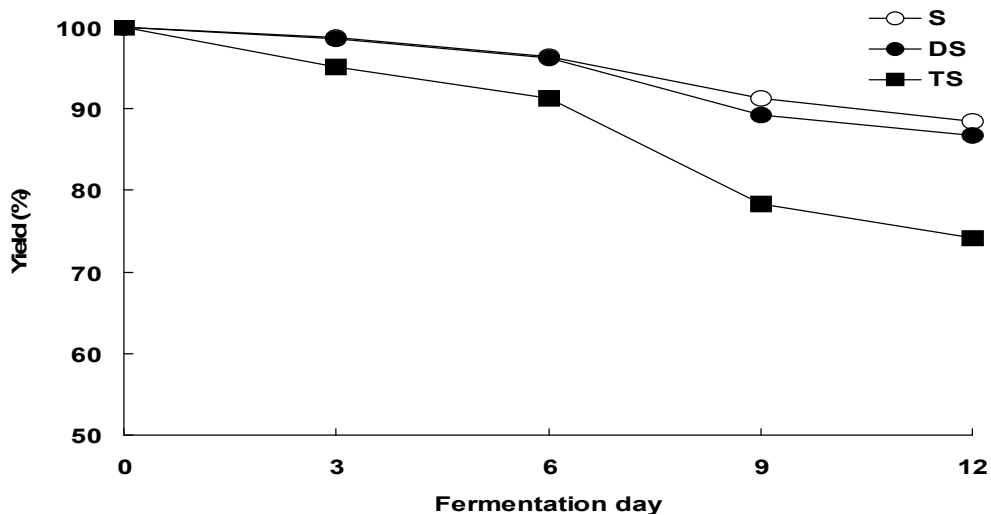


그림 6-35. 숙성 중 어체 크기를 달리한 넙치 식해로부터 분리되어진 뼈의 수율
 TS: less than 250 g, DS: 250-400 g, S: 400-500 g

넙치 식해의 숙성 중 넙치뼈의 경도 변화를 살펴 본 결과는 표 6-27과 같다. 250 g의 무게에 S 및 DS 식해들로부터 분리한 넙치뼈는 숙성 기간에 관계없이 붕괴되지 않았으나, TS 식해로부터 분리한 넙치뼈는 숙성 6일째까지는 붕괴되지 않았으나 숙성 9일째부터는 붕괴되었다. 또한, 넙치 식해의 숙성 중 넙치뼈를 관능적으로 살펴보는 경우 숙성 직전에는 뼈의 중심에 빈공간이 없었으나, 숙성 기간이 경과할수록 빈공간이 노출되었고, TS 식해로부터 분리한 넙치뼈의 경우 중심이 빈공간으로 이루어져 있음이 관찰되었다. 이상의 숙성 중 넙치 식해의 뼈

의 수율과 경도의 결과로 미루어 보아 뼈를 분리하지 않고 제품화하기 위한 넙치의 크기는 250 g 이하 (TS)가 되어야 하리라 판단되었다.

표 6-27. 숙성 중 어체 크기를 달리한 넙치 식해의 뼈의 강도

Sample code ¹⁾	Fermentation (Day)				
	0	3	6	9	12
S	- ²⁾	-	-	-	-
DS	-	-	-	-	-
TS	-	-	-	+	+

¹⁾TS: less than 250 g, DS: 250-400 g, S: 400-500 g

²⁾ -: Unchanged, +: Changed

③ 숙성 중 어체 크기를 달리한 넙치 식해의 화학적 성분 변화

숙성 중 어체 크기를 달리한 넙치 식해 3종의 pH 및 적정 산도의 변화는 그림 6-36과 같다. DS 식해와 S 식해의 pH는 담금 직후에 각각 5.62 및 5.51이었고, 발효 3일째에 각각 5.45 및 5.44로 미미한 감소를 나타내었으나, 이후 급속히 감소하여 9일째에 각각 4.44 및 4.52를 12일째에 각각 4.14 및 4.18을 나타내었으며, 두 제품 간에는 차이가 없었다. 하지만, DS와 S 식해의 pH에 비하여 TS 식해의 pH는 담금 직후의 경우 5.56으로 차이가 없었으나, 3일째 (5.05)부터 급격히 감소하여 9일째에 4.30, 12일째에 4.10에 도달하였고, 감소 속도는 보다 신속하였다. 한편, Lee와 Choi¹²¹는 멸치 젓갈의 숙성에 따른 미생물상의 변화에 대한 연구에서 최적숙성기에 멸치 젓갈의 pH는 5.5-5.6 범위이었다고 보고하여 넙치 식해의 평형 pH와 상당히 차이가 있었는데, 이는 식해 제조 시에 첨가되는 여러 가지 곡류 부원료와 낮은 식염 첨가에 의한 젖산균과 같은 미생물 유래 유기산의 증가 때문이라 판단되었다 (Kim 등⁴⁵). 숙성 중 어체 크기를 달리하여 제조한 넙치 식해 3종 (TS 식해, DS 식해 및 S 식해)의 lactic acid 함량으로 표기한 적정 산도는 어체 크기에 관계없이 담금 직후에는 0.55-0.58 g/100 g 범위로 거의 차이가 없었으나, 발효가 진행되면서 급속히 증가하여 9일째에 2.21-2.46 g/100 g 범위, 12일째에 2.72-2.91 g/100 g 범위로 발효 기간 모두 감소하는 경향을 나타내었다.

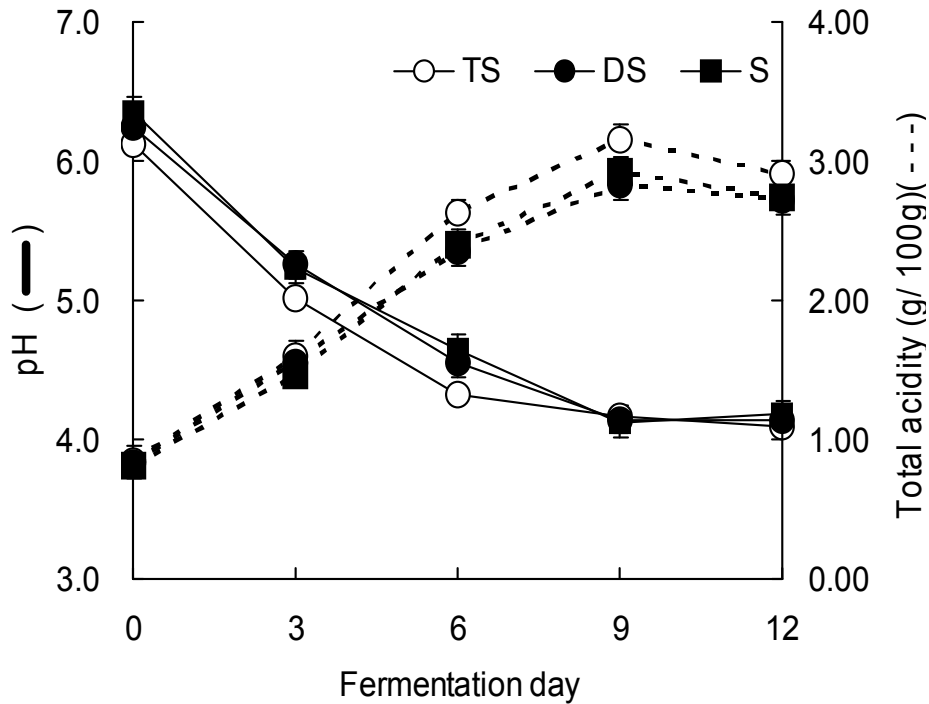


그림 6-36. 숙성 중 어체 크기에 따른 넙치 식해의 pH와 총산도

TS: less than 250 g, DS: 250-400 g, S: 400-500 g

따라서, 이들 어체 크기에 따른 식해 3종의 발효 중 적정 산도는 발효 중 증가하여 발효 중 pH의 변화 경향과는 역상관관계를 나타내었다. 숙성 중 어체 크기에 따른 식해 3종 간의 적정 산도의 증가 정도는 TS 식해가 가장 컸고, DS 식해와 S 식해 간에는 차이가 없어, 어체가 가장 작은 TS로 식해를 제조하는 경우 숙성 기간이 단축되리라 판단되었다. 숙성 중 어체 크기를 달리한 넙치 식해 3종의 젖산균수의 변화는 그림 6-37과 같다. 숙성 중 넙치 식해 3종의 젖산균수는 원료 어체의 크기에 관계없이 담금 직후에는 4.08-4.70 log(CFU/g) 범위로 거의 차이가 없었으나, 발효가 진행되면서 급속히 증가하여 9일째에 8.14-8.84 log(CFU/g) 범위로 최고치를 나타내었고, 이후 약간 감소하여 12일째에 7.93-8.36 log(CFU/g)을 나타내었다. 숙성 중 어체 크기를 달리한 넙치 식해 3종 간의 젖산균수는 대체로 TS 식해가 DS 식해 및 S 식해에 비하여 약간 높아 차이가 있었으나, DS 식해 및 S 식해 간의 숙성 중 젖산균수는 차이가 인정되지 않았다.

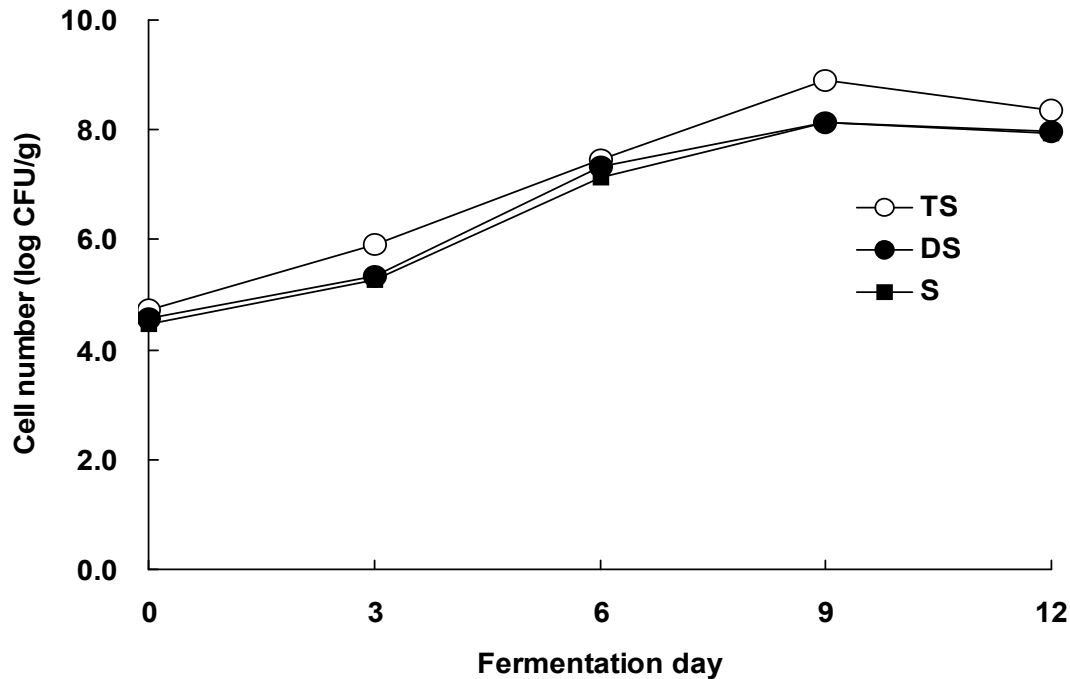


그림 6-37. 숙성 중 어체 크기에 따른 넙치 식해의 젖산균수의 변화

TS: less than 250 g, DS: 250-400 g, S: 400-500 g

숙성 중 어체 크기를 달리한 넙치 식해 3종의 아미노 질소 함량 변화는 그림 6-38과 같다. 어체 크기를 달리한 TS 식해, DS 식해 및 S 식해와 같은 넙치 식해 3종의 아미노 질소 함량은 담금 직후의 경우 각각 87 mg/100 g, 96 mg/100 g 및 118 mg/100 g이었고, 숙성 중 어체 크기에 관계없이 숙성 3일째까지의 경우 완만히 증가하거나 변화가 없었으나, 이후 급격히 증가하여 9일째의 경우 각각 311 mg/100 g, 266 mg/100 g 및 273 mg/100 g에 도달하였고, 이후 거의 변화가 없었다. 또한, 숙성 중 어체 크기를 달리한 식해 3종의 아미노 질소 함량의 증가폭은 TS 식해가 가장 컸고, DS 식해와 S 식해 간에는 차이가 인정되지 않았다.

이러한 결과를 토대로 시판 가자미 식해 (sample code 1)를 대조구로 하여 조직감, 맛 및 향미를 각각 5점으로 하고 15°C에서 9일간 숙성시킨 어체 크기를 달리한 넙치 식해 3종의 조직감, 맛 및 풍미가 이보다 우수한 경우 6-9점을, 그리고, 이들의 항목이 이보다 열악한 경우 4-1점으로 하여 관능평가한 결과는 표 6-28과 같다. 조직감은 시판 가자미 식해에 비하여 DS 식해 및 S 식해의 경우 뼈가 단단하여 그 이질감으로 두 제품 모두 최소의 점수인 1점을 받았으나, TS로 만든 식해의 경우 가자미 식해의 다소의 이질감이 남아 있는 뼈에 비하여 전형적인 식해의 뼈와 같이 잘 삭아 7.3점의 높은 평점을 받았다. 또한, 맛은 시판 가자미 식해에 비하여 어체 크기에 관계없이 3종이 모두 높은 점수를 받았고, 그 중에서도 TS로 만든 식해가 가장 우수하다는 평점을 받았다. 향미는 시판 가자미 식해에 비하여 어체 크기에 관계없이 3종이 모두 높은 점수를 받았으나, 제품 3종 간에는 5% 수준에서 유의적인 차이가 없었다.

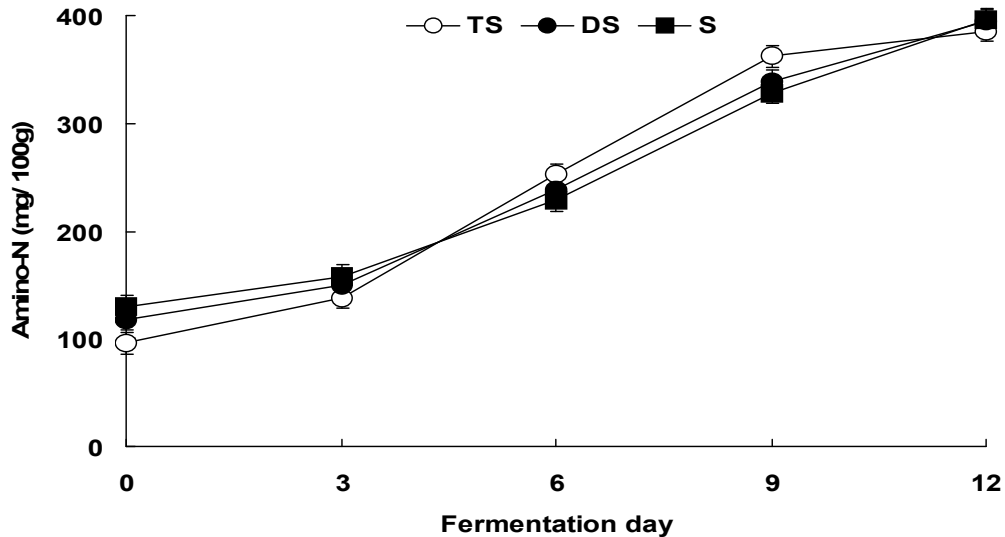


그림 6-38. 성 중 어체 크기에 따른 넙치 식해의 아미노 질소 함량의 변화
 TS: less than 250 g, DS: 250-400 g, S: 400-500 g

표 6-28. 15°C에서 9일간 숙성한 어체 크기를가 다른 넙치 식해 관능검사

식해 ¹⁾	뼈의 강도	맛	냄새
시판	5.0±0.0 ^{b2)}	5.0±0.0 ^c	5.0±0.0 ^b
TS	7.3±0.6 ^a	8.0±0.0 ^a	7.7±0.6 ^a
DS	1.0±0.0 ^c	6.3±0.6 ^b	7.0±1.0 ^a
S	1.0±0.0 ^c	6.0±0.1 ^b	6.7±0.6 ^a

Commercial: TS: less than 250 g, DS: 250-400 g, S: 400-500 g

이상의 넙치 크기에 따른 어류뼈의 콜라겐 함량 및 회분 함량, 숙성 중 넙치 식해 뼈의 수율 및 경도 변화 및 숙성 중 넙치 식해의 화학적 성분 변화 등의 결과로미루어 보아 뼈째 식용이 가능한 넙치 소재로는 어체 중량 250 g 이하의 넙치가 적절하였다. 그러나, 250-500 g 범위의 크기를 가진 넙치도 육으로부터 뼈를 분리한 다음 제조한다면 넙치 식해의 소재로 가능하였다. 따라서 이 후 넙치 식해의 제조를 위한 소재로는 250 g 이하의 넙치를 사용하였다.

④ 최적 넙치 식해의 식품 성분 및 건강기능 특성

㉑ 생화학적 특성

최적 넙치 식해의 일반 성분 함량, 염도 및 헨터 적색도를 시판 가자미 식해 5종과 비교하여 나타낸 결과는 표 6-29와 같다. 대조구로 선택한 시판 가자미 식해의 일반성분 함량은 수분이 68.9-70.4% 범위 (평균 69.6%), 조단백질이 7.5-16.0% 범위 (평균 12.3%), 조지방이 3.4-4.9% 범위 (평균 4.1%) 및 회분이 5.1-6.8% 범위 (평균 5.8%)이었다. 넙치 식해의 일반성분 함량은 수분이 73.0%, 조단백질이 12.0%, 조지방이 1.3% 및 회분이 2.4%로, 시판 가자미

식해에 비하여 수분의 경우 높았고, 조단백질의 경우 이들의 범위에 있었으며, 조지방과 회분의 경우 낮아 차이가 있었다. 넙치 식해의 염도는 1.7%로 밥과 함께 부담없이 먹을 수 있는 정도의 염미를 나타내었고, 시판 가자미 식해의 3.0-4.6% 범위보다도 낮았다.

표 6-29. 시판 가자미 식해(FFS)와 넙치 식해의 일반성분과 헨터 색조 (a 값)

		수분	조단백질	조지방	회분	염도	a 값
		(g/100 g)					
넙치 식해		73.0±0.2	12.0±0.1	1.3±0.2	2.4±0.0	1.7±0.1	27.8±0.3
FFS	Range	68.9-70.4	7.5-16.0	3.4-4.9	5.1-6.8	3.0-4.6	18.3-27.6
	(Mean)	(69.6±0.7)	(12.3±3.9)	(4.1±0.5)	(5.8±0.6)	(3.8±0.6)	(21.7±3.8)

식해 특유의 관능적 색조인 적색도를 헨터 색차의 적색도로 살펴본 결과 넙치 식해는 27.8로 시판 가자미 식해의 18.3-27.6에 비하여 최고 높은 범위 주위에 있다고 판단되었다. 넙치 식해의 pH, 적정 산도 및 아미노 질소 함량은 표 6-30과 같다. 대조구로 선택한 시판 가자미 식해의 pH는 4.46-4.88 (평균 4.74)이었고, 적정 산도는 1.18-1.42 (평균 1.27) 및 아미노 질소 함량은 82.1-283.9 mg/100 g (평균 187.7 mg/100 g)이었다. 넙치 식해의 pH는 4.30이었고, 적정 산도는 2.46 g/100 g이었으며, 아미노 질소 함량은 311.3 mg/100 g을 나타내어, 시판 가자미 식해 5종의 이들 범위에 비하여 pH의 경우 낮았고, 적정 산도 및 아미노 질소 함량의 경우 높았다. 따라서, 시제 넙치 식해의 맛은 시판 가자미 식해의 맛에 비하여 다소 시큼하면서 맛의 강도가 강하리라 판단되었다.

㉠ 미생물학적 특성

최적 넙치 식해의 생균수와 젖산균수를 분석하여 시판 가자미 식해 5종과 비교하여 나타낸 결과는 표 6-31과 같다. 시판 가자미 식해 5종의 생균수와 젖산균수는 각각 6.18-7.72 log(CFU/g) 범위 및 5.78-6.62 log(CFU/g) 범위로 생균수의 대부분이 젖산균으로 이루어져 있음을 알 수 있다. 넙치 식해의 생균수와 젖산균수는 각각 8.90 log(CFU/g) 범위 및 8.84 log(CFU/g) 범위를 나타내어 역시 젖산균이 생균수의 대부분을 차지함을 알 수 있었다. 식해의 생균수와 젖산균은 시제 넙치 식해의 이들 항목에 비하여 모두 높았고, 특히 젖산균수의 농도가 높아 의미가 있다고 판단되었다.

표 6-30. 시판 가자미 식해(FFS)와 넙치 식해의 일반성분과 헨터 색조 (a 값)

		pH	총산도 (g/100 g)	아미노 질소 (mg/100 g)
넙치 식해		4.30	2.46±0.14	311.3±12.6
FFS	Range	4.46-4.88	1.18-1.42	82.1-283.9
	(Mean)	(4.74±0.17)	(1.27±0.09)	(187.7±85.2)

표 6-31. 시판 가자미 식해(FFS)와 넙치 식해의 생균수 및 젖산균수

		생균수	젖산균수
		Log (CFU/g)	
넙치 식해		8.90	8.84
FFS	Range	6.18-7.72	5.78-6.62
	(Mean)	(6.96±0.70)	(6.03±0.90)

㉔ 건강 기능적 특성

시판 가자미 식해 5종의 ACE 저해 활성, 항산화 활성, 항당뇨 활성, 항풍 활성, 아질산염 소거 활성을 살펴 본 결과는 그림 6-39와 같다. 시판 가자미 식해 5종의 건강 기능 특성은 ACE 저해 활성의 경우 29.3-38.7% 범위 (평균 35.8%), 항산화 활성의 경우 58.6-63.6% 범위 (평균 61.8%), 항당뇨 활성의 경우 0-4.0% 범위 (평균 0.8%), 항풍 활성의 경우 56.4-78.8% 범위 (평균 67.9%) 및 아질산염 소거 활성의 경우 50.5-82.6% 범위 (평균 60.5%)이었다. 이와 같은 시판 가자미 식해 5종의 건강 기능성 결과로 미루어 보아 시판 가자미 식해는 항산화, 항풍, 아질산염 소거 효과의 경우 의미가 있는 범위로 판단되었고, 항고혈압 효과의 경우 의미가 있는 범위는 아니었으나 무시할 정도의 효과도 아니었으며, 항당뇨 효과의 경우 의미가 없었다. 숙성 (15℃) 중 넙치 식해의 ACE 저해 활성, 항산화 활성, 항당뇨 활성, 항풍 활성, 아질산염 소거 활성의 변화를 살펴 본 결과는 그림 6-40과 같다. 넙치 식해의 숙성 중 ACE 저해 활성은 담금 직후에 46.5%이었고, 숙성기간이 경과함에 따라 계속적으로 증가하여 숙성 9일째에 69.0%를, 그리고 12일째에 72.0%를 나타내었다. 따라서 넙치 식해의 최적 숙성기인 숙성 9일째에 ACE 저해 활성은 69%로, 시판 가자미 식해 5종의 ACE 저해 활성인 29.3-38.7% 범위보다 훨씬 높아 넙치 식해의 경우 항고혈압 억제를 위한 식품으로서 의미가 있다고 판단되었다. 숙성 중 넙치 식해의 항산화 활성은 담금 직후에 63.7%이었고, 숙성 기간이 경과함에 따라 변화가 없거나 증가하는 경향을 나타내어 숙성 9일째에 69.3%, 12일째에 70.5%를 나타내

었다. 따라서, 넙치 식해의 최적 숙성기인 숙성 9일째에 항산화 활성은 69.3%로, 시판 가자미 식해 5종의 항산화 활성인 58.6-63.6% 범위 보다 높아 항산화 억제를 위한 식품으로서 의미가 있다고 판단되었다.

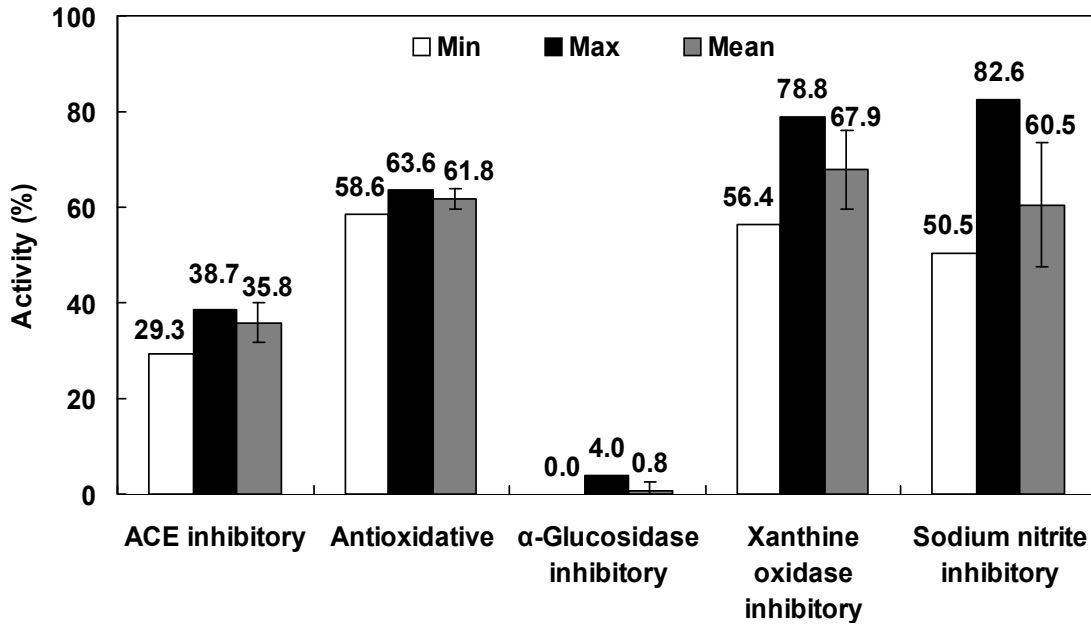


그림 6-39. 시판 가자미 식해의 건강 기능성

숙성 중 넙치 식해의 항당뇨 활성은 담금 직후에 22.9%이었고, 숙성 9일째 까지는 거의 변화가 없거나 미미한 감소를 하였으나, 숙성 12일째에는 30.8%로 다소 증가한 경향을 나타내었다. 그러나, 넙치 식해의 최적 숙성기인 숙성 9일째에 항당뇨 활성은 21.9%로 크게 높지는 않았으나, 시판 가자미 식해 5종의 0-4.0% 범위에 비하여는 높아 당뇨 예방 식품으로서 의미가 있다고 판단되었다. 넙치 식해의 숙성 중 항풍 활성은 담금 직후에 57.7%이었고, 숙성 기간이 경과함에 따라 계속적으로 증가하여 숙성 9일째에 90.3%, 12일째에 91.2%를 나타내었다.

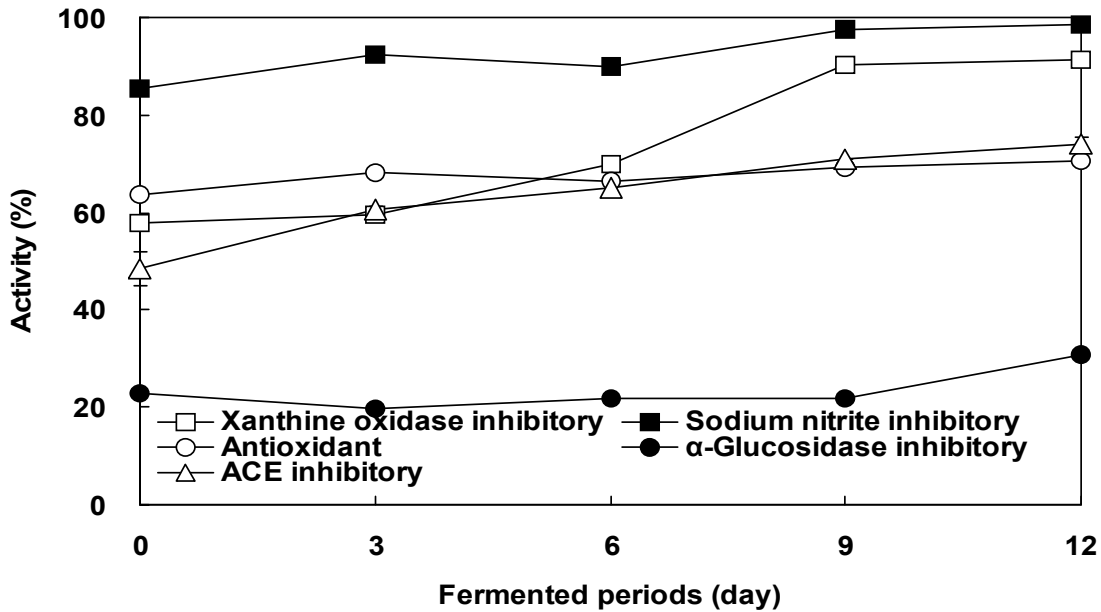


그림 6-40. 숙성 중 시제 비규격 넙치 식해의 건강 기능성

따라서, 넙치 식해의 최적 숙성기인 숙성 9일째에 항풍 활성은 90.3%로, 시판 가자미 식해 5종의 항풍 활성인 56.4-78.8% 범위보다 높아 풍 예방 식품으로서 의미가 있다고 판단되었다. 넙치 식해의 숙성 중 아질산염 소거 활성은 담금 직후에 81.6%로 아주 높았고, 숙성 6일째 (미미한 감소)를 제외한다면 숙성 기간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 나타내어 숙성 9일째에 93.5%를, 12일째에 94.5%를 나타내었다. 따라서, 넙치 식해의 최적 숙성기인 숙성 9일째에 아질산염 소거 활성은 93.5%로, 시판 가자미 식해 5종의 아질산염 소거 활성인 50.5-82.6% 범위보다 확연히 높아 선흥색의 고정 및 살균 효과를 목적으로 첨가물로 사용하는 햄, 베이컨 및 소시지 등과 같은 축육 가공품과 함께 섭취하는 경우 아질산염에 의한 발암 가능성을 줄여 줄 수 있으리라 보아진다. 시판 가자미 식해 5종의 항균 활성을 paper disk법으로 살펴 본 결과는 표 6-32와 같다. 시판 가자미 식해 5종의 항균 활성은 *Vibrio parahaemolyticus*에 대하여는 전혀 인지되지 않았고, *Staphylococcus aureus*에 대하여는 인지되지 않거나 (sample code 10) 미미하게 인지 (clear zone이 7 mm)되었으며, *Escherichia coli*에 대하여는 sample code 1 및 4의 경우 인지되지 않았고, sample code 7과 8의 경우 미미하게 인지 (clear zone이 7 mm)되었으며, sample code 10의 경우 다소 인지 (clear zone이 10 mm)되었다. 따라서, 시판 가자미 식해 5종의 항균 활성은 sample code 10의 *Escherichia coli*에 대한 것을 제외한다면 거의 인지되지 않았다. 넙치 식해의 숙성 중 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli* 등에 대한 항균 활성을 paper disk법으로 살펴 본 결과는 표 6-33과 같다. 넙치 식해의 숙성 중 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성은 clear zone이 7-8 mm 범위

로 크게 인지되지 않았고, *Staphylococcus aureus*에 대한 항균 활성도 clear zone이 7-8 mm 범위로 크게 인지되지 않았다. 그러나, *Escherichia coli*에 대한 항균 활성은 담금 직후와 숙성 3일째까지의 경우 인지되지 않았으나, 이후 인지되어 숙성 6일째에 7 mm, 9일째에 8mm, 그리고, 12일째에 10 mm를 나타내었다. 따라서, 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli* 등에 대한 항균 활성은 최적 숙성기인 숙성 9일째 넘치 식해의 경우 clear zone이 각각 8 mm, 8 mm 및 8 mm가 인지되어 시판 가자미 식해 5종의 이들 미생물에 대한 항균 활성이 각각 none, none-7 mm 및 none-10 mm보다 강하거나 유사하여 의미가 있으리라 보아진다. 그러나, 시제 넘치 식해의 경우도 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성은 크게 기대하기 어려우리라 판단되었다.

표 6-32. 시판 가자미 식해의 항균 특성

시료 코드 ¹⁾	저해 활성 (mm)		
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	- ²⁾	7.0±0.0	-
4	-	7.0±0.0	-
7	-	7.0±0.0	7.0±0.0
8	-	7.0±0.0	7.0±0.0
10	-	-	10.0±0.0
Range	0.0-0.0	0.0-7.0	0.0-10.0
(Mean)	(0.0)	(5.6±3.1)	(4.8±4.5)

¹⁾Sample codes (1-10) are the same as explained in Table **.

²⁾Not detected

표 6-33. 숙성 중 시제 비규격 넘치 식해의 항균 활성

숙성 기간 (day)	항균 활성 (mm)		
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
0	7.0±0.4	8.0±0.2	- ¹⁾
3	8.0±0.2	8.0±0.0	-
6	8.0±0.0	7.0±0.2	7.0±0.0
9	8.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.2
12	8.0±0.0	8.0±0.2	10.0±0.0

¹⁾Not detected

(다) 넙치 식해로부터 유용 젖산균의 선별 및 특성

① 넙치 식해로부터 유용 젖산균의 분리

식해의 발효 속도 및 건강 기능성 개선 목적의 유용 젖산균을 최적 조건 (중량 250g 이하의 비규격 넙치를 사용하여 15℃에서 9일간 발효시킨 제품)에서 발효한 넙치 식해로부터 분리할 목적으로 생리 식염수로 희석한 넙치 식해의 일정량을 MRS agar에 도말하고 배양 (37℃에서 2일)한 결과는 사진 6-6과 같다. 사진 6-6에 나타난 바와 같이 젖산균 분리 배지인 MRS agar에 colony의 형상으로 보아 다른 젖산 균주로 추정되는 120종이 분리되었고, 이를 MRS agar에 재도말하고 순수 배양 (37℃에서 2일)한 결과 120균주 모두가 산을 생성하고 황색을 나타내어, 분리된 120균주 모두가 젖산균으로 확인되었다.

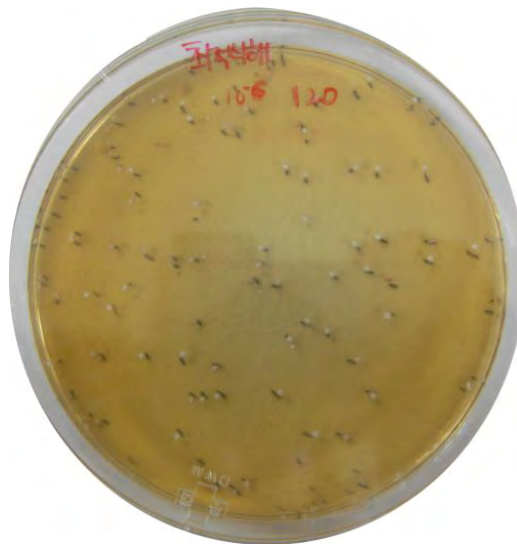


사진 6-6. 시제 비규격 넙치 식해로부터 분리한 젖산균의 사진

② 넙치 식해로부터 유용 젖산균의 선발

젖산균 중 성장 속도가 우수한 것을 선발할 목적으로 분리한 젖산 균주 120종을 MRS broth에 재접종하고 배양하여 흡광도 (600 nm)를 살펴 본 결과는 표 6-34와 같다. MRS broth에서 배양한 젖산 균주 120종의 흡광도는 1.028-3.999 범위로 대체로 높게 나타나, 이들 균주들의 성장 속도는 대체로 신속한 것으로 판단되었고, 그 중에서도 특히 SH-19의 경우 3.463, SH-21의 경우 3.659, SH-49의 경우 3.999, SH-91의 경우 3.307, SH-115의 경우 3.845로 다른 젖산 균주에 비하여 월등히 높아 이들의 성장 속도가 확연히 빠르리라 추정되었다. 이상의 결과로 미루어 보아 식해의 숙성 속도 및 건강 기능성 개선을 위하여 넙치 식해로부터 분리한 젖산 균주 5종의 흡광도가 가축 생균제를 위하여 가축 분변으로부터 분리한 젖산 균주의 그것에 비하여 다소 높아, 젖산 균주의 생육 활성 면에서는 넙치 식해 유래 젖산 균주 5종이 가축 분변 유래 젖산 균주 8종에 비하여 왕성하다고 판단되었다. 따라서, 본 실험에서는 넙치 식해의 발

효 속도 및 건강 기능성 개선을 위하여 응용할 젖산균으로 이들 5종을 우선 선발하였고, 이들 젖산 균주 5종의 MRS agar에 배양한 사진은 사진 6-7과 같다.

표 6-34. 시제 비규격 넘치로부터 분리한 젖산균의 흡광도로 살펴 본 성장 활성 (흡광도, 600nm)

균주	흡광도	균주	흡광도	균주	흡광도
SH-01	2.132	SH-41	2.533	SH-81	2.307
SH-02	2.132	SH-42	2.659	SH-82	2.063
SH-03	2.834	SH-43	2.659	SH-83	1.884
SH-04	2.834	SH-44	2.132	SH-84	1.759
SH-05	2.834	SH-45	2.436	SH-85	1.759
SH-06	2.132	SH-46	2.436	SH-86	1.759
SH-07	2.132	SH-47	2.436	SH-87	1.514
SH-08	2.834	SH-48	2.436	SH-88	1.514
SH-09	1.927	SH-49	3.999	SH-89	2.204
SH-10	2.834	SH-50	2.489	SH-90	1.514
SH-11	1.927	SH-51	2.489	SH-91	3.307
SH-12	2.135	SH-52	2.489	SH-92	2.125
SH-13	1.927	SH-53	2.489	SH-93	2.125
SH-14	1.927	SH-54	1.927	SH-94	3.135
SH-15	2.834	SH-55	2.489	SH-95	3.204
SH-16	1.927	SH-56	2.463	SH-96	2.463
SH-17	2.135	SH-57	1.927	SH-97	2.204
SH-18	2.834	SH-58	1.927	SH-98	2.463
SH-19	3.463	SH-59	2.463	SH-99	2.204
SH-20	2.135	SH-60	2.463	SH-100	1.927
SH-21	3.659	SH-61	2.463	SH-101	1.927
SH-22	2.834	SH-62	2.834	SH-102	1.927
SH-23	2.463	SH-63	2.834	SH-103	2.834
SH-24	2.834	SH-64	1.927	SH-104	1.927
SH-25	2.659	SH-65	2.834	SH-105	2.057
SH-26	1.927	SH-66	2.834	SH-106	2.834
SH-27	2.659	SH-67	2.834	SH-107	1.505
SH-28	1.927	SH-68	1.927	SH-108	1.927
SH-29	2.659	SH-69	3.307	SH-109	2.204
SH-30	2.659	SH-70	1.204	SH-110	1.028
SH-31	3.659	SH-71	1.505	SH-111	1.505
SH-32	2.257	SH-72	1.505	SH-112	1.028
SH-33	2.257	SH-73	1.028	SH-113	1.505
SH-34	1.927	SH-74	1.505	SH-114	1.505
SH-35	2.059	SH-75	2.057	SH-115	3.845
SH-36	2.834	SH-76	2.834	SH-116	2.057
SH-37	1.927	SH-77	2.834	SH-117	2.978
SH-38	1.927	SH-78	2.834	SH-118	2.057
SH-39	2.659	SH-79	2.834	SH-119	2.978
SH-40	2.436	SH-80	2.834	SH-120	2.978

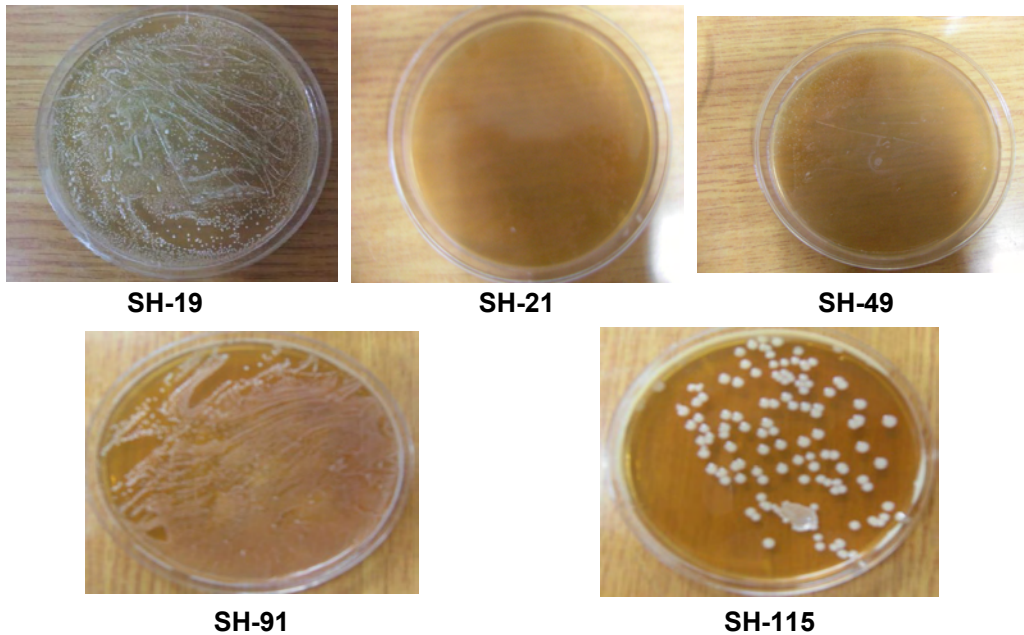


사진 6-7. 시제 비규격 넙치로부터 분리한 젖산균 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91, SH-115) 의 사진

③ 넙치 식해로부터 분리한 유용 젖산균의 특성

㉑ 산 생성능

성장 속도가 빠른 이들 젖산 균주 5종을 넙치 식해의 기능성 개선용 스타터로 사용할 목적으로 이들 젖산 균주 5종에 대하여 산 생성능에 대하여 검토하였다. 이러한 일면에서 넙치 식해로부터 분리한 젖산 균주 중 생육 속도가 신속한 5종의 산 생성능을 측정한 결과는 그림 6-41과 같다. 넙치 식해로부터 분리한 젖산 균주 5종의 산 생성능은 1.42-1.82% 범위이었다. 각 젖산 균주의 산 생성능은 SH-115 (1.80%)로 가장 높았고, 다음으로 SH-91 (1.76%), SH-19 (1.73%), SH-49 (1.50%)이었고, SH-21이 1.42%로 가장 낮았다.

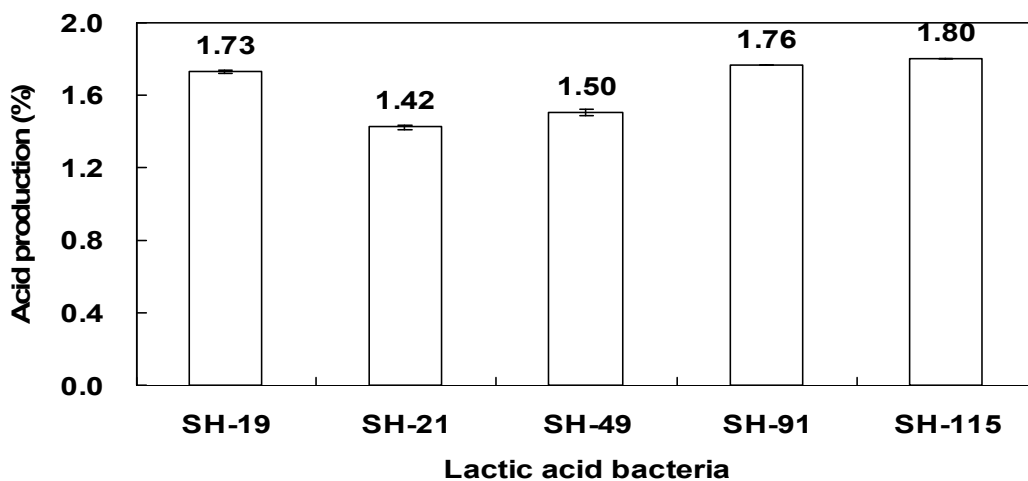


그림 6-41. 시제 넙치 식해로부터 분리한 젖산균 (SH-19, 21, 49, 91, 115) 의 젖산 생성능

㉔ 내산성 및 내담즙성

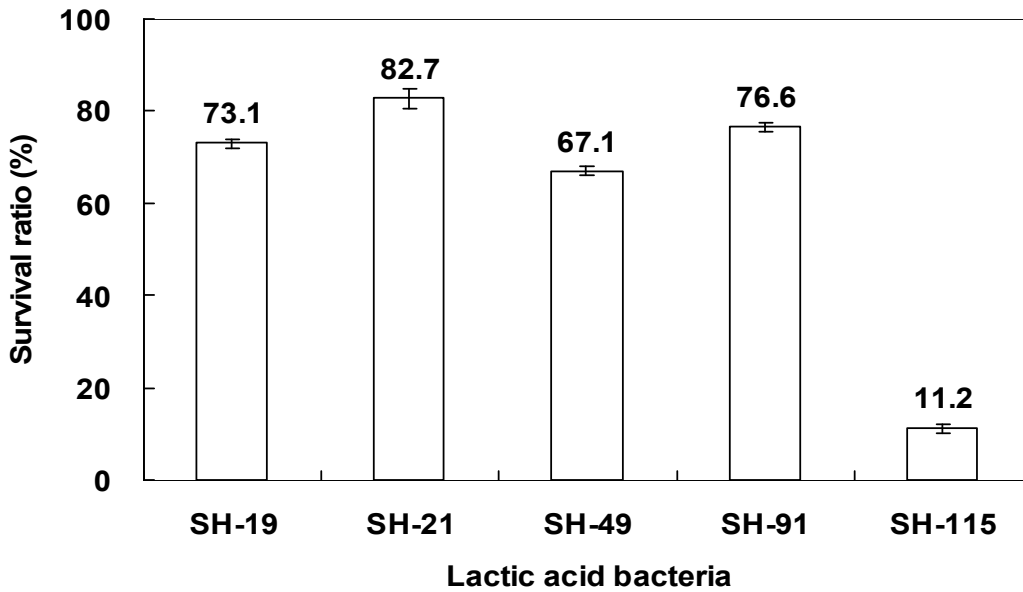


그림 6-42. 시제 납치 식해로부터 분리한 젖산균 (SH-19, 21, 49, 91, 115)의 위액에 대한 내산성

납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 120종 중 생육 속도와 산 생성능이 우수한 젖산균 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91 및 SH-115)의 섭취에 의한 건강 기능성을 기대하기 위하여는 위, 십이지장 및 각 소화관 부위에서 받을 수 있는 치명적인 스트레스를 이겨내어 소화 기관의 최종 부위에 도달할 때까지 생존 할 수 있어야 한다. 이러한 일면에서 납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 중 생육 속도가 신속하면서 산 생성능이 우수한 젖산 균주 5종의 인공 위액과 유사한 조건에서 내 산성을 측정하고 그 결과는 그림 6-42와 같다. 납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 5종의 내 산성은 11.2-83% 범위로 균주에 따라 크게 차이가 있었다. 한편, 젖산 균주 간 내산성의 정도는 SH-21이 83%로 가장 강하였고, 다음으로 SH-91 (77%), SH-19 (73%) 및 SH-49 (67%) 등의 순으로, 이들 젖산 균주 5종의 경우 인공 위액에 잘 견디는 것으로 판단되었다. 그러나, 나머지 젖산 균주의 내산성은 SH-115가 11%로, 아주 낮은 내산성을 나타내었다.

납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 중 생육 속도가 신속하면서 산 생성능이 우수한 젖산 균주 5종에 대하여 인공 위액과 유사한 조건에서 내 산성을 측정하고, 이를 다시 oxgall이 0.3% 포함된 MRS 배지에서 내담즙성을 측정하였다. 납치 식해로부터 분리하고, 내산성 실험을 거친 젖산 균주 5종의 내 담즙성은 0.2-84.3% 범위로 균주에 따라 크게 차이가 있었다. 젖산 균주 5종 간 내담즙성은 SH-91이 84.3%로 가장 높았고, 다음으로 SH-49 (69.8%), SH-21 (52.9%) 및 SH-19 (51.2%)의 순이었으며, 이들 4종의 경우 50% 이상을 유지하였다. 반면, 내산성이 약한 젖산 균주이었던 SH-115의 내담즙성은 0.2%로 흔적량에 불과하였다. 한편, 납치 식해로부터

분리한 젖산 균주 5종 중 SH-91과 Sh-49는 담즙의 존재에도 불구하고 균체 증식에 지장을 받지 않고 오히려 증가하는 것으로 나타났다. 이상의 내산성과 내담즙성의 결과와 보고로 미루어 보아 납치 식해를 섭취하였을 때 납치 식해에 포함되어 있는 젖산 균주 5종의 건강 기능성은 SH-21, SH-91, SH-19 및 SH-49와 같은 젖산 균주 4종의 경우 기대할 수 있으리라 판단되었으나, SH-115와 같은 젖산 균주 1종은 기대하기 어려우리라 판단되었다.

㉔ 건강기능 특성

성장 속도가 신속하고, 산생성이 우수한 이들 젖산 균주 5종을 납치 식해의 기능성 개선용 스타터로 사용할 목적으로 이들 젖산 균주 5종에 대하여 angiotensin- I converting enzyme (ACE)저해 활성, 항산화 활성, 항당뇨 활성, 항통풍 활성, 아질산염 소거 활성 및 항균 활성 등과 같은 건강 기능성에 대하여 검토하였다. 납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 5종 중 건강 기능성이 우수한 균주를 선별하고자 젖산 균주에 대하여 angiotensin- I converting enzyme (ACE) 저해 활성, 항산화 활성, 항당뇨 활성, 항통풍 활성 및 아질산염 소거 활성 등에 대하여 검토하였다. 식해의 속도 및 건강 기능성 개선을 위한 스타터로 사용하고자 검토하는 납치 식해 유래 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91 및 SH-115)의 ACE 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-43과 같다. 납치 식해 유래 젖산 균주 5종의 ACE 저해 활성은 73-77% 범위로, 젖산 균주의 종류에 관계없이 높아 고혈압을 우려하는 소비자들이 선호할 수 있는 제품으로 판단되었다. 젖산 균주 간의 ACE 저해 활성은 SH-49 (77%) 및 SH-115 (76%) 등의 순이었다. 이와 같이 젖산균이 ACE 저해 활성을 나타내는 것은 젖산균에 의하여 생성되는 일부 bioactive peptide에 의한 영향이라 판단되었다. 한편, 젖산균의 항고혈압성에 대한 연구는 다수 있어¹²⁹ 젖산 균주 중 *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*와 *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*가 항고혈압 peptide를 생성하였고, 이 중 *Lactobacillus helveticus*와 *Saccharomyces cerevisiae*로 제조된 칼피스가 항고혈압성 peptide를 함유하여 생체 실험에서 ACE의 억제와 혈압 감소를 보였다고 보고한 바 있으며, Lim 등(2008)¹²⁷의 경우 원유에서 분리된 젖산균과 상업용 젖산균 1%를 10% 환원 탈지유에 37°C에서 pH 4.4에 도달할 때까지 배양한 다음 각각에서 얻어진 유청으로 ACE 저해율을 측정한 결과 44.3-84.8% 범위이었다고 보고한 바 있다. 이상의 보고와 결과로 미루어 보아 납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 7종을 납치 식해 제조 시에 응용하여 소비자가 납치 식해를 꾸준히 복용하는 경우 납치 식해에 의한 ACE 저해 효과를 다소 기대할 수 있으리라 추정되었다. 식해의 속도 및 건강 기능성 개선을 위한 스타터로 사용하고자 검토하는 납치 식해 유래 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91 및 SH-115)의 항산화 활성을 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical 소거 활성으로 살펴본 결과는 그림 6-44와 같다. 대조구로 사용한

20 mM vitamin C의 항산화 활성은 96.2%를 나타내었다. 이에 반하여 넙치 식해 유래 젖산 균주 5종의 항산화 활성은 85.2-88.5% 범위를 나타내어 젖산 균주의 차이에 따른 차이는 인정되지 않았다.

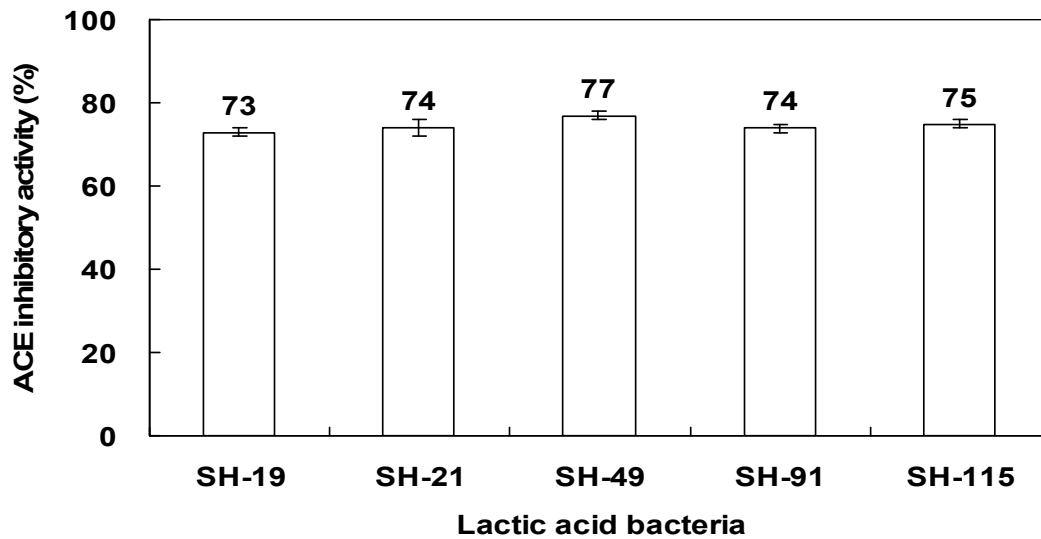


그림 6-43. 시제 넙치 식해로부터 분리한 젖산균 (SH-19, 21, 49, 91, 115)의 ACE(angiotensin I converting enzyme) 저해 활성

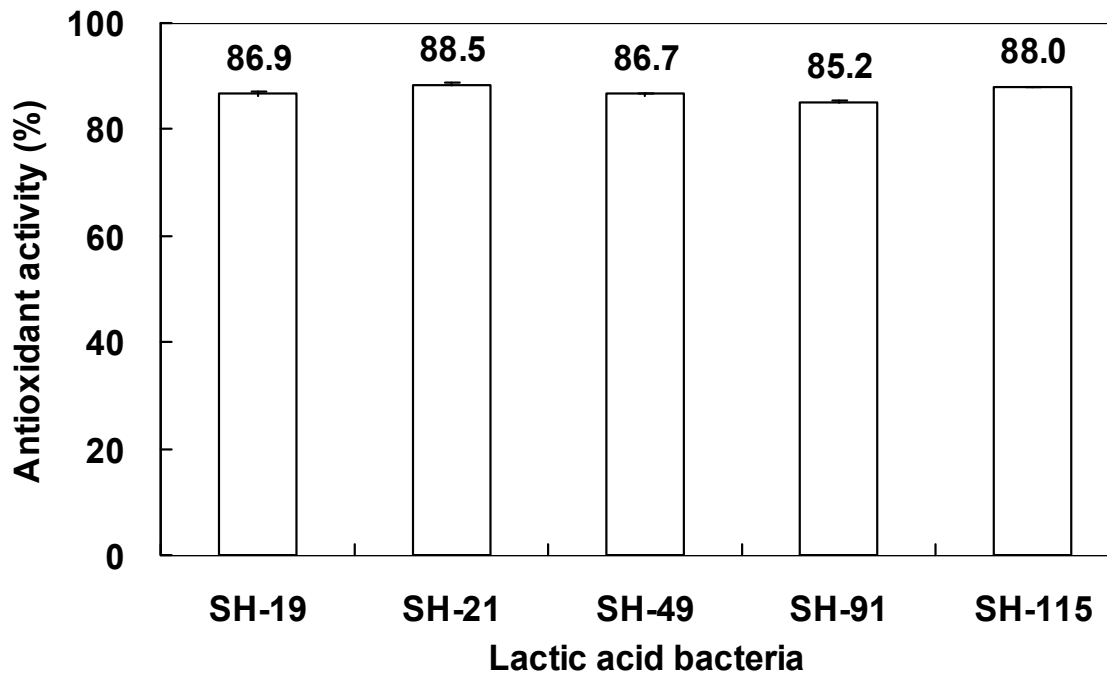


그림 6-44. 시제 넙치 식해로부터 분리한 젖산균 (SH-19, 21, 49, 91, 115)의 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 저해 활성

이상의 결과와 보고로 미루어 보아 실험 방법의 차이와 사용한 DPPH의 농도에 따른 다소의 차이는 있을 수 있으나 넙치 식해 유래 젖산 균주의 항산화 활성이 충분히 인지되었다. 따라서, 젖산 균주 5종을 넙치 식해 제조 시에 응용하고, 소비자들이 이를 꾸준히 식용하는 경우

넙치 식해에 의한 항산화 효과를 충분히 기대할 수 있으리라 추정되었다. 항당뇨 활성을 α -glucosidase의 잔존 활성으로 살펴본 결과 젖산균의 종류에 관계없이 모두 인지되지 않았다 (데이터 미제시). 따라서, 이들 넙치 유래 젖산균 5종을 활용하여 넙치 식해의 제조 시에 응용하는 경우 이들 젖산균에 의한 항당뇨 효과는 기대하기 어려우리라 판단되었다. 항통풍 활성을 xanthine oxidase 저해 활성으로 살펴본 결과 젖산균의 종류에 관계없이 모두 인지되지 않았다 (데이터 미제시). 따라서, 이들 넙치 유래 젖산균 5종을 활용하여 넙치 식해의 제조 시에 응용하는 경우 이들 젖산균에 의한 항통풍 효과는 기대하기 어려우리라 판단되었다. 아질산염 소거 활성을 살펴본 결과는 그림 6-45와 같다. 넙치 식해 유래 젖산 균주 5종의 아질산염 소거 활성은 23.4-55.1% 범위를 나타내었다. 젖산 균주 간 아질산염 소거 활성은 SH-19 (55.1%), 로 가장 높았고, 다음으로 SH-21 (49.5%), SH-91 (45.8%)의 순이었으며, SH-49 (32.7%) 및 SH-115 (23.4%)의 경우 40% 미만을 나타내었다. 이와 같이 젖산균이 아질산염 소거 활성을 나타내는 것은 젖산균에 의하여 생성되는 젖산과 nitrite reductase에 의하여 아질산염의 화학적 및 효소학적 소거능이 증가하였기 때문이라 판단되었다¹³⁷.

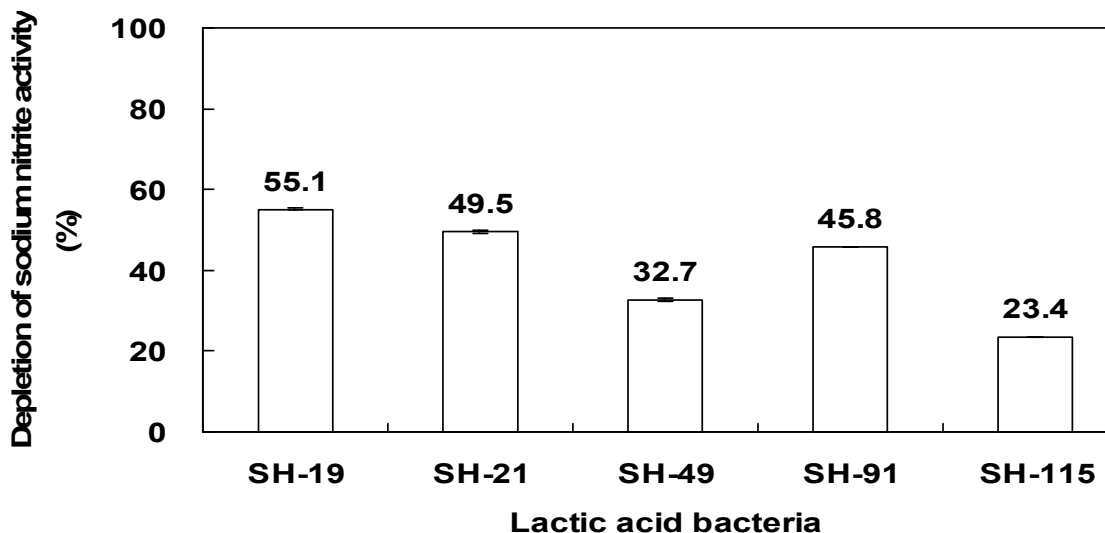


그림 6-45. 시제 넙치 식해로부터 분리한 젖산균 (SH-19, 21, 49, 91, 115)의 아질산염 소거 활성

이와 같은 젖산균의 아질산염 소거 활성에 대한 결과와 보고로 미루어 보아 넙치 식해로부터 분리한 젖산균의 아질산염 소거 활성은 무시할 정도는 아니었으나, 다른 소재로부터 분리한 젖산균에 비하여 크게 높은 편은 아니었다고 판단되었다. 이상의 넙치 식해 유래 젖산 균주 120종 중 생육 특성이 우수한 5종의 산생성능, 내산성 및 내 담즙성, 건강 기능성 (ACE 저해 활성, 항산화 활성, 항당뇨 활성, 항통풍 활성, 아질산염 소거 활성 및 항균 활성) 등의 결과로 미루어 보아 넙치 식해의 건강 기능성 개선을 위한 균주로는 SH-19, SH-21, SH-49, SH-91 및 SH-115 등과 같은 5종이 모두 적절하였고, 젖산균의 섭취에 의한 건강 기능성을 위한 균주로는 SH-19, SH-21, SH-49 및 SH-91가 적절하리라 판단되었다.

④ 납치 식해로부터 분리한 유용 젖산균의 동정

㉑ 형태 및 생리적 특성

납치 식해로부터 분리한 유용 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91 및 SH-115)의 형태적 특징과 생리학적 특성은 표 6-35와 같다. 납치 식해로부터 분리한 유용 젖산 균주 5종의 동정을 위하여 현미경으로 형태를 검토한 결과는 사진 6-8에 나타내었다. SH-91의 경우 구균의 형태를 나타내었고, 이를 제외한 나머지 균주 4종인 SH-19, SH-21, SH-49 및 SH-115의 경우 간균의 형태를 나타내었으며, 세포의 운동성을 검토한 결과 균주 5종이 모두 운동성이 없었다. 그리고, Bactident Aminopeptidase (Merck Co., USA)를 이용하여 이들 젖산 균주 5종의 gram 염색성을 살펴본 결과 모두 gram 양성이었다고, cell size는 측정하지 못한 SH-49를 제외한 다면 SH-91 (3.0-4.0 μm) 로 가장 컸고, 나머지 젖산 균주 3종 (SH-19, SH-21 및 SH-115)의 경우 1.0 μm 이하로 작아, 균주에 따른 차이가 있었다. SH-49를 제외한 다면 SH-91 (3.0-4.0 μm) 로 가장 컸고, 나머지 젖산 균주 3종 (SH-19, SH-21 및 SH-115)의 경우 1.0 μm 이하로 작아, 균주에 따른 차이가 있었다.

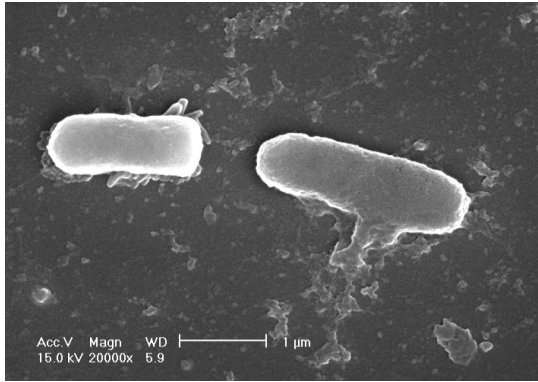
젖산 균주의 생리적 특성을 살펴볼 목적으로 납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 5종에 대하여 catalase와 oxidase에 대하여 검토한 결과 모두 음성을 나타내었고, indole과 gelatin 가수분해능에 대하여 살펴본 결과 SH-19를 제외한 나머지 젖산 균주 4종의 경우 없는 것으로 나타나 이들 젖산 균주 4종의 경우 전형적인 homo type의 젖산 발효를 하는 것으로 나타났다. 그리고, 분리한 젖산 균주 5종의 온도에 대한 생육 특성을 살펴 본 결과 SH-19, SH-21, SH-49와 같은 젖산 균주 3종의 경우 10-45 $^{\circ}\text{C}$ 범위에서는 생육하는 것으로 나타났으나, SH-91의 경우 15-45 $^{\circ}\text{C}$ 범위, SH-115의 경우 10-37 $^{\circ}\text{C}$ 범위에서 만이 생육하는 것으로 나타나, 앞의 균주 5종에 비하여는 약간 좁은 범위에서 생육되었다. 분리한 젖산 균주 5종의 pH에 대한 생육 특성을 살펴 본 결과 SH-19, SH-21, SH-49와 같은 젖산 균주 3종의 경우 pH 4.2, 4.8, 8.6 및 9.2에서 증식을 하였으나, SH-115의 경우 pH 4.2, 4.8, 8.6에서, SH-91의 경우 pH 4.3과 4.8의 산성 조건에서 만이 증식을 하여 SH-19, SH-21, SH-49와 같은 젖산 균주 3종이 SH-91 및 SH-115와 같은 젖산 균주 2종에 비하여 다소 한정적인 pH 범위에서 증식되었다. 그러나, 이들 젖산 균주 5종의 온도 및 pH에 대한 생육 특성으로 미루어 보아 SH-91을 제외한다면 속성 온도 (10-37 $^{\circ}\text{C}$)와 pH (4.2 및 4.8)면에서 식해의 발효 및 기능성 개선을 위하여 문제가 될 것이 없을 것으로 판단되었고, SH-91의 경우도 저온 발효를 제외한다면 문제가 될 것이 없을 것으로 판단되었다.

표 6-35. 납치 식해로부터 분리한 유용 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91, SH-115)의 형태적 특징과 생리학적 특성

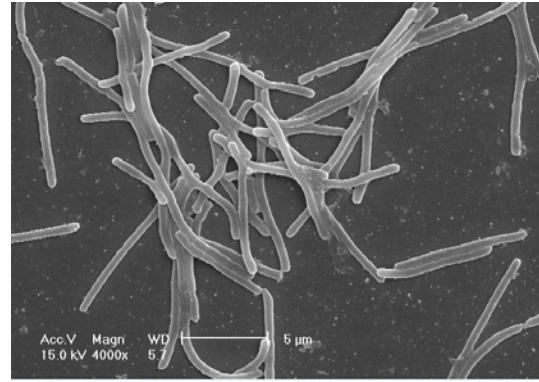
특성	균주				
	SH-19	SH-21	SH-49	SH-91	SH-115
그람염색	+ ¹⁾	+	+	+	+
형태학적 균 크기 (μm)	0.5-1.0	0.8-0.9	ND ²⁾	3.0-4.0	0.7-0.9
운동성	—	—	—	—	—
젤라틴 분해능	—	—	—	—	—
인돌 생성능	—	—	—	—	—
Gas from glucose	+	—	—	—	—
카탈라제	—	—	—	—	—
테스트 옥시다제	—	—	—	—	—
테스트					
10℃	+	+	+	—	+
15℃	+	+	+	+	+
37℃	+	+	+	+	+
45℃	+	+	+	+	—
50℃	—	—	—	—	—
pH3.6	—	—	—	+	—
pH3.9	—	—	—	+	—
pH4.2	+	+	+	+	+
pH4.8	+	+	+	+	+
pH8.6	+	+	+	—	+
pH9.2	+	+	+	—	—

¹⁾+: positive, —: negative

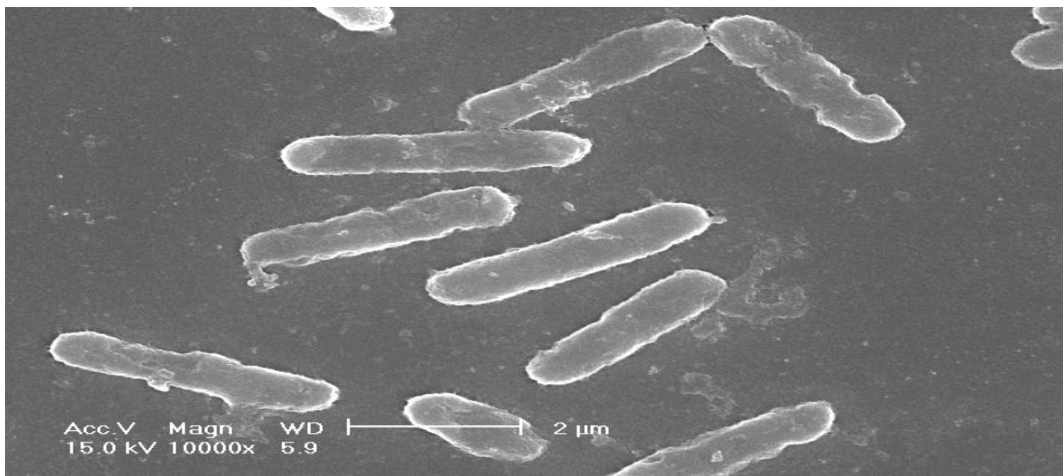
²⁾ND: not detected



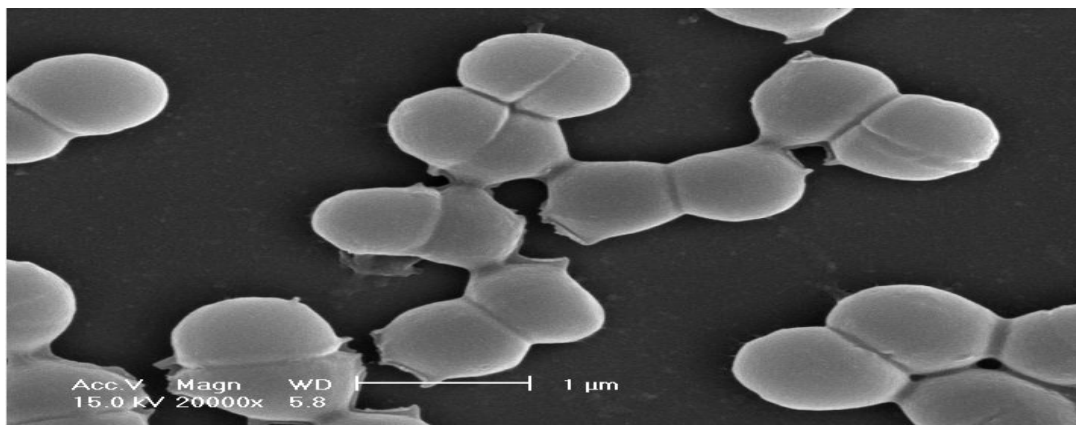
SH-19 (x20,000)



SH-21 (x4,000)



SH-49 (x10,000)



SH-91 (x20,000)

사진 6-8. 넙치 식해로부터 분리한 유용 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91, SH-115)의 주사현미경으로 촬영한 사진

㉔ 생화학적 특성

미생물 자동 동정 system인 API 50 CHL균 동정 kit를 납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91 및 SH-115)의 동정을 목적으로 적용한 사진은 사진 6-9와 같고, 이를 정리하여 나타낸 당이용성 결과는 표 6-36과 같다. 납치 식해로부터 분리한 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-91 및 SH-115)에 대하여 미생물 자동 동정 system인 API 50 CHL균 동정 kit를 응용하여 얻은 젖산 균주의 당 이용성은 SH-91의 경우 arabinose, ribose, xylose, galactose, glucose, fructose, mannose, n-acetylglucosamine, amygdalin, arbutin,



SH-19



SH-21



SH-49



SH-91



SH-115

사진 6-9. 비규격 납치 식해 유래 젖산균의 동정을 위하여 적용한 API 50 CHL kit의 결과에 대한 사진.

표 6-36. 비규격 납치 식해 유래 젖산균의 동정을 위하여 적용한 API 50 CHL kit의 당이용성에 대한 결과

Fermentation	API 50 CHL Medium ¹⁾				
	19	21	49	91	115
Control	- ²⁾	-	-	-	-
Glycerol	-	-	-	-	-
Erythritol	-	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-
L-arabinose	+	-	-	+	-
Ribose	+	-	-	+	+
D-xylose	+	-	-	+	-
L-xylose	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-
Methy-BD-xylopyranosicle	-	-	-	-	-
Galactose	-	-	-	+	-
Glucose	-	+	-	+	+
Fructose	-	+	+	+	+
Mannose	-	-	+	+	-
Sorbose	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-
Inositor	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	+	-	-
Sorbitor	-	-	-	-	-
α-Methyl D-mannoside	-	-	-	-	-
α-Methyl D-glucoside	-	-	-	-	-
N-acetyl glucosamine	-	-	+	+	+
Amygdalin	+	-	-	+	-
Arbutin	-	+	-	+	+
Esculin	+	+	+	+	+
Salicin	-	-	-	+	+

¹⁾ Incubate at 37°C for 24 hr to obtain a reading

²⁾ negative reaction

³⁾ positive reaction

표 6-36. 계속

Fermentation	API 50 CHL 배지 ¹⁾				
	19	21	SH-49	91	115
Cellobiose	-	-	-	+	+
Maltose	-	-	-	+	+
Lactose	-	-	-	+	-
Melibiose	+	-	-	-	-
Sucrose	+	-	+	+	+
Trehalose	-	-	-	+	+
Inulin	-	-	-	-	-
Melezitpse	-	-	-	-	-
Raffinose	+	-	+	-	-
Starch	-	-	-	-	+
Glycogen	-	-	-	-	+
Xylitor	-	-	-	-	-
Gentiobiose	-	-	-	-	-
D turanose	+	-	-	-	-
D lyxose	-	-	-	-	-
D tagatose	-	-	-	+	-
D fucose	-	-	-	-	-
L fucose	-	-	-	-	-
D arabitol	-	-	-	-	-
L arabitol	-	-	-	-	-
Gluconate	-	-	-	-	-
2-keto-gluconate	-	-	-	-	-
5-keto-gluconate	-	-	-	-	-
		<i>Lactobaci</i>		<i>Latococcu</i>	
	<i>Lactobaci</i>	<i>illus</i>	<i>Lactobaci</i>	<i>s</i>	<i>Lactobaci</i>
동정결과	<i>illus</i>	<i>delbrueck</i>	<i>illus</i>	<i>lactis</i>	<i>illus</i>
	<i>brevis</i>	<i>ii ssp</i>	<i>acidophil</i>	<i>ssp</i>	<i>crispatus</i>
		<i>delbrueck</i>	<i>us</i>	<i>lactis</i>	
		<i>ii</i>			

¹⁾ Incubate at 37°C for 24 hr to obtain a reading

²⁾ negative reaction

³⁾ positive reaction

esculin, salicin, cellobiose, maltose, lactose, sucrose, trehalose, tagatose 등과 같은 18종, SH-115의 경우 ribose, glucose, fructose, n-acetylglucosamine, arbutin, esculin, salicin, cellobiose, maltose, sucrose, trehalose, starch, glycogen 등과 같은 13종에 대하여 양성을 나타내었으며, SH-19의 경우 arabinose, ribose, amygdalin, esculin, melibiose, sucrose, raffinose, turanose 등과 같은 9종, SH-21의 경우 glucose, fructose,

arbutin, esculin 등과 같은 4종 및 SH-49의 경우 fructose, mannose, manitol, n-acetylglucosamine, esculin, sucrose, raffinose 등과 같은 7종에 대하여 양성 반응을 나타내어, 이들 젖산 균주 3종의 경우 당에 대한 이용성은 아주 낮은 균주로 판단되었다.

㉔ 넙치 식해로부터 분리한 젖산균의 동정

넙치 식해로부터 분리한 유용 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-69, SH-115)의 동정을 위하여 API 50 CHL균 동정 kit 응용 결과를 API kit 동정 프로그램 (<http://apiweb.biomerieux.com>)에 적용한 결과는 사진 6-10과 같다. SH-19는 *Lactobacillus brevis*로 SH-21은 *Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii*로 동정되었고, *jplantarum*으로, SH-49는 *Lactobacillus acidophilus*로, SH-91은 *Lactococcus lactis ssp lactis*로, SH-115는 *Lactobacillus crisoatus*로 동정되었으며, 이들의 신뢰도는 94.7-99.9% 범위로 상당히 높았다. 이상에서 언급한 넙치 식해 유래 젖산 균주 5종 (SH-19, SH-21, SH-49, SH-69, SH-115)의 형태적 및 생리적 결과와 API 50 CHL균 동정 kit 응용 결과를 API kit 동정 프로그램으로부터 SH-19, SH-21, SH-49, SH-91 및 SH-115와 같은 젖산 균주 5종의 동정 결과는 사진 6-10과 같다.

표 6-37. 실험에 이용한 젖산균 코드

Strain	Code	젖산균 종류
	Control	무첨가
단일	1	<i>Lactobacillus brevis</i>
	2	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>
	3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	4	<i>Latococcus lactis ssp lactis</i>
혼합	1-2	혼합균주 균주 1 과 2
	1-3	혼합균주 균주 1 과 3
	1-4	혼합균주 균주 1 과 4
	2-3	혼합균주 균주 2 과 3
	2-4	혼합균주 균주 2 과 4
	3-4	혼합균주 균주 3 과 4

① 식품성분 특성

숙성 중 젖산균 (일반 넙치 식해로부터 분리한 젖산균 단일 균주 4종과 이들 단일 젖산균주 중 2종을 서로 혼합한 복합 균주) 무강화 및 강화 넙치 식해에 대하여 10명의 관능요원이 관능검사를 실시한 후 이들 식해에 대하여 선호도가 있다고 판단한 요원의 수를 표시한 결과는 표 6-38과 같다. 숙성 중 넙치 식해에 대한 선호도는 젖산균 무첨가 식해의 경우 숙성 8일째에 1명이, 9일째에 9명이 표현을 하여 최적 숙성기는 9일로 판단하였다. 이에 반하여 숙성 중 단일 균주 강화 넙치 식해에 대한 선호도는 숙성 7일째에 1-2명이 단일 균주 1로 강화한 넙치 식해를 제외한 나머지 식해 3종에 대하여 최적 숙성기로 표현하였고, 8일째에 6-9명이 모든 제품에 대하여 최적기로 표현을 하여, 전 제품의 최적 숙성기는 8일로 판단되었다. 숙성 중 복합 균주 강화 넙치 식해에 대한 선호도는 1-2, 1-3, 1-4, 2-3, 2-4와 같은 복합 균주로 강화한 넙치 식해 5종의 경우 숙성 8일째에 6-9명이 최적기로, 3-4의 복합 균주 강화 넙치 식해 1종의 경우 숙성 5일째에 8명이 최적기로 표현을 하여 이들 숙성 일수가 최적 숙성기로 판단되었다. 따라서 이후 젖산 균수 무첨가 대조 넙치 식해의 최적 숙성기인 9일의 측정값을 기준 값으로 하여 비교, 검토를 하였다. 숙성 중 젖산균 (일반 넙치 식해로부터 분리한 젖산균 4종의 단일 균주와 이들 단일 젖산균주 중 2종을 서로 혼합한 복합 균주) 강화 넙치 식해의 pH 변화를 젖산균 무첨가 넙치 식해의 pH 변화와 비교 검토한 결과는 표 6-39와 같다. 숙성 중 젖산균 무첨가 넙치 식해의 pH는 담금 직후에 5.56이었고, 숙성 초기에는 다소 신속하게 감소하여 저장 6일째에는 4.65이었고, 9일째에는 4.30이었다. 숙성 중 단일 균주 강화 넙치 식해 4종의 pH는 담금 직후에 5.27-5.46 범위로 제품 간에 약간의 차이가 있었고, 역시 숙성 초기에는 제품의 종류에 관계없이 모든 제품이 다소 급격히 감소하여 숙성 6일째의 경우

4.38-4.48 범위를 나타내었으며, 숙성 9일째의 경우 4.26-4.37 범위를 나타내었다. 숙성 중 복합 균주 강화 넙치 식해 6종의 pH는 담금 직후에 5.19-5.77 범위로 제품 간에 차이가 있었고, 역시 숙성 초기에는 전 제품이 모두 다소 급격히 감소하여 숙성 6일째에는 4.29-4.48 범위이었으며, 숙성 9일째에는 4.24-4.38 범위를 나타내었다. 한편, 넙치 식해의 pH 4.3에 도달하는 숙성 기간은 젖산균 무첨가 대조군의 경우 9일인데 반하여 단일 균주 강화 넙치 식해 4종 모두와 1-3, 1-4, 2-4와 같은 복합 균주 강화 넙치 식해 3종의 경우 8일, 1-2, 2-3 와 같은 복합 균주 강화 넙치 2종의 경우 7일, 3-4와 같은 복합 균주 강화 넙치 식해 1종의 경우 5일이었다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 넙치 식해에 젖산균을 강화하여 숙성시키는 경우 젖산균과 같은 유기산의 다량 산생에 의하여 pH 저하가 신속히 이루어진다고 판단되었고, 이는 단일 균주를 응용하기 보다는 복합 균주를 응용하는 것이 효과적이라 판단되었다.

표 6-38. 15°C에서 발효 중 젖산균 강화 넙치 식해의 기호도 (선호하는 페널 수로 표시)로 관능 평가한 결과

식해 코드	숙성 기간						
	0	3	5	6	7	8	9
대조구	0	0	0	0	0	1	9
1	0	0	0	0	0	7	3
2	0	0	0	0	1	8	1
3	0	0	0	0	2	7	1
4	0	0	0	0	2	6	2
1-2	0	0	0	0	3	6	1
1-3	0	0	0	0	1	8	1
1-4	0	0	0	0	1	9	0
2-3	0	0	0	2	1	7	0
2-4	0	0	0	1	0	9	0
3-4	0	0	8	1	0	1	0

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

표 6-39. 15°C에서 발효 중 젖산균 강화 납치 식해의 pH 변화

식해코드	숙성기간						
	0	3	5	6	7	8	9
대조구	5.56	5.05	4.72	4.65	4.58	4.45	<u>4.30</u>
1	5.27	4.69	4.41	4.38	4.36	<u>4.31</u>	4.32
2	5.44	4.70	4.43	4.42	4.41	<u>4.29</u>	4.26
3	5.46	4.47	4.47	4.44	4.35	<u>4.26</u>	4.37
4	5.27	4.60	4.55	4.48	4.39	<u>4.25</u>	4.32
1-2	5.63	4.67	4.42	4.35	<u>4.33</u>	4.30	4.38
1-3	5.47	4.75	4.51	4.48	4.39	<u>4.29</u>	4.31
1-4	5.25	4.89	4.44	4.41	4.37	<u>4.33</u>	4.32
2-3	5.77	4.88	4.59	4.42	<u>4.33</u>	4.33	4.31
2-4	5.19	4.67	4.47	4.45	4.39	<u>4.29</u>	4.25
3-4	5.73	4.69	<u>4.34</u>	4.29	4.25	4.32	4.33

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

숙성 중 젖산균 (일반 납치 식해로부터 분리한 젖산균 단일 균주 4종과 이들 단일 젖산균주 중 2종을 서로 혼합한 복합 균주) 강화 납치 식해의 적정 산도 변화를 젖산균 무첨가 납치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 표 6-40과 같다. 숙성 중 젖산균 무첨가 납치 식해의 적정산도는 담금 직후에 0.58 g/100 g이었고, 숙성 중 급격히 증가하여 숙성 6일째에 1.76 g/100 g, 9일째에 2.45 g/100 g을 나타내었다. 숙성 중 단일 균주 강화 납치 식해 4종의 적정 산도는 담금 직후에 0.70-0.80 g/100 g 범위로 제품 간에 약간의 차이가 있었고, 역시 숙성 중 제품의 종류에 관계없이 모든 제품이 증가하여 숙성 6일째의 경우 1.93-2.12 g/100 g 범위를 나타내었으며, 숙성 9일째의 경우 2.14-2.44 g/100 g 범위를 나타내었다. 숙성 중 복합 균주 강화 납치 식해 10종의 적정 산도는 담금 직후에 0.57-0.92 g/100 g 범위로 제품 간에 차이가 컸고, 역시 숙성 중 전 제품이 모두 급격히 증가하여 숙성 6일째에는 2.01-2.12 g/100 g 범위에 있으며, 숙성 9일째에는 2.21-2.44 범위를 나타내었다. 한편, 납치 식해의 적정산도가 2.4 g/100 g에 도달하는 숙성 기간은 젖산균 무첨가 대조군의 경우 9일인데 반하여 균주 1-3와 같은 단일 균주 강화 납치 식해 3종과 1-3, 2-3 와 같은 복합 균주 강화 납치 식해 2종의 경우 8일, 나머지 균주 5와 같은 단일 균주 강화 식해 1종과 1-2, 1-4, 2-4 및 3-4와 같은 복합 균주 강화 납치 식해 4종의 경우 7일이었다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 납치 식해에 젖산균을 강화하여 숙성시키는 경우 젖산균을 주로 하는 유기산이 다량 산생한다고 판단되었고, 이는 단일 균주를 응용하기 보다는 복합 균주를 응용하는 것이 효과적이라 판단되었다. 한편,

이들 낱치 식해의 pH와 적정 산도는 젖산균 강화 유무 및 균주의 종류에 관계없이 전 제품이 pH와 적정산도 간에 역 상관관계를 나타내었다.

표 6-40. 15°C에서 발효 중 젖산균 강화 낱치 식해의 총산도의 변화

식해코드	숙성기간 (g/100g)						
	0	3	5	6	7	8	9
대조구	0.58	0.87	1.60	1.76	1.87	2.24	2.45
1	0.73	1.06	1.87	2.12	2.35	2.43	2.44
2	0.70	0.96	1.99	2.04	2.17	2.50	2.21
3	0.70	0.10	1.92	2.05	2.21	2.38	2.38
4	0.80	0.94	1.96	2.01	2.41	2.37	2.39
1-2	0.57	1.14	2.08	2.10	2.43	2.45	2.13
1-3	0.64	0.87	1.92	2.03	2.15	2.50	2.48
1-4	0.70	0.94	1.95	2.07	2.40	2.48	2.24
2-3	0.60	1.03	1.73	1.99	2.20	2.47	2.16
2-4	0.92	1.05	1.87	2.08	2.45	2.46	2.47
3-4	0.66	1.11	2.25	2.22	2.43	2.32	2.20

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

숙성 중 젖산균 (일반 낱치 식해로부터 분리한 젖산균 단일 균주 4종과 이들 단일 젖산균주 중 2종을 서로 혼합한 복합 균주) 강화 낱치 식해의 아미노 질소 함량에 대한 변화를 젖산균 무첨가 낱치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 표 6-41과 같다. 숙성 중 젖산균 무첨가 낱치 식해의 아미노 질소 함량은 담금 직후에 87.2 mg/100 g이었고, 숙성이 진행될수록 급격히 증가하여 숙성 6일째에 186.3 mg/100 g, 9일째에 311.3 mg/100 g을 나타내었다. 이에 반하여 숙성 중 단일 균주 강화 낱치 식해 4종의 아미노 질소 함량은 담금 직후에 91.7-109.4 mg/100 g 범위로 제품간에 약간의 차이가 있었고, 역시 숙성 중 제품의 종류에 관계없이 모든 제품이 증가하여 숙성 6일째의 경우 215.5-249.7 mg/100 g 범위, 숙성 8일째의 경우 280.0-311.2 mg/100 g 범위이었으나 이후 거의 변화가 없었다. 숙성 중 복합 균주 강화 낱치 식해 6종의 아미노 질소 함량은 담금 직후에 81.4-111.2 mg/100 g 범위로 제품 간에 차이가 컸고, 역시 숙성 중 전 제품이 모두 증가하여 숙성 6일째에는 225.1-284.3 mg/100 g 범위이었으며, 숙성 8일째에는 288.8-324.2 mg/100 g 범위를 나타내었으나 이후 거의 변화가 없었다. 한편, 낱치 식해의 아미노 질소 함량이 270 mg/100 g에 도달하는 숙성 기간은 젖산균 무첨가 대조군의 경우 9일인데 반하여 단일 균주 강화 낱치 식해 4종과 1-2, 1-3, 1-4, 2-3, 2-4 와 같은 복합 균주 강화 낱치 식해 5종의 경우 8일, 3-4와 같은 복합 균주 강화 낱치 식해 1종의 경우 5일이었다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 낱치 식해에 젖산균을 강화하여 숙성시키는 경우 유리 아미노산을 주로 하는 맛성분이 다량 산생한다고 판단되었고, 이는 단일 균주를 응용하기 보

다는 복합 균주를 응용하는 것이 효과적이라 판단되었다. 한편, 이들 넙치 식해의 아미노 질소 함량은 pH의 형성에 다소의 완충 역할을 하였으리라 판단되었다.

표 6-41. 15°C에서 발효 중 젖산균 강화 넙치 식해의 amino-N 의 변화

식해코드	저장일수						
	0	3	5	6	7	8	9
대조구	87.2	108.6	114.8	186.3	218.3	235.3	311.3
1	91.7	109.8	124.5	215.5	256.0	302.7	302.8
2	91.8	113.0	146.0	241.4	228.1	280.0	283.2
3	103.5	118.3	143.1	249.7	234.7	309.1	306.8
4	109.4	121.5	167.8	248.6	244.9	311.2	313.4
1-2	88.4	136.6	153.2	225.1	244.4	308.7	306.3
1-3	100.0	123.0	144.6	231.1	225.9	315.8	322.9
1-4	109.3	116.9	155.2	228.2	246.0	317.2	312.2
1-5	81.4	108.4	164.0	231.6	235.5	321.1	320.4
2-3	89.9	102.8	166.4	229.1	245.3	288.8	302.6
3-4	111.2	117.5	272.3	284.3	277.3	324.2	313.2

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

숙성 중 젖산균 (일반 넙치 식해로부터 분리한 젖산균 단일 균주 4종과 이들 단일 젖산균주 중 2종을 서로 혼합한 복합 균주) 강화 넙치 식해의 젖산균수에 대한 변화를 젖산균 무첨가 넙치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 표 6-42와 같다. 숙성 중 젖산균 무첨가 넙치 식해의 젖산균수는 담금 직후에 4.70 log(CFU/g)이었고, 숙성이 진행될수록 증가하여 숙성 6일째에 6.97 log(CFU/g), 9일째에 8.84 log(CFU/g)를 나타내었다. 이에 반하여 숙성 중 단일 균주 강화 넙치 식해 4종의 산균수는 담금 직후에 4.83-4.89 log(CFU/g) 범위로 제품 간에 약간의 차이가 있었고, 역시 숙성 중 제품의 종류에 관계없이 모든 제품이 증가하여 숙성 6일째의 경우 7.68-7.79 log(CFU/g) 범위, 숙성 7일째의 경우 8.72-8.89 log(CFU/g) 범위이었으나 이후 거의 변화가 없었다. 숙성 중 복합 균주 강화 넙치 식해 6종의 젖산균수는 담금 직후에 4.65-4.95 log(CFU/g) 범위로 제품 간에 차이가 있었고, 역시 숙성 중 전 제품이 모두 증가하여 숙성 6일째에는 7.54-7.87 log(CFU/g) 범위이었으며, 숙성 7일째에는 8.63-8.97 log(CFU/g) 범위를 나타내었으나 이후 거의 변화가 없었다. 한편, 넙치 식해의 젖산균수가 8.8 log(CFU/g)에 도달하는 숙성 기간은 젖산균 무첨가 대조군의 경우 9일인데 반하여 단일 균주 강화 넙치 식해 4종과 복합 균주 강화 넙치 식해 6종 모두가 7일이었다. 이와 같은 결과

로 미루어 보아 넙치 식해에 젖산균을 강화를 시도하여 숙성시키는 경우 숙성 중 젖산균의 강화는 이루어졌으나, 단일 균주와 복합 균주간의 차이는 물론이고, 이들 균주들 간에도 차이는 인정되지 않았다. 그러나, 이들 균주를 강화한 넙치 식해의 pH, 적정 산도, 아미노 질소 함량과 같은 성분 간에는 차이가 있어 이들 균주 간에 산생하는 물질에는 차이는 인정되지 않았다. 그러나, 이들 균주를 강화한 넙치 식해의 pH, 적정 산도, 아미노 질소 함량과 같은 성분 간에는 차이가 있어 이들 균주 간에 산생하는 물질에는 차이가 있다고 판단되었다.

표 6-42. 15℃에서 발효 중 젖산균 강화 넙치 식해의 젖산균수의 변화

식해코드	저장일수						
	0	3	5	6	7	8	9
대조구	4.70	4.98	5.53	6.97	7.95	8.53	8.84
1	4.89	5.62	6.92	7.79	8.89	8.95	8.93
2	4.87	5.58	6.52	7.68	8.72	8.84	8.87
3	4.83	5.67	6.68	7.72	8.81	8.89	8.93
4	4.86	5.81	6.72	7.74	8.74	8.81	8.88
1-2	4.91	5.82	6.56	7.78	8.92	8.97	8.91
1-3	4.65	5.76	6.58	7.63	8.86	8.89	8.89
1-4	4.81	5.53	6.61	7.54	8.91	8.93	8.95
2-3	4.86	5.81	6.62	7.65	8.81	8.86	8.89
2-4	4.84	5.82	6.73	7.56	8.63	8.91	8.92
3-4	4.95	5.81	7.48	7.87	8.97	8.99	8.74

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

관능 조건에 의하여 구명된 최적 조건에서 숙성 (젖산균 무첨가 넙치 식해의 경우 9일, 3-4의 복합 균주로 강화한 식해의 경우 5일, 기타 단일 및 복합 젖산 균주로 강화한 넙치 식해의 경우 8일)한 젖산 균주 강화 넙치 식해의 ACE 저해 활성을 젖산균 무첨가 넙치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 그림 6-46과 같다. 시판 가자미 식해 5종의 ACE 저해 활성은 29.3-38.7% 범위이었고, 평균 30%를 나타내었다. 이에 반하여 젖산균 무첨가 넙치 식해의 ACE 저해 활성은 70%로 시판 가자미 식해에 비하여 확연히 개선되었다. 넙치 식해의 건강 기능성을 개선하기 위하여 시도된 젖산균 단일 균주 4종과 이를 2종으로 서로 혼합한 복합 균주 6종을 강화한 젖산균 강화 넙치 식해 10종의 ACE 저해 활성은 단일 균주 강화 넙치 식해 4종의 경우 75-77% 범위를, 복합 균주 강화 넙치 식해 6종의 경우 73-78% 범위를 나타내어 무첨가 넙치 식해에 비하여 각각 5-7% 범위 및 3-8% 범위로 젖산균 강화 제품의 경우 전 제품에서 약간 개선되었고, 단일 균주와 복합 균주 간에 차이는 거의 없었다. 한편, ACE 저해 활성이 75% 이상인 넙치 식해를 제조하기 위하여 사용한 젖산 균주는 단일 균주로 1, 2 및 4와 같은 3종, 복합 균주로 1-2, 1-3, 1-4 와 같은 3종이었다. 한편, Cha 등¹⁷⁾은 20℃에서 발효시킨 명태 식해의 ACE

저해 활성의 경우 제조 직후에는 나타나지 않았고, 6일째에는 79.0%, 15일째에는 42.1%, 31일째에는 73.7%를 나타내었다고 보고하여 숙성 기간에 따른 차이가 컸으며, 또한 이들은 부재료에 의한 영향보다는 숙성 중 원료어의 단백질이 가수분해되어 생성된 peptide들에 의한 영향이라고 보고한 바 있다.

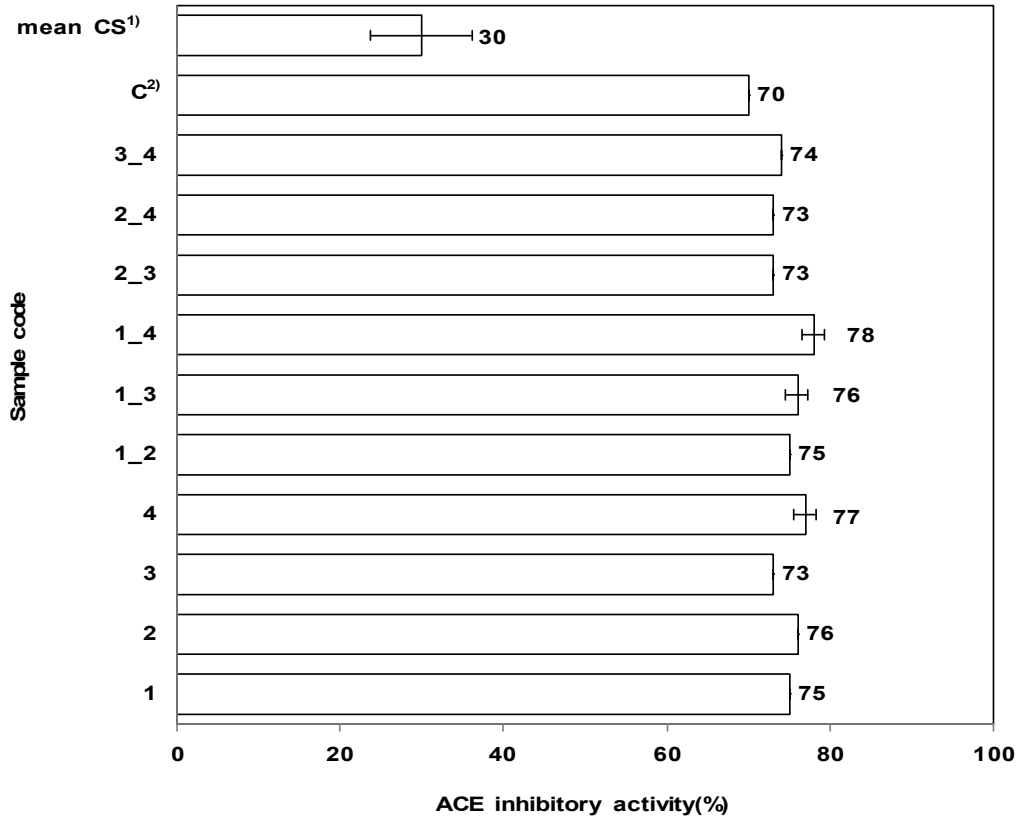


그림 6-46. 젯산균 강화 넙치 식해 및 젯산균 무첨가 넙치 식해의 Angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해 활성

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

관능 조건에 의하여 구명된 최적 조건에서 숙성 (젯산균 무첨가 넙치 식해의 경우 9일, 3-4의 복합 균주로 강화한 식해의 경우 5일, 기타 단일 및 복합 젯산 균주로 강화한 넙치 식해의 경우 8일)한 젯산 균주 강화 넙치 식해의 항산화 활성을 DPPH free radical 소거 활성으로 살펴본 다음 젯산균 무첨가 넙치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 그림 6-47과 같다. 시판 가자미 식해 5종의 항산화 활성은 58.6-63.6% 범위이어서 시판 가자미 식해의 경우 항산화 활성이 인지되었다. 이에 반하여 시제 젯산균 무첨가 넙치 식해의 항산화 활성은 69.5%로, 시판 가자미 식해 5종에 비하여 5.9-10.9% 범위에서 개선되었다. 넙치 식해의 건강 기능성을 개선하기 위하여 시도된 젯산균 단일 균주 4종과 이를 2종으로 서로 혼합한 복합 균주 6종을 강화한 젯산균 강화 넙치 식해 10종의 항산화 활성 중 단일 균주 2 및 4로 강화한 넙치 식해 2종

의 경우 각각 70.1% 및 68.7% 범위를 나타내어 이들 넙치 식해 2종의 경우 시판 가자미 식해의 그것에 비하여는 약간 개선되었으나, 무첨가 넙치 식해의 그것에 비하여는 거의 차이가 없었다. 그러나, 이들 젓산 균주로 강화한 넙치 식해 10종 중 단일 균주 강화 넙치 식해 2종과 복합 균주 강화 넙치 식해 6종의 항산화 활성은 74.7-86.8% 범위로, 시판 가자미 식해의 그것에 비하여는 물론이고, 무첨가 넙치 식해의 그것 (69.5%)에 비하여도 5.2-17.3% 범위가 개선되어 일부 균주의 경우 넙치 식해의 항산화 개선 효과는 확연히 인지되었다. 한편, 젓산 균주 강화에 의하여 넙치 식해의 항산화 활성을 9% 이상 개선을 위하여 사용된 젓산 균주는 단일 균주의 경우 1의 1종이었고, 복합 균주의 경우 1-4, 2-4 및 3-4와 같은 3종이었다.

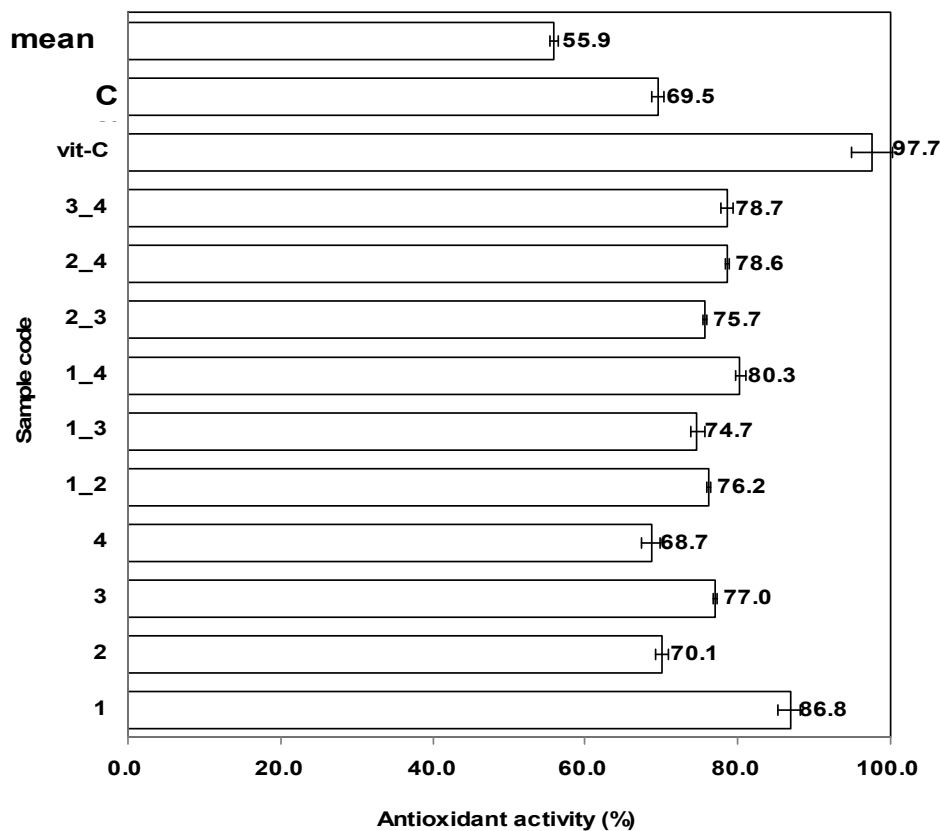


그림 6-47. 젓산균 강화 넙치 식해 및 젓산균 무첨가 넙치 식해의 DPPH 라디칼 소거능

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

관능 조건에 의하여 구명된 최적 조건에서 숙성 (젓산균 무첨가 넙치 식해의 경우 9일, 3-4의 복합 균주로 강화한 식해의 경우 5일, 기타 단일 및 복합 젓산 균주로 강화한 넙치 식해의 경우 8일)한 젓산 균주 강화 넙치 식해의 항산화 활성을 살펴본 다음 젓산균 무첨가 넙

치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 그림 6-48과 같다. 시판 가자미 식해 5종은 항통풍 활성이 56.4-78.8% 범위로, 항통풍 활성이 인지되었다. 이에 반하여 시제 젓산균 무첨가 넙치 식해는 항통풍 활성이 90.4%로, 시판 가자미 식해 5종의 그것에 비하여 34.0-11.6% 범위가 개선되어 의미가 있었다. 넙치 식해의 건강 기능성을 개선하기 위하여 시도된 젓산균 단일 균주 4종과 이를 2종으로 서로 혼합한 복합 균주 6종을 강화한 젓산균 강화 넙치 식해 각각 4종과 6종의 항통풍 활성은 각각 89.5-97.2% 범위 및 88.2-98.4% 범위로 시판 가자미 식해에 비하여는 확연히 개선되었고, 젓산 균주 무첨가 식해에 비하여는 효과가 유사하거나 약 8% 범위까지 개선되는 효과가 있었으나 단일 균주 강화 넙치 식해와 복합 균주 강화 넙치 식해 간에는 차이가 인지되지 않았다. 한편, 항통풍 활성이 95% 이상인 젓산 균주 강화 넙치 식해는 단일 균주인 1, 4로 강화한 넙치 식해 2종과 복합 균주인 3-4로 강화한 넙치 식해 1종으로 총 3종이었다.

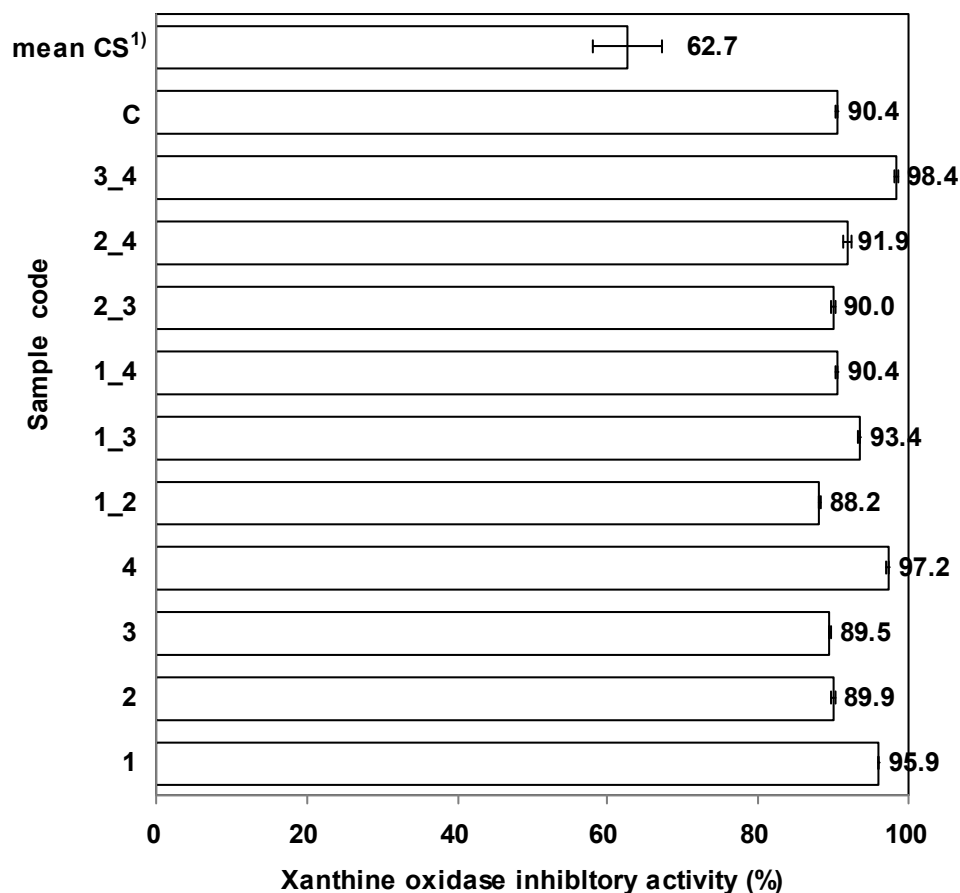


그림 6-48. 젓산균 강화 넙치 식해 및 젓산균 무첨가 넙치 식해의 항통풍 활성

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

관능 조건에 의하여 구명된 최적 조건에서 숙성 (젓산균 무첨가 넙치 식해의 경우 9일, 3-4의 복합 균주로 강화한 식해의 경우 5일, 기타 단일 및 복합 젓산 균주로 강화한 넙치 식해의 경우 8일)한 젓산 균주 강화 넙치 식해의 항당뇨 활성을 살펴본 다음 젓산균 무첨가 넙치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 그림 6-49와 같다. 시판 가자미 식해 5종은 항당뇨 활성이 0-4% 범위로, 항당뇨 활성이 거의 인지되지 않았다. 이에 반하여 시제 젓산균 무첨가 넙치 식해는 항당뇨 활성이 21.3%로, 시판 가자미 식해 5종의 그것에 비하여 약 17-21% 범위가 개선되어 의미가 있었으나, 큰 효과는 기대하기 어려우리라 판단되었다. 넙치 식해의 건강 기능성을 개선하기 위하여 시도된 젓산균 단일 균주 4종과 이를 2종으로 서로 혼합한 복합 균주 6종을 강화한 젓산균 강화 넙치 식해 각각 4종과 6종의 항당뇨 활성은 각각 17.3-65.3% 범위 및 18.7-64.0% 범위로 시판 가자미 식해에 비하여는 확연히 개선되었고, 젓산 균주 무첨가 식해에 비하여는 효과가 유사하거나 약 43%까지 개선되는 효과가 있었으나 단일 균주 강화 넙치 식해와 복합 균주 강화 넙치 식해 간에는 차이가 인지되지 않았으나, 각 균주 간에는 상당히 차이가 컸다. 한편, 항당뇨 활성이 50% 이상인 젓산 균주 강화 넙치 식해는 단일 균주인 1로 강화한 넙치 식해 1종과 복합 균주인 1-3, 2-4 및 3-4로 강화한 넙치 식해 3종으로 총 4종이 해당되었다. 따라서, 젓산 균주 강화에 의한 넙치 식해의 항당뇨 효과는 확연히 인지되어 상당히 의미가 있다고 판단되었다.

관능 조건에 의하여 구명된 최적 조건에서 숙성 (젓산균 무첨가 넙치 식해의 경우 9일, 3-4의 복합 균주로 강화한 식해의 경우 5일, 기타 단일 및 복합 젓산 균주로 강화한 넙치 식해의 경우 8일)한 젓산 균주 강화 넙치 식해의 아질산염 소거 활성을 살펴본 다음 젓산균 무첨가 넙치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 그림 6-50과 같다. 시판 가자미 식해 5종의 아질산염 소거 활성은 50.5-82.6% 범위로 상당히 의미가 있는 수준이었고, 제조원 에 따라 아질산염 소거 효과를 기대할 수 있으리라 짐작되었다. 이에 반하여 시제 젓산균 무첨가 넙치 식해는 아질산염 소거 활성이 93.6%로, 시판 가자미 식해 5종의 그것에 비하여 약 11-43% 범위가 개선되어 의미가 있었을 뿐만이 아니라 아질산염 소거 활성 면에서도 그 효과가 탁월하리라 추정되었다. 넙치 식해의 건강 기능성을 개선하기 위하여 시도된 젓산균 단일 균주 4종과 이를 2종으로 서로 혼합한 복합 균주 6종로 강화한 젓산균 강화 넙치 식해 각각 4종과 6종의 아질산염 소거 활성은 각각 97.3-98.7% 범위 및 89.8-97.7% 범위로 큰 차이가 없이 상당히 기대되는 수준이었으나, 무첨가 넙치 식해의 높은 활성으로 인하여 젓산 균주 강화에 의한 효과는 인정되지 않았다.

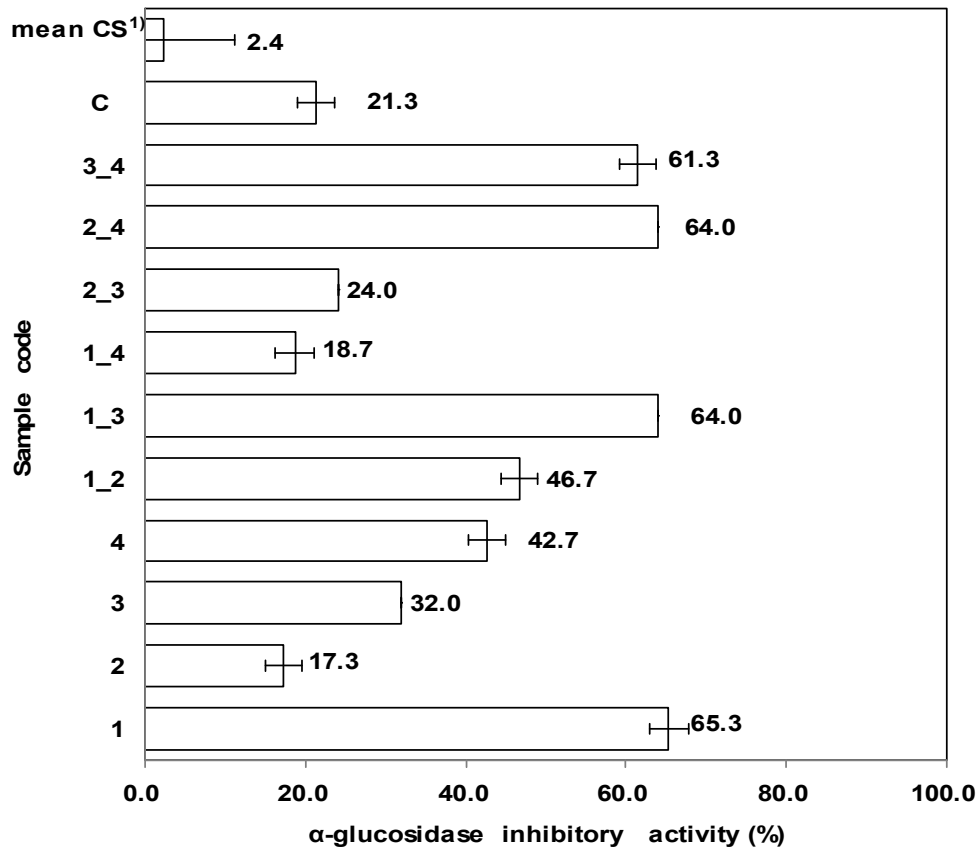


그림 6-49. 젖산균 강화 넘치 식해 및 젖산균 무첨가 넘치 식해의 항당뇨 활성
¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

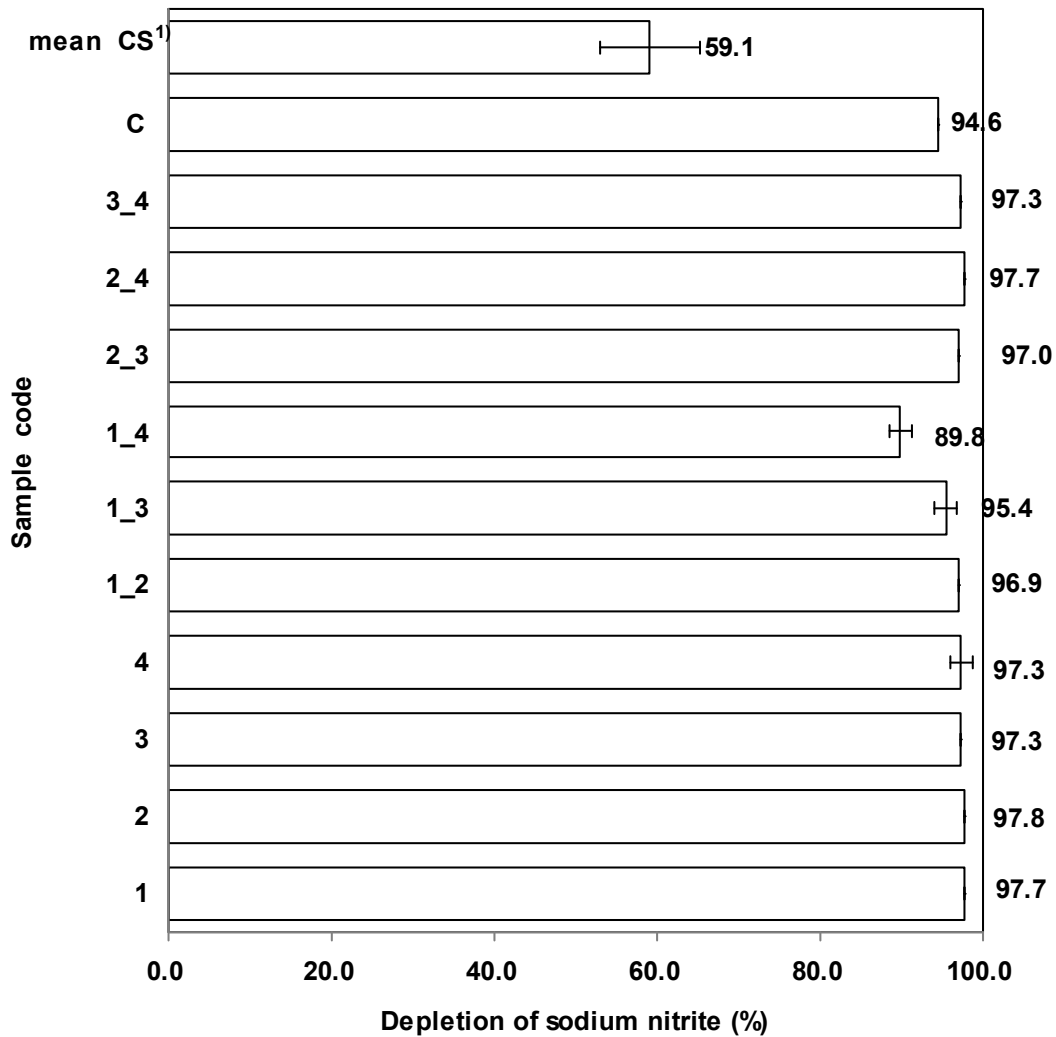


그림 6-50. 젓산균 강화 넙치 식해 및 젓산균 무첨가 넙치 식해의 아질산염 소거능

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

관능 조건에 의하여 구명된 최적 조건에서 숙성 (젓산균 무첨가 넙치 식해의 경우 9일, 4-5의 복합 균주로 강화한 식해의 경우 5일, 기타 단일 및 복합 젓산 균주로 강화한 넙치 식해의 경우 8일)한 젓산 균주 강화 넙치 식해의 그람 음성균 2종 (대장균의 원인균인 *Escherichia coli*와 비브리오 패혈증의 원인균인 *Vibrio parahaemolyticus*)과 양성균 1종 (황색포도상구균 식중독의 원인균인 *Staphylococcus aureus*)에 대한 항균 활성을 살펴본 다음 젓산균 무첨가 넙치 식해의 그것과 비교 검토한 결과는 표 6-43과 같다. 시판 가자미 식해 5종의 항균 활성은 *E. coli*, *Staphylococcus aureus*에 대한 경우 clear zone이 검출되지 않거나 7 mm로 아주 미미한 정도에서 활성을 나타내었고, *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 경우 모든 제품에서 전혀 인지되지 않았다. 따라서, 시판 가자미 식해 5종의 *Escherichia coli*, *Vibrio*

parahaemolyticus 및 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균 활성은 거의 인지되지 않았다. 그러나, 젓산 균주 무첨가 넙치 식해의 clear zone으로 나타난 항균 활성은 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, 그리고, *Escherichia coli*의 경우 모두 8.0 mm로, 시판 가자미 식해에 비하여 약간 개선된 효과가 인지되었다. 건강 기능성을 개선하기 위하여 시도된 젓산균 강화 넙치 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli*에 대한 항균 활성은 단일 균주 강화 넙치 식해의 경우 각각 9.0-11.3 mm 범위, 7.0-8.0 mm 범위 및 7.3-10.0 mm 범위가 었고, 복합 균주 강화 넙치 식해의 경우 각각 7.0-12.0 mm 범위 7.0-11.0 mm 범위 및 7.0-9.3 mm 범위로, 단일 균주와 복합 균주에 따른 차이는 인정되지 않았고, 각 응용 균주를 달리한 넙치 식해들 간에는 차이가 확연히 인정되었다.

표 6-43. 젓산균 강화 넙치 식해 및 젓산균 무첨가 넙치 식해의 항균 활성

식해 코드	항균 활성 (mm)		
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
대조구	8.0±0.0	8.0±1.7	8.0±0.0
1	11.3±0.6	7.0±0.0	10.0±0.0
2	9.0±0.0	8.0±0.6	7.7±0.6
3	11.0±0.0	8.0±0.0	8.7±0.6
4	10.0±1.7	7.0±0.0	7.3±0.6
1-2	7.3±0.6	7.0±0.0	7.0±0.0
1-3	9.3±0.6	9.0±1.7	8.0±0.0
1-4	11.0±0.6	8.0±1.7	9.3±0.6
2-3	12.0±1.0	9.0±2.6	9.0±1.0
2-4	9.3±0.6	7.0±0.0	9.3±0.6
3-4	7.0±0.0	11.0±1.0	7.3±0.6

¹⁾식해 코드는 Table 4-1에 설명되어진 바와 같음.

젓산균 강화 넙치 식해 중 항균 활성이 10 mm 이상으로 나타난 제품은 *Vibrio parahaemolyticus*의 경우 1, 3, 4와 같은 단일 균주로 강화한 넙치 식해 3종, 1-4 및 2-3와 같은 복합 균주로 강화한 넙치 식해 2종과 같은 넙치 식해 5종이 해당되었고, *Staphylococcus aureus*의 경우 3-4와 같은 복합 균주로 강화한 넙치 식해 1종이 해당되었으며, *Escherichia coli*의 경우 1과 같은 단일 균주로 강화한 넙치 식해 1종만이 해당되었다. 이 중에서 2-3의 혼합 균주로 강화하여 제조한 넙치 식해는 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성이 12 mm로 강력하여 여름철에 비브리오 패혈증이 우려되어 횃감의 소비가 없는 시기에 비린내와 담백함을 주어 사이드 메뉴로 공급되는 묵은 김치와 된장 등의 대신에 제공되는 경우 그 의미가 상당히 있으리라 보아지고, 이의 *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli*에 대한 항균 활

성은 모두 9 mm로 무시할 수 없는 범위이었다. 이상의 식해의 발효 속도와 건강 기능성을 개선할 목적으로 단일 균주 4종과 이의 복합 균주 6종의 angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해 활성, 항산화 활성, xanthine oxidase 저해 활성, 항당뇨 저해 활성, 항균 활성 및 아질산염 소거 활성 등에 대하여 검토한 결과 ACE 저해 활성의 효과가 기대 (저해 활성이 70% 이상)되는 제품으로는 10종의 전 제품이 여기에 해당하였고, 항산화 활성의 효과가 기대 (저해 활성이 80% 이상)되는 제품으로는 단일 균주 1로 강화한 제품 1종과 복합 균주 1-5 강화한 제품 1종이 여기에 해당하였으며, xanthine oxidase 저해 활성의 효과가 기대 (저해 활성이 90% 이상)되는 제품으로는 단일 균주 2 및 3로 강화한 제품 2종과 복합 균주 1-2로 강화한 제품 1종을 제외한 나머지 12종이 해당하였다. 그리고, 젖산 균주 강화 넙치 식해 10종 중 항당뇨 저해 활성의 효과가 기대 (저해 활성이 60% 이상)되는 제품으로는 단일 균주 1로 강화한 제품 1종과 복합 균주 1-3, 2-4 및 3-4로 강화한 제품 3종이 여기에 해당하였다. 젖산균 강화 넙치 식해 중 항균 활성이 10 mm 이상으로 나타난 제품은 *Vibrio parahaemolyticus*의 경우 1, 3, 4와 같은 단일 균주로 강화한 넙치 식해 3종, 1-4 및 2-3와 같은 복합 균주로 강화한 넙치 식해 2종과 같은 넙치 식해 5종이 해당되었고, *Staphylococcus aureus*의 경우 3-4와 같은 복합 균주로 강화한 넙치 식해 1종이 해당되었으며, *Escherichia coli*의 경우 1과 같은 단일 균주로 강화한 넙치 식해 1종만이 해당되었다. 이상의 결과로 미루어 보아 ACE 저해 활성, 항산화 활성, 항통풍 및 항당뇨 활성과 *Vibrio parahaemolyticus*의 항균 활성을 고려하는 경우 단일 균주 2-3로 기능성 강화를 시도한 식해가 가장 적절하다고 판단되었고, ACE 저해 활성, 항산화 활성, 항통풍 및 항당뇨 활성과 *Staphylococcus aureus*을 고려한다면 복합 균주 3-4로 기능성 강화를 시도한 식해가 가장 적절하다고 판단되었다.

(마) 굴 패각 및 녹차 추출물 농축액 처리에 의한 젖산균 강화 비규격 넙치 식해의 shelf-life 개선

① 용어의 정리

㉔ 대조 식해

대조 식해는 젖산균을 강화하지 않은 비규격 넙치 식해를 말하며, 녹차 추출물농축물 처리 대조 비규격 넙치 식해 (이하 녹차 처리 대조 식해로 칭함), 굴 패각 분말 처리 대조 비규격 넙치 식해 (이하 굴 패각 처리 대조 식해로 칭함), 녹차 추출물 농축물 및 굴 패각 분말 무처리 대조 비규격 넙치 식해 (이하 무처리 대조 식해로 칭함)가 여기에 속한다.

㉕ 녹차 처리 대조 식해

녹차 처리 대조 식해는 녹차 추출물 농축물 처리 대조 비규격 넙치 식해를 말하는 것으로,

최적 조건에서 숙성 시킨 비규격 넙치 식해에 녹차 추출물 농축물을 1.5% 가한 식해를 말한다.

㉔ 굴 패각 처리 대조 식해

굴 패각 처리 대조 식해는 굴 패각 분말 처리 대조 비규격 넙치 식해를 말하는 것으로 최적 조건에서 숙성 시킨 비규격 넙치 식해에 굴 패각 분말을 0.6% 가한 식해를 말한다.

㉕ 무처리 대조 식해

무처리 대조 식해는 녹차 추출물 농축물과 굴 패각 분말 무처리 대조 비규격 넙치 식해는 최적 조건에서 숙성 시킨 비규격 넙치 식해에 녹차 추출물 농축물과 굴 패각 분말을 처리하지 않은 식해를 말한다.

㉖ 젖산균 강화 식해

젖산균 강화 식해는 젖산균을 접종하여 제조한 비규격 넙치 식해를 말하며, 굴 패각 분말 처리 젖산균 강화 비규격 넙치 식해 (이하 굴 패각 처리 젖산균 강화 식해로 칭함), 굴 패각 분말 처리 젖산균 강화 비규격 넙치 식해 (이하 굴 패각 처리 젖산균 강화 식해로 칭함), 녹차 추출물 농축물 및 굴 패각 분말 무처리 젖산균 강화 비규격 넙치 식해 (이하 무처리 식해로 칭함)가 여기에 속한다.

㉗ 녹차 처리 젖산균 강화 식해

녹차 처리 젖산균 강화 식해는 녹차 추출물 농축물 처리 젖산균 강화 비규격 넙치 식해를 말하는 것으로, 최적 조건에서 숙성 시킨 젖산균 강화 비규격 넙치 식해에 녹차 추출물 농축물을 1.5% 가한 식해를 말한다.

㉘ 굴 패각 처리 젖산균 강화 식해

굴 패각 처리 젖산균 강화 식해는 굴 패각 분말 처리 젖산균 강화 비규격 넙치 식해를 말하는 것으로, 최적 조건에서 숙성 시킨 젖산균 강화 비규격 넙치 식해에 굴 패각 분말을 0.6% 가한 식해를 말한다.

㉙ 무처리 젖산균 강화 식해

무처리 젖산균 강화 식해는 녹차 추출물 농축물과 굴 패각 분말 무처리 젖산균 강화 비규격 넙치 식해를 말하는 것으로, 최적 조건에서 숙성 시킨 젖산균 강화 비규격 넙치 식해에 녹차 추출물 농축물과 굴 패각 분말을 처리하지 않은 식해를 말한다.

② 저장성 개선제로서 녹차 추출물 농축물 및 굴 패각 분말의 기본 특성

㉑ 녹차 추출물 농축물의 항균 특성

녹차 추출물 농축물의 농도 (0-2.0% 범위로 적용하되 0.5% 간격으로 적용)에 따른 항균 특성을 paper disk 법으로 검토한 결과는 표 6-44와 같다. 녹차 추출물 농축물의 농도를 달리하여 젖산균에 적용한 결과 0.5%의 경우 6.5 mm를 나타내어 약간의 항균 활성을 나타내었고, 1.0%의 경우 약간 증가하여 7.0 mm를 나타내었으며, 1.5%의 경우 급격히 증가하여 10.0 mm를, 그리고, 2.0%의 경우 10.5 mm를 나타내었다. 이와 같은 녹차 추출물 농축액의 농도에 따른 젖산균에 대한 항균 활성의 결과로 미루어 보아 녹차 추출물 농축액의 젖산균에 대한 항균 활성은 농도 의존적이었다. 이상의 녹차 추출물 농축물의 항균 활성의 결과로 미루어 본 실험에서는 비규격 납치 식해의 shelf-life 개선을 위하여 적용하는 녹차 추출물 농축물의 최적 농도는 1.5%로 하였다.

표 6-44. 녹차추출물 농축물의 농도에 따른 항균활성 변화

항균활성 (mm)	녹차추출물 농축물의 농도 (%)				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
	6.0±0.0	6.5±0.1	7.0±0.0	10.0±0.1	10.5±0.0

㉒ 굴 패각 분말의 기본 특성

굴 패각 분말의 일반성분 함량과 무기질 함량은 표 6-45와 같다. 굴 패각 분말의 일반성분은 수분이 1.1%, 단백질이 2.2%, 조지방이 0.8%, 그리고 회분이 95.6%로 이루어져 있어 패각의 대부분이 무기질로 이루어져 있었다. 한편, 패각의 단백질과 조지방은 패각에 붙어 있는 일부의 이물질로 판단되었다. 패각의 회분의 주성분을 살펴보기 위하여 무기질을 분석한 결과 무기질의 대부분은 칼슘으로 이루어져 있었고, 주성분이 탄산칼슘으로 추정되었다.

표 6-45. 굴 패각 분말의 일반성분과 무기질 함량

수분	일반성분 (g/100g)			무기질 (mg/100 g)				
	조단백 질	조지방	회분	Mg	Fe	Ca (g/100g)	K	P
1.1±0.1	2.2±0.2	0.8±0.0	95.6±0.1	123.3± 0.9	18.4 ±0.1	52.9 ±0.3	68.3 ±0.4	5.8 ±0.0

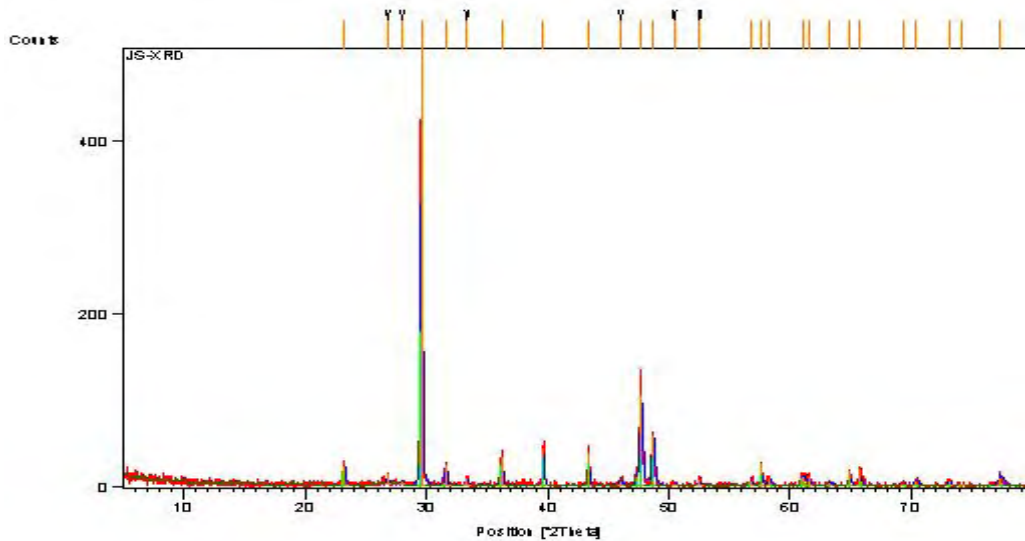


그림 6-51. 굴 패각 분말의 X-ray 회절 패턴

본 실험에서 비규격 납치 식해의 품질 안정제로 사용할 목적으로 구입한 굴 패각 분말의 주성분이 탄산칼슘이 맞는지 확인하기 위하여 X-ray diffraction (XRD)로 검토한 결과 표준품으로 사용한 탄산칼슘의 피크와 거의 일치하여 주성분이 탄산칼슘으로 이루어져 있다고 판단되었다. 일반적으로 탄산칼슘의 큰 특징 중의 하나가 pH 완충능이다. 이러한 일면에서 굴 패각이 완충능을 가지고 있는 경우 김치나 식해와 같은 발효 식품의 시어가는 현상을 개선할 수 있으리라 판단된다. 굴 패각의 농도 (0-1.0%, 0.2% 간격)에 따른 완충능을 살펴 본 결과는 그림 6-52와 같다. 최초 굴 패각의 pH는 농도에 따라 달랐으나 대체로 9.2-9.8 범위에 있었다. 이들 굴 패각의 pH는 굴 패각에 대하여 0.1 N HCl을 5 mL씩 가한 결과 pH가 급격히 7-8 부근으로 이동하였고, 이후 많은 양을 가하여도 pH 6-7부근을 유지하면서 서서히 감소하여 이 부근에서 강한 pH 완충능을 나타내었다. 이와 같은 결과는 탄산칼슘은 산이 공급됨에 따라 용해되면서 pH 6-7 부근에서 강한 완충능을 나타내기 때문이라 판단되었다. 따라서 비규격 납치 식해가 최적 숙성된 후 pH의 안정화를 이루어야 하는 시기에 굴 패각과 같은 탄산칼슘이 주성분인 물질을 가하는 경우 이의 pH 안정화에 의하여 다량의 젖산균의 증식을 억제하여 고품질을 유지할 수 있으리라 판단된다.

굴 패각의 농도 (0-1.0%, 0.2% 간격)에 따른 항젖산균 활성을 살펴 본 결과는 그림 6-53와 같다. 굴 패각의 농도를 달리하여 젖산균에 적용한 결과 0.2% 농도를

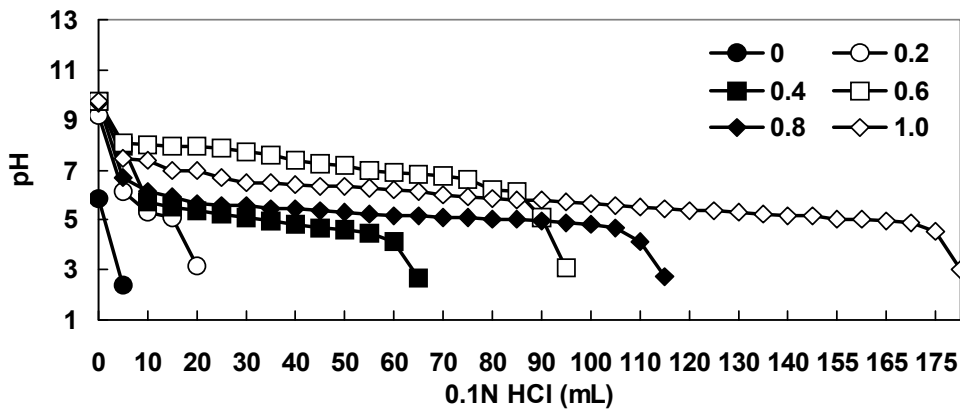


그림 6-52. 굴 패각 분말의 pH 완충능

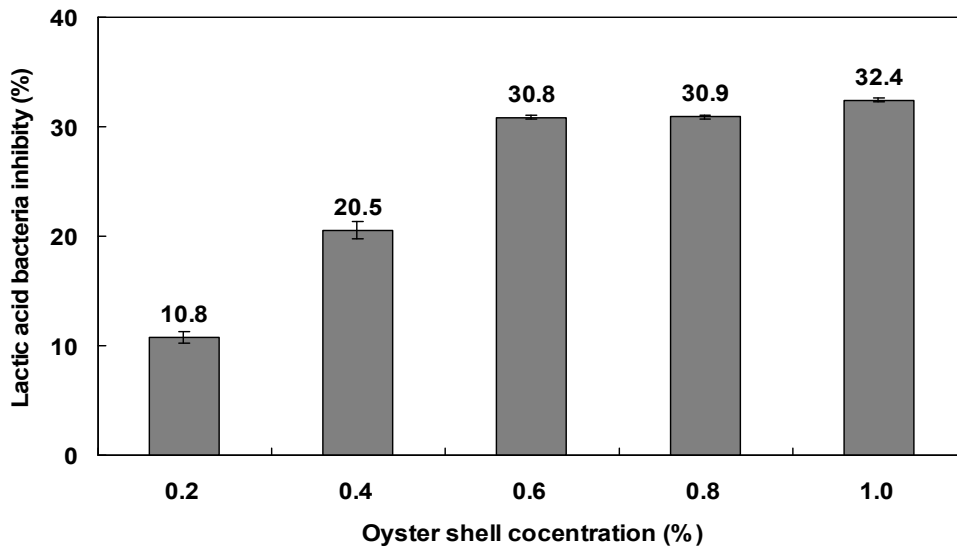


그림 6-53. 굴 패각 분말의 젖산균에 대한 항균활성

용한 10.8%, 0.4% 농도를 사용한 20.5%, 0.6% 농도를 사용한 30.8%가 억제되었고, 그 이상의 농도에서는 크게 향상되지 않았다. 이와 같은 굴 패각 분말의 농도에 따른 젖산균에 대한 항균 활성의 결과로 미루어 보아 굴 패각 분말의 젖산균에 대한 항균 활성은 농도 의존적이라 판단되었다. 이상의 굴 패각 분말의 탄산칼슘이 주성분인 점, 항균 활성과 pH 완충능을 가지고 있는 점 등으로부터 굴 패각 분말은 비규격 넙치 식해의 shelf-life 개선을 위한 우수한 소재 중의 하나일 가능성이 높다고 판단하였다.

③ 녹차 추출물 농축물과 굴 패각 분말을 이용한 대조 식해의 shelf-life의 개선

㉔ 녹차 추출물 농축물을 이용한 대조 식해의 shelf-life 개선

대조 식해의 shelf-life를 개선할 목적으로 녹차 추출물 농축액을 최적 조건으로 숙성한 비규격 넙치 식해에 각각 처리하여 녹차 처리 대조 식해 및 무처리 대조 식해를 제조하여 실험

에 사용하였다. 이들 2종의 대조 시료는 모두 빙결점 부근의 온도 (-2℃), 식중독 세균의 발육 하한 온도 (5℃) 및 숙성 온도 (15℃)와 같은 여러 가지 온도에 각각 저장하여 두고 이들의 pH, 총산도, 젖산균수 및 관능적 기호도 평가를 실시하였고, 이를 근거로 shelf-life의 구명 및 이의 개선 정도에 대하여 살펴보았다.

- 녹차 추출물 농축물 처리에 의한 저장 중 대조 식해의 생화학적 특성 변화

여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 저장 시간에 따른 녹차 처리 대조 식해와 무처리 대조 식해의 pH 변화는 그림 6-54와 같다. 일반적으로 넙치 식해의 기호도와 pH를 상관시켰을 때 pH 4.2 이하로 저하하는 경우 기호도가 급감하는 경향을 나타내었다. 15℃에서 저장 중 무처리 대조 식해의 pH는 제조 직후의 경우 4.30이었고, 이후 감소하여 저장 10일째 이후에는 3.92 이하를 나타내어 소비자가 기호적으로 식용하는데 다소 문제가 있으리라 판단되었다. 이에 반하여 15℃에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 4.44로, 무첨가 넙치 식해의 pH보다 약간 높았고, 저장 중 서서히 감소하여 저장 10일째에 4.21을 나타내었으나, 30일째 이후에는 4.07 이하를 유지하였다. 이와 같이 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의하여 pH가 다소 상승하는 것은 이 농축물의 pH에 의한 영향과 젖산균에 대한 다소의 항균 작용에 의한 영향이라 판단되었다. 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의한 15℃에서 저장 중 대조 식해의 shelf-life 개선은 크게 기대하기 어려우리라 판단되었다.

5℃에서 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 (4.30)부터 서서히 감소하여 저장 10일째의 경우 4.23을 유지하였으나, 이후 저장 20일째 이후에는 4.17 이하로 유지되었다. 이에 반하여 5℃에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 4.44이었고, 저장 중 서서히 감소하여 저장 20일째에 4.28을, 저장 30일째에 4.24를, 그리고, 40일째 이후에는 4.15 이하를 유지하였다. 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의한 5℃에서 저장 중 대조 식해의 shelf-life 개선은 다소 기대되었다.

-2℃에서 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 (4.30)부터 서서히 감소하여 저장 30일째에 4.22를 나타내었고, 저장 40일째 이후에는 4.12 이하를 나타내었다. 이에 반하여 -2℃에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 (4.44)부터 약간의 증감을 하여 저장 50일째에 4.28을 나타내었고, 저장 60일째에 4.16을 나타내었다. 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의한 -2℃에서 저장 중 대조 식해의 shelf-life 개선은 상당히 개선되었다고 판단되었다. 이상의 저장 중 녹차 농축물 무첨가 및 첨가 대조 식해의 pH에 대한 변화의 결과로 미루어 보아 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의하여 신맛에 의한 shelf-life 개선 효과는 다소 있었고, 그 효과는 저온으로 내려갈수록 상승되었다.

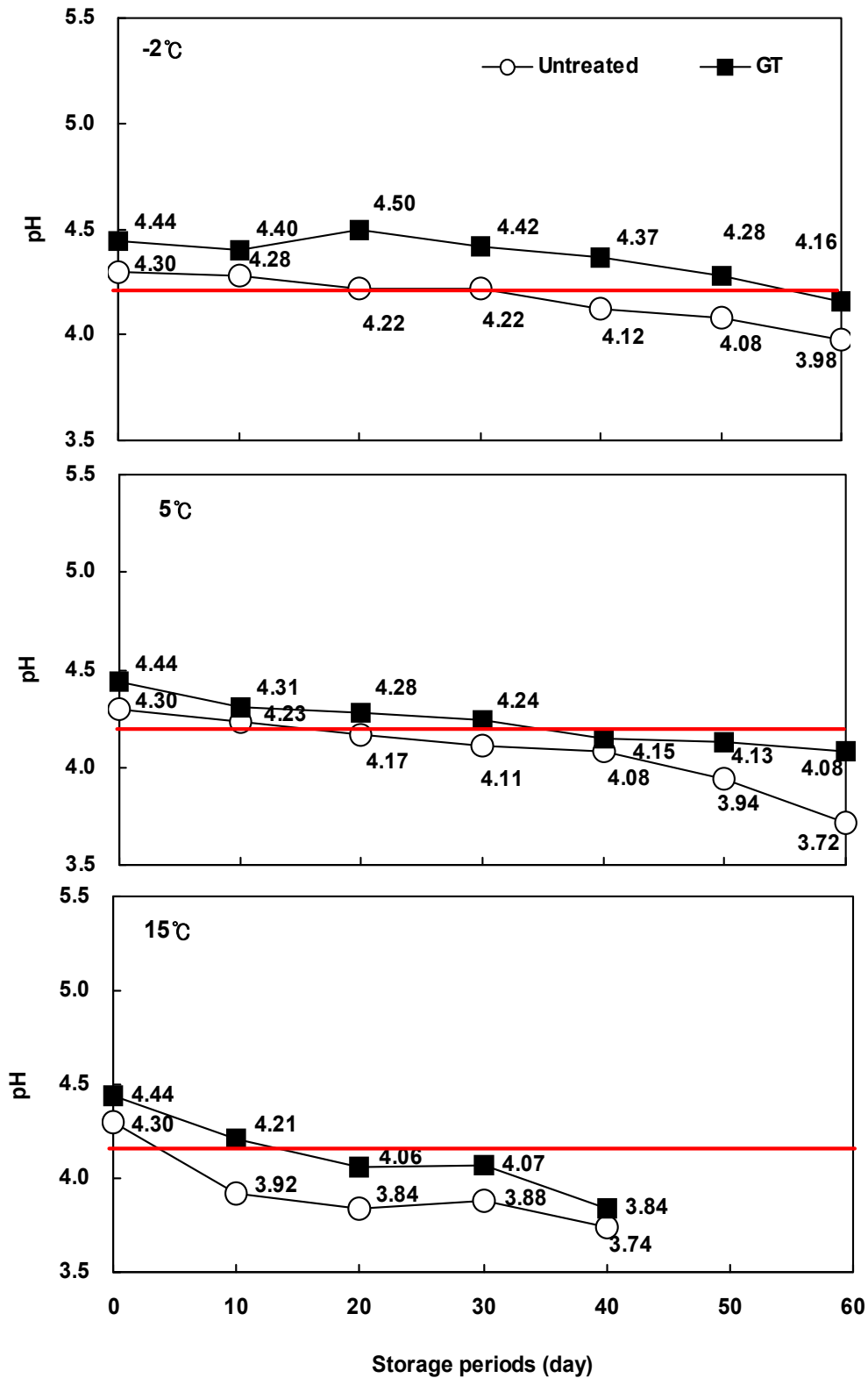


그림 6-54 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 대조 식해의 pH 변화

GT : 녹차 농축물 (Concentrated green tea extracts)

여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 시간에 따른 녹차 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해의 총산도 변화는 그림 6-55와 같다. 15℃에서 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 총산도는 제조 직후의 경우 2.45 g/100g이었고, 이후 저장 10일째 (2.70 g/100g)에 1차적으로 증가한 다음 이후 30일째까지 2.80 g/100g 이하를 나타내어 크게 변화가 없었으나, 40일째 (4.07 g/100g)에는 다시 증가하는 경향을 나타내었다. 이에 반하여 15℃에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 총산도는 제조 직후의 경우 1.96 g/100g이었고, 이후 저장 10일째 (2.42 g/100 g)에 1차적으로 증가한 다음 이후 30일째까지 2.49 g/100g 이하를 나타내어 크게 변화가 없었으나, 저장 40일째 에 3.93 g/100g으로 다시 증가하였다. 15℃에서 저장 중 대조 식해의 총산도는 무첨가 대조 식해의 그것에 비하여 녹차 추출물 농축물 첨가에 의하여 대조 식해의 총산도가 다소 억제되어 낮았으나, 그 변화 경향은 아주 유사하였다. 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의한 15℃에서 저장 중 대조 식해의 총산도는 저장 중 다소 억제되었다. 5℃에서 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 총산도는 저장 직후 (2.45 g/100g)부터 저장 30일째 (2.50 g/100g 범위)까지의 경우 거의 변화가 없었고, 이후 저장 40일째 (2.60 g/100g)부터 서서히 증가하여 저장 60일째에 3.22 g/100g을 나타내었다. 이에 반하여 5℃에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 총산도는 제조 직후 (1.96 g/100g)부터 서서히 증가하여 저장 60일째에 2.94 g/100g을 나타내었다.

5℃에서 저장 중 대조 식해의 총산도는 녹차 무첨가 식해의 그것에 비하여 값은 다소 낮았으나 그 변화 패턴은 아주 유사하였다.

-2℃에서 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 총산도는 저장 직후 (2.45 g/100g)부터 저장 50일째까지 (2.49 g/100g 범위)의 경우 거의 변화가 없었고, 이후 저장 60일째 (2.74 g/100g)에 다소 증가하였다. 이에 반하여 -2℃에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 총산도는 저장 직후 (1.96 g/100g)부터 저장 40일째 (2.06 g/100g)까지 거의 변화가 없었고, 이후 서서히 증가하여 저장 60일째에 2.58 g/100g을 나타내었다. -2℃에서 저장 중 대조 식해의 총산도는 녹차 무첨가 식해에 비하여 녹차 첨가 식해가 다소 낮았으나 그 변화 패턴은 아주 유사하였다. 이상의 저장 중 녹차 농축물 무첨가 및 첨가 대조 식해의 총산도에 대한 변화의 결과로 미루어 보아 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의하여 총산도의 변화 억제 효과는 다소 있었고, 그 효과는 저온으로 내려갈수록 상승되었다.

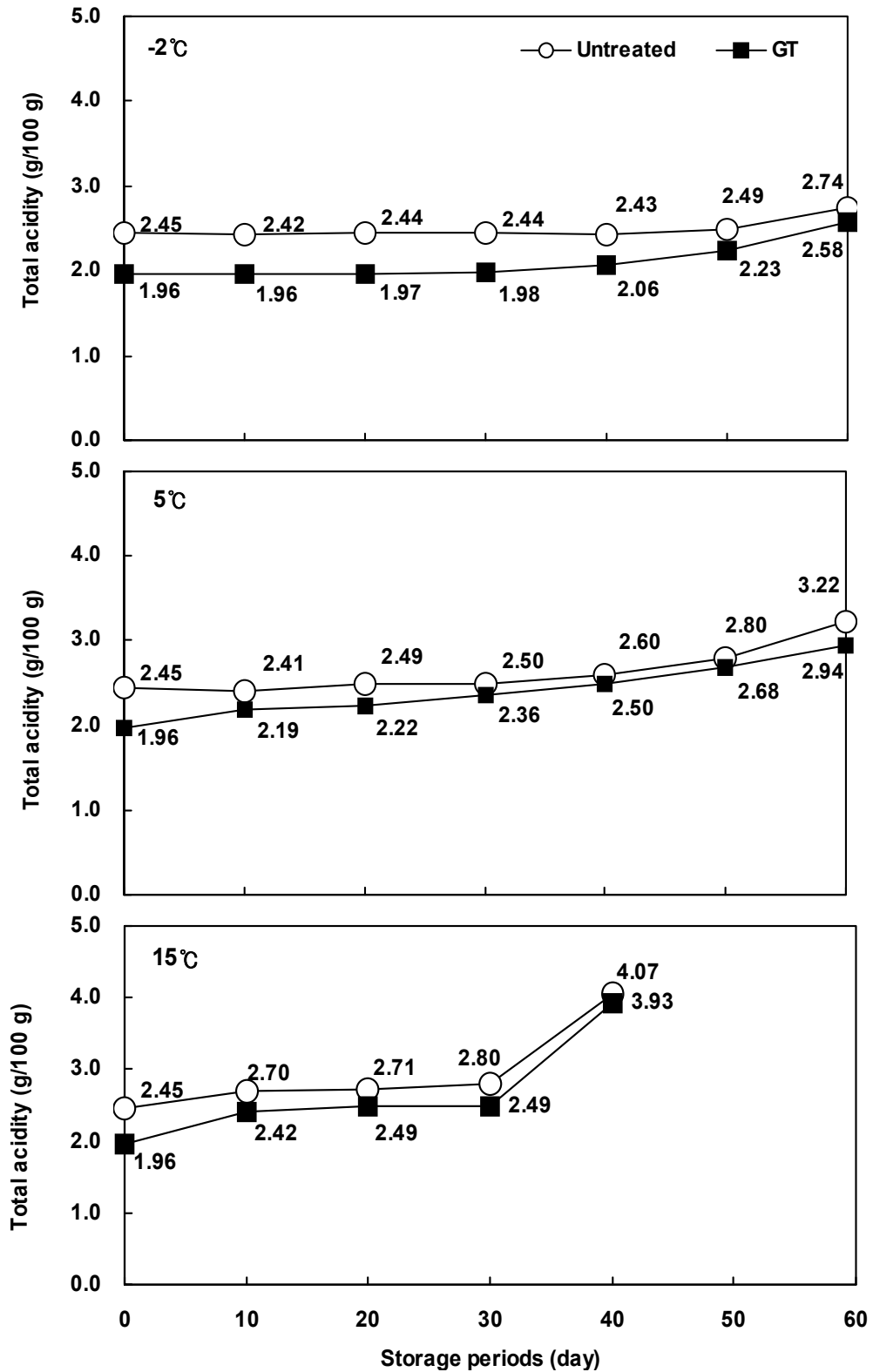


그림 6-55. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 대조 식해의 총산도 변화

GT : 녹차 농축물 (Concentrated green tea extracts)

여러 가지 저장 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 저장 기간에 따른 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 젖산균수 변화는 그림 6-56과 같다. 15℃에서 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 젖산균수는 저장 직후에 8.84 log(CFU/g)이었고, 이후 증가하여 저장 10일째에 9.99 log(CFU/g)으로 최고치에 도달한 다음 서서히 감소하여 저장 30일째에 8.58 log(CFU/g), 저장 40일째에 8.61 log(CFU/g)에 도달하였다. 이에 반하여 같은 온도에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 젖산균수는 저장 직후 [8.51 log(CFU/g)] 부터 저장 30일째까지 증가하여 저장 30일째에 9.96 log(CFU/g)으로 최고치에 도달한 후 감소하여 저장 40일째에 8.72 log(CFU/g)을 나타내었다. 녹차 추출물 농축물의 첨가는 15℃에서 저장 중인 대조 식해의 젖산균 증식 억제에 다소 관여한다고 판단되었다.

5℃에서 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [8.84 log(CFU/g)] 부터 저장 20일째까지는 급격히 증가하여 저장 20일째에 9.81 log(CFU/g)로 최대치 나타내었고, 이후 저장 40일째까지는 급격히 감소하여 저장 40일째에 8.91 log(CFU/g)을 나타낸 다음, 저장 60일째까지 서서히 감소하여 저장 60일째에 8.52 log(CFU/g)에 도달하였다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [8.51 log(CFU/g)] 부터 증가하기 시작하여 저장 30일째에 9.93 log(CFU/g)으로 최고치에 도달한 다음 저장 40일째에 8.86 log(CFU/g)으로 급격히 감소하였고, 이후 서서히 감소하여 저장 60일째에 8.71 log(CFU/g)에 도달하였다. 녹차 추출물 농축물의 첨가는 5℃에서 저장 중인 대조 식해의 젖산균 증식 억제에 다소 관여하였고, 그 정도는 15℃에 저장한 경우보다 우수하다고 판단되었다.

-2℃에서 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [8.84 log(CFU/g)] 부터 저장 40일째까지 서서히 증가하여 저장 40일째에 9.79 log(CFU/g)를 나타내었고, 이후 저장 60일째까지 급격히 감소하여 저장 60일째에 8.92 log(CFU/g)를 나타내었다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 녹차 첨가 대조 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [8.81 log(CFU/g)] 부터 저장 40일째까지 감소하여 저장 40일째에 8.73 log(CFU/g)를 나타내었고, 이후 급격히 증가하여 저장 60일째에 9.91 log(CFU/g)을 나타내었다. 녹차 추출물 농축물의 첨가는 -2℃에서 저장 중인 대조 식해의 젖산균 증식 억제에 다소 관여하였고, 그 정도는 15℃ 및 5℃에 저장한 경우보다 우수하다고 판단되었다. 이상의 저장 중 대조 식해의 젖산균수에 대한 변화의 결과로 미루어 보아 대조식해의 젖산균수 변화는 녹차 추출물 농축물에 의하여 억제된다고 판단되었고, 그 억제 효과는 온도가 낮을수록 우수하다고 판단되었다.

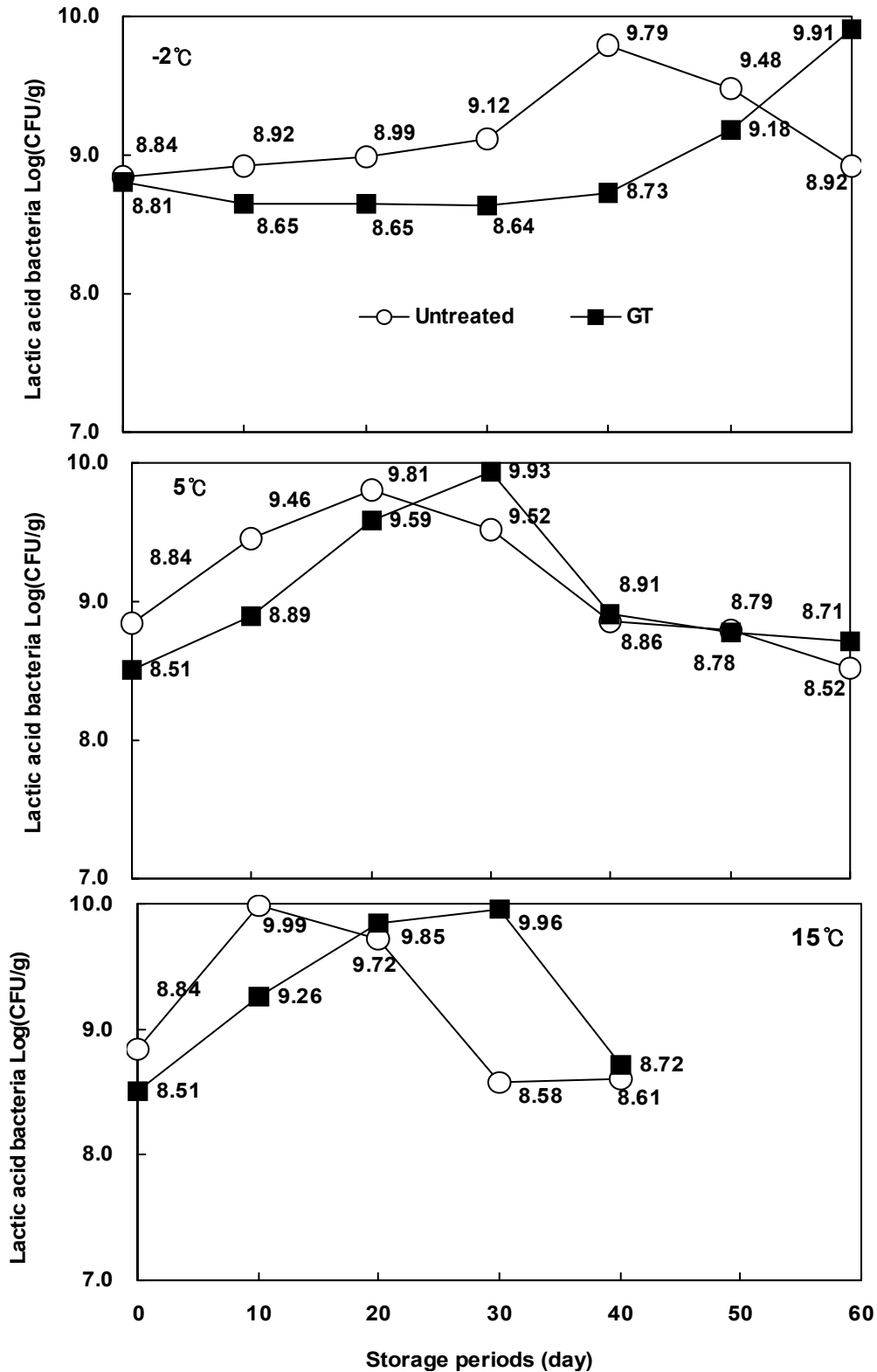


그림 6-56. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 대조 식해의 젖산균수 변화

GT : 녹차 농축물 (Concentrated green tea extracts)

㉔ 녹차 추출물 농축물 처리에 의한 저장 중 대조 식해의 관능적 특성 변화

여러 가지 저장 온도 (-2, 5 및 15℃) 및 저장 기간에 따른 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 관능 평가 (긍정적인 기호도를 나타낸 관능요원의 수로 표기)의 결과는 표 6-46과 같다. 15℃에 저장한 녹차 농축물 무첨가 넙치 식해는 저장 50일째에 곰팡이가 발생하여 이후의 관능 평가를 비롯한 화학적 실험은 수행하지 않았다. 15℃에 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 기호도를 긍정적으로 나타낸 관능 요원은 저장 직후에는 8명이었으나, 저장 10일째 이후에는 젖산균의 작용에 의하여 생성되는 신맛 등의 작용으로 1명 이하로 표기되었다. 이에 반하여 동일 온도에 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 저장 직후는 물론이고, 10일째까지 8명으로 나타났으나, 이후 신맛 등의 증강으로 저장 20일째 이후에는 3명 이하로 나타났다. 이상의 대조 식해에 대한 관능 평가 결과로 미루어 보아 15℃에 저장 중 대조 식해의 shelf-life는 녹차 무첨가 대조 식해의 경우 저장성이 인정되지 않았고, 녹차 첨가 대조 식해의 경우 10일로 판단되었다.

5℃에 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 저장 직후는 물론이고, 저장 10일째에도 8명이 유지되었으나, 신맛의 강화에 의하여 20일째 이후에는 3명 이하로 유지되었다. 이에 반하여 동일온도에 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 30일째까지 8명 이상을 유지하였고, 저장 40일째 이후에는 5명 이하로 유지되었다. 이상의 대조 식해에 대한 관능 평가 결과로 미루어 보아 5℃에 저장 중 대조 식해의 shelf-life는 녹차 무첨가 대조 식해의 경우 10일로 인정되었고, 녹차 첨가 대조 식해의 경우 30일로 판단되었다. 한편, -2℃에 저장 중 녹차 무첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 저장 30일째까지 6명 이상이 유지되었으나, 신맛의 강화에 의하여 40일째 이후에는 4명 이하로 나타났다.

표 6-46. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 중 대조 식해의 기호도 변화

Storage day	녹차 농축물 무첨가 식해			녹차 농축물 첨가 식해		
	-2℃	5℃	15℃	-2℃	5℃	15℃
0	8	8	8	8	8	8
10	8	8	1	8	8	8
20	8	3	1	8	8	3
30	6	2	0	8	8	2
40	3	2	0	8	5	1
50	4	1	ND	6	3	ND
60	1	0	ND	5	1	ND

ND: Not determined

이에 반하여 동일 온도에 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 50일째까지 6명 이상이 유지되었으나, 60일째에 5명으로 나타났다. 넙치 식해의 저장 중 shelf-life는 녹차 농축물 첨가에 의하여 개선되었고, 그 정도는 온도가 낮을수록 컸다. 이와 같은 기호도를 긍정적으로 나타낸 관능 요원의 수로 살펴 본 녹차 무첨가 및 첨가 대조 식해의 shelf-life는

15℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 저장성이 인정되지 않았거나 10일로 판단되었고, 5℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 10일 30일로 판단되었으며, -2℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 30일 및 50일로 판단되었다.

㉔ 녹차 처리 및 무처리 대조 식해의 shelf-life

녹차 첨가 대조 식해 및 무첨가 대조 식해의 여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 및 저장 시간에 따른 pH, 총산도, 젖산균수 및 관능 평가의 결과로부터 정리한 각 저장 온도 (-2, 5 및 15℃)에서의 shelf-life는 표 6-47과 같다. 녹차 무첨가 및 첨가 대조 식해들의 각 저장 온도에서 shelf-life는 15℃에서 저장한 경우 각각 인정되지 않았거나 10일로, 5℃에 저장한 경우 각각 10일 및 30일 로, -2℃에 저장한 경우 각각 30일 및 50일 범위로 판단되었다.

표 6-47. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 중 대조 식해의 Shelf-life

	녹차 농축물 무첨가 식해			녹차 농축물 첨가 식해		
	-2℃	5℃	15℃	-2℃	5℃	15℃
Shelf-life (일)	30	10	0	50	30	10

㉕ 녹차 처리 및 무처리 대조 식해의 저장 중 건강 기능성 변화

저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 50일, 5℃의 경우 각각 10일 및 30일, 15℃의 경우 모두 10일)에 의한 대조 식해의 angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-57과 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 ACE 저해 활성은 각각 73.5% 및 70.0%로, 녹차 첨가 대조 식해가 무첨가 대조 식해에 비하여 약 4%가 높았다. 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해의 ACE 저해 활성은 15℃에서 저장 경우 88.3%, 5℃에서 저장한 경우 87.7%, -2℃에서 저장한 경우 89.0%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 18-19% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 대조 식해 간의 ACE 저해 활성 (87.7-88.3% 범위)은 1% 미만으로 차이가 인정되지 않았다.

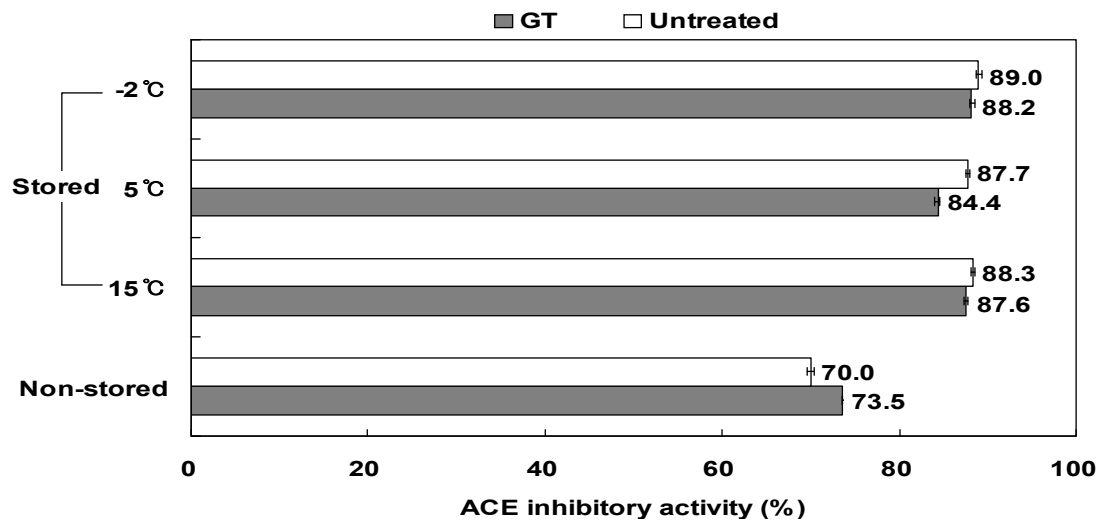


그림 6-57. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 ACE 저해활성

GT : 녹차 농축물 (Concentrated green tea extracts)

이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 ACE 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 87.6%, 5°C에서 저장한 경우 84.4%, -2°C에서 저장한 경우 88.2%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 10-14% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 첨가 대조 식해 간의 ACE 저해 활성 (84.4-88.2% 범위)은 약 4% 정도의 범위에서 차이가 있었다. 저장 처리한 대조 식해의 ACE 저해 활성은 녹차 처리 대조 식해 (84.4-88.0% 범위)가 무첨가 대조 식해 (87.7-89.0% 범위)에 비하여 약간 낮거나 유사하였다. 저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 50일, 5°C의 경우 각각 10일 및 30일, 15°C의 경우 모두 10일)에 의한 대조 식해의 DPPH 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-58과 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 DPPH 저해 활성은 각각 74.3% 및 69.5%로, 녹차 첨가 대조 식해가 무첨가 대조 식해에 비하여 약 5%가 높았다. 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해의 DPPH radical 저해 활성은 15°C에서 저장 경우 80.1%, 5°C에서 저장한 경우 77.0%, -2°C에서 저장한 경우 78.2%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-11% 범위에서 개선되었다. 따라서, 유통 중 녹차 무첨가 대조 식해의 DPPH radical 저해 활성은 오히려 개선되리라 판단되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 대조 식해 간의 DPPH radical 저해 활성 (77.0-80.1% 범위)은 약 3%로 차이가 인정되지 않았다.

이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 DPPH radical 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 84.0%, 5°C에서 저장한 경우 84.5%, -2°C에서 저장한 경우 82.4%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-10% 범위에서 개선되었다. 따라서, 유통 중 녹차 첨가 대조 식해의 DPPH radical 저해 활성은 오히려 개선되리라 판단되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 첨가 대조 식해 간의 DPPH radical 저해 활성 (82.4-84.5% 범위)은 약 2% 정도로 미미하게 차이가 있었다.

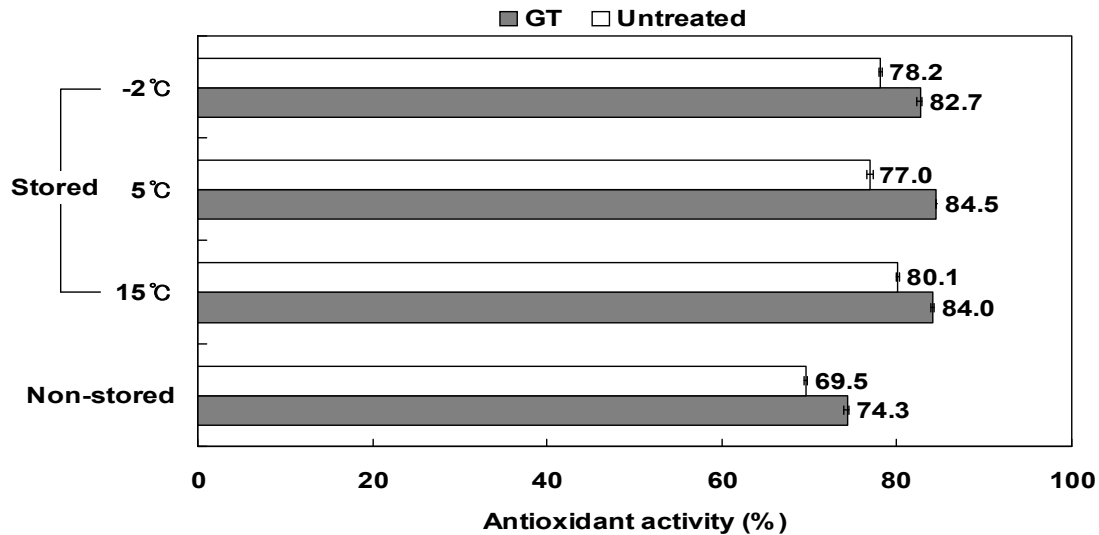


그림 6-58. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 DPPH 라디칼 소거능

GT : 녹차 농축물 (Concentrated green tea extracts)

저장 처리한 대조 식해의 DPPH radical 저해 활성은 녹차 첨가 대조 식해 (82.4-84.5% 범위)가 무처리 대조 식해 (77.0-80.1% 범위)에 비하여 높아 녹차 첨가에 의한 DPPH radical 저해 활성의 개선이 기대되었다.

저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 50일, 5°C의 경우 각각 10일 및 30일, 15°C의 경우 모두 10일)에 의한 대조 식해의 항당뇨 활성을 살펴본 결과는 그림 6-59와 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 항당뇨 활성은 각각 35.8% 및 21.3%로, 녹차 첨가 대조 식해가 무첨가 대조 식해에 비하여 약 15%가 높아 의미가 있었다. 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해의 항당뇨 활성은 15°C에서 저장한 경우 31.3%, 5°C에서 저장한 경우 31.2%, -2°C에서 저장한 경우 29.4%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-10% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 대조 식해 간의 항당뇨 활성 (29.4-31.3% 범위)은 약 2%로 그 차이가 아주 미미하였다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 항당뇨 활성은 15°C에서 저장한 경우 44.4%, 5°C에서 저장한 경우 41.2%, -2°C에서 저장한 경우 38.4%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 3-9% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 첨가 대조 식해 간의 항당뇨 활성 (38.4-44.4% 범위)은 약 6% 정도로 무시할 정도는 아니었다.

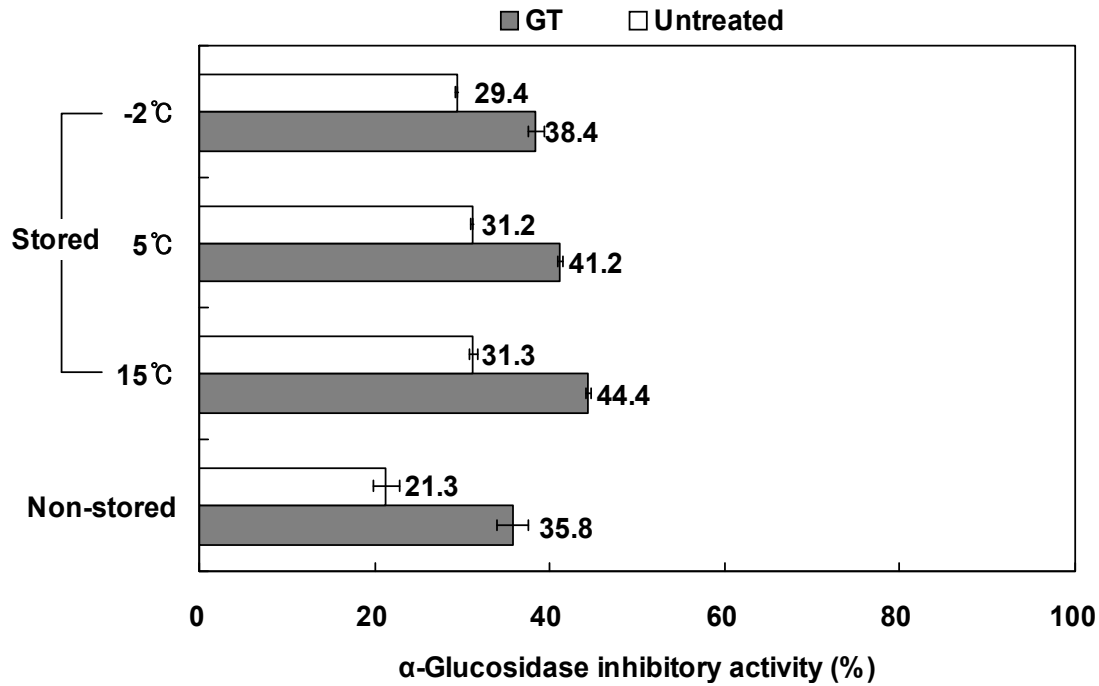


그림 6-59. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 항당뇨 활성

GT : 녹차 농축물 (Concentrated green tea extracts)

저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 50일, 5°C의 경우 각각 10일 및 30일, 15°C의 경우 모두 10일)에 의한 대조 식해의 통풍 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-60과 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 통풍 저해 활성은 각각 85.4% 및 90.4%로, 녹차 첨가 대조 식해가 무첨가 대조 식해에 비하여 5%가 저하하였다. 그러나, 대조 식해의 통풍 활성은 녹차 첨가 유무에 관계없이 85% 이상을 유지하여 큰 의미는 없으리라 판단되었다. 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해의 통풍 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 93.1%, 5°C에서 저장한 경우 85.0%, -2°C에서 저장한 경우 94.7%로, 5°C에서 저장한 경우를 제외한다면 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 3-4% 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 대조 식해 간의 통풍 저해 활성 (85.0-94.7% 범위)은 약 10% 정도에서 차이가 있었는데 특히 5°C에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해가 낮았다.

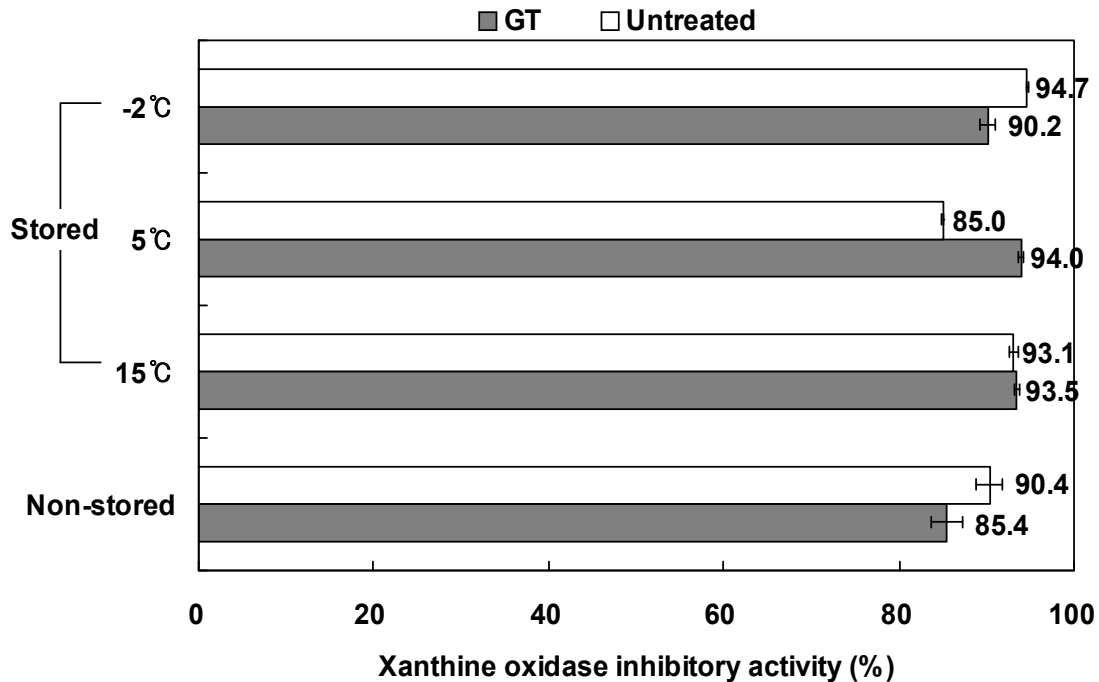


그림 6-60. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 항통풍 활성

GT : 녹차 농축물 (Concentrated green tea extracts)

이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 통풍 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 93.5%, 5°C에서 저장한 경우 94.0%, -2°C에서 저장한 경우 90.2%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 5-9% 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 대조 식해 간의 항당뇨 활성 (90.2-94.0% 범위)은 약 4% 정도 차이가 있었다. 저장 처리한 대조 식해의 통풍 저해 활성은 녹차 처리 대조 식해 (90.2-94.0% 범위)와 °에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해를 제외한다면 무첨가 대조 식해 (85.0-94.7% 범위) 간에 크게 차이가 없었다. 저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 50일, 5°C의 경우 각각 10일 및 30일, 15°C의 경우 모두 10일)에 의한 대조 식해의 아질산염 소거 활성을 살펴 본 결과는 그림 6-61과 같다.

저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 아질산염 소거 활성은 각각 93.8% 및 94.6%로, 녹차 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해 간에 차이가 1% 미만으로 인정되지 않았다. 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해의 아질산염 소거 활성은 15°C에서 저장한 경우 97.3%, 5°C에서 저장한 경우 96.7%, -2°C에서 저장한 경우 96.8%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 2% 이상이 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 대조 식해 간의 아질산염 소거 활성 (96.7-97.3% 범위)은 차이가 1% 미만으로 아주 미미하였다.

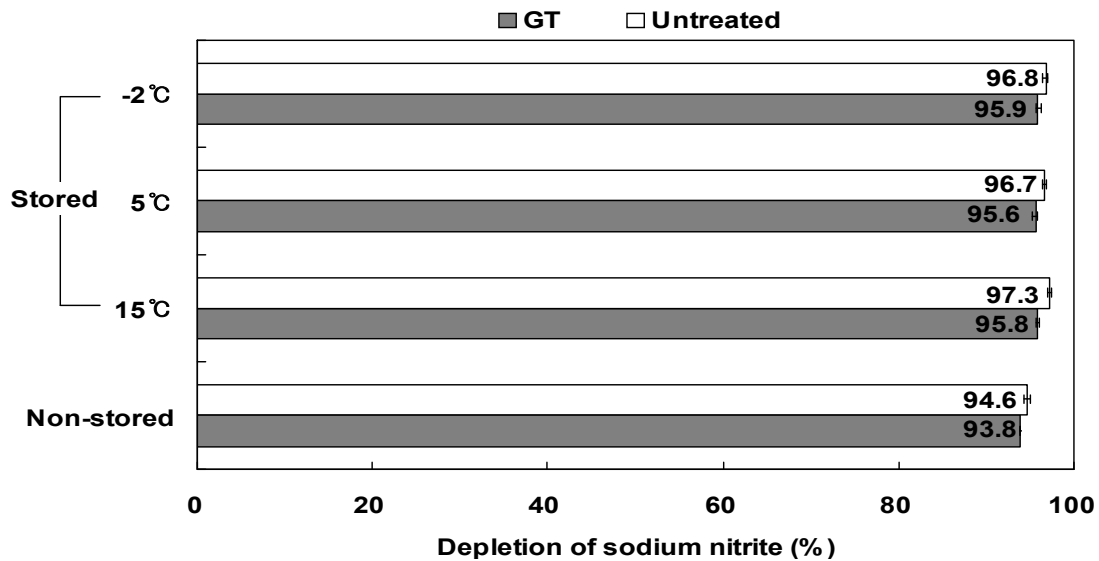


그림 6-61. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 아질산염 소거 활성

GT : 녹차 농축물 (Concentrated green tea extracts)

이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 아질산염 소거 활성은 15°C에서 저장한 경우 95.8%, 5°C에서 저장한 경우 95.6%, -2°C에서 저장한 경우 95.9%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 2% 정도 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 대조 식해 간의 아질산염 소거 활성 (95.6-95.9% 범위)은 약 1% 미만으로 차이가 인정되지 않았다. 저장 처리한 대조 식해의 아질산염 소거 활성은 녹차 처리 대조 식해 (95.6-95.9% 범위)와 무첨가 대조 식해 (96.7-97.3% 범위) 간에 약간 차이가 있었으나 두 종류의 식해가 모두 95% 이상으로 상당히 높아 크게 의미가 없었다. 저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 50일, 5°C의 경우 각각 10일 및 30일, 15°C의 경우 모두 10일)에 의한 대조 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli* 등과 같은 미생물에 대한 항균 활성을 살펴본 결과는 표 6-48과 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성은 각각 8.3 mm 및 8.0 mm로, 녹차 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해 간에 아주 미미하게 차이가 있었다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 9.0 mm, 5°C에서 저장한 경우 8.8 mm, -2°C에서 저장한 경우 8.5 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.5-1.0 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 대조 식해 간의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성 (8.5-9.0 mm)의 차이는 0.5 mm로 상당히 적었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 9.0 mm, 5°C에서 저장한 경우 9.5 mm, -2°C에서 저장한 경우 8.9 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.6-1.2 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 대조 식해 간의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성 (8.9-9.5 mm 범위)은 약 0.6 mm 정도 차이가 있었다. 저

장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 각각 8.5 mm 및 8.0 mm로, 녹차 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해 간에 0.5 mm의 차이가 있었다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 9.5 mm, 5°C에서 저장한 경우 9.2 mm, -2°C에서 저장한 경우 8.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.3-1.5 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 대조 식해 간의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성 (8.3-9.5 mm)의 차이는 1.2 mm 정도이었다.

표 6-48. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 항균활성

식해	저장 조건	항균활성 (mm)			
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
녹차 농축물 무첨가 식해	저장 직전	8.0±0.0	8.0±1.7	8.0±0.0	
	저장 후	-2°C	8.5±0.1	8.3±0.2	8.3±0.5
		5°C	8.8±0.3	9.2±0.1	8.5±0.2
		15°C	9.0±0.1	9.5±0.1	9.0±0.2
녹차 농축물 첨가 식해	저장 직전	8.3±0.0	8.5±1.0	8.5±0.2	
	저장 후	-2°C	8.9±0.0	9.3±0.3	8.9±0.0
		5°C	9.5±0.0	9.5±0.1	9.3±0.0
		15°C	9.0±0.3	9.3±0.2	9.8±0.2

이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 9.3 mm, 5°C에서 저장한 경우 9.5 mm, -2°C에서 저장한 경우 9.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.8-1.0 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 대조 식해 간의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성 (9.3-9.5 mm 범위)의 차이는 약 0.2 mm 정도로 아주 미미하였다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 대조 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 각각 8.5 mm 및 8.0 mm로, 녹차 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해 간에 0.5 mm의 차이가 있었다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 대조 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 9.0 mm, 5°C에서 저장한 경우 8.5 mm, -2°C에서 저장한 경우 8.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.3-1.0 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 대조 식해 간의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성 (8.3-9.0 mm)의 차이는 0.7 mm 정도이었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 *Escherichia*

*coli*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 9.8 mm, 5℃에서 저장한 경우 9.3 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.9 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.9-1.8 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 대조 식해 간의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성 (8.9-9.8 mm 범위)의 차이는 약 0.9 mm 정도 이었다. 이상의 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 대조 식해의 항균성은 검토한 3종 모두에 대하여 인정되었고, 이는 저장한 것이 하지 않은 것보다 대체로 높아 유통 중 이들의 활성 저하에 대한 우려는 없으리라 판단되었다.

㉓ 굴 패각 분말을 이용한 대조 식해의 shelf-life 개선

굴 가공 중 발생하는 굴 패각은 주성분이 탄산칼슘이어서 아주 우수한 칼슘 공급원이면서 pH 완충능이 있고, 김치 등과 같은 발효식품에서 연화에 관여하는 pectin과 결합하여 이의 강화에 관여하는 등의 특성을 가지고 있다. 이러한 일면에서 전통발효식품인 김치와 식해 등의 최적 숙성기에 굴 패각 분말을 품질 저하 억제제로 사용하는 경우 최적 숙성기의 pH 유지, pectin의 연화 억제 및 젖산균의 발육 억제로 김치와 식해의 shelf-life 연장에도 기인할 수 있으리라 판단된다. 이러한 일면에서 대조 식해의 shelf-life를 개선할 목적으로 pH 완충능이 있는 굴 패각 분말을 최적 조건으로 숙성한 비규격 넙치 식해에 처리하여 굴 패각 처리 대조 식해 및 무처리 대조 식해를 제조하여 실험에 사용하였다. 이들 2종의 대조 시료는 모두 빙결점 부근의 온도 (-2℃), 식중독 세균의 발육 하한 온도 (5℃) 및 숙성 온도 (15℃)와 같은 여러 가지 온도에 각각 저장하여 두고 이들의 pH, 총산도, 젖산균수 및 관능적 기호도 평가를 실시하였고, 이를 근거로 shelf-life의 구명 및 이의 개선 정도에 대하여 살펴보았다.

- 굴 패각 분말 처리에 의한 저장 중 대조 식해의 생화학적 특성 변화

여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 저장 시간에 따른 굴 패각 처리 대조 식해와 무처리 대조 식해의 pH 변화는 그림 6-62와 같다. 일반적으로 대조 식해의 기호도와 pH를 상관시켰을 때 pH 4.2 이하로 저하하는 경우 기호도가 급감하는 경향을 나타내었다. 15℃에서 저장 중 무처리 대조 식해의 pH는 제조 직후의 경우 4.30이었고, 이후 감소하여 저장 10일째 이후에는 3.92 이하를 나타내어 소비자가 기호적으로 식용하는데 다소 문제가 있으리라 판단되었다. 이에 반하여 15℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 4.87로, 무첨가 넙치 식해의 pH보다 0.57이 높았고, 저장 중 서서히 감소하여 30일째에 4.56을 나타내었으며, 40일째 이후에는 4.07 이하를 유지하였다. 이와 같이 굴 패각 분말의 첨가에 의하여 pH가 다소 상승하는 것은 굴 패각 자체의 pH 뿐만이 아니라 이의 pH 완충능 때문이라 판단되었다. 굴 패각의 첨가에 의한 15℃에서 저장 중 대조 식해의 shelf-life는 약 30일 정도 개선이 가능하리라 판단되었다.

5℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 (4.30)부터 서서히 감소하여 저장 10일째의 경우 4.23을 유지하였으나, 이후 저장 20일째 이후에는 4.17 이하로 유지되었다. 이에 반하여 5℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 (4.87)부터 서서

히 감소하여 저장 40일째의 경우 4.37을 유지하였으나, 이후 저장 50일째 이후에는 4.19 이하로 유지되었다. 굴 패각 분말의 첨가에 의한 5℃에서 저장 중 대조 식해의 shelf-life 개선은 다소 기대되었다.

-2℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 (4.30)부터 서서히 감소하여 저장 30일째에 4.22를 나타내었고, 저장 40일째 이후에는 4.12 이하를 나타내었다. 이에 반하여 -2℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 pH는 제조 직후 (4.87)부터 감소하여 저장 60일째에 4.29를 나타내었다. 굴 패각 분말의 첨가에 의한 -2℃에서 저장 중 대조 식해의 shelf-life는 약 30일이 개선되었다고 판단되었다. 이상의 저장 중 굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 pH에 대한 변화의 결과로 미루어 보아 굴 패각 분말의 첨가에 의하여 신맛에 의한 shelf-life 개선 효과는 다소 있었고, 그 효과는 저온으로 내려갈수록 상승되었다.

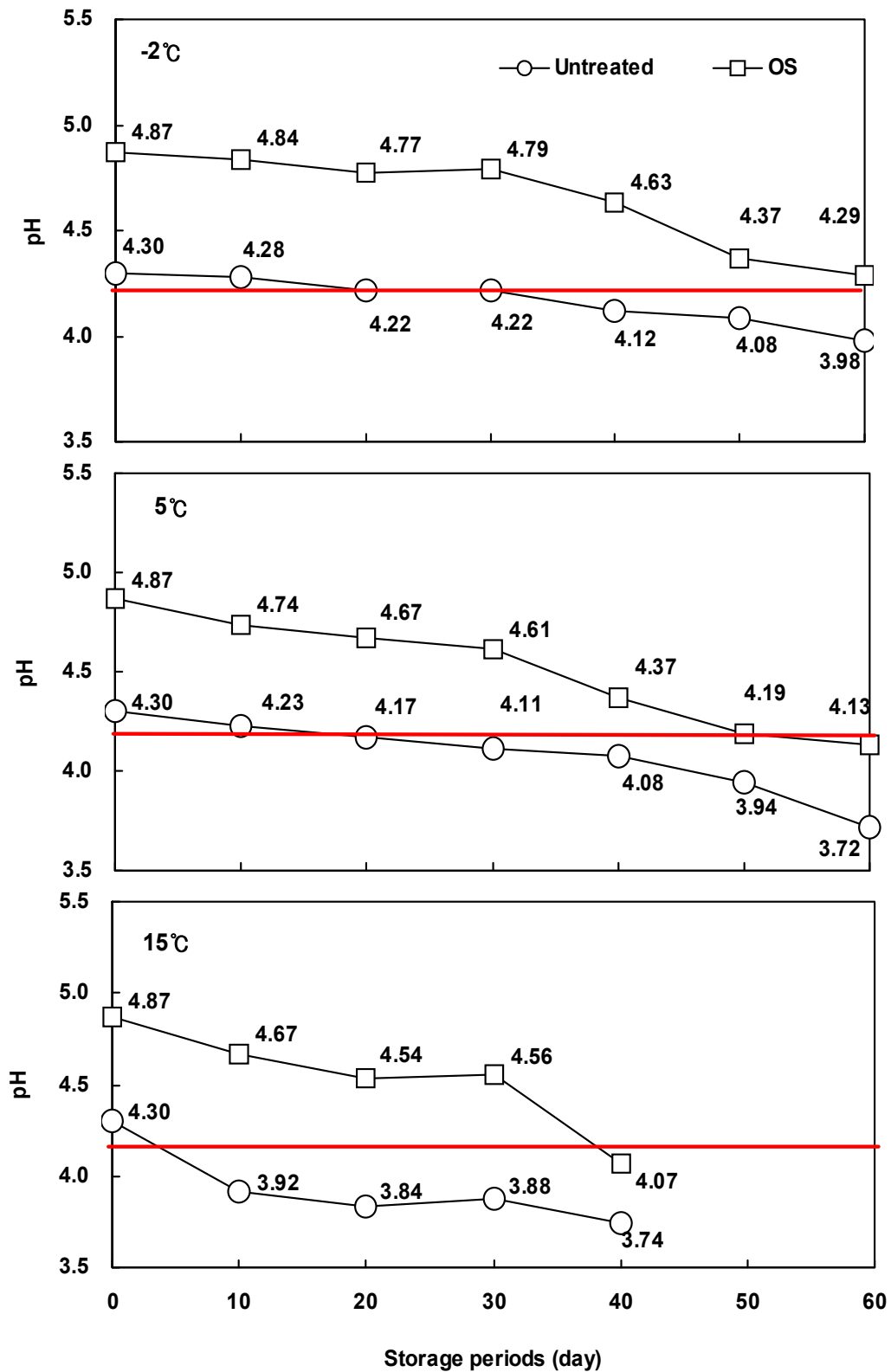


그림 6-62. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 대조 식해의 pH 변화

OS : 굴 패각 분말 (Powdered oyster shell)

여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 시간에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해의 총산도 변화는 그림 6-63과 같다. 15℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 총산도는 제조 직후의 경우 2.45 g/100g이었고, 이후 저장 10일째 (2.70 g/100g)에 1차적으로 증가한 다음 이후 30일째까지 2.80 g/100g 이하를 나타내어 크게 변화가 없었으나, 40일째 (4.07 g/100g)에는 다시 증가하는 경향을 나타내었다. 이에 반하여 15℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 총산도는 제조 직후의 경우 0.86 g/100g이었고, 이후 서서히 증가하여 저장 30일째에 1.84 g/100g을 나타내었으나 굴 패각 무첨가 대조 식해의 저장 직후보다 낮았으며, 저장 40일째에는 급격히 증가하여 3.26 g/100g을 나타내었다. 15℃에서 저장 중 넙치 식해의 총산도는 무첨가 대조 식해에 비하여 굴 패각 첨가 대조 식해가 억제되어 낮았으나, 그 변화 경향은 아주 유사하였다. 굴 패각 분말의 첨가에 의한 15℃에서 저장 중 대조 식해의 총산도는 저장 30일째까지의 경우 억제되었으나, 저장 40일째에는 급격히 증가하여 억제 효과가 없었다.

5℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 총산도는 저장 직후 (2.45 g/100g)부터 저장 30일째 (2.50 g/100g 범위)까지의 경우 거의 변화가 없었고, 이후 저장 40일째 (2.60 g/100g)부터 서서히 증가하여 저장 60일째에 3.22 g/100g을 나타내었다. 이에 반하여 5℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 총산도는 제조 직후 (0.86 g/100g)부터 서서히 증가하여 저장 50일째에 2.28 g/100g을 나타내었으나 무첨가 대조 식후의 저장 직후의 것보다 낮았고, 이후 저장 60일째에는 2.85 g/100g을 나타내었다. 굴 패각 분말의 첨가에 의한 5℃에서 저장 중 대조 식해의 총산도는 저장 30일째까지의 경우 억제 효과가 있었으나, 이후에는 억제 효과가 약화되었다.

-2℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 총산도는 저장 직후 (2.45 g/100g)부터 저장 50일째까지 (2.49 g/100g 범위)의 경우 거의 변화가 없었고, 이후 저장 60일째 (2.74 g/100g)에 다소 증가하였다. 이에 반하여 -2℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 총산도는 저장 직후 (0.86 g/100g)부터 저장 30일째 (0.91 g/100g)까지 거의 변화가 없었고, 이후 급격히 증가하여 저장 60일째에 2.51 g/100g을 나타내었다. 굴 패각 분말의 첨가에 의한 -2℃에서 저장 중 대조 식해의 총산도는 저장 30일째까지의 경우 억제 효과가 있었으나, 이후에는 억제 효과가 약화되었다. 이들 굴 패각 분말의 총산도에 대한 억제 효과는 저장 온도가 낮을수록 상승되었다. 이상의 저장 중 굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 총산도에 대한 변화의 결과로 미루어 보아 굴 패각 분말의 첨가에 의하여 총산도의 변화 억제 효과는 다소 있었고, 그 효과는 저온으로 내려갈수록 상승되었다.

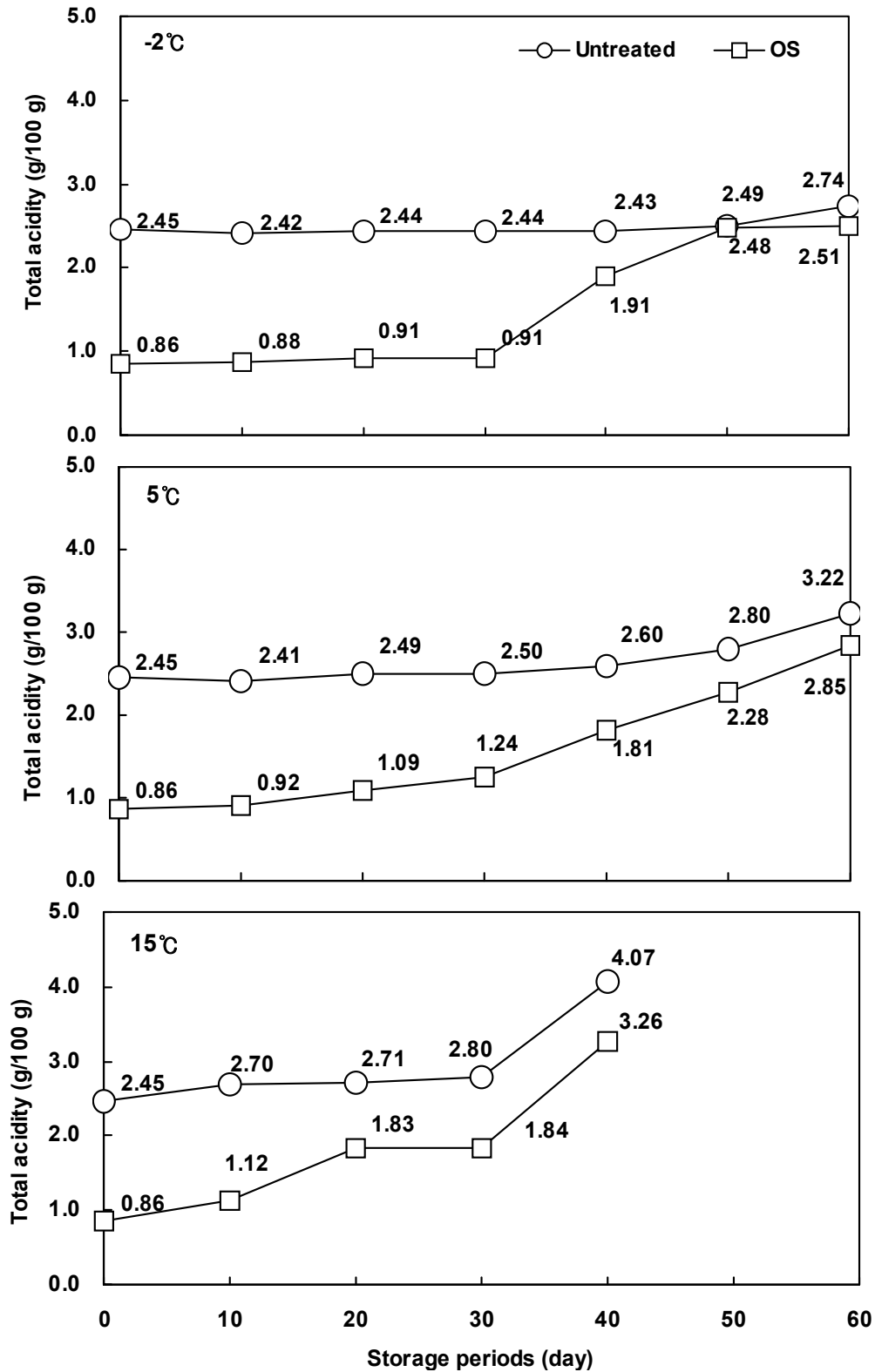


그림 6-63. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 대조 식해의 총 산도 변화

OS : 굴 패각 분말 (Powdered oyster shell)

여러 가지 저장 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 저장 기간에 따른 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 젖산균수 변화는 그림 6-64와 같다. 15℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 젖산균수는 저장 직후에 8.84 log(CFU/g)이었고, 이후 증가하여 저장 10일째에 9.99 log(CFU/g)으로 최고치에 도달한 다음 서서히 감소하여 저장 30일째에 8.58 log(CFU/g), 저장 40일째에 8.61 log(CFU/g)에 도달하였다. 이에 반하여 같은 온도에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 젖산균수는 저장 직후 [7.84 log(CFU/g)] 부터 저장 30일째까지 서서히 증가하여 저장 30일째에 8.67 log(CFU/g)에 도달한 후 저장 40일째에 급격히 증가하여 9.58 log(CFU/g)을 나타내었다. 굴 패각 분말의 첨가는 15℃에서 저장 중인 대조 식해의 젖산균 증식 억제에 상당히 효과적이라 판단되었다.

5℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [8.84 log(CFU/g)] 부터 저장 20일째까지는 급격히 증가하여 저장 20일째에 9.81 log(CFU/g)로 최대치 나타내었고, 이후 저장 40일째까지는 급격히 감소하여 저장 40일째에 8.91 log(CFU/g)을 나타낸 다음, 저장 60일째까지 서서히 감소하여 저장 60일째에 8.52 log(CFU/g)에 도달하였다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [7.84 log(CFU/g)] 부터 서서히 증가하기 시작하여 저장 30일째에 8.66 log(CFU/g)에 도달한 다음 이후 급격히 증가하여 저장 50일째에 9.88 log(CFU/g)으로 최고치에 도달하였고, 이후 감소하여 저장 60일째에 9.42 log(CFU/g)을 나타내었다. 굴 패각 분말의 첨가는 5℃에서 저장 중인 대조 식해의 젖산균 증식 억제에 관여하였고, 그 정도는 15℃에 저장한 경우보다 우수하다고 판단되었다.

-2℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [8.84 log(CFU/g)] 부터 저장 40일째까지 서서히 증가하여 저장 40일째에 9.79 log(CFU/g)를 나타내었고, 이후 저장 60일째까지 급격히 감소하여 저장 60일째에 8.92 log(CFU/g)를 나타내었다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 굴 패각 첨가 대조 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [7.84 log(CFU/g)] 부터 서서히 증가하여 저장 60일째에 8.92 log(CFU/g)을 나타내었다. 굴 패각 분말의 첨가는 -2℃에서 저장 중인 대조 식해의 젖산균 증식 억제에 다소 관여하였고, 그 정도는 15℃ 및 5℃에 저장한 경우보다 우수하다고 판단되었다. 이상의 저장 중 대조 식해의 젖산균수에 대한 변화의 결과로 미루어 보아 대조식해의 젖산균수 변화는 굴 패각 분말에 의하여 억제된다고 판단되었고, 그 억제 효과는 온도가 낮을수록 우수하다고 판단되었다.

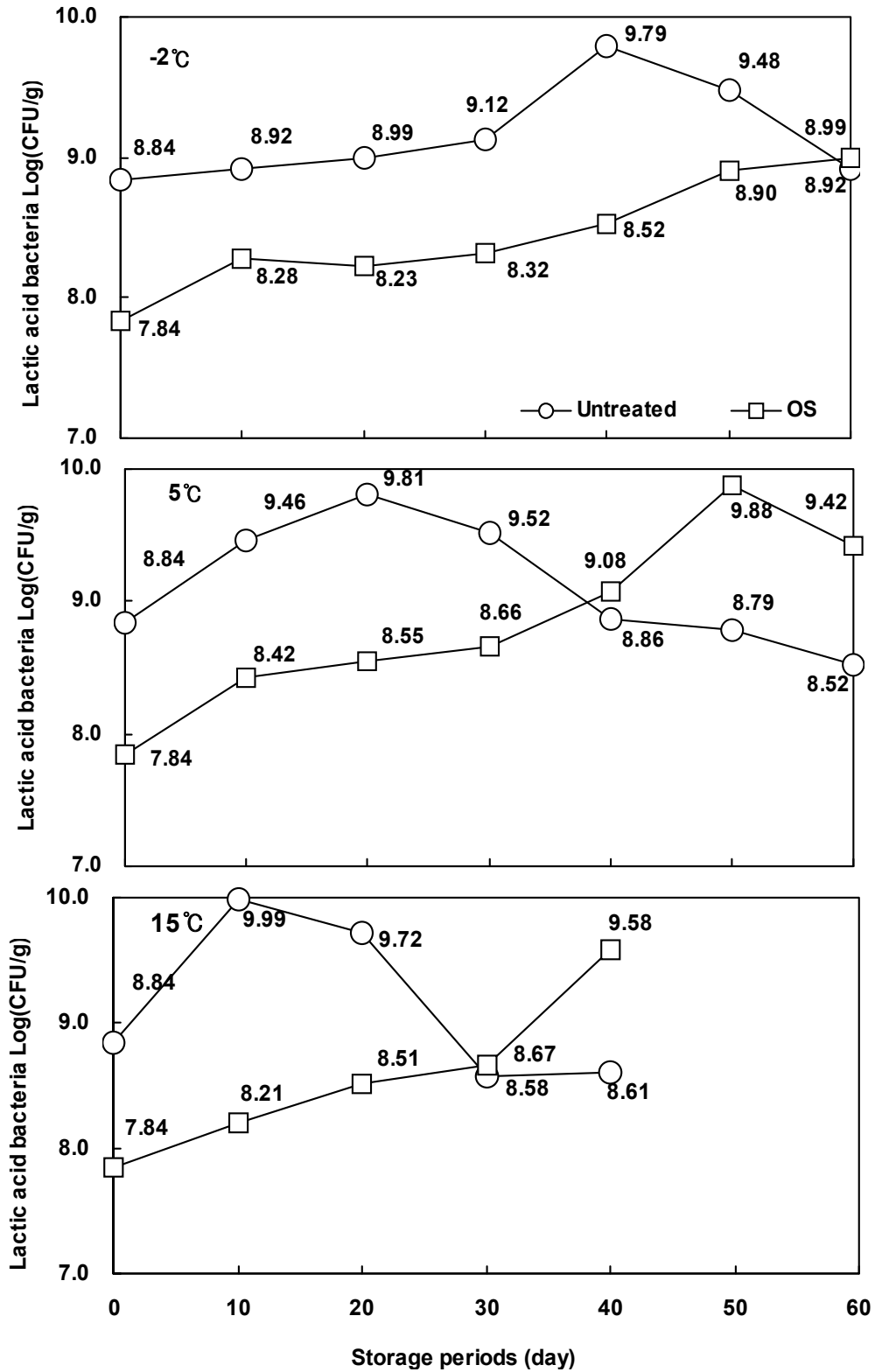


그림 6-64. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 대조 식해의 젖산균수

OS : 굴 패각 분말 (Powdered oyster shell)

㉞ 굴 패각 분말 처리에 의한 저장 중 대조 식해의 관능적 특성 변화

여러 가지 저장 온도 (-2, 5 및 15℃) 및 저장 기간에 따른 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 관능 평가 (긍정적인 기호도를 나타낸 관능요원의 수로 표기)의 결과는 표 6-49와 같다. 15℃에 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해는 저장 50일째에 곰팡이가 발생하여 이후의 관능 평가를 비롯한 화학적 실험은 수행하지 않았다.

15℃에 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 기호도를 긍정적으로 나타낸 관능 요원은 저장 직후에는 8명이었으나, 저장 10일째 이후에는 젖산균의 작용에 의하여 생성되는 신맛 등의 작용으로 1명 이하로 표기되었다. 이에 반하여 동일 온도에 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 저장 직후는 물론이고, 30일째까지 8명으로 나타났으나, 이후 신맛 등의 증강으로 저장 40일째 이후에는 3명 이하로 나타났다. 이상의 대조 식해에 대한 관능 평가 결과로 미루어 보아 15℃에 저장 중 대조 식해의 shelf-life는 굴 패각 무첨가 대조 식해의 경우 저장성이 인정되지 않았고, 굴 패각 첨가 대조 식해의 경우 30일로 판단되었다.

5℃에 저장 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 저장 직후는 물론이고, 저장 10일째에도 8명이 유지되었으나, 신맛의 강화에 의하여 20일째 이후에는 3명 이하로 유지되었다. 이에 반하여 동일 온도에 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 40일째까지 8명 이상을 유지하였고, 저장 40일째 이후에는 5명 이하로 유지되었다. 이상의 대조 식해에 대한 관능 평가 결과로 미루어 보아 5℃에 저장 중 대조 식해의 shelf-life는 굴 패각 무첨가 대조 식해의 경우 10일로 인정되었고, 굴 패각 첨가 대조 식해의 경우 40일로 판단되었다.

한편, -2℃에 저장 중 굴 패각차 무첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 저장 30일째까지 6명 이상이 유지되었으나, 신맛의 강화에 의하여 40일째 이후에는 4명 이하로 나타났다. 이에 반하여 동일 온도에 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 관능적 기호도는 60일째까지 6명 이상이 유지되었다. 넙치 식해의 저장 중 shelf-life는 굴 패각 분말 첨가에 의하여 개선되었고, 그 정도는 온도가 낮을수록 컸다. 이와 같은 기호도를 긍정적으로 나타낸 관능 요원의 수로 살펴본 굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 shelf-life는 15℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 저장성이 인정되지 않았거나 30일로 판단되었고, 5℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 10일과 40일로 판단되었으며, -2℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 30일과 60일로 판단되었다.

표 6-49. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 중 대조 식해의 기호도 변화

저장 일수	굴 패각 무첨가 식해			굴 패각 첨가 식해		
	-2℃	5℃	15℃	-2℃	5℃	15℃
0	8	8	8	8	8	8
10	8	8	1	8	8	8
20	8	3	1	8	8	8
30	6	2	0	8	8	8
40	3	2	0	8	8	3
50	4	1	ND	8	5	ND
60	1	0	ND	6	3	ND

ND: Not determined

㉔ 여러 가지 저장 온도에서 납치 식해의 shelf-life

굴 패각 첨가 대조 식해 및 무첨가 대조 식해의 여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 및 저장 시간에 따른 pH, 총산도, 젖산균수 및 관능 평가의 결과로부터 정리한 각 저장 온도 (-2, 5 및 15℃)에서의 shelf-life는 표 6-50과 같다. 굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 shelf-life는 15℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 저장성이 인정되지 않았거나 30일로 판단되었고, 5℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 10일과 40일로 판단되었으며, -2℃에 저장한 대조 식해의 경우 각각 30일과 60일로 판단되었다.

표 6-50. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 중 대조 식해의 Shelf-life

	굴 패각 무첨가 식해			굴 패각 첨가 식해		
	-2℃	5℃	15℃	-2℃	5℃	15℃
Shelf-life (일)	30	10	0	60	40	30

㉕ 굴 패각 처리 및 무처리 대조 식해의 저장 중 건강 기능성 변화

저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 60일, 5℃의 경우 각각 10일 및 40일, 15℃의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 대조 식해의 angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-65와 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 ACE 저해 활성은 각각 72.1% 및 70.0%로, 굴 패각 첨가 대조 식해가 무첨가 대조 식해에 비하여 2.1%가 높았다.

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해의 ACE 저해 활성은 15℃에서 저장 경우 88.3%, 5℃에서 저장한 경우 87.7%, -2℃에서 저장한 경우 89.0%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 18-19% 범위에서 개선되었다. 따라서, 유통 중 굴 패각 무첨가 대조 식해의 ACE 저해 활성에 대한 소실에 우려는 없는 것으로 나타났다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 대조 식해 간의 ACE 저해 활성 (87.7-89.0% 범위)은 약 1% 정도의 미미한 차이가 있었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 ACE 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 89.6%, 5℃에서 저장한 경우 83.8%, -2℃에서 저장한 경우 88.0%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 12-18% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해 간의 ACE 저해 활성(83.8-89.6% 범위)은 약 6% 정도의 범위에서 차이가 있었다.

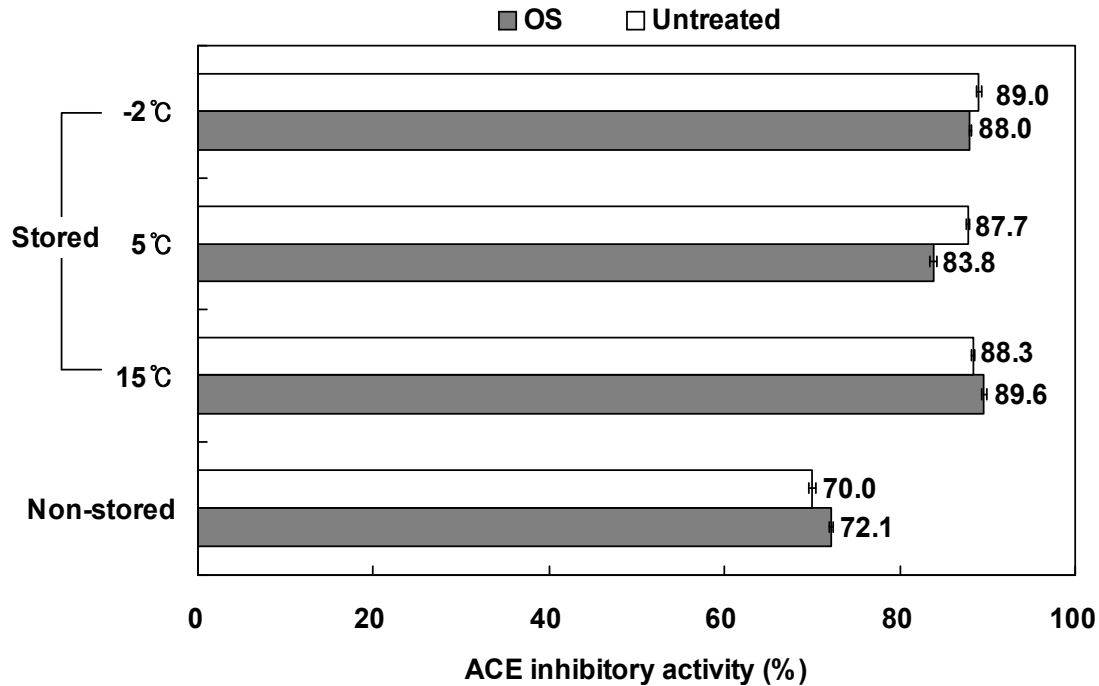


그림 6-65. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 ACE 저해 활성

OS : 굴 패각 분말 (Powdered oyster shell)

저장 처리한 대조 식해의 ACE 저해 활성은 5°C에서 저장한 것 (83.8%)을 제외한다면 굴 패각 처리 대조 식해 (88.0-89.6% 범위)와 무첨가 대조 식해 (87.7-89.0% 범위) 간에 차이가 없었다. 저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 60일, 5°C의 경우 각각 10일 및 40일, 15°C의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 대조 식해의 DPPH 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-66과 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 DPPH 저해 활성은 각각 55.5% 및 69.5%로, 굴 패각 첨가 대조 식해가 무첨가 대조 식해에 비하여 14%가 낮아 다소 문제가 있다고 판단되었다. 이와 같은 결과는 대조 식해에 굴 패각 처리에 의하여 항산화 활성을 가진 젯산균의 생육이 저해되었기 때문이라 판단되었다.

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해의 DPPH radical 저해 활성은 15°C에서 저장 경우 80.1%, 5°C에서 저장한 경우 77.0%, -2°C에서 저장한 경우 78.2%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-11% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 대조 식해 간의 DPPH radical 저해 활성(77.0-80.1% 범위)은 약 3%로 차이가 인정되지 않았다.

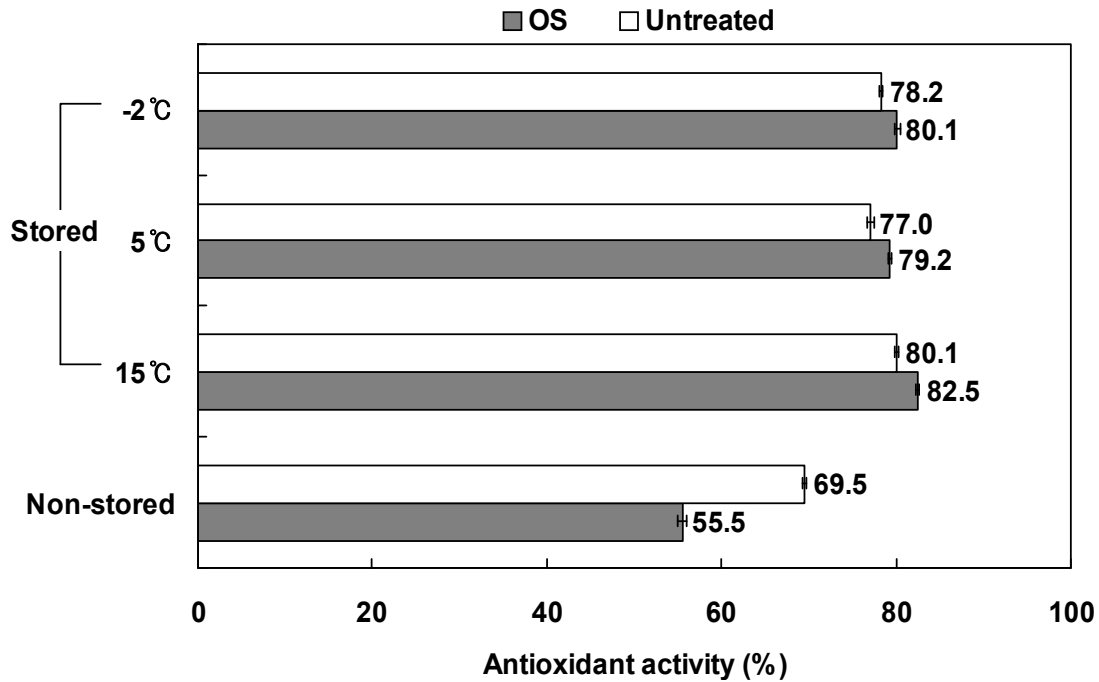


그림 6-66. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 DPPH 라디칼 소거능

OS : 굴 패각 분말 (Powdered oyster shell)

이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 DPPH radical 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 82.5%, 5°C에서 저장한 경우 79.2%, -2°C에서 저장한 경우 80.1%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 24-27% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해 간의 DPPH radical 저해 활성 (79.2-82.5% 범위)의 차이는 약 3% 정도이었다. 저장 처리한 대조 식해의 DPPH radical 저해 활성은 굴 패각 첨가 대조 식해 (79.2-82.5% 범위)가 무처리 대조 식해 (77.0-80.1% 범위)에 비하여 약 2% 정도가 높아 유통 중 활성 저하에 대한 우려는 없으리라 판단되었다. 저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 60일, 5°C의 경우 각각 10일 및 40일, 15°C의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 대조 식해의 항당뇨 활성을 살펴본 결과는 그림 6-67과 같다.

저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 항당뇨 활성은 각각 32.4% 및 21.3%로, 굴 패각 첨가 대조 식해가 무첨가 대조 식해에 비하여 약 11%가 높아 의미가 있었다.

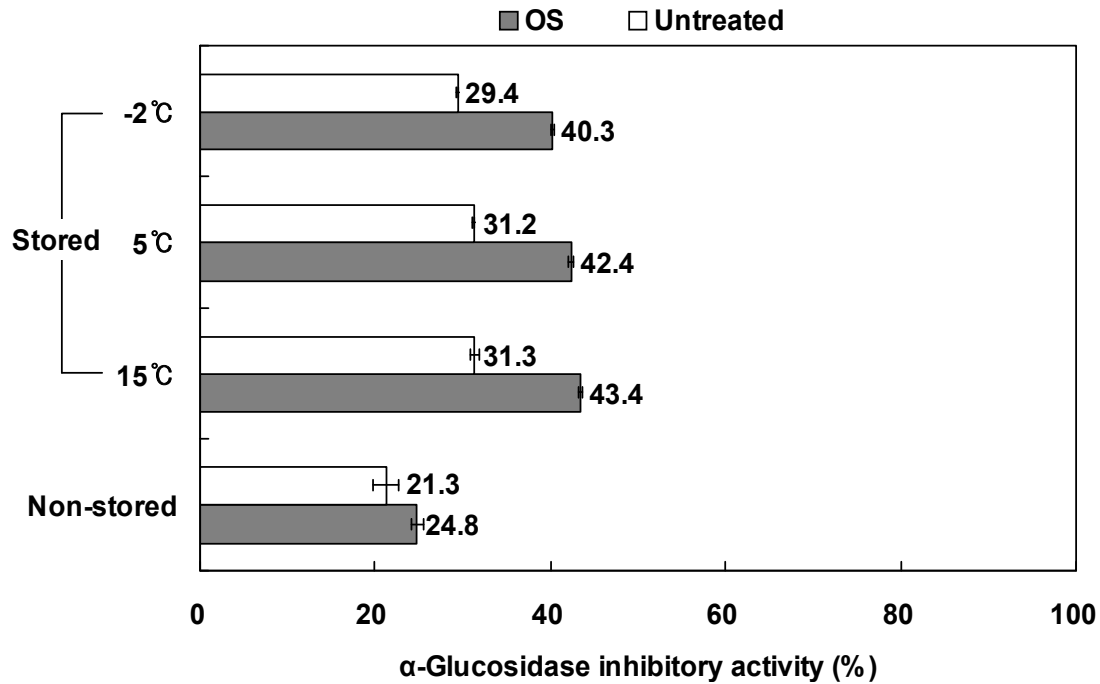


그림 6-67. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 항당뇨 활성

OS : 굴 패각 분말 (Powdered oyster shell)

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해의 항당뇨 활성은 15°C에서 저장한 경우 31.3%, 5°C에서 저장한 경우 31.2%, -2°C에서 저장한 경우 29.4%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-10% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 대조 식해 간의 항당뇨 활성 (29.4-31.3% 범위)은 약 2%로 그 차이가 아주 미미하였다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 항당뇨 활성은 15°C에서 저장한 경우 43.4%, 5°C에서 저장한 경우 42.4%, -2°C에서 저장한 경우 40.3%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-11% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해 간의 항당뇨 활성 (40.3-43.4% 범위)은 약 3% 정도로 큰 편은 아니었다.

저장 처리한 대조 식해의 항당뇨 활성은 굴 패각 처리 대조 식해 (40.3-43.4% 범위)가 무첨가 대조 식해 (29.4-31.3% 범위)에 비하여 높아 유통 중 활성 상승이 기대되었다. 저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 60일, 5°C의 경우 각각 10일 및 40일, 15°C의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 대조 식해의 통풍 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-68과 같다.

저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 통풍 저해 활성은 각각 80.1% 및 90.4%로, 굴 패각 첨가 대조 식해가 무첨가 대조 식해에 비하여 10%가 저하하였다. 이와 같이 저장성 개선을 위하여 굴대조 식해에 패각의 첨가로 약 통풍 저해 활성이 10%가 감소된다는 사실은 긍정적이지는 않으나 대조 식해의 굴 패각 첨가 유무에 관계없이 80% 이상을 유지하여 큰 의미는 없으리라 판단되었다.

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해의 통풍 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 93.1%, 5℃에서 저장한 경우 85.0%, -2℃에서 저장한 경우 94.7%로, 5℃에서 저장한 경우를 제외한다면 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 3-4% 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 대조 식해 간의 통풍 저해 활성 (85.0-94.7% 범위)은 약 10% 정도에서 차이가 있었는데 특히 5℃에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해가 낮았다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 통풍 저해 활성은 15℃ 및 5℃에서 저장한 경우 모두 88.7%, -2℃에서 저장한 경우 88.4%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8%가 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해 간의 항당뇨 활성 (88.4-88.7% 범위)의 차이는 0.3% 정도로 인정되지 않았다.

저장 처리한 대조 식해의 통풍 저해 활성은 굴 패각 처리 대조 식해 (88.4-88.7% 범위)가 5℃에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해 (85.0%)를 제외한다면 무첨가 대조 식해 (93.1-94.7% 범위)에 비하여 다소 낮았다.

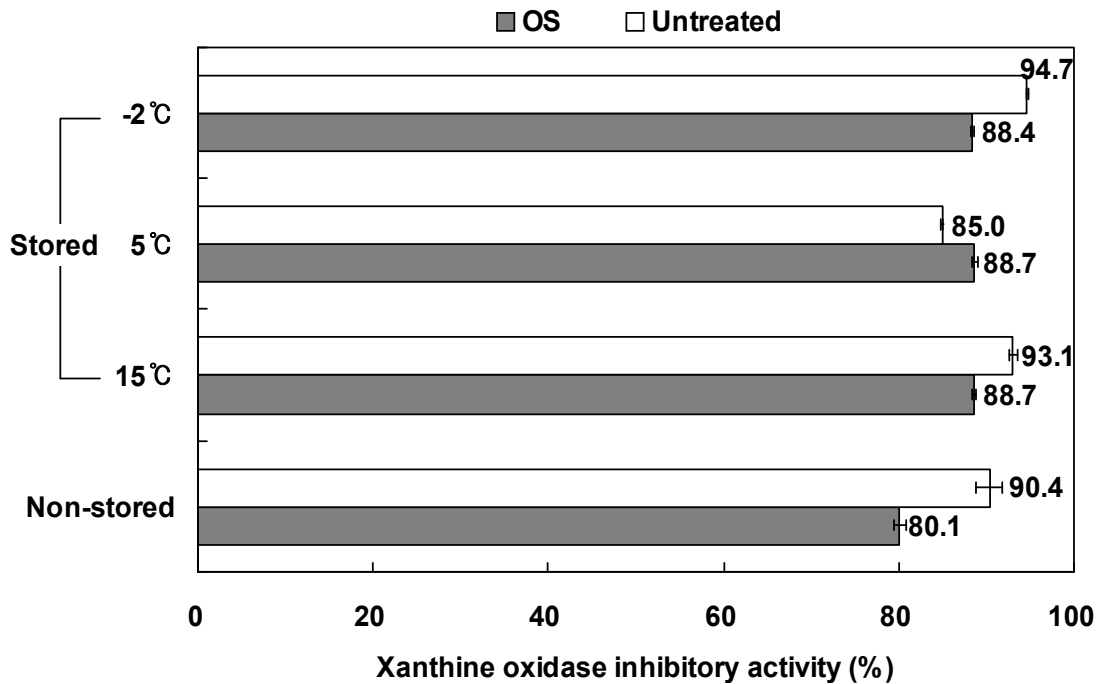


그림 6-68. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 항통풍 활성

OS : 굴 패각 분말 (Powdered oyster shell)

저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 60일, 5℃의 경우 각각 10일 및 40일, 15℃의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 대조 식해의 아질산염 소거 활성을 살펴본 결과는 그림 6-69와 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 아질산염 소거 활성은 각각 92.2% 및 94.6%로, 굴 패각 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해 간에 차이는 약 2%로 크게 나타나지 않았다. 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각

무첨가 대조 식해의 아질산염 소거 활성은 15℃에서 저장한 경우 97.3%, 5℃에서 저장한 경우 96.7%, -2℃에서 저장한 경우 96.8%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 2% 이상이 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 대조 식해 간의 아질산염 소거 활성 (96.7-97.3% 범위)은 차이가 1% 미만으로 아주 미미하였다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 아질산염 소거 활성은 15℃에서 저장한 경우 96.6%, 5℃에서 저장한 경우 93.1%, -2℃에서 저장한 경우 96.1%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 1-4% 범위로 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해 간의 아질산염 소거 활성 (93.1-96.6% 범위)은 약 4% 정도에서 차이가 있었다.

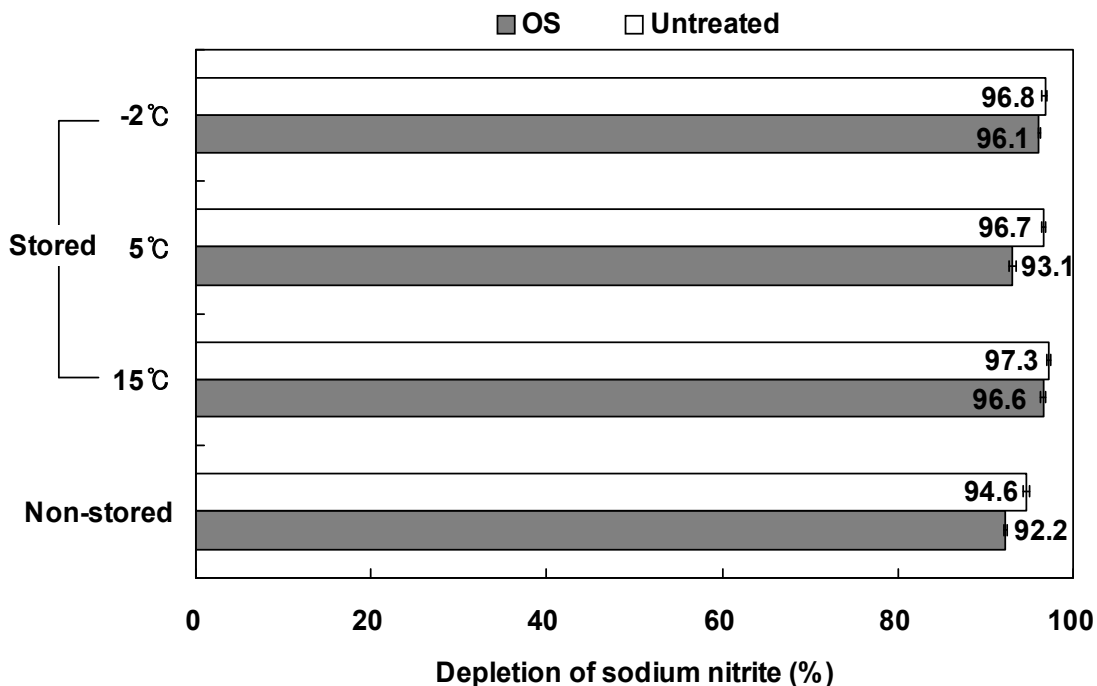


그림 6-69. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 아질산염 소거 활성

OS : 굴 패각 분말 (Powdered oyster shell)

저장 처리한 대조 식해의 아질산염 소거 활성은 굴 패각 처리 대조 식해 (93.1-96.6% 범위)와 무첨가 대조 식해 (96.7-97.3% 범위) 간에 약간 차이가 있었으나 두 종류의 식해가 모두 93% 이상으로 상당히 높아 크게 의미가 없었다. 저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 대조 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 60일, 5℃의 경우 각각 10일 및 40일, 15℃의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 대조 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli* 등과 같은 미생물에 대한 항균 활성을 살펴본 결과는 표 6-51과 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성은 각각 7.0 mm 및 8.0 mm로 저장성 부여를 위하여 패각 처리한 것이 무처리 한 것에 비하여 낮았다. 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*

에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 9.0 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.8 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.5 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.5-1.0 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 대조 식해 간의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성 (8.5-9.0 mm)의 차이는 0.5 mm로 상당히 적었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 9.3 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.7 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 1.3-2.3 mm 범위에서 상당히 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해 간의 *parahaemolyticus*에 대한 저해 활성 (8.3-9.3 mm 범위)은 약 1.0 mm 정도의 차이가 있었다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 각각 7.0 mm 및 8.0 mm로, 굴 패각 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해 간에 1.0 mm의 차이가 있었다.

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 9.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 9.2 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.3-1.5 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 대조 식해 간의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성 (8.3-9.5 mm)의 차이는 1.2 mm 정도이었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 9.2 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.7 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.5 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 1.5-2.2 mm 범위에서 상당히 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해 간의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성 (8.5-9.2 mm 범위)의 차이는 약 0.7 mm 정도로 다소 적었다.

저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 대조 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 각각 none 및 8.0 mm로, 굴 패각 첨가 대조 식해와 무첨가 대조 식해 간에 차이가 있었다. 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 대조 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 9.0 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.5 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.3-1.0 mm 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 대조 식해 간의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성 (8.3-9.0 mm)의 차이는 0.7 mm 정도이었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 9.1 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.0 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 대조 식해 간의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성 (8.0-9.1 mm 범위)의 차이는 약 1.1 mm 정도 이었다.

이상의 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 대조 식해의 항균성은 검토한 3종 모두에 대하여 인정되었고, 이는 저장한 것이 하지 않은 것보다 대체로 높아 유통 중 이들의 활성 저하에 대한 우려는 없으리라 판단되었다.

표 6-51. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 대조 식해의 항균활성

식해	저장 조건	항균활성 (mm)			
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
굴 패각 무첨가 식해	저장 직전	8.0±0.0	8.0±1.7	8.0±0.0	
	저장 후	-2℃	8.5±0.1	8.3±0.2	8.3±0.5
		5℃	8.8±0.3	9.2±0.1	8.5±0.2
		15℃	9.0±0.1	9.5±0.1	9.0±0.2
굴 패각 첨가 식해	저장 직전	7.0±0.2	7.0±0.0	-	
	저장 후	-2℃	8.3±0.1	8.5±0.2	8.3±0.2
		5℃	8.7±0.1	8.7±0.3	8.0±0.1
		15℃	9.3±0.1	9.2±0.5	9.1±0.0

④ 녹차 추출물 농축물과 굴 패각 분말을 이용한 젖산균 강화 식해의 shelf-life의 개선

㉑ 녹차 추출물 농축물을 이용한 젖산균 강화 식해의 shelf-life 개선

본 실험에서 얻은 복합 균주를 이용하여 건강 기능성을 개선을 시도하였고, 이로 인하여 얻은 젖산균 강화 식해의 shelf-life를 개선할 목적으로 녹차 추출물 농축액을 최적 조건으로 숙성한 비규격 넙치 식해에 각각 처리하여 녹차 처리 젖산균 강화 식해 및 무처리 젖산균 식해를 제조하여 실험에 사용하였다. 이들 젖산균 시료는 모두 빙결점 부근의 온도 (-2℃), 식중독 세균의 발육 하한 온도 (5℃) 및 숙성 온도 (15℃)와 같은 여러 가지 온도에 각각 저장하여 두고 이들의 pH, 총산도, 젖산균수 및 관능적 기호도 평가를 실시하였고, 이를 근거로 이들의 shelf-life 구명 및 이의 개선 정도에 대하여 살펴보았다.

㉒ 녹차 추출물 농축물 처리에 의한 저장 중 젖산균 강화 식해의 생화학적 특성 변화

여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 저장 시간에 따른 녹차 처리 젖산균 강화 식해와 무처리 젖산균 식해의 pH 변화는 그림 6-70과 같다. 일반적으로 넙치 식해의 기호도와 pH를 상관시켰을 때 pH 4.2 이하로 저하하는 경우 기호도가 급감하는 경향을 나타내었다. 15℃에서 저장 중 무처리 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후의 경우 4.34이었고, 이후 감소하여 저장 10일째 이후에는 3.95 이하를 나타내어 소비자가 기호적으로 식용하는데 다소 문제가 있으리라 판단되었다. 이에 반하여 15℃에서 저장 중 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 4.49로, 무첨가 젖산균 강화 식해의 pH보다 0.15가 높았으나, 저장 중 감소하여 저장 10일째에 4.15를 나타내었다. 이와 같이 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의하여 pH가 다소 상승하는 것은 이 농축물의 pH에 의한 영향과 젖산균에 대한 다소의 항균 작용에 의한 영향이라 판단되었다. 따라서, 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의한 15℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의

shelf-life 개선은 기대하기 어려우리라 판단되었다.

5℃에서 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 (4.34)부터 서서히 감소하여 저장 10일째에 4.27을 유지하였으나, 저장 20일째 이후에는 4.13 이하로 유지되었다. 이에 반하여 5℃에서 저장 중 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 4.49이었고, 저장 중 서서히 감소하여 저장 30일째에 4.24를 유지하였고, 저장 40일째에 4.19 이하를 유지하였다.

녹차 추출물 농축물의 첨가에 의한 5℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life 개선은 다소 기대되었다. -2℃에서 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 (4.34)부터 서서히 감소하여 저장 30일째에 4.21을 나타내었고, 저장 40일째 이후에는 4.15 이하를 나타내었다. 이에 반하여 -2℃에서 저장 중 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 (4.49)부터 약간의 증감을 하여 저장 50일째에 4.33을 나타내었고, 저장 60일째에 4.02를 나타내었다. 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의한 -2℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life는 상당히 개선되었다고 판단되었다. 이상의 저장 중 녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 pH에 대한 변화의 결과로 미루어 보아 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의하여 신맛에 의한 shelf-life 개선 효과는 다소 있었고, 그 효과는 저온으로 내려갈수록 상승하였다.

여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 시간에 따른 녹차 첨가 젖산균 강화 식해와 무첨가 젖산균 강화 식해의 총 산도 변화는 그림 6-72와 같다. 15℃에서 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 총 산도는 제조 직후의 경우 2.25 g/100g이었고, 서서히 증가하여 저장 30일째에 2.99 g/100g을 나타내었으며, 40일째에는 3.58 g/100g을 나타내었다. 이에 반하여 15℃에서 저장 중 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 총산도는 제조 직후의 경우 1.99 g/100g이었고, 이후 서서히 증가하여 저장 30일째에 2.52 g/100g 을 나타내었으며, 저장 40일째에는 3.38 g/100g 을 나타내었다. 15℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 총 산도는 무첨가 젖산균 강화 식해의 그것에 비하여 그 값에 있어서는 미미한 정도에서 낮았으나, 그 변화 경향은 아주 유사하였다. 저장 중 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해들의 총산도의 결과로 미루어 보아 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의해 15℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 총 산도는 다소 억제되었다.

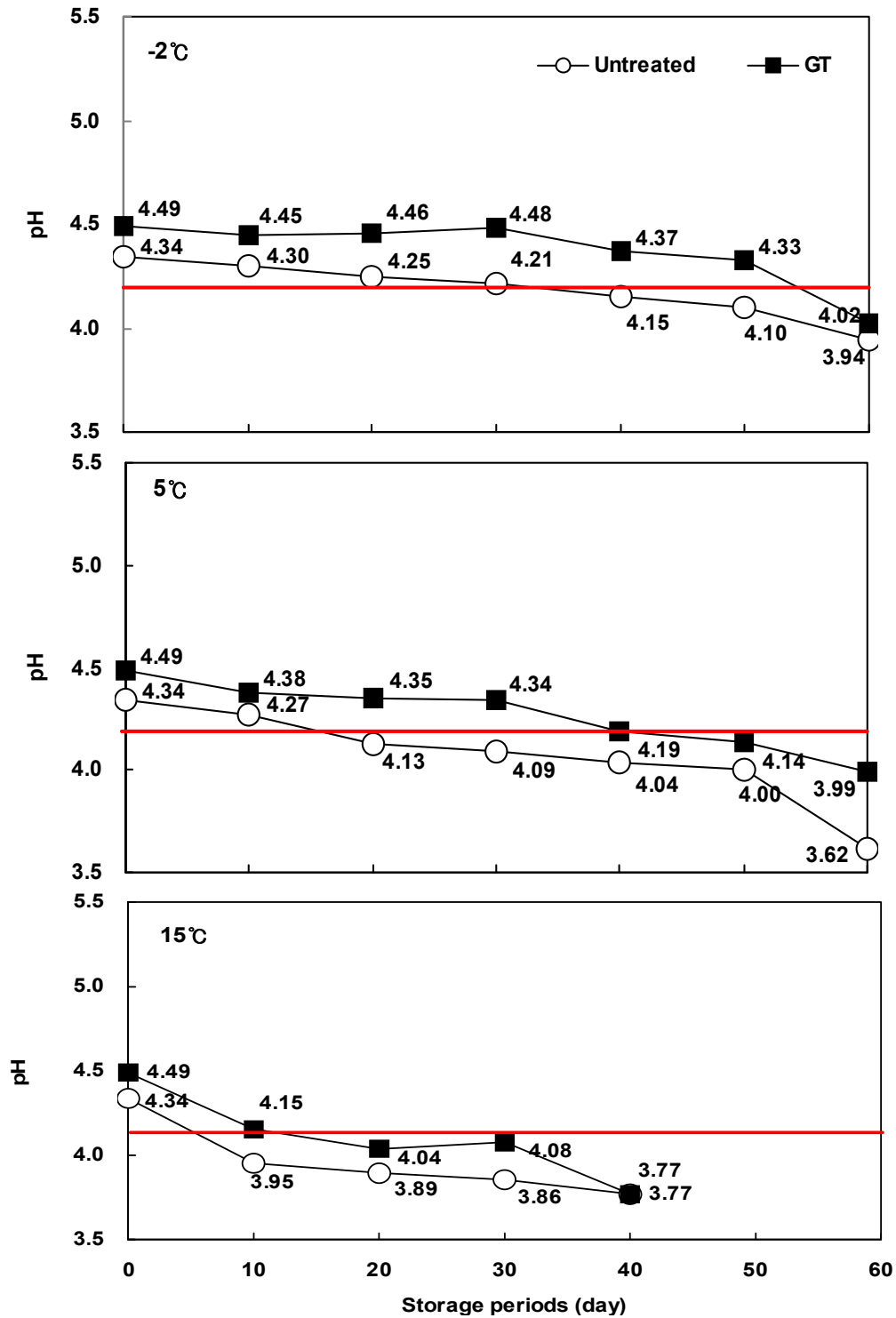


그림 6-71. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 젖산균 강화 식해의 pH 변화

GT : 녹차 농축물(Concentrated green tea extracts)

5°C에서 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 총 산도는 저장 직후 (2.25 g/100g)부터 저장 50일째 (2.73 g/100g 범위)까지의 경우 아주 미미한 증가를 하였고, 이후 저장 60일째에는 다소 증가를 하여 3.22 g/100g을 나타내었다. 이에 반하여 5°C에서 저장 중 녹차 첨가 젖

산균 강화 식해의 총 산도는 제조 직후 (1.99 g/100g)부터 서서히 증가하여 저장 50일째에 2.59 g/100g을 나타내었고, 저장 60일째에 다소 증가를 하여 3.02 g/100g을 나타내었다. 5℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 총 산도는 녹차 무첨가 식해의 그것에 비하여 값은 다소 낮았으나 그 변화 패턴은 아주 유사하였다.

-2℃에서 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 총 산도는 저장 직후 (2.25 g/100g)부터 저장 50일째까지 (2.49 g/100g 범위)의 경우 거의 변화가 없었고, 이후 저장 60일째에 다소 증가를 하여 2.95 g/100g을 나타내었다. 이에 반하여 -2℃에서 저장 중 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 총 산도는 저장 직후 (1.99 g/100g)부터 저장 30일째 (2.00 g/100g)까지 거의 변화가 없었고, 이후 서서히 증가하여 저장 60일째에 2.55 g/100g을 나타내었다. -2℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 총 산도는 녹차 무첨가 식해의 그것에 비하여 녹차 첨가 식해가 다소 낮았으나, 그 변화 패턴은 아주 유사하였다. 이상의 여러 가지 온도에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 총산도 결과로 미루어 보아 녹차 첨가 젖산균 강화 식해가 무첨가 강화 식해에 비하여 그 값은 낮았고, 변화 패턴에서는 초기의 경우 차이가 없었으나 40일째 후반부의 경우 억제 효과가 있었다. 이와 같은 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의한 저장 중 젖산균 강화 식해의 후반부에 나타나는 총 산도에 대한 억제 효과는 저온으로 내려갈수록 상승되었다.

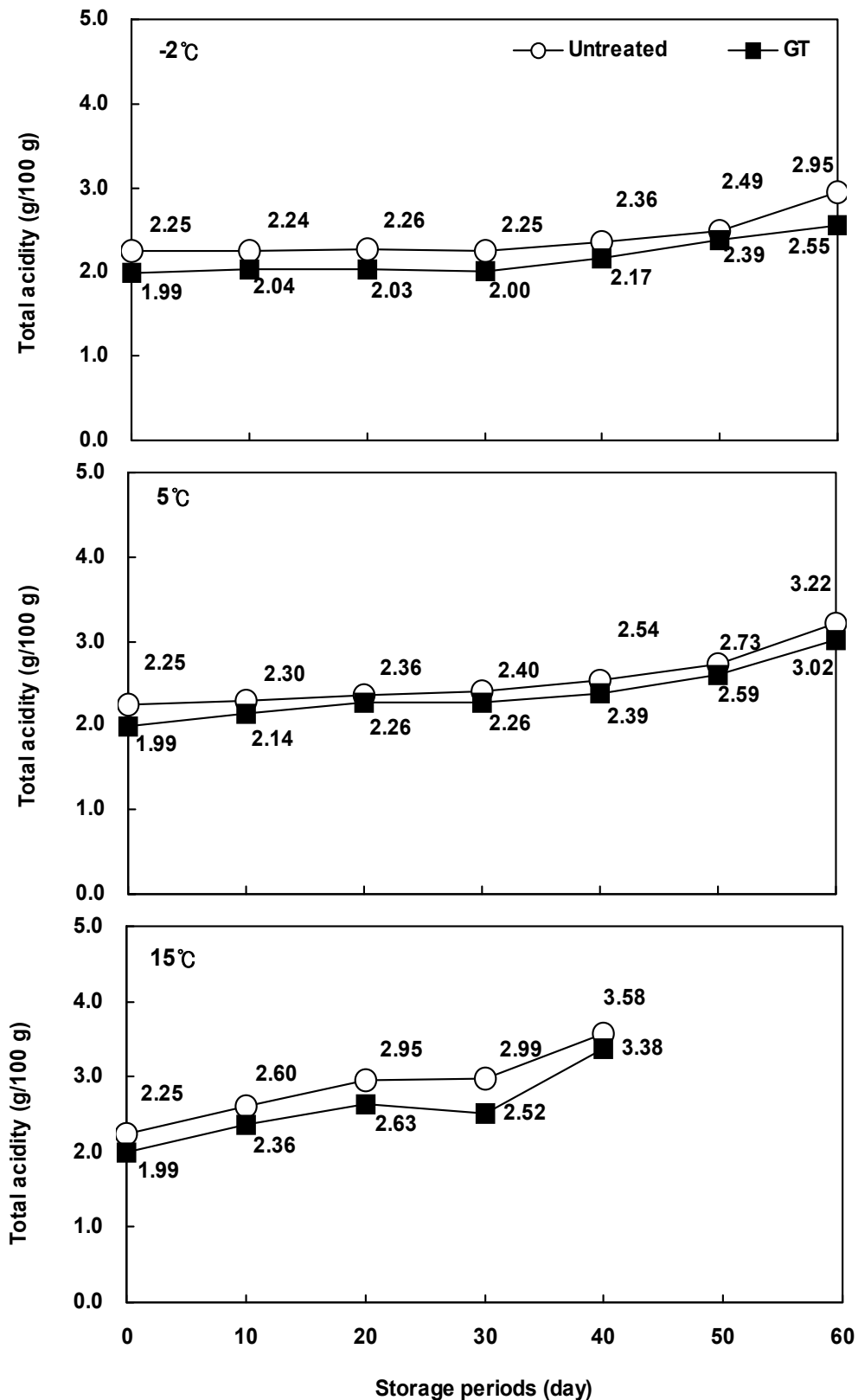


그림 6-72. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 젖산균 강화 식해의 총 산도

GT : 녹차 농축물(Concentrated green tea extracts)

여러 가지 저장 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 저장 기간에 따른 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수 변화는 그림 6-73과 같다. 15℃에서 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 저장 직후에 8.97 log(CFU/g)이었고, 이후 저장 10일째 (9.59 log(CFU/g))부터 저장 40일째까지 (9.91 log(CFU/g)) 이들의 범위 부근에서 증감을 하였다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 저장 직후 [8.74 log(CFU/g)] 부터 저장 20일째까지 계속적으로 증가하여 9.93 log(CFU/g)에 도달한 후 이후 저장 40일째까지 9.51-9.96 log(CFU/g) 범위에서 증감 녹차 추출물 농축물의 첨가는 15℃에서 저장 중인 젖산균 강화 식해의 젖산균 증식 억제에 초기 저장 10일째까지는 다소 관여하였다고 판단되었으나 이후에는 거의 억제 효과가 없었다고 판단되었다.

5℃에서 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 저장 직후 [8.97 log(CFU/g)] 부터 저장 20일째까지는 급격히 증가하여 저장 20일째에 9.89 log(CFU/g)로 최대치 나타내었고, 이후 급격히 감소하여 저장 60일째에 8.24 log(CFU/g)을 나타내었다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 저장 직후 [8.74 log(CFU/g)] 부터 서서히 증가하기 시작하여 저장 30일째에 8.96 log(CFU/g)에 도달한 다음 저장 40일째 [에 8.86 log(CFU/g)] 부터는 이보다는 다소 급격하게 증가하여 저장 60일째에 9.45 log(CFU/g)에 도달하였다.

녹차 추출물 농축물의 첨가는 5℃에서 저장 중인 젖산균 강화 식해의 젖산균 증식 억제에 초기부터 확연히 관여하였고, 그 정도는 15℃에 저장한 경우보다 확연히 우수하였다. -2℃에서 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 숙성 직후 8.97 log(CFU/g)] 부터 저장 30일째까지 증가하여 저장 30일째에 9.91 log(CFU/g)를 나타내었고, 이후 저장 50일째까지 서서히 감소하여 9.23 log(CFU/g)을 나타낸 후 저장 60일째에는 9.25 log(CFU/g)로 거의 변화가 없었다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [8.74 log(CFU/g)] 부터 저장 50일째 [8.80 log(CFU/g)] 까지 이들 범위 부근에서 증감을 하였고, 이후 저장 60일째에는 급격히 증가를 하여 9.82 log(CFU/g)을 나타내었다.

녹차 추출물 농축물의 첨가는 -2℃에서 저장 중인 젖산균 강화 식해의 젖산균 증식 억제에 상당히 관여하였고, 그 정도는 15℃ 및 5℃에 저장한 경우보다 확연히 우수하다고 판단되었다. 이상의 결과로 미루어 보아 젖산균 강화 식해의 젖산균수 변화는 녹차 추출물 농축물에 의하여 억제된다고 판단되었고, 그 억제 효과는 온도가 낮을수록 우수하다고 판단되었다.

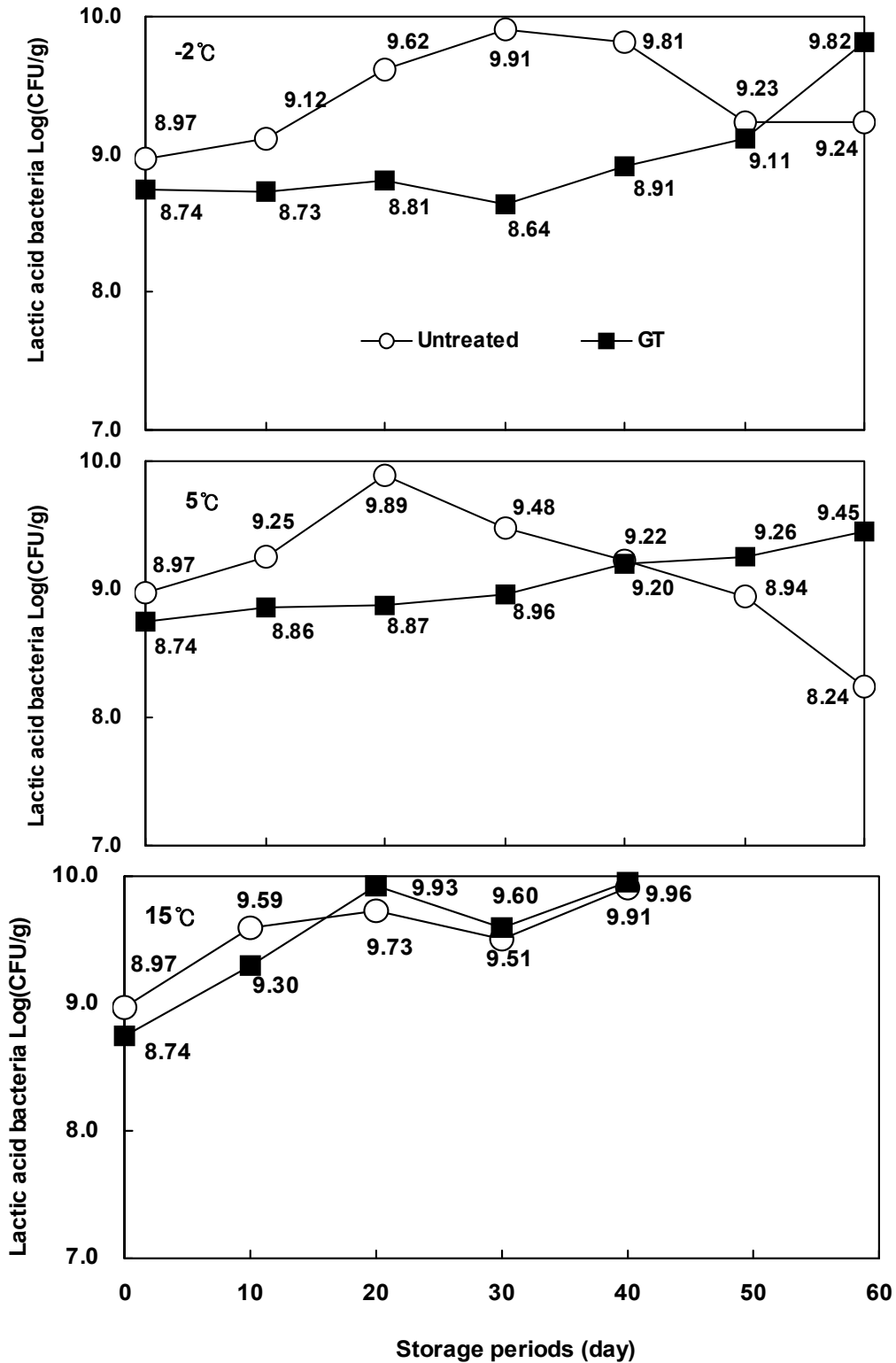


그림 6-73. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 젖산균 강화 식해의 젖산균수

GT : 녹차 농축물(Concentrated green tea extracts)

ㄴ. 녹차 추출물 농축물 처리에 의한 저장 중 젖산균 강화 식해의 관능적 특성 변화

여러 가지 저장 온도 (-2, 5 및 15℃) 및 저장 기간에 따른 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 관능 평가 (긍정적인 기호도를 나타낸 관능요원의 수로 표기)의 결과는 표 6-51과 같다. 15℃에 저장한 녹차 농축물 무첨가 젖산균 강화 식해는 저장 50일째에 곰팡이가 발생하여 이후의 관능 평가를 비롯한 화학적 실험은 수행하지 않았다. 15℃에 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 기호도를 긍정적으로 나타낸 관능 요원은 저장 직후에는 8명이었으나, 저장 10일째 이후에는 젖산균의 작용에 의하여 산생되는 신맛 등의 작용으로 1명 이하로 표기되었다. 이에 반하여 동일 온도에 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 무첨가 젖산균 강화 식해와 같이 저장 직후에는 8명이었으나, 저장 10일째 이후에는 신맛 등의 증강으로 5명 이하로 나타났다. 이상의 젖산균 강화 식해에 대한 관능 평가 결과로 미루어 보아 15℃에 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life는 녹차 첨가 유무에 관계없이 녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해들이 모두 0일로 저장성이 결여되었다고 판단되었다.

표 6-51. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 중 젖산균 강화식해의 기호도 변화

저장 기간	녹차 농축물 무첨가 식해			녹차 농축물 첨가 식해		
	-2℃	5℃	15℃	-2℃	5℃	15℃
0	8	8	8	8	8	8
10	7	8	1	8	8	5
20	6	3	0	8	8	4
30	6	3	0	8	8	3
40	4	1	0	7	5	2
50	4	0	ND	7	2	ND
60	3	0	ND	5	0	ND

ND: Not determined

5℃에 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 저장 직후는 물론이고, 저장 10일째에도 8명이 유지되었으나, 신맛의 강화에 의하여 20일째 이후에는 3명 이하로 유지되었다. 이에 반하여 동일온도에 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 30일째까지 8명 이상을 유지하였고, 저장 40일째 이후에는 5명 이하로 유지되었다. 이상의 젖산균 강화 식해에 대한 관능 평가 결과로 미루어 보아 5℃에 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life는 녹차 무첨가 식해의 경우 10일로 인정되었고, 녹차 첨가 식해의 경우 30일로 판단되었다.

한편, -2℃에 저장 중 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 저장 30일째까지 6명 이상이 유지되었으나, 신맛의 강화에 의하여 40일째 이후에는 4명 이하로 나타났다. 이에

반하여 동일 온도에 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 50일째까지 7명 이상이 유지되었으나, 60일째에 5명으로 나타났다.

젖산균 강화 식해의 저장 중 shelf-life는 녹차 추출물 농축물 첨가에 의하여 개선되었고, 그 정도는 온도가 낮을수록 확연히 컸다. 저장 온도가 높을수록 납치 식해의 관능 평가가 신속히 감소하는 것은 저장 온도가 상승할수록 젖산균의 최적 온도에 가까워져 이들이 산생하는 lactic acid에 의하여 신맛이 증가하였기 때문이라 판단되었다(Koo et al., 2009).

이와 같은 기호도를 긍정적으로 나타낸 관능 요인의 수로 살펴 본 녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 shelf-life는 15℃에 저장한 젖산균 강화 식해의 경우 두 제품이 모두 저장성이 인정되지 않았고, 5℃에 저장한 젖산균 강화 식해의 경우 각각 10일 및 30일로 판단되었으며, -2℃에 저장한 젖산균 강화 식해의 경우 각각 30일 및 50일로 판단되었다. 따라서, 납치의 가격 안정화의 일환으로 시도한 납치 식해 산업이 자리를 잡기 위하여는 -2℃ 부근으로 유지할 수 있는 신개념 콜드 체인의 확립 이외에도 반드시 shelf-life의 연장에 대한 방법의 확립이 필요하였으나, 젖산균 강화 유무에 따른 shelf-life에 대한 대응은 필요가 없으리라 판단되었다.

ㄷ. 녹차 처리 및 무처리 젖산균 강화 식해의 shelf-life

녹차 첨가 젖산균 강화 식해 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 및 저장 시간에 따른 pH, 총산도, 젖산균수 및 관능 평가의 결과로부터 정리한 각 저장 온도 (-2, 5 및 15℃)에서의 shelf-life는 표 6-53과 같다. 녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해들의 각 저장 온도에서 shelf-life는 15℃에서 저장한 경우 두 제품 모두 인정되지 않았고, 5℃에 저장한 경우 각각 10일 및 30일로, -2℃에 저장한 경우 각각 30일 및 50일로 판단되었다. 이상의 대조 식해와 젖산균 강화 식해의 shelf-life의 결과로 미루어 보아 비규격 납치 식해의 shelf-life는 15℃에 저장하는 경우를 제외하고는 차이가 없어, 젖산균 강화에 의한 shelf-life 연장을 위한 별다른 시도는 필요가 없으리라 추정되었다.

표 6-53. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 중 젖산균 강화식해의 Shelf-life

	녹차 농축물 무첨가 식해			녹차 농축물 첨가 식해		
	-2℃	5℃	15℃	-2℃	5℃	15℃
Shelf-life (일)	30	10	0	50	30	0

ㄹ. 녹차 처리 및 무처리 젖산균 강화 식해의 저장 중 건강 기능성 변화

저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 50일, 5℃의 경우 각각 10일 및 30일, 15℃의 경우 모두 10일)에 의한 젖산균 강화 식해의

angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-74와 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 젯산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 각각 78.1% 및 74.0%로, 녹차 첨가 젯산균 강화 식해가 무첨가 젯산균 강화 식해에 비하여 약 4%가 높았다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 젯산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 15°C에서 저장 경우 88.3%, 5°C에서 저장한 경우 85.9%, -2°C에서 저장한 경우 81.9%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-14% 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젯산균 강화 식해 간의 ACE 저해 활성 (81.9-88.3% 범위)의 차이는 약 6%이었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젯산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 91.3%, 5°C에서 저장한 경우 85.2%, -2°C에서 저장한 경우 81.7%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 4-13% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 첨가 젯산균 강화 식해 간의 ACE 저해 활성(81.7-91.3% 범위)은 약 10% 정도의 범위에서 차이가 있었고, 대체로 저장 온도가 높을수록 우수하였다. 따라서, 녹차 첨가 및 무첨가 젯산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 저장 온도에 관계없이 유통 중 상승하는 것으로 나타났다. 저장 처리한 젯산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 녹차 처리 젯산균 강화 식해 (81.7-91.3% 범위)가 무첨가 젯산균 강화 식해 (81.9-88.3% 범위)에 비하여 약간 높거나 유사하였다.

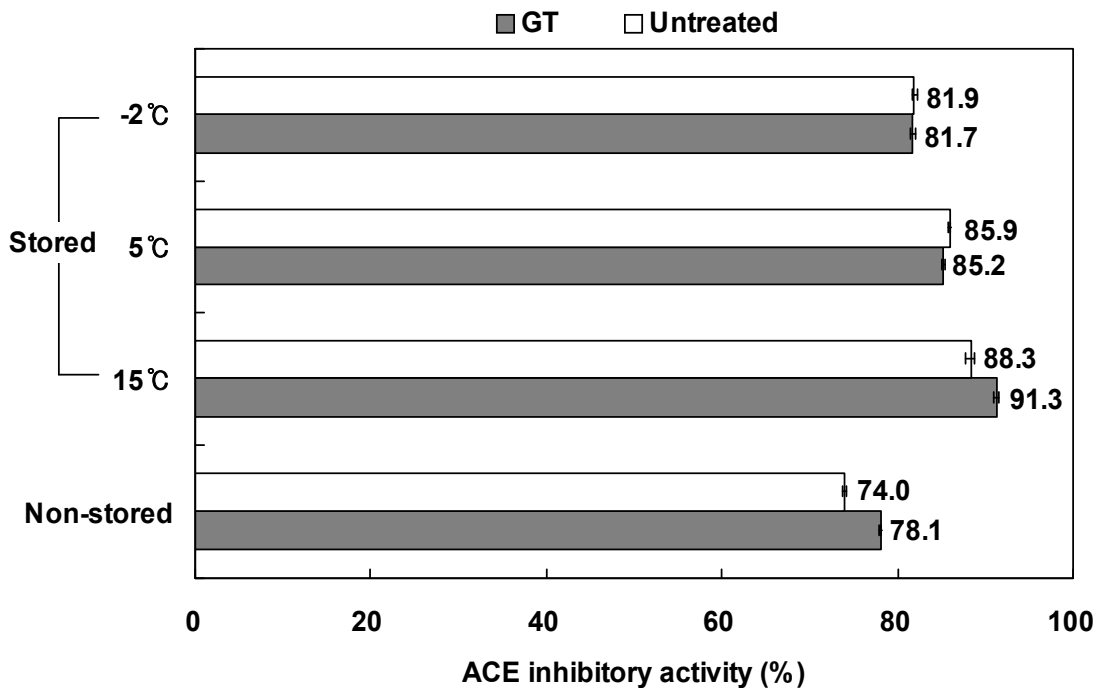


그림 6-74. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젯산균 강화 식해의 ACE 저해 활성

GT : 녹차 농축물(Concentrated green tea extracts)

저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 젯산균 강화 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 50일, 5°C의 경우 각각 10일 및 30일, 15°C의 경우 모두 10일)에 의한 젯산균 강화 식해의

DPPH 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-75와 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성은 각각 71.4% 및 78.7%로, 녹차 첨가 젖산균 강화 식해가 무첨가 젖산균 강화 식해에 비하여 약 7%가 낮았다. 이와 같이 녹차 첨가 전후 젖산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성에 대한 차이는 이들의 첨가에 의한 pH의 변화와 젖산균수의 차이 때문이라 판단되었다. 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성은 15℃에서 저장 경우 81.9%, 5℃에서 저장한 경우 84.8%, -2℃에서 저장한 경우 84.4%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 3-6% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 DPPH radical 저해 활성 (81.9-84.8% 범위)의 차이는 약 3%이었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 89.3%, 5℃에서 저장한 경우 89.2%, -2℃에서 저장한 경우 92.6%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 18-21% 범위에서 상당히 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 녹차 첨가 젖산균 강화 식해 간의 DPPH radical 저해 활성 (89.2-92.6% 범위)의 차이는 약 3%이었다. 저장 처리한 젖산균 강화 식해의 DPPH radical 저해 활성은 녹차 첨가 젖산균 강화 식해 (89.2-92.6% 범위)가 무처리 젖산균 강화 식해 (81.9-84.8% 범위)에 비하여 높아 녹차 첨가에 DPPH radical 저해 활성의 개선이 기대되었다.

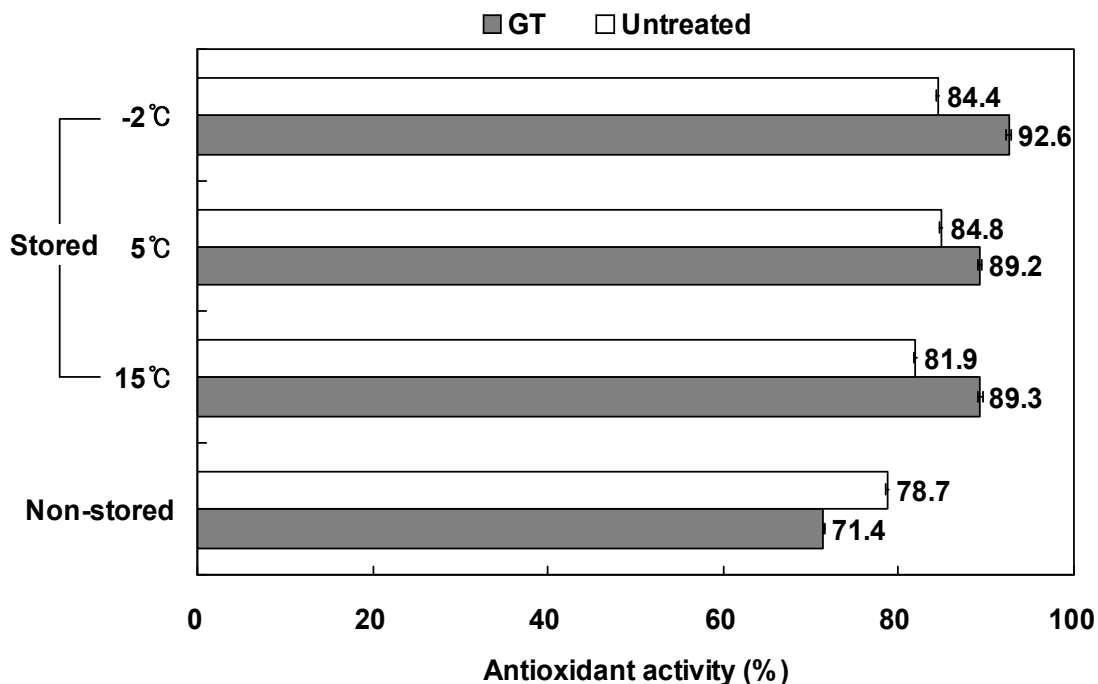


그림 6-75. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젖산균 강화 식해의 DPPH 라디칼 소거능

GT : 녹차 농축물(Concentrated green tea extracts)

저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일

및 50일, 5℃의 경우 각각 10일 및 30일, 15℃의 경우 모두 10일)에 의한 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성을 살펴본 결과는 그림 6-76과 같다. 저장하기 직전 젖산균 강화 및 무강화 납치 식해의 항당뇨 활성은 각각 61.3% 및 21.3%으로 젖산균 강화 납치 식해가 무강화 납치 식해에 비하여 40.0%가 높아 젖산균 강화에 의하여 기능성이 개선된 대표적인 항목이라 판단되었다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성은 각각 49.8% 및 61.3%로, 녹차 첨가 젖산균 강화 식해가 무첨가 젖산균 강화 식해에 비하여 약 12%가 낮았다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성은 15℃에서 저장한 경우 70.3%, 5℃에서 저장한 경우 69.2%, -2℃에서 저장한 경우 69.2%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-9% 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 항당뇨 활성 (69.2-70.3% 범위)의 차이는 약 1% 정도로 미미하였다.

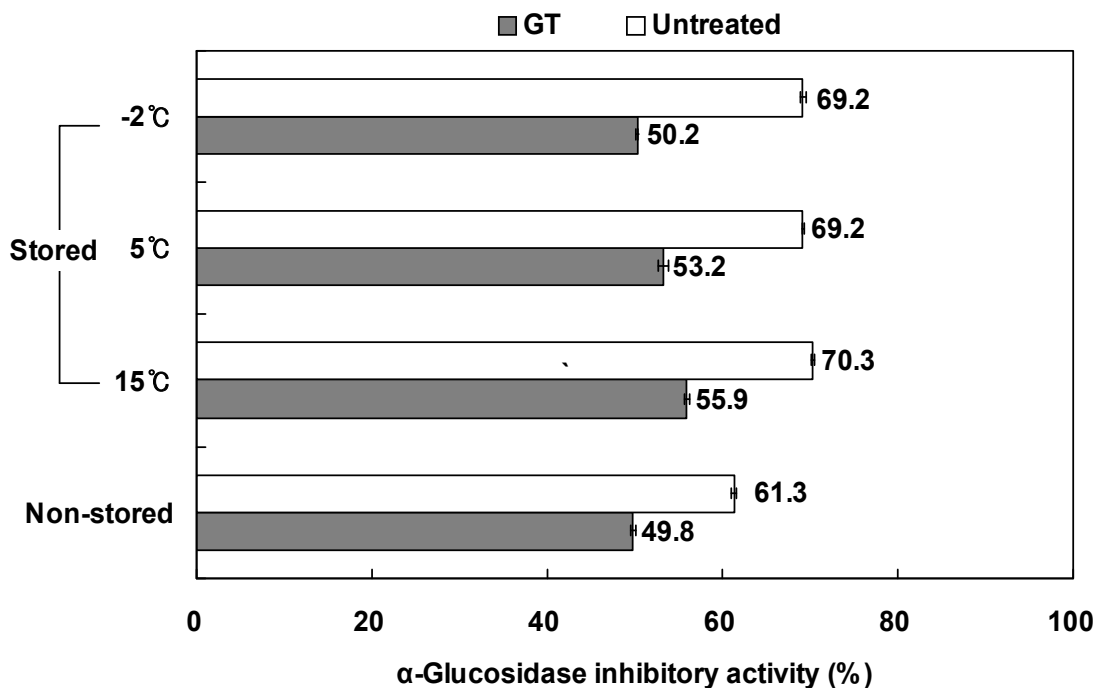


그림 6-76. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성

GT : 녹차 농축물(Concentrated green tea extracts)

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성은 15℃에서 저장한 경우 55.9%, 5℃에서 저장한 경우 53.2%, -2℃에서 저장한 경우 50.2%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0-6% 범위에서 변화가 없거나 약간 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 항당뇨 활성 (50.2-55.9% 범위)의 차이는 약 6% 정도이었다. 저장 처리한 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성은 녹차 처리 젖산균 강화 식해 (50.2-55.9% 범위)가 무첨가 젖산균 강화 식해 (69.2-70.3% 범위)에 비하여 확연히 낮아 저장성을 고려하지 않고, 항당뇨 활성만을 고려하는 가정 등에서의 경우 젖산균 강화 비규격 납치 식해에 녹차 추출물 농축물 처리를 하지 않는 것이 적절하리라 판단되었다.

저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 50일, 5℃의 경우 각각 10일 및 30일, 15℃의 경우 모두 10일)에 의한 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-77과 같다.

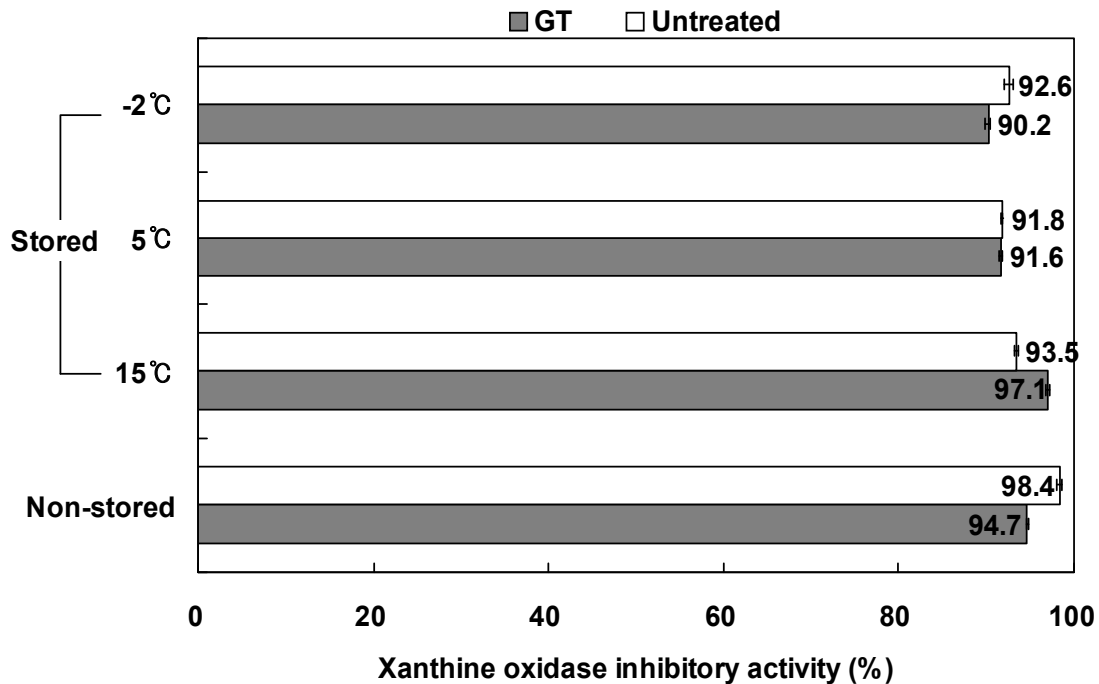


그림 6-77. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젖산균 강화 식해의 항통풍 활성

GT : 녹차 농축물(Concentrated green tea extracts)

저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 각각 94.7% 및 98.4%로, 녹차 첨가 젖산균 강화 식해가 무첨가 젖산균 강화 식해에 비하여 4%가 낮았다. 그러나, 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 녹차 첨가 유무에 관계없이 94% 이상을 유지하여 큰 의미는 없으리라 판단되었다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 93.5%, 5℃에서 저장한 경우 91.8%, -2℃에서 저장한 경우 92.6%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 5-7% 범위에서 저하되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 통풍 저해 활성 (91.8-93.5% 범위)은 약 2% 정도에서 차이가 있어 저장 온도에 따른 변화는 크게 인정되지 않았다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 97.1%, 5℃에서 저장한 경우 91.6%, -2℃에서 저장한 경우 90.2%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 5% 범위에서 증감이 있었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 젖산균 강화 식해 간의 통풍 저해 활성 (90.2-97.1% 범위)의 차이는 약 5% 정도이었다.

저장 처리한 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 녹차 처리 젖산균 강화 식해 (90.2-97.1% 범위)와 무첨가 젖산균 강화 식해 (91.8-93.5% 범위) 간에 5% 정도에서 차이가

있었다. 저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 50일, 5℃의 경우 각각 10일 및 30일, 15℃의 경우 모두 10일)에 의한 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성을 살펴본 결과는 그림 6-78과 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성은 각각 98.1% 및 97.3%로, 두 젖산균이 모두 높은 활성을 가지면서 차이가 적어 젖산균 강화에 의한 아질산염 소거 활성의 개선 효과는 없었다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성은 15℃에서 저장한 경우 97.7%, 5℃에서 저장한 경우 96.4%, -2℃에서 저장한 경우 96.9%로, 저장한 경우와 저장 직전의 경우 간에 차이가 1% 미만으로 아주 미미하였다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 아질산염 소거 활성 (96.4-97.7% 범위)의 차이는 약 1% 정도로 아주 미미하였다.

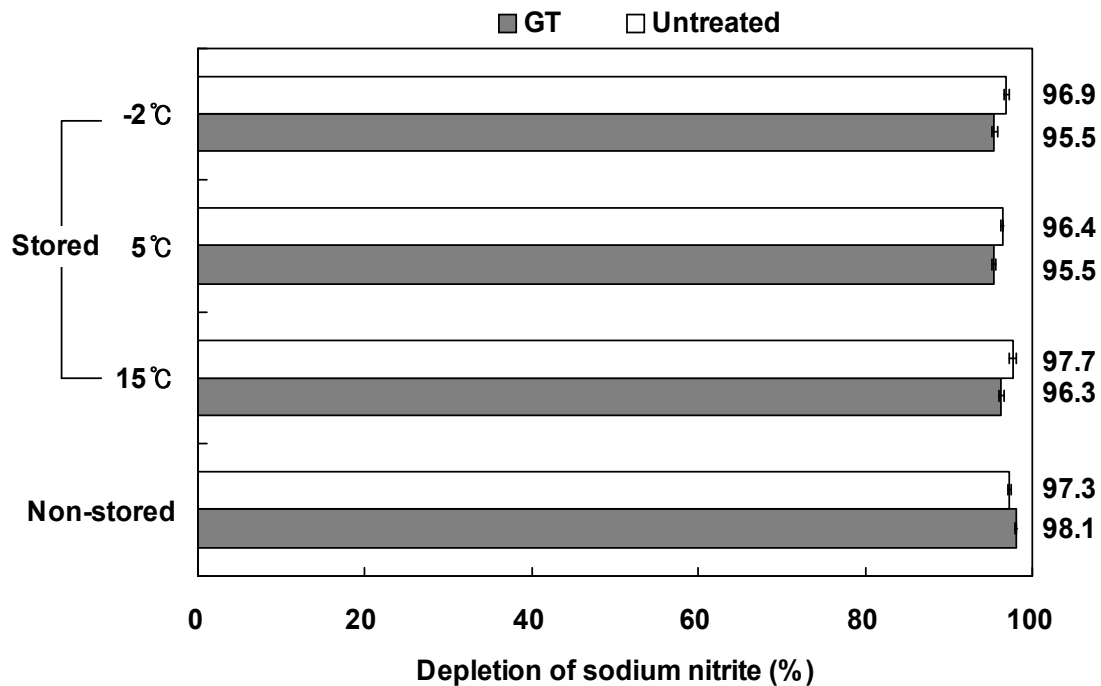


그림 6-78. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성

GT : 녹차 농축물(Concentrated green tea extracts)

이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성은 15℃에서 저장한 경우 96.3%, 5℃에서 저장한 경우 95.5%, -2℃에서 저장한 경우 95.5%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 약 2-3% 정도 저하하였다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 젖산균 강화 식해 간의 아질산염 소거 활성 (95.5-96.3% 범위)은 약 1% 미만으로 차이가 적었다. 저장 처리한 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성은 녹차 처리 젖산균 강화 식해 (95.5-96.3% 범위)와 무첨가 젖산균 강화 식해 (96.4-97.7% 범위)가 모두 95% 이상으로 상당

히 높아 약 1% 정도의 차이는 크게 의미가 없었다.

저장 처리 (녹차 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 50일, 5℃의 경우 각각 10일 및 30일, 15℃의 경우 모두 10일)에 의한 젖산균 강화 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli* 등과 같은 미생물에 대한 항균 활성을 살펴본 결과는 표 6-54와 같다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성은 각각 8.3 mm 및 7.0 mm로, 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의하여 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성이 증대됨을 알 수 있었다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 7.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 7.0 mm, -2℃에서 저장한 경우 7.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 약간 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성 (7.0-7.5 mm 범위)의 차이는 미미하였다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 8.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.5 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.9 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.2-0.6 mm 범위에서 미미하게 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성 (8.5-8.9 mm 범위)의 차이는 미미하였다. 저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 각각 8.5 mm 및 11.0 mm로, 녹차 추출물 농축물의 첨가에 의하여 젖산균 강화 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균 활성이 상당히 약화되었다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 11.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 11.2 mm, -2℃에서 저장한 경우 11.0 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0-0.5 mm 범위에서 개선되거나 차이가 없었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성 (11.0-11.5 mm)의 차이는 적었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 11.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 11.5 mm, -2℃에서 저장한 경우 11.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 2.8-3.0 mm 범위에서 상당히 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성 (11.3-11.5 mm 범위)의 차이는 아주 미미하였다.

표 6-54. 녹차 농축물 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젖산균 강화 식해의 항균활성

식해	저장 조건	항균활성 (mm)			
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
녹차 농축물 무첨가 식해	저장 직전	7.0±0.0	11.0±1.0	7.3±0.6	
	저장 후	-2℃	7.3±0.2	11.0±0.2	7.3±0.2
		5℃	7.0±0.3	11.2±0.2	7.5±0.1
		15℃	7.5±0.2	11.5±0.2	7.5±0.3
녹차 농축물 첨가 식해	저장 직전	8.3±0.0	8.5±1.0	8.5±0.2	
	저장 후	-2℃	8.9±0.0	11.3±0.3	8.9±0.0
		5℃	8.5±0.0	11.5±0.3	8.3±0.3
		15℃	8.5±0.1	11.5±0.0	9.1±0.3

저장하기 직전 녹차 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 각각 8.5 mm 및 7.3 mm로, 녹차 추출물 농축물 첨가에 의하여 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성이 다소 개선되었다고 판단되었다.

여러 가지 온도에서 저장한 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 7.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 7.5 mm, -2℃에서 저장한 경우 7.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 약간 개선되거나 차이가 없었다. 저장 온도에 따른 녹차 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성 (7.3-7.5 mm)의 차이는 아주 미미하였다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 9.1 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.3 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.9 mm로, 5℃에서 저장한 경우는 감소하였으나 나머지 두 종의 식해는 약간 개선되었다. 저장 온도에 따른 녹차 첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성 (8.3-9.1 mm 범위)의 차이는 약 0.8 mm 정도로 크지는 않았다. 이상의 여러 가지 온도에서 저장한 녹차 첨가 젖산균 강화 식해의 항균성은 검토한 3종 모두에 대하여 인정되었고, 이는 저장한 것이 하지 않은 것보다 대체로 높아 유통 중 이들의 활성 저하에 대한 우려는 없으리라 판단되었다.

㉠ 굴 패각 분말을 이용한 젖산균 강화 식해의 shelf-life 개선

젖산균 강화 넙치 식해 (기능성 개선을 목적으로 젖산균을 강화하여 제조한 넙치 식해로 이 하 넙치 식해로 칭함)의 품질 수명은 15℃에 저장한 식해의 경우 저장성이 인정되지 않았고, 5℃에 저장한 식해의 경우 10일, -2℃에 저장한 식해의 경우 30일로 판단되어, 젖산균 강화 식해의 산업화를 위하여는 유통을 고려한 이들 식해의 shelf-life 연장에 대한 시도가 이루어져야 하리라 판단되었다. 전통발효식품인 김치와 식해 등의 최적 숙성기에 굴 패각 분말을 품질 저하 억제제로 사용하는 경우 최적 숙성기의 pH 유지, pectin의 연화 억제 및 젖산균의 발육 억제로 김치와 식해의 shelf-life 연장에도 일부 기인할 수 있으리라 판단된다. 이러한 일

면에서 최적 조건으로 숙성시킨 젖산균 강화 납치 식해의 shelf-life의 연장을 목적으로 젖산균 강화 납치 식해에 굴 패각 분말을 가한 다음 여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)에서 저장 중 pH, 총산도, 젖산균수 및 관능 평가의 변화에 대하여 살펴본 결과는 다음과 같다.

ㄱ. 굴 패각 분말 처리에 의한 저장 중 젖산균 강화 식해의 생화학적 특성 변화

여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 저장 시간에 따른 굴 패각 처리 젖산균 강화 식해와 무처리 젖산균 강화 식해의 pH 변화는 그림 6-79와 같다. 일반적으로 납치 식해의 기호도와 pH를 상관시켰을 때 pH 4.2 이하로 저하하는 경우 기호도가 급감하는 경향을 나타내었다. 15℃에서 저장 중 무처리 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후의 경우 4.34이었고, 이후 감소하여 저장 10일째 이후에는 3.95 이하를 나타내어 소비자가 기호적으로 식용하는데 다소 문제가 있으리라 판단되었다. 이에 반하여 15℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 4.94로, 무첨가 젖산균 강화 식해의 pH보다 0.60이 높았으나, 저장 중 서서히 감소하여 저장 30일째에 4.67을 나타내었고, 이후 저장 40일째에 3.77을 나타내었다. 이와 같이 굴 패각 분말의 첨가에 의하여 pH가 다소 상승하는 것은 이 굴 패각 분말 자체의 pH에 의한 영향 이외에 굴 패각의 pH 완충능에 의한 영향이라 판단되었다. 따라서, 굴 패각 분말의 첨가에 의한 15℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life 개선은 약 30일 정도가 될 것으로 예측되었다.

5℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 (4.34)부터 서서히 감소하여 저장 10일째에 4.27을 유지하였으나, 저장 20일째 이후에는 4.13 이하로 유지되었다. 이에 반하여 5℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 4.94이었고, 저장 중 서서히 감소하여 저장 40일째에 4.27을 나타내었고, 저장 50일째 이후의 경우 4.14 이하를 유지하였다. 굴 패각 분말의 첨가에 의한 5℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life 개선은 약 40일 정도로 기대되었다.

-2℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 (4.34)부터 서서히 감소하여 저장 30일째에 4.21을 나타내었고, 저장 40일째 이후에는 4.15 이하를 나타내었다. 이에 반하여 -2℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 pH는 제조 직후 (4.94)부터 약간의 증감을 하여 저장 50일째에 4.48을 나타내었고, 저장 60일째에 4.12를 나타내었다. 굴 패각 분말의 첨가에 의한 -2℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life는 약 50일로 추정되었다. 이상의 저장 중 굴 패각 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 pH에 대한 변화의 결과로 미루어 보아 굴 패각 분말의 첨가에 의하여 신맛의 완충 효과에 의한 shelf-life 개선 효과는 있었고, 그 효과는 저온으로 내려갈수록 상승하였다.

여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 시간에 따른 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해와 무첨가 젖산균 강화 식해의 총산도 변화는 그림 6-80과 같다. 15℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 총산도는 제조 직후의 경우 2.25 g/100g이었고, 서서히 증가하여 저장 30일째에 2.99 g/100g을 나타내었으며, 40일째에는 3.58 g/100g을 나타내었다. 이에 반하여 1

5℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 총산도는 제조 직후의 경우 0.84 g/100g이었고, 이후 서서히 증가하여 저장 30일째에 1.22 g/100g 을 나타내었으며, 저장 40일째에는 pH 완충능을 잃고 급격히 증가하여 3.27 g/100g을 나타내었다. 15℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 총산도는 무첨가 젖산균 강화 식해의 그것에 비하여 그 값에 있어서는 상당히 차이가 있어 낮았으나, 그 변화 경향은 아주 유사하였다. 저장 중 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해들의 총산도의 결과로 미루어 보아 굴 패각 분말의 첨가에 의해 15℃에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 총산도는 다소 억제되었다.

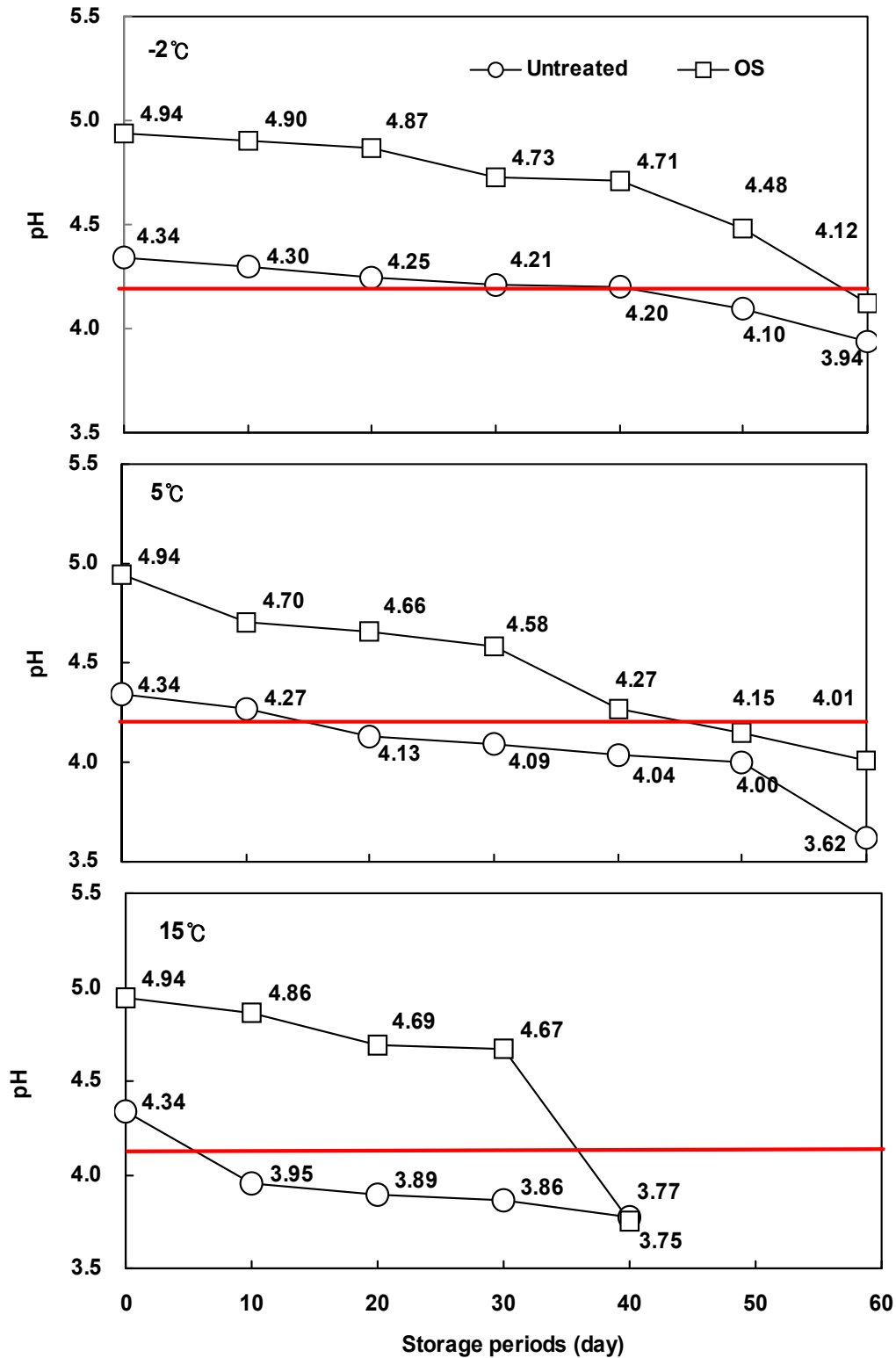


그림 6-79. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 젖산균 강화 식해의 pH 변화

OS : 굴 패각 분말(Powdered oyster shell)

5°C에서 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 총산도는 저장 직후 (2.25 g/100g)부터 저장 50일째 (2.73 g/100g 범위)까지의 경우 아주 미미한 증가를 하였고, 이후 저장 60일

째에는 다소 증가를 하여 3.22 g/100g을 나타내었다. 이에 반하여 5℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 총산도는 제조 직후 (0.84 g/100g)부터 서서히 증가하여 저장 40일째에 1.99 g/100g을 나타내어 무첨가 젖산균 강화 식해의 0일째 그것보다 약간 낮았으나, 저장 50일째에 2.43 g/100g 및 저장 60일째에 2.82 g/100g을 나타내었다.

-2℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 총산도는 저장 직후 (2.25 g/100g)부터 저장 50일째까지 (2.49 g/100g 범위)의 경우 거의 변화가 없었고, 이후 저장 60일째에 다소 증가를 하여 2.95 g/100g을 나타내었다. 이에 반하여 -2℃에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 총산도는 저장 직후 (0.84 g/100g)부터 서서히 증가하여 저장 30일째 (0.98 g/100g)을 나타내었고, 이후 급격히 증가하여 저장 60일째에 2.45 g/100g을 나타내었다.

-2℃에서 저장 중 굴 패각 분말의 첨가에 의하여 젖산균 강화 식해의 총산도 억제 효과는 초기 저장 30일째까지는 확연히 인지되었으나, 이후 감소하여 저장 50일째부터는 인지가 어려웠다. 이상의 여러 가지 온도에서 저장 중 젖산균 강화 식해의 총산도 결과로 미루어 보아 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해가 무첨가 강화 식해에 비하여 저장 초기의 경우 그 값은 확연히 낮아 억제 효과가 인지되었으나, 후기에는 그 효과가 상당히 감소하였다. 굴 패각 분말은 젖산균 강화 식해의 총산도 억제에 효과적이었고, 이는 빙결점 부근의 온도로 낮추어 줄수록 효과적이었다.

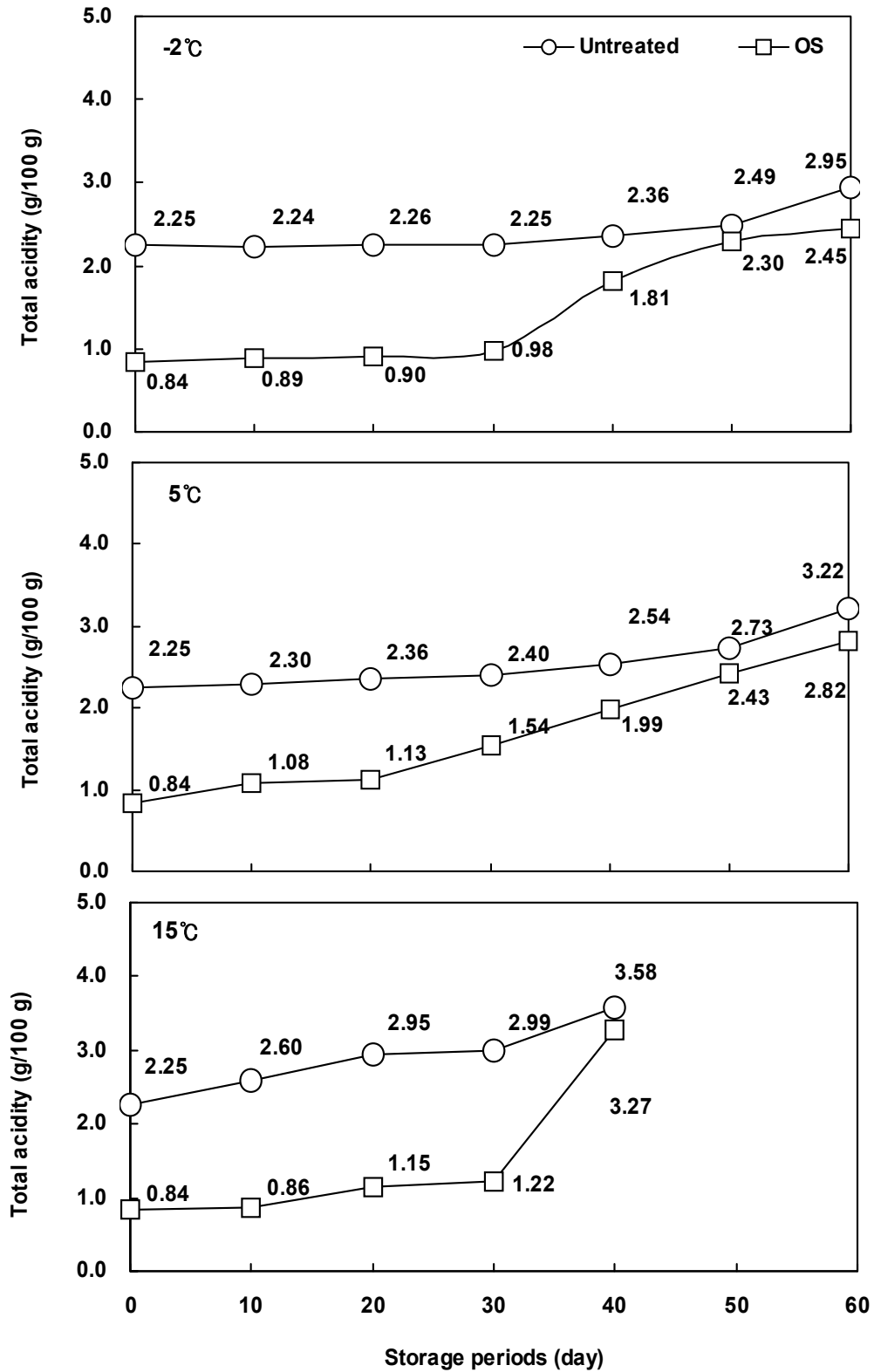


그림 6-80. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 젖산균 강 화식해의 총산도

OS : 굴 패각 분말(Powdered oyster shell)

여러 가지 저장 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃)와 저장 기간에 따른 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수 변화는 그림 6-81과 같다. 15℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 저장 직후에 8.97 log(CFU/g)이었고, 이후 저장 10일째 (9.59 log(CFU/g)부터 저장 40일째까지 (9.91 log(CFU/g) 이들의 범위 부근에서 증감을 하였다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 저장 직후 [7.73 log(CFU/g)] 부터 저장 30일째까지 계속적으로 증가하여 8.71 log(CFU/g)에 도달한 후 저장 40일째에 9.80 log(CFU/g)에 도달하였다. 굴 패각 분말의 첨가는 15℃에서 저장 중인 젖산균 강화 식해의 젖산균 증식 억제에 초기 저장 30일째까지는 완전하였으나 이후에는 거의 억제 효과가 없었다고 판단되었다.

5℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 저장 직후 [8.97 log(CFU/g)] 부터 저장 20일째까지는 급격히 증가하여 저장 20일째에 9.89 log(CFU/g)로 최대치 나타내었고, 이후 급격히 감소하여 저장 60일째에 8.24 log(CFU/g)을 나타내었다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 저장 직후에 7.73 log(CFU/g)이었고, 저장 10일째에 8.48 log(CFU/g)으로 급격히 증가하였으며, 이후 저장 40일째에 8.88 log(CFU/g), 저장 60일째에 9.82 log(CFU/g)에 이르렀다.

굴 패각 분말의 첨가는 5℃에서 저장 중인 젖산균 강화 식해의 젖산균 증식 억제에 저장 40일째까지는 확연히 효과가 인지되었으나 이후에는 다소 인지되지 않았다. -2℃에서 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 숙성 직후 [8.97 log(CFU/g)] 부터 저장 30일째까지 증가하여 9.91 log(CFU/g)를 나타내었고, 이후 저장 50일째까지 서서히 감소하여 9.23 log(CFU/g)을 나타낸 후 저장 60일째에는 9.25 log(CFU/g)로 거의 변화가 없었다. 이에 반하여 동일 온도에서 저장 중 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 젖산균수는 숙성 직후부터 저장 50일째 서서히 증가하여 7.73-8.80 log(CFU/g) 범위에 있었고, 이후 저장 60일째에는 급격히 증가를 하여 9.82 log(CFU/g)을 나타내었다.

굴 패각 분말의 첨가는 -2℃에서 저장 중인 젖산균 강화 식해의 젖산균 증식 억제에 상당히 관여하였고, 그 정도는 15℃ 및 5℃에 저장한 경우보다 확연히 우수하다고 판단되었다. 이상의 결과로 미루어 보아 젖산균 강화 식해의 젖산균수 변화는 굴 패각 분말의 첨가에 의하여 억제된다고 판단되었고, 그 억제 효과는 온도가 낮을수록 우수하다고 판단되었다.

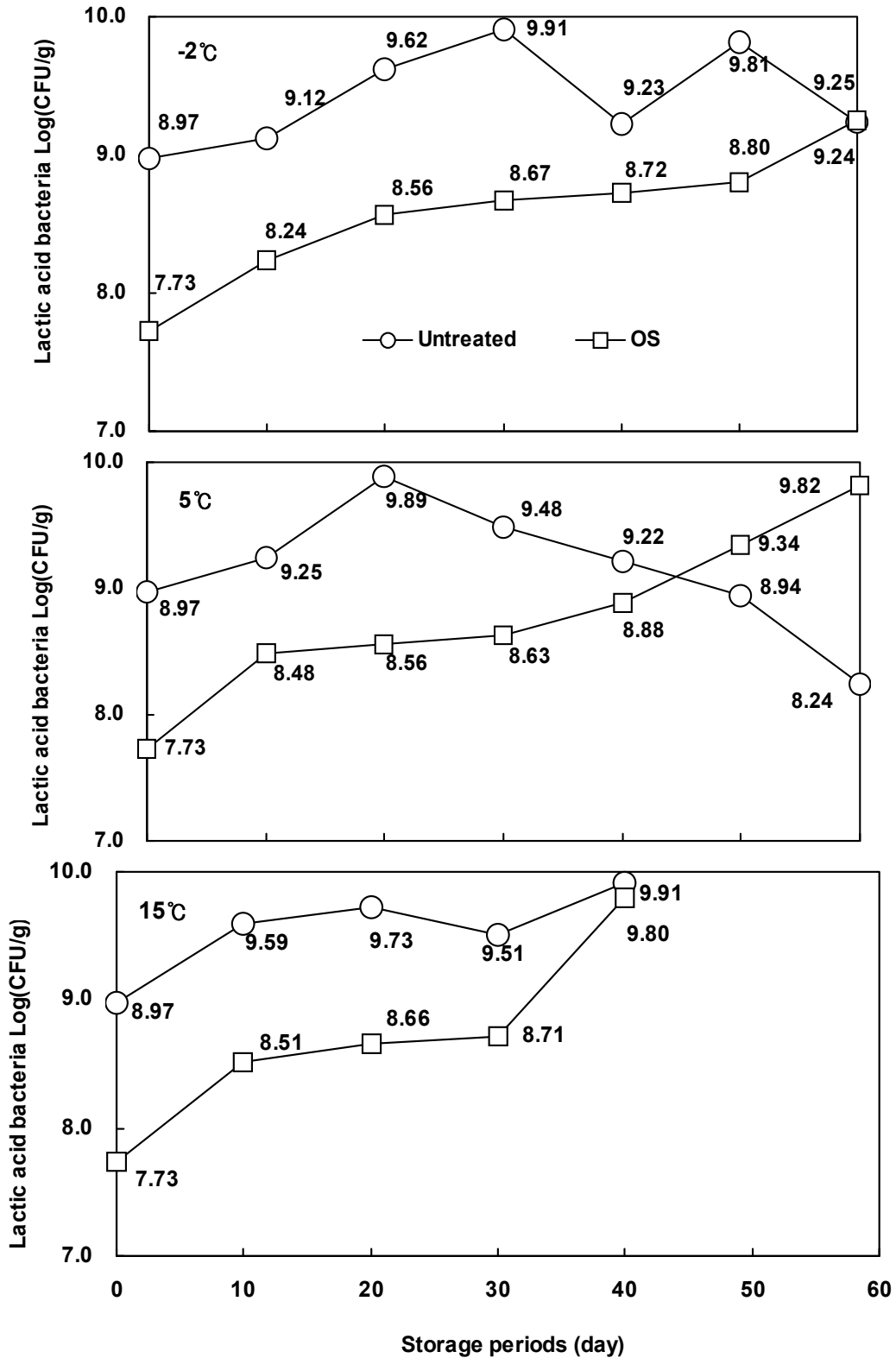


그림 6-81. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2°C, 5°C 및 15°C) 중 젖산균 강
화식해의 젖산균수

OS : 굴 패각 분말(Powdered oyster shell)

ㄴ. 굴 패각 처리에 의한 저장 중 젖산균 강화 식해의 관능적 특성 변화

여러 가지 저장 온도 (-2, 5 및 15℃) 및 저장 기간에 따른 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 관능 평가 (긍정적인 기호도를 나타낸 관능요원의 수로 표기)의 결과는 표 6-55와 같다. 15℃에 저장한 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해는 저장 50일째에 곰팡이가 발생하여 이후의 관능 평가를 비롯한 화학적 실험은 수행하지 않았다. 15℃에 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 기호도를 긍정적으로 나타낸 관능 요원은 저장 직후에는 8명이었으나, 저장 10일째 이후에는 젖산균의 작용에 의하여 산생되는 신맛 등의 작용으로 1명 이하로 표기되었다. 이에 반하여 동일 온도에 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 무첨가 젖산균 강화 식해와 같이 저장 직후에는 8명이었고, 저장 30일째까지 7명 이상이 유지되었으나, 저장 40일째 이후에는 신맛 등의 증강으로 1명 이하로 나타났다. 이상의 젖산균 강화 식해에 대한 관능 평가 결과로 미루어 보아 15℃에 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life는 굴 패각 첨가에 의하여 30일로 연장되었다.

표 6-55. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 중 젖산균 강화식해의 기호도 변화

저장 일수	굴패각 무첨가 식해			굴 패각 첨가 식해		
	-2℃	5℃	15℃	-2℃	5℃	15℃
0	8	8	8	8	8	8
10	7	8	1	8	8	8
20	6	3	0	8	7	8
30	6	3	0	8	7	7
40	4	1	0	8	8	1
50	4	0	ND	8	8	ND
60	3	0	ND	7	5	ND

ND: Not determined

5℃에 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 저장 직후는 물론이고, 저장 10일째에도 8명이 유지되었으나, 신맛의 강화에 의하여 20일째 이후에는 3명 이하로 유지되었다. 이에 반하여 동일온도에 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 50일째까지 7명 이상을 유지하였고, 저장 60일째 이후에는 5명으로 나타났다. 이상의 젖산균 강화 식해에 대한 관능 평가 결과로 미루어 보아 5℃에 저장 중 젖산균 강화 식해의 shelf-life는 굴 패각 무첨가 식해의 경우 10일로 인정되었고, 굴 패각 첨가 식해의 경우 50일로 판단되었다.

한편, -2℃에 저장 중 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 저장 30일째까지 6명 이상이 유지되었으나, 신맛의 강화에 의하여 40일째 이후에는 4명 이하로 나타났다.

이에 반하여 동일 온도에 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 관능적 기호도는 60일째까지 7명 이상이 유지되었다.

젖산균 강화 식해의 저장 중 shelf-life는 굴 패각 분말 첨가에 의하여 개선되었고, 그 정도는 온도가 낮을수록 확연히 컸다. 저장 온도가 높을수록 납치 식해의 관능 평가가 신속히 감소하는 것은 저장 온도가 상승할수록 젖산균의 최적 온도에 가까워져 이들이 산생하는 lactic acid에 의하여 신맛이 증가하였기 때문이라 판단되었다(Koo et al., 2009). 따라서, 젖산균 강화에 의한 납치 식해의 품질개선과 동시에 저장성 향상을 시도하고자 하는 경우 젖산균 강화 납치 식해에 굴 패각 분말을 첨가하여 빙결점 부근의 온도에서 저장하는 경우 그 목적을 이룰 수 있다고 판단되었다.

ㄷ. 굴 패각 처리 및 무처리 젖산균 강화 식해의 shelf-life

굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 여러 가지 온도 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 및 저장 시간에 따른 pH, 총산도, 젖산균수 및 관능 평가의 결과로부터 정리한 각 저장 온도 (-2, 5 및 15℃)에서의 shelf-life는 표 6-56과 같다. 굴 패각 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해들의 각 저장 온도에서 shelf-life는 15℃에서 저장한 경우 각각 인정되지 않거나 30일이었고, 5℃에 저장한 경우 각각 10일 및 50일로, -2℃에 저장한 경우 각각 30일 및 60일로 판단되었다. 따라서 젖산균 강화 비규격 납치 식해의 shelf-life를 연장하기 위하여는 굴 패각 분말을 첨가하고 빙결점 부근의 온도인 -2℃에 저장하여 유통하면 좋으리라 판단되었다.

표 6-56. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 (-2℃, 5℃ 및 15℃) 중 젖산균 강화식해의 Shelf-life

	굴 패각 무첨가 식해			굴 패각 첨가 식해		
	-2℃	5℃	15℃	-2℃	5℃	15℃
Shelf-life (일)	30	10	0	60	50	30

ㄹ. 굴 패각 처리 및 무처리 젖산균 강화 식해의 저장 중 건강 기능성 변화

저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 60일, 5℃의 경우 각각 10일 및 50일, 15℃의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 젖산균 강화 식해의 angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-82과 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 각각 70.2% 및 74.0%로, 굴 패각 첨가 식해가 무첨가 식해에 비하여 약 4%가 낮았다. 이와 같이 굴 패각 분말의 첨가에 의한 젖산균 강화 식해의 ACE 저해 활성이 저하하는 것은 굴 패각 첨가에

의한 pH 상승으로 ACE 저해 활성을 가진 젓산균의 생육 저해 때문이라 판단되었다.

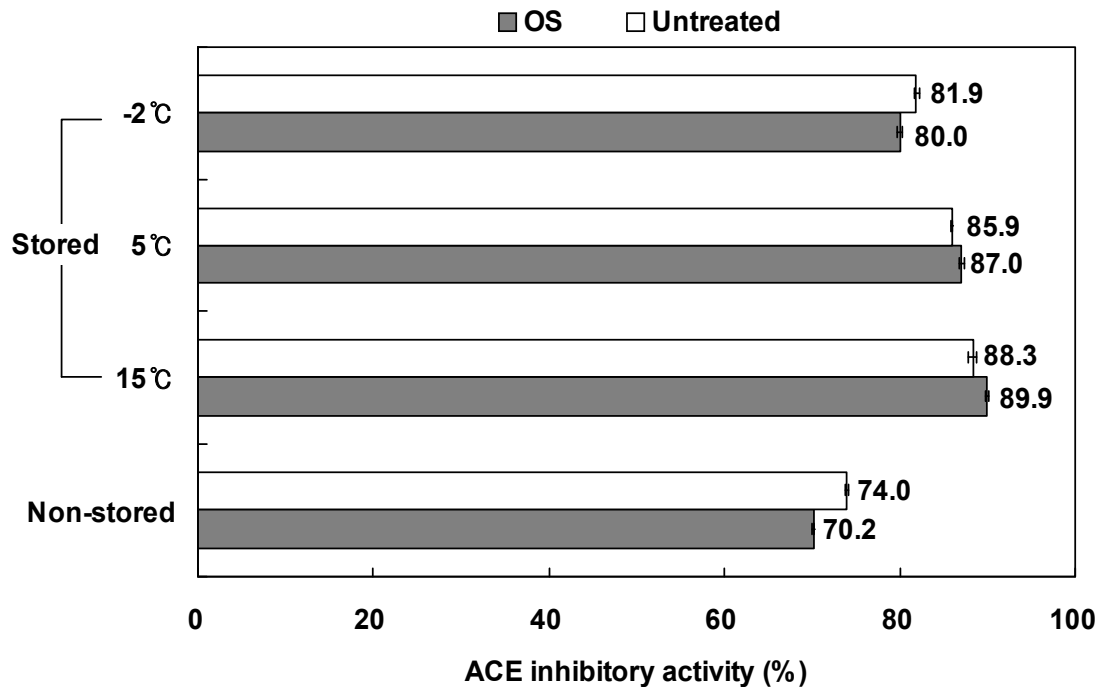


그림 6-82. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젓산균 강화 식해의 ACE 저해 활성

OS : 굴 패각 분말(Powdered oyster shell)

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 젓산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 15°C에서 저장 경우 88.3%, 5°C에서 저장한 경우 85.9%, -2°C에서 저장한 경우 81.9%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-14% 범위에서 개선되었다. 저

장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 젓산균 강화 식해 간의 ACE 저해 활성 (81.9-88.3% 범위)의 차이는 약 6%이었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 젓산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 88.9%, 5°C에서 저장한 경우 87.0%, -2°C에서 저장한 경우 80.0%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 2-11% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 젓산균 강화 식해 간의 ACE 저해 활성 (80.0-88.9% 범위)은 약 9% 정도의 범위에서 차이가 있었고, 대체로 저장 온도가 높을수록 우수하였다. 따라서, 굴 패각 첨가 및 무첨가 젓산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 저장 온도에 관계없이 유통 중 상승하는 것으로 나타났다. 저장 처리한 젓산균 강화 식해의 ACE 저해 활성은 굴 패각 처리 젓산균 강화 식해 (80.0-88.9% 범위)가 무첨가 젓산균 강화 식해 (81.9-88.3% 범위)에 비하여 차이가 없었다.

저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 젓산균 강화 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 60일, 5°C의 경우 각각 10일 및 50일, 15°C의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 젓산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-83과 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 젓산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성은 각각 63.8% 및 78.7%로, 굴 패각 첨가 젓산

균 강화 식해가 무첨가 젖산균 강화 식해에 비하여 약 15%가 낮았다. 이와 같이 굴 패각 첨가 전후 젖산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성에 대한 차이는 이들의 첨가에 의한 pH의 변화와 젖산균수의 차이 때문이라 판단되었다.

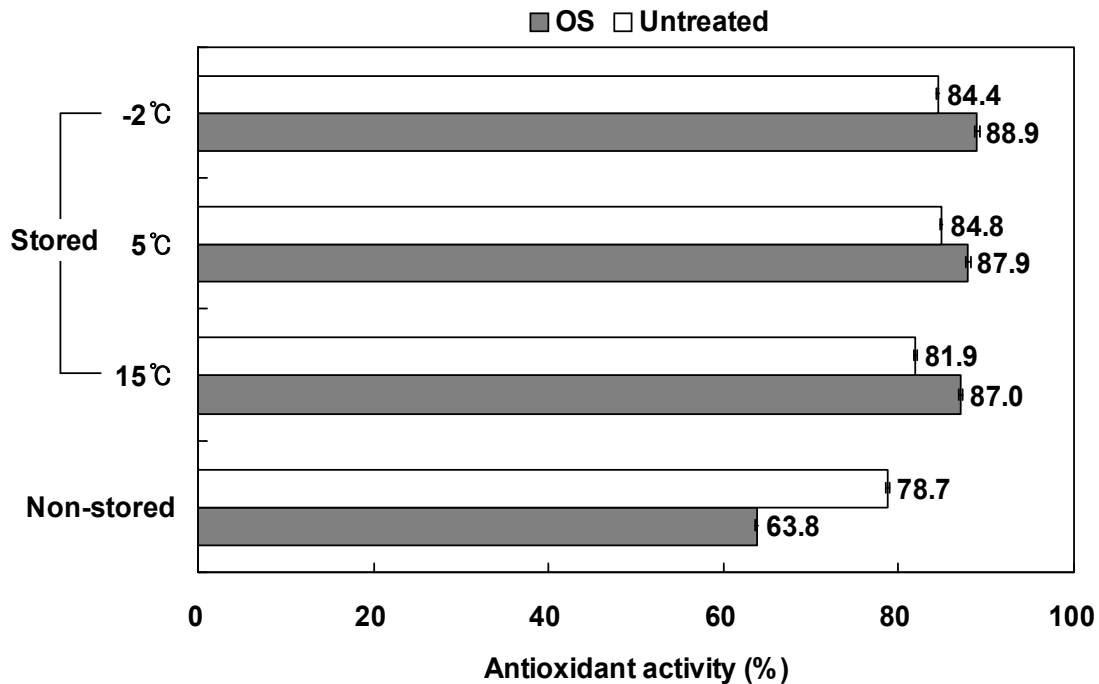


그림 6-83. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젖산균 강화 식해의 DPPH 라디칼 소거능

OS : 굴 패각 분말(Powdered oyster shell)

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 DPPH radical 저해 활성은 15°C에서 저장 경우 81.9%, 5°C에서 저장한 경우 84.8%, -2°C에서 저장한 경우 84.4%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 3-6% 범위에서 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성 식해 간의 DPPH radical 저해 활성 (81.9-84.8% 범위)의 차이는 약 3%이었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 DPPH 저해 활성은 15°C에서 저장한 경우 87.0%, 5°C에서 저장한 경우 87.9%, -2°C에서 저장한 경우 88.9%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 23-25% 범위에서 상당히 개선되었다. 그러나 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해 간의 DPPH radical 저해 활성 (87.0-88.9% 범위)의 차이는 약 2%에 불과하였다. 저장 처리한 젖산균 강화 식해의 DPPH radical 저해 활성은 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해 (87.0-88.9% 범위)가 무처리 젖산균 강화 식해 (81.9-84.8% 범위)에 비하여 높아 굴 패각 첨가에 의하여 DPPH radical 저해 활성의 개선이 기대되었다.

저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2°C의 경우 각각 30일 및 60일, 5°C의 경우 각각 10일 및 50일, 15°C의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 젖산균

강화 식해의 항당뇨 활성을 살펴본 결과는 그림 6-84와 같다.

저장하기 직전 젖산균 강화 및 무강화 식해의 항당뇨 활성은 각각 61.3% 및 21.3%으로 젖산균 강화 납치 식해가 무강화 납치 식해에 비하여 40.0%가 높아 젖산균 강화에 의하여 기능성이 개선된 대표적인 항목이라 판단되었다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성은 각각 40.2% 및 61.3%로, 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해가 무첨가 젖산균 강화 식해에 비하여 약 21%가 낮았다. 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성은 15℃에서 저장한 경우 70.3%, 5℃에서 저장한 경우 69.2%, -2℃에서 저장한 경우 69.2%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 8-9% 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 항당뇨 활성 (69.2-70.3% 범위)의 차이는 약 1% 정도로 미미하였다. 항당뇨 활성은 15℃에서 저장한 경우 51.2%, 5℃에서 저장한 경우 42.3%, -2℃에서 저장한 경우 42.3%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 2-9% 범위에서 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해 간의 항당뇨 활성 (42.3-51.2% 범위)의 차이는 약 9% 정도이었다. 저장 처리한 젖산균 강화 식해의 항당뇨 활성은 굴 패각 처리 젖산균 강화 식해 (42.3-51.2% 범위)가 무첨가 젖산균 강화 식해 (69.2-70.3% 범위)에 비하여 확연히 낮아 저장성을 고려하지 않고, 항당뇨 활성만을 고려하는 가정이나 집단 음식 등에서의 경우 젖산균 강화 비규격 납치 식해에 굴 패각 분말 처리를 하지 않는 것이 적절하리라 판단되었다.

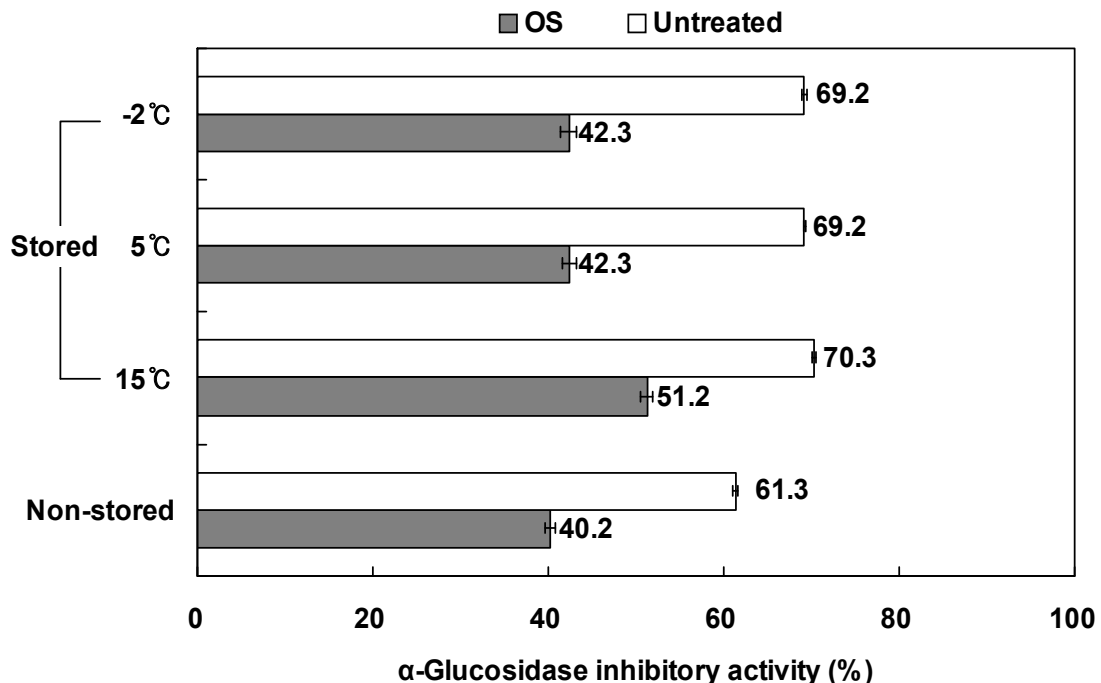


그림 6-84. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 (젖산균 강화 식해)의 항당뇨 활성

OS : 굴 패각 분말(Powdered oyster shell)

저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 60일, 5℃의 경우 각각 10일 및 50일, 15℃의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성을 살펴본 결과는 그림 6-85와 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 각각 90.3% 및 98.4%로, 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해가 무첨가 젖산균 강화 식해에 비하여 약 8%가 낮았다. 그러나, 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 굴 패각 첨가 유무에 관계없이 90% 이상을 유지하여 큰 의미는 없으리라 판단되었다.

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 93.5%, 5℃에서 저장한 경우 91.8%, -2℃에서 저장한 경우 92.6%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 5-7% 범위에서 저하되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 통풍 저해 활성 (91.8-93.5% 범위)은 약 2% 정도에서 차이가 있어 저장 온도에 따른 변화는 크게 인정되지 않았다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 97.8%, 5℃에서 저장한 경우 98.3%, -2℃에서 저장한 경우 92.4%로, 저장한 경우가 저장 직전보다 2-8% 범위에서 높았다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해 간의 통풍 저해 활성 (92.4-98.3% 범위)의 차이는 약 6% 정도이었다. 저장 처리한 젖산균 강화 식해의 통풍 저해 활성은 굴 패각 처리 젖산균 강화 식해 (92.4-98.3% 범위)가 무첨가 젖산균 강화 식해 (91.8-93.5% 범위)에 비하여 약간 높았다.

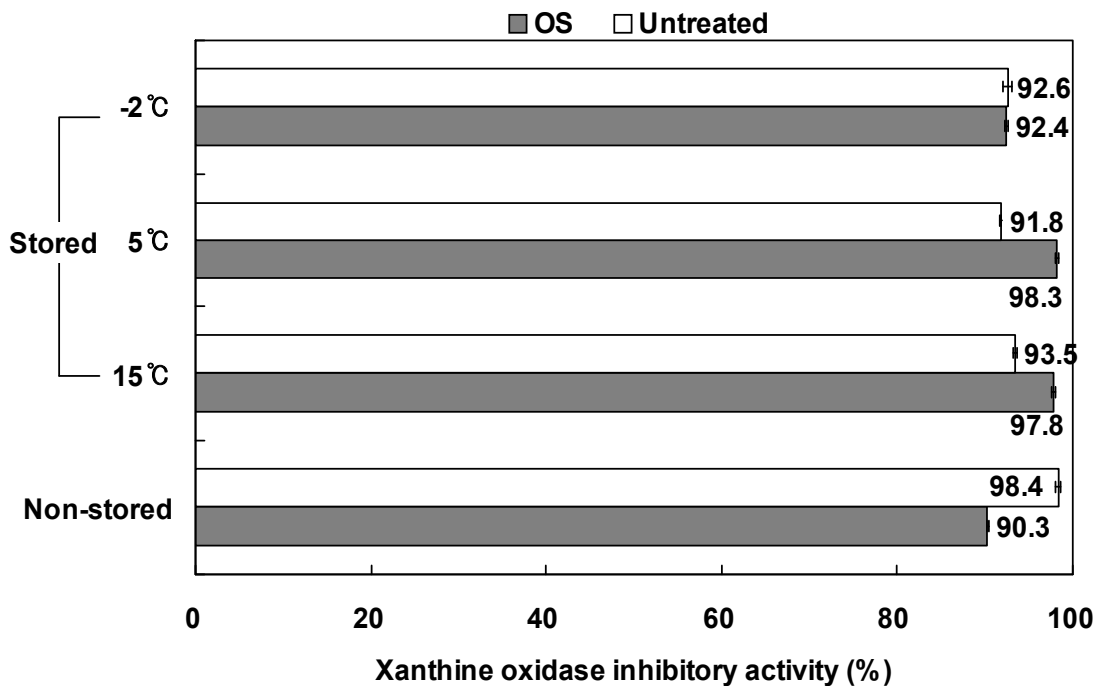


그림 6-85. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젖산균 강화 식해의 항통풍 활성

OS : 굴 패각 분말(Powdered oyster shell)

저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 60일, 5℃의 경우 각각 10일 및 50일, 15℃의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성을 살펴본 결과는 그림 6-86 과 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성은 각각 96.8% 및 97.3%로, 두 젖산균 강화 식해가 모두 높은 활성을 가지면서 차이가 적어 아질산염 소거 활성을 개선하기 위하여 굴 패각 분말을 처리할 필요는 없으리라 판단되었다. 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성은 15℃에서 저장한 경우 97.7%, 5℃에서 저장한 경우 96.4%, -2℃에서 저장한 경우 96.9%로, 저장한 경우와 저장 직전의 경우 간에 차이가 1% 미만으로 아주 미미하였다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 아질산염 소거 활성 (96.4-97.7% 범위)의 차이는 약 1% 정도로 아주 미미하였다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성은 15℃에서 저장한 경우 97.8%, 5℃에서 저장한 경우 98.3%, -2℃에서 저장한 경우 96.3%로, 저장한 경우와 저장 직전의 경우가 2% 내의 차이를 나타내었다. 저장 처리한 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거 활성은 굴 패각 처리 젖산균 강화 식해 (96.3-98.3% 범위)와 무첨가 젖산균 강화 식해 (96.4-97.7% 범위)가 모두 95% 이상으로 상당히 높아 이들의 차이는 크게 의미가 없으리라 판단되었다.

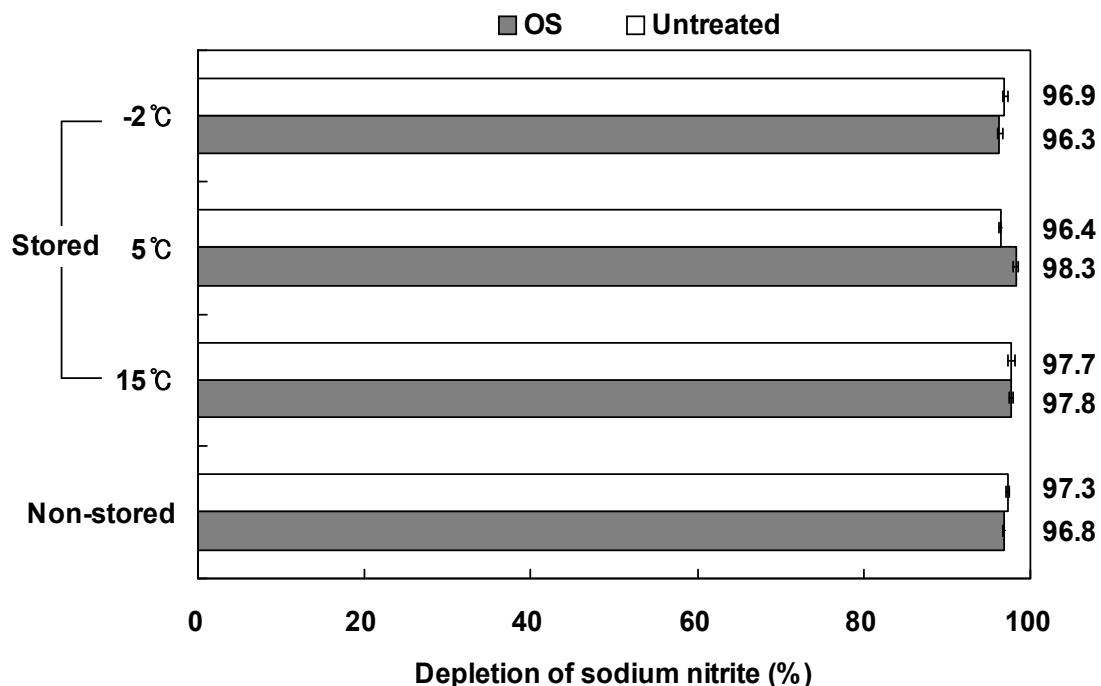


그림 6-86. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 (저장 일수는 Table 5-13에 나타낸 온도에서 shelf-life 만큼 실시) 젖산균 강화 식해의 아질산염 소거활성

OS : 굴 패각 분말(Powdered oyster shell)

저장 처리 (굴 패각 무첨가 및 첨가 젖산균 강화 식해의 저장 기간은 -2℃의 경우 각각 30일 및 60일, 5℃의 경우 각각 10일 및 50일, 15℃의 경우 각각 10일 및 30일)에 의한 젖산균 강화 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli* 등과 같은 미생물에 대한 항균 활성을 살펴본 결과는 표 6-57과 같다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성은 각각 7.2 mm 및 7.0 mm로, 굴 패각 분말의 첨가에 의한 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균 활성의 경우 거의 변화가 없었다. 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 7.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 7.0 mm, -2℃에서 저장한 경우 7.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 약간 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성 (7.0-7.5 mm 범위)의 차이는 미미하였다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 7.3 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.3 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0.1-1.1 mm 범위에서 변화가 없거나 약간 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 저해 활성 (7.3-8.3 mm 범위)의 차이는 다소 있었고, 저온에서 효과가 있었다.

저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 각각 9.0 mm 및 11.0 mm로, 굴 패각 추출물 농축물의 첨가에 의하여 젖산균 강화 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균 활성이 상당히 약화되었다. 이와 같은 결과는 굴 패각 분말의 첨가에 의하여 pH가 상승함으로써 젖산균의 생육이 다소 억제되었기 때문이라 판단되었다.

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 11.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 11.2 mm, -2℃에서 저장한 경우 11.0 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 0-0.5 mm 범위에서 개선되거나 차이가 없었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성 (11.0-11.5 mm)의 차이는 적었다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 11.3 mm, 5℃에서 저장한 경우 11.7 mm, -2℃에서 저장한 경우 11.5 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 오히려 2.3-2.7 mm 범위에서 상당히 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Staphylococcus aureus*에 대한 저해 활성 (11.3-11.7 mm 범위)의 차이는 약간 인지되었다. 저장하기 직전 굴 패각 첨가 및 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 각각 7.0 mm 및 7.3 mm로, 굴 패각 추출물 농축물 첨가에 의하여 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성이 미미하지만 약간 저하되었다고 판단되었다.

여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 7.5 mm, 5℃에서 저장한 경우 7.5 mm, -2℃에서 저장한 경우 7.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전보다 약간 개선되거나 차이가 없었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 무첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성 (7.3-7.5 mm)의 차이는 아주 미미하였다. 이에 반하여 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성은 15℃에서 저장한 경우 7.3 mm, 5℃에서 저장한 경우 8.0 mm, -2℃에서 저장한 경우 8.3 mm로, 저장한 경우가 저장 직전에 비하여 개선되었다. 저장 온도에 따른 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해 간의 *Escherichia coli*에 대한 저해 활성 (7.3-8.3 mm 범위)의 차이는 약간 인지되었고, 저온에서 저장할수록 활성은 높게 나타났다.

표 6-57. 굴 패각 분말 첨가에 의한 저장 직전 및 저장 후 젖산균 강화 식해의 항균활성

식해	저장 조건	항균활성 (mm)			
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
굴 패각 무첨가 식해	저장 직전	7.0±0.0	11.0±1.0	7.3±0.6	
	저장 후	-2℃	7.3±0.2	11.0±0.2	7.3±0.2
		5℃	7.0±0.3	11.2±0.2	7.5±0.1
		15℃	7.5±0.2	11.5±0.2	7.5±0.3
굴 패각 첨가 식해	저장 직전	7.2±0.1	9.0±0.5	7.0±0.0	
	저장 후	-2℃	8.3±0.1	11.5±0.2	8.3±0.2
		5℃	8.3±0.2	11.7±0.2	8.0±0.2
		15℃	7.3±0.2	11.3±0.0	7.3±0.4

이상의 여러 가지 온도에서 저장한 굴 패각 첨가 젖산균 강화 식해의 항균성은 검토한 3종 모두에 대하여 인정되었고, 이는 저장한 것이 하지 않은 것보다 대체로 높아 유통 중 이들의 활성 저하에 대한 우려는 없으리라 판단되었다.

제 3 장 연구개발 목표달성도 및 기대효과 및 활용방안

제 1 절 연구개발 목표 달성도

1. 항생제 대체물질 천연 항생제 개발

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
천연항생제 개발	어류의 면역력 증진 및 무항생제 사용을 위한 천연물질 (마늘) 을 개발하였다.	100
마늘 발효액에 대한 항균효과	마늘발효액이 어병균 (연쇄구균증 종과 비브리오 균주 1종) 에 대해 우수한 항균 활성을 보였다.	100
넙치에서의 항병력 증진 효과 분석	넙치의 주요 질병 원인체들을 대상으로 넙치에 대한 마늘의 항병력 증진 효과를 분석한 결과 연쇄구균증과 비브리오 균주에서 효과가 있음을 확인하였다. 그 밖에 단기간 및 장기간 병원체 투여 경로, 넙치 size에 따라 실험을 진행하였다.	100
마늘 발효액에 대한 항산화 효과	마늘발효액이 직접적으로 라디칼 소거는 하지 못하였지만, 세포내에서는 항산화 효과 및 세포 보호효과를 보였다.	100
마늘 발효액에 대한 in vitro, in vivo 면역활성 효과	in vitro 및 in vivo 모두에서 면역활성 증진 효과(NBT, lysozyme activity)를 나타내었다.	100

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
<i>in vivo</i> 상 넙치 혈청 내 알리신 함량 측정	7개월간 해양과환경연구소에서 마늘 발효액 첨가 사료를 먹였을 때 넙치혈청에서 알리신 유사성분이 검출되었다.	100
Pilot scale 넙치 양식	7개월간 해양과환경연구소에서 마늘 발효액 첨가 사료를 먹인 넙치의 성장률과 폐사율을 측정하였다. 평균 어체중이 다소 떨어지는 결과를 나타냈지만 항생제 사용없이 10% 내외의 폐사율을 보여 질병대항능력이 우수함을 확인하였다.	100

2. 기능성 천연 항생제가 넙치의 생리학적 특성에 미치는 영향

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
항생제 대체재로써 최적의 배합사료 첨가용 천연항생제 스크리닝을 위한 소규모 넙치 사양실험	마늘분말과 액상의 사료 내 첨가가 혈중 콜레스테롤 및 중성지방을 감소시켰다. NBT, MPO 및 lysozyme activity와 같은 면역활성을 증가시켰다.	100

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
저수온기, 적수온기 마늘분말과 적수온기의 마늘액상의 사료 내 첨가효과	마늘분말의 사료내 첨가가 혈중 콜레스테롤 및 중성지방을 감소시켰으며, NBT, MPO 및 lysozyme activity와 같은 면역활성을 증가시켰다.	100
항생제 대체 기능성 배합사료 개발	국내 넙치양식장에서 실질적으로 쉽게 사용할 수 있도록 배합사료 내 마늘 액상을 흡착한 흡착사료를 사용하였다. (마늘 액상 첨가 농도 : 0%, 0.5%, 1%, 2%)	100
마늘 액상 첨가함량이 성장 및 생리학적 특성에 미치는 영향 조사 (사료공급 실험 총 16주)	성장과 사료전환효율, 단백질전환효율 및 생존율에서는 유의적인 차이가 없었으나, 생리학적 특성에서는 간 손상 지표인 AST 수치를 감소시키고 총 단백질 수치 및 중성지방을 증가시켰다.	100
마늘 액상 첨가함량이 비특이적 면역력에 미치는 영향 조사	항산화 효소(CAT, SOD)활성 및 라이소자임의 면역활성을 증가시켰다.	100
마늘 액상 첨가함량에 따른 넙치점액성분의 형상비교 (항균성 측정)	주요 어병세균 3 종류 (<i>Edwardsiella tarda</i> , <i>Vibrio anguillarum</i> , <i>Streptococcus iniae</i>)에 대한 항균성 분석 결과 <i>E. tarda</i> 에서 가장 강한 항균효과를 나타냈다. 그 외의 <i>V. anguillarum</i> 및 <i>S. iniae</i> 에서도 항균성을 나타냈다.	100

3. 기능성 천연 항생제의 항병력 증진 효과 연구

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
마늘을 급이시킨 넙치의 항병력 증진효과	<p>8주간 마늘을 급이시킨 넙치에 주요 어병세균 3종을 감염시켰을 때 농도 의존적으로 누적폐사율이 현저히 감소하는 것을 확인하였다.</p> <p>12주간 마늘을 급이시킨 넙치에 가장 항병력 증진효과가 컸던 병원체 <i>V. anguillarum</i>을 복강주사로 감염시켰을 때 농도 의존적으로 항병력 증진효과를 보이는 것을 확인하였다.</p> <p>어병세균 3종에 대한 공격실험 후의 라이소자임 활성이 시간경과에 따라 어병세균 3종에 대해서 증가하는 경향을 보여 균에 대한 저항성이 높은 것으로 나타났다.</p>	100

4. 친환경 유기양식을 위한 기능성 천연 항생제 현장적용 평가

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
천연 항생제의 현장(양식장) 적용	<p>11개월간 마늘 발효액을 첨가한 넙치의 성장률과 폐사율을 측정한 결과 앞선 실험과 동일하게 넙치의 평균 어체중이 다소 떨어지는 결과를 나타냈고, 3~7개의 태풍 및 급격한 수온변화에도 불구하고 30% 내외의 폐사율을 나타냈다. 또한 넙치의 비특이적 면역활성을 증가시켰다.</p>	100

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
친환경 유기양식에 의한 넙치 생산 매뉴얼 개발	친환경 유기양식에 의한 넙치 생산에서의 문제점 및 대책제시을 제시하고, 친환경 유기양식 넙치를 생산하기위한 매뉴얼을 작성하였다.	100

5. 제주산 비규격 넙치의 생리활성 탐색

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
비규격 넙치 근육 가수분해물 제조	넙치를 섭취하였을 때 우리 몸에 존재하는 장내 효소에 의해 어떠한 작용이 일어나고, 비규격 넙치를 활용하기 위한 방안으로 넙치 근육 가수분해물을 제조하였다. 근육 가수분해물의 최적조건으로 장내효소인 α -chymotrypsin 1000:1, 18시간을 선택하게 되었다.	100
넙치 근육 가수분해물의 생리활성 (항산화 및 항고혈압 활성)	α -chymotrypsin 넙치 근육 가수분해물은 항산화와 항고혈압에 우수한 활성을 나타내었다. 또한 아미노산 분석 결과 가수분해물에 히스티딘 또는 히스티딘과 결합한 펩타이드의 존재로 지질과산화 및 킬레이트 작용이 뛰어나다는 것을 확인할 수 있었다.	100

6. 비규격 넙치를 이용한 넙치 가공품 개발

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
넙치 고품질 성형 어묵제조방법	넙치 고품질 성형 어묵제조 방법을 검토한 결과 수리미에 전분 2.4%, 냉수 4.8% 및 난백 5.0%가 최적조건으로 선택되었다.	100
넙치 고품질 성형 어묵 제조를 위한 가열방법 및 가열시간	넙치 고품질 성형 어묵 제조를 위한 가열방법으로 열탕, 가열시간으로는 30분을 선택하였다.	100
넙치 고품질 성형 어묵과 시판 명태 수리미로 제조한 연제품과의 특성 비교	넙치 고품질 성형 어묵과 시판 명태 수리미로 제조한 연제품과의 특성을 비교하여 겉강도 및 백색도에서 우수하다는 결과를 얻었으며, 특히 단백질 함량이 높은 것을 확인하였다.	100
식해제조를 위한 넙치의 적정 크기 설정	뼈째 식용을 고려하였을 때, 250 g 이하의 어체가 적정 하였다.	100
표면반응분석법을 활용한 식해제조 조건 구명	다른 부원료와 맥아를 3.8% 첨가하고 22.6℃에서 10일간 숙성하는 것이 적절하였다.	100
넙치 식해로부터 유용 젖산균의 분포 및 동정	우량균주로서 <i>Pediococcus pentosaceus</i> 이 분리 동정되었다.	100
젖산균 강화 맥아를 응용한 넙치식해 제조공정의 개발	젖산균 강화 맥아 (50 g <i>Pediococcus pentosaceus</i> /100 g 맥아)와 일반 부원료를 첨가하고 23℃에서 8일간 발효를 하였다.	100

연구 목표	목표대비 결과	목표달성도 (%)
젖산균 강화 맥아를 응용한 넙치식해의 시판식해와 품질비교	시판품에 비하여 젖산균수가 많으면서 영양특성이 우수하고, ACE 저해능이 인지되었다.	100
젖산균 강화 식해를 굴 패각 및 녹차 농축물을 이용하여 대조 식해와 저장 안전성 비교	젖산균 강화 식해 대조구보다 저장성 개선제를 이용한 식해가 shelf-life가 우수하였다.	100

제 2 절 기대효과 및 활용방안

1. 기대효과

가. 기술적 측면

- (1) 친환경 양식기술의 확립
- (2) 항생제를 사용하지 않고 무항생제 양식수산물 생산 기술로의 확대
- (3) 마늘발효액 및 마늘발효분말이 양식수산물 생산에서 천연항생제로 적합성 증명
- (4) 친환경 양식수산물 생산을 위한 배합사료 사용 확대
- (5) 무항생제 양식기법의 현장 적용 매뉴얼 개발 및 품질평가 기준 개발
- (6) 양식넙치를 이용한 가공 제품의 개발
- (7) 항생제 내성균 출현 억제

나. 경제·산업적 측면

- (1) 항생제 구입에 대한 양식장의 비용 절감 효과
- (2) 질병 예방 및 폐사율 감소를 통한 양식장의 생산성 향상
- (3) 친환경 양식수산물 생산을 위하여 선정된 천연항생제로서 마늘을 금이한 넙치에 대한 기능성 브랜드화 개발 및 이를 통한 우수한 제품 경쟁력 확보
- (4) 품질규격화 기준 마련으로 양식넙치 가격 안정화
- (5) 비규격품 넙치를 수산가공산업 원료로 활용함으로써 규격품의 활어용 넙치의 고품질화 및 공급물량 조절에 의한 가격 안정화
- (6) 고품질 넙치의 생산에 의한 고부가가치화

- (7) 양식어민들의 소득수준 향상
- (8) 면역증진 및 항균효과에 뛰어난 마늘발효액을 이용한 기능성 사료첨가제를 개발함으로써 침체된 제주 양식 산업에 이바지
- (9) 제주지역에서 새로운 양식넙치 가공산업화 육성
- (10) 100% 수입 의존의 명태연제품을 넙치 연제품화 하여 수입대체 효과

다. 사회·문화적 측면

- (1) 소비자 요구에 부응하는 친환경적 양식수산물 보급
- (2) 무항생제 양식수산물 생산에 따른 수산물 먹거리에 대한 소비자의 심리적 불안감 경감
- (3) 항생제 사용을 억제하여 수산물에 대한 소비자의 신뢰 회복 및 소비 촉진
- (4) 양식넙치의 품질평가 기준의 제공으로 양식넙치의 고품질화
- (5) 제주지역 내 고차수산가공산업 활성화
- (6) 국내산의 제주 넙치육을 활용한 새로운 수산가공 식품 제공

2. 활용방안

- (1) 양식넙치 생산에 있어서 친환경 유기양식 가능성 홍보 및 기술 매뉴얼 보급
- (2) 친환경 유기양식 기술에 의하여 소비자 중심의 무항생제 넙치 생산 필요성 홍보 및 생산
- (3) 천연항생제로서의 마늘의 효과 입증 후, 넙치 양식장에 사용 기술 홍보
- (4) 품질등급의 기준안을 마련하여 양식넙치의 등급화를 통한 가공산업 발전 기여
- (5) 기존의 항생제를 대체할 수 있는 천연 항생제 관련 특허출원
- (6) 수산가공기술은 관련 수산가공 산업체에 기술이전하여 산업화
- (7) 향후, 천연물질 (마늘) 급이 넙치의 브랜드화 유도
- (8) 넙치 품질평가 기법 개발의 경우 실험실내의 결과와 현장에서의 결과를 비교 검토함으로써 현장에서의 적용 가능성을 제시
- (9) 저상품성 양식 넙치의 활용 방안 제시 및 양식 넙치의 물량 조절에 의한 가격 안정화
- (10) 넙치 외 양식어종에 대해서도 추가 적용 연구
- (11) 양식넙치 가공산업의 육성에 의한 고용증진 효과

제 4 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

1. 논문게재 성과

게재 연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분	SCI구분
		주저자	교신 저자	공동저자				
	저수온기 납치 치어에 있어서 발효 마늘분말의 사료내 첨가가 면역반응, 혈액성분 및 주요 어병세균에 대한 질병저항성에 미치는 영향	김성삼	이경준	송진우, 임세진, 정준범, 전유진, 여인규	한국 동물자원 과학회지	52권	국내	
2010	양식지역의 차이에 따른 비규격 납치 수리미의 품질 특성	허민수	김진수	신준호, 박권현, 전유진, 여인규, 정준범, 이경준,	한국수산 과학회지	43권	국내	
2010	수리미 소재로서 어체종양이 다른 납치의 품질 특성 비교	허민수	김진수	신준호, 박권현, 전유진, 여인규, 정준범, 이경준	한국수산 과학회지	43권	국내	
2010	수리미 소재로서 어획시기가 다른 비규격 납치의 품질 특성 비교	허민수	김진수	신준호, 박권현, 전유진, 여인규, 정준범, 이경준	한국수산 과학회지		국내	
2011	생산시기가 비규격 납치 (<i>Paralichthys olivaceus</i>) 연제품의 품질에 미치는 영향	신준호	김진수	박권현, 이지선, 김형준, 허민수, 전유진	한국수산 과학회지	44권	국내	
2011	RSM을 이용한 비규격 제주산 양식 납치 (<i>Parachthys olivaceus</i>)로부터 연제품의 가공 조건 최적화	신준호	김진수	박권현, 이지선, 김형준, 이동호, 허민수, 전유진	한국수산 과학회지	44권	국내	

2. 학술발표

계재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자			
2010학술 발표	반응표면분석법을 이용한 고품질 납치 연제품의 제조 및 품질 특성	허민수		신준호, 박권현, 전유진, 여인규, 정준범, 이경준, 김진수	한국식품과학회 학술발표	2010.06.17	국내
2010학술 발표	저상품질 비규격 납치로부터 고품질 surimi 제조 및 품질 특성	허민수		신준호, 박권현, 전유진, 여인규, 정준범, 이경준, 김진수	한국식품과학회 학술발표	2010.06.17	국내
2010학술 발표	양식지역의 차이에 따른 비규격 납치 수리미의 품질 특성	허민수		신준호, 박권현, 전유진, 여인규, 정준범, 이경준, 김진수	한국식품영양과학회 학술대회	2010.10.28	국내
2010학술 발표	수리미 소재로서 어체중량이 다른 납치의 품질 특성 비교	허민수		신준호, 박권현, 전유진, 여인규, 정준범, 이경준, 김진수	한국식품영양과학회 학술대회	2010.10.28	국내
2010학술 발표	수리미 소재로서 어획시기가 다른 비규격 납치의 품질 특성 비교	허민수		신준호, 박권현, 전유진, 여인규, 정준범, 이경준, 김진수	한국식품영양과학회 학술대회	2010.10.28	국내
2011학술 발표	High quality and friendly environmental organic aquacultural flounder fish production by fermented Garlic solution feed additive material	고주영		이지혁, 이경준, 여인규, 정준범, 전유진	한국어병학회 학술대회	2011.05.27	국내
2011학술 발표	Production of Eco-Friendly Organic Flounder Fish Using a Fermented Garlic Solution as an Additive Agents	전유진			유기수산국제학회	2011.09.26	국내
2011학술 발표	시판 식혜의 식품성분 및 위생적 특성	이지선		박권현, 신준호, 노윤이, 김현정, 허민수, 김진수	한국식품영양과학회 학술대회	2011.11.2	국내

계재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자			
2011학술 발표	시판 식해의 건강 기능적 특성	이지선		박권현, 신준호, 노윤이, 김민지, 김기현, 김진수, 허민수	한국식품영양과학회 학술대회	2011. 11. 2	국내
2011학술 발표	Production of Eco-Friendly Organic Flounder Fish Using Fermented Garlic Solution as an Additive Agents	고주영		이지혁, 오재영, 고창익, 이경준, 여인규, 정준범, 전유진	한국수산과학 총연합회 공동학술대회	2011. 11. 18	국내
2011학술 발표	Enhanced antioxidant activity of gastro-intestine enzymatic hydrolysates from olive flounder (Paralichthys olivaceus) fed with auto-fermented garlic solution	이지혁		고주영, 오재영, 고창익, 차선희, 전유진	한국수산과학 총연합회 공동학술대회	2011. 11. 18	국내

3. 특허성과

출원된 특허의 경우					등록된 특허의 경우				
출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호	등록연도	특허명	등록인	등록국	등록번호
2010. 06. 15	넙치수리미, 이의 제조방법, 이를 포함하는 넙치 연제품의 제조방법 및 이로부터 제조된 넙치 연제품	제주대학교/경상대학교 산학협력단	대한민국	10-2010-0056692					

- 넙치 수리미 제조 방법 및 관련제품의 개발에 관한 특허출원 1건
- 비규격 넙치를 이용한 넙치 식해의 개발-출원 예정

4. 석사학위 논문 2명 배출

성명	학위논문 제목
신준호	비규격 양식산 넙치를 활용한 고품질 수리미와 연제품의 개발 및 특성
이지선	비규격 넙치를 이용한 기능성 식해의 개발 및 특성

제 2 절 성과활용 계획

1. 양식넙치 생산에 있어서 친환경 유기양식 가능성 홍보 및 기술 매뉴얼 보급
2. 기존의 항생제를 대체할 수 있는 천연 항생제 관련 특허출원
3. 천연물질 (마늘) 급이 넙치의 브랜드화 유도
4. 넙치 품질평가 기법 개발의 경우 실험실내의 결과와 현장에서의 결과를 비교 검토함으로써 현장에서의 적용 가능성을 제시
5. 비규격품 넙치의 수산가공산업으로의 적극 활용
6. 넙치 외 양식어종에 대해서도 추가 적용 연구
7. 양식넙치를 이용한 가공 제품의 개발
8. 비규격품 넙치를 수산가공산업 원료로 활용함으로써 규격품의 활어용 넙치의 고품질화 및 공급물량 조절에 의한 가격 안정화
9. 제주지역에서 새로운 양식넙치 가공산업의 육성
10. 100% 수입 의존의 명태 수리미를 넙치 수리미화 하여 수입대체 효과
11. 전통수산발효식품의 (넙치식해)개발에 의한 제주 수산가공산업의 활성화
12. 제주지역 내 고차수산가공산업 활성화
13. 국내산의 제주넙치육을 활용한 새로운 수산가공 식품 (수리미, 연제품 및 식해) 제공

제 5 장 참고문헌

1. Jang MS, Kang YJ, Kim KW, Kim KD, Lee HM and Heo SB. 2009. Quality characteristics of cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed with extruded pellet: 1. Comparison of fatty acid and amino acid contents. Korean J Food Sci Technol 41, 42-49.
2. Park YH, Kim SB and Chang DS. 1995. Seafood Processing. Hyungsul Publishing Ltd., p 73-114, 791-838.
3. You SG. 2003. Fundamental Aquaculture. Gudeck Publishing Co., Busan. p 101-113.
4. Cha SH, Jo MR, Lee JS, Lee JH, Ko JY and Jeon YJ. 2009. Preparation and texture characterization of surimi gel using a unmarketable rearing olive flounder. J Kor Fish Soc 42, 109-115.
5. Heu MS, Shin JH, Park KH, Lee JS, Noe YN, Jeon YJ and Kim JS. 2010. Quality of surimi from unmarketable bastard halibut as affected by the region where cultured. Kor J Fish Aquat Sci 43, 598-605.
6. Heu MS, Shin JH, Park KH, Lee JS, Noe YN, Jeon YJ and Kim JS. 2011. Quality of bastard halibut with different weights as a surimi source. Kor J Fish Aquat Sci 44, 18-14.
7. Shin JH, Park KH, Lee JS, Kim HJ, Heu MS, Jeon YJ and Kim JS. 2011. Quality of bastard halibut surimi gel as affected by harvested time of unmarketable cultured bastard halibut *Paralichthys olivaceus*. Kor J Fish Aquat Sci 44, 191-196.
8. Shin JH, Park KH, Lee JS, Kim HJ, Lee DH, Heu MS, Jeon YJ and Kim JS. 2011. Processing optimization of surimi gel from unmarketable cultured bastard halibut using RSM. Kor J Fish Aquat Sci 44, in press.
9. Lee HD, Choi HJ, Kim S, Seung TS and Chong C. 2001. Identification of lactic acid bacteria and changes of organic acid during aging of traditional Kyungsangdo squid *Sikke*, J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 44, 167-172.
10. Naver. 2011.
<http://terms.naver.com/entry.nhn?docId=294943>

11. Kim HO and Rhee HS. 1975. Studies on the nonvolatile organic acids in *Kimchi* fermented at different temperatures. Korean J Food Sci Technol 7, 74-81.
12. Ryu JY, Lee HS, and Rhee HS. 1984. Changes of organic acids and volatile flavor compounds in *Kimchi* fermented with different ingredients. Korean J Food Sci Technol 16, 2-169-174
13. Lee SG, Han KS, Jeong SG, Oh MH, Jang A, Kim DH, Bae IH, and Ham JS. 1991. A Study on the sensory characteristic of yogurt and antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* LHC52 isolated from *Kimchi*. Korean J Food Sci Ani Resour 30, 328-335.
14. Song HJ and Park YH. 1992. Effect of lactic acid bacteria on the growth of yeast from *Mul-kimchi*. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 20, 219-224.
15. Kim KP, Rhee CH and Park HD. 2001. Isolation and characterization of cholesterol degradation bacteria from Korea traditional salt fermented flatfish. Korean J Postharvest Sci Technol 8, 92-101.
16. Choi C, Lee HD, Choi HJ, Son JH, Kim S, Son GM and Cha WS. 2001. Functional and volatile flavour compounds in traditional Kyungsangdo squid *Sikhe*. Korean J Food Sci Technol 33, 345-352.
17. Cha YJ, Lee CE, Jeong EK, Kim H and Lee JS. 2002. Physiological functionalities of traditional Alaska pollack *sik-hae*. J Korean Soc Food Sci Nutr 31, 559-565.
18. Chang SK. 2007. Fermentation properties and *In vitro* anticancer effect of *Kimchi* prepared with potato. Korean J Food Cookery Sci 23, 227-234.
19. Koo JG, Yoo JH, Park KS and Kim SY. 2009. Biochemical and microbiological changes of hard clam *shikhae* during fermentation. Kor J Fish Aquat Sci 42, 569-573.
20. Kang SM, Yang WS, Kim YC, Jung EY and Han YG. 1995. Strain improvement of *Leuconosyoc mesenteroides* for *Kimchi* fermentation and effect of starter. Kor J Microbiol biotechnol 23, 461-471.
21. Lee YJ, Choi JY, Lee HJ, Jang HC, Kim JH, Chung DK, Kim JS, Kim SM and Lee JH. 2002. Identification of the cell-envelope proteinase of lactic acid bacteria isolated from *Kimchi*. Kor J Microbiol biotechnol 30, 116-122.
22. Tumerman L, Farm H and Conely KW. 1954. The effect of lactose crystallization on

protein stability in frozen concentrated milk. J Dairy Sci 37, 830-837.

23. So MH, Shin MY and Kim YB. 1996. Effects of psychrotrophic lactic acid bacteria starter on *kimchi* fermentation. Korean J Food Sci Technol 28, 806-813.

24. Niku-Paavola ML, Laitila A, Mattila-Sandholm T and Haikara A. 1999. New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. J Appl Microbiol 86, 29-35.

25. Gilliland SE. 1989. Acidophilus milk products: A review of potential benefits to consumers. J Dairy Sci 72, 2483-2494

26. Rhee CH and Park H D. 1999. Isolation and characterization of lactic acid bacteria producing anti-mutagenic substance from Korean *kimchi*. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 27, 15-22.

27. Kirjavainen PV, Ouwehand AC, Isolauri E and Salminen SJ. 1998. The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus. FEMS Microbiology Letter 167, 185-189.

28. Linehan LG, O'Connor TP and Burnell G. 1999. Seasonal variation in chemical composition and fatty acid profile of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Food Chem 64, 211-214.

29. Hosoi M, Kubota S, Toyohara M, Toyohara H and Hayashi I. 2003. Effect of salinity change on free amino acid content in Pacific oyster. Fisheries Sci 69, 395-400.

30. Kim CY, Pyeun JH and Nam JN. 1981. Decomposition of glycogen and protein in pickled oyster during fermentation with salt. J Korean fish Soc 14, 66-71.

31. Sakaguchi M and Murat M. 1989. Seasonal variations of free amino acids on oyster whole body and adductor muscle. Nippon suisan Gakkaishi 55, 2037-2041.

32. Cho ML, Heu MS and Kim JS. 2001. Food component characteristics of cuttle bone as a mineral source. J Korean Fish Soc 34, 478-482.

33. Park JW. 2000. Surimi and Surimi Seafood. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, USA, p 343-391.

34. Kim JS, Cho ML, Heu MS, Cho TJ, An HJ and Cha YJ. 2003. Solubility improvement of

cuttle bone powder using organic acids. J Korean Fish Soc 36, 11-17.

35. Kim JS, Cho ML, Heu MS. 2003. Quality improvement of Korean pickled cucumber using cuttle bone powder treated with acetic acid. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 46, 94-100.

36. Yoo UH, Kang ST, Choe DJ, Nam KH, Roh TH and Oh KS. 2007. Processings and quality characteristics of the high quality boiled-dried anchovy with green tea extract. Journal of Agriculture & Life Science 4, 30-40.

37. Kim MJ and Lee SJ. 1994. Effect of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium in rat. J Korean Soc Food Nutr 23, 784-791.

38. Wanasundara U and Shahidi F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. Food Chem 63, 335-342.

39. Tang SZ, Kerry JP, Sheehan D and Buckley DJ. 2002. Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. Food Chem 76, 45-51.

40. Shin MK and Shin YS. 1995. Antimicrobial effect of extract of green tea against *pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus brevis* isolated from *Kimchi*. J Soc Dietary life 5, 309-315.

41. Kyung CW, Park JH, Kim SH, Lee DY and Lee YC. 1999. Antitumor effect of green tea catechin on different cancer cells. Korean Association of Anatomists 32, 838-843.

42. Kim SM, Jeong IH and CHO YJ. 1994. The effect of fermentation temperatures and periods in Kang-nung district. 1. The effect of Fermentation temperatures and periods in Kang-nang district. Kor Fish Soc 27, 215-222.

43. Kim SM, Cho YJ and Lee KT. 1994. The development of squid(*Todarodes pacificus*) sik-hae in kang-nung district. 2. The effect of fermentation temperatures and periods on chemical and microbial changes and the partial purification of protease. Kor Fish Soc 27, 223-231.

44. Kim SM, Bank OD and Lee KT. 1994. The development of squid(*Todarodes pacificus*) sik-hae in kang-nung district. 3. The effect of garlic concentrations on the properties of *sik-hae*. Kor Fish Soc 27, 357-365.

45. Kim SM, Bank OD and Lee KT. 1994. The development of squid(*Todarodes pacificus*)

sik-hae in kang-nung district. 4. The effect of red pepper and grain contents on the properties of squid *sik-hae*. Kor Fish Soc 27, 366-372.

46. Kim YS, Oh SH and Kim SD. 2008. Effect of preparation method and fermentation conditions on microbiological characteristics of *sikhae*. Korea J Food Preserv 15, 909-914.

47. Choi C, Lee HD and Choi HJ. 2001. A study on quality characteristics and establishment of fermentation process for traditional Kyungsangdo squid *sikhae*. Korean J Dietary Culture 16, 118-127.

48. Jung HS, Lee SH and Woo KL. 1992. Effect of salting levels on the changes of taste constituents of domestic fermented flounder *sikhae* of Hamkyeng-do. Korea J Food Sci Technol 24, 59-64.

49. Cha BS, Kim WJ, Byun MW, KWon JH and Cho HO. 1989. Evaluation of gamma irradiation for extending the shelf life of *kimchi*. Korea J Food Sci Technol 21, 109-119.

50. Pyun YR, Pyun, Shin SK, Kim JB and Cho EK. 1983. Studies on the Heat Penetration and Pasteurization Conditions of Retort Pouch *Kimchi*. J Korean Soc. Food Sci 15, 414-420.

51. Kim SD. 1985. Effect of pH adjuster on the fermentation of *Kimchi*. J Korean Soc Food Sci Nutr 14, 259-264.

52. Choi YM, Whang JH, Kim JM and Suh HJ. 2006. The effect of oyster shell powder on the extension of the shelf-life of *Kimchi*. Food Control 17, 695-699.

53. Roh HJ, Shin YS, Lee KS and Shin MK. 1996. Antimicrobial activity of water extract of green tea against cooked rice putrefactive microorganism. Korea J Food Sci Technol 28, 66-71.

54. Miyao S and Ogawa T. 1988. Seletive media for enumerating lactic acid bacteria grouts from fermented pickles. Nippon Shokkaish 35, 610-617.

55. John GH, Noel RK Peter HSS, James TS and Stanely TW. 1994. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 9th ed.

56. Kobayashi Y, Tohyama K and Terashima T. 1974. Tolerance of the multiple antibiotic resistant strain, *L. casei* PSR3002, to artificial digestive fluids. Jan J Microbial 29,

691-697.

57. Christiaens H, Leer RJ, Pouwels PH and Verstraete W. 1992. Cloning and expression of a conjugated bile acid hydrolase gene from *Lactobacillus plantarum* by using a direct plate assay. *Appl Environ Microbiol* 58, 3792-3798.

58. Lee JH and Yu TS. 2000. Identification and characteristics of lactic acid bacteria isolated from *Nuruk*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 15, 359-365.

59. AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC., USA, p 69-74.

60. KFDA (Korea Food and Drug Administration). 2010. 2010 Food code. vol II. KFDA, Seoul, p 10-6, 8-13.

61. Tsutagawa Y, Hosogai Y and Kawai H. 1994. Comparison of mineral and phosphorus contents of muscle and bone in the wild and cultured horse mackerel. *J Food Hyg Soc Japan* 34, 315-318.

62. Ministry of Social Welfare of Japan. 1960. *Guide to Experiment of Sanitary Infection*. III. Volatile basic nitrogen. Kenpakusha, Tokyo Japan, p 30-32.

63. Lee HJ and Oh SD. 2002. Properties changes of Korea turnip dongchimi inoculated with *Leuconostoc citreum* IH22 during fermentation. *Korea J Food Nutr* 15, 70-76.

64. Bligh EG and Dyer WJ. 1959. A rapid method of lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37, 911-917.

65. AOCS. 1990. AOCS official method Ce 1b-89. In *Official methods and recommended practice of the AOCS*, 4th ed., AOCS, Champaign, IL, USA.

66. Kato H, Rhue MR and Nishimura T. 1989. Role of free amino acids and peptides in food taste. In *Flavor Chemistry: Trends and developments*. 편집자, eds. American Chemical Society, Washington, DC., USA, p 158-174.

67. Cha YJ, Kim H, Jang SM and Park JY. 1999. Identification of aroma-active compounds in Korean salt-fermented fishes by aroma extract dilution analysis. 1. Aroma active compounds in salt-fermented anchovy on the market. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28, 312-318.

68. Chang MS, Cho SD, Bae DH and Kim GH. 2010. Safety and quality assessment of *Kimchi* made using various salts. Korean J Food Sci Technol 42, 169-164.
69. KOAC. 1997. Korea Official Method of Analysis. Ministry of Health and Welfare. Korea.
70. Schleif RF and Wensink PC. 1981. Practical Methods in Molecular Biology. New York. Springer-Verlag. p74.
71. Anson ML. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. J Physiol 22, 79-89.
72. Horiuchi M, Fujimura KI, Terashima T and Iso T. 1982. Method for determination of angiotensin converting enzyme activity in blood and tissue by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr 233, 123-130.
73. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by use a stable free radical. Nature 26, 1198-1204.
74. Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H and Niki R. 1997. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). Biosci Biotechnol Biochem 61, 177-178.
75. Strip F and Corte ED. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. J Biol Chem 244, 3855-3859
76. Kim SI, Kim IC and Chang HC. 1999. Isolation and identification of antimicrobial agent producing microorganisms and sensitive strain from soil. J Kor Soc Food Sci Nutr 28, 526-533.
77. Dodds KL, and Collins-Thompson DL. 1984. Incidence of nitrite-depletion lactic acid bacteria in cured meats and in meat starter cultures. J Food Prot 47, 7-10.
78. Gray JI and Dugan JLR. 1975. Inhibition of N-nitrosoamine formation in model food system. J Food Sci 40, 981-985.
79. Assoumani MB. 1998. Physical-chemical properties of calcium source. Agro-Food-Industry Hi-Tech 9, 33-35.
80. Kim JH, Ahn HJ, Kim JO, Ryu GH, Yook HS, Lee YN and Byun MW. 2000. Sanitation and

quality improvement of salted and fermented anchovy sauce by gamma irradiation. J Korean Soc Food Sci Nutr 29, 1035-1041.

81. Heu MS, Kim HR and Pyeun JH. 1995. Comparison of trypsin and chymotrypsin from the viscera of anchovy, *Engraulis japonica*, Com Biochem Physiol 112B, 557-567.

82. Hamada M and Kumagai H. 1988. Chemical composition of sardine scale. Nippon Suisan Gakkaishi 54, 1987-1992.

83. Kim JS, Yang SK and Heu MS. 2000. Component characteristics of cooking tuna bone as a food resource. J Korean Fish Soc 33, 38-42.

84. Cha YJ, Kim SJ, Jeong EJ, Kim H and Cho WJ. 2004. Microbiological and enzymatic characteristics in Alaska pollock sikhae during fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr 33, 1709-1714.

85. Cha YJ, Kim SJ, Jeong EJ, Kim H, Cho WJ and Yoo MY. 2004. Studies on taste compounds in Alaska pollock sikhae during fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr 33, 1515-1521.

86. Lee CH, Cho TS, Lim MH, Kang JW and Yang HC. 1983. Studies on the sik-hae fermentation made by flat-fish. Kor J appl Microbiol Bioeng 11, 53-58.

87. Lee BJ. 2011. Effect of GABA-enriched Fermented Sea Tangle, *Laminaria japonica*, on the Alcoholic Hepatotoxicity. MS thesis. Gyeongsang National University Tongyeong Korea.

88. Yoon MS. 2010. Preparation of functional salted mackerel with high antioxidative activity using enzymatic hydrolysates of *Ecklonia cava* and its characterization. MS Thesis. Gyeongsang National University, Jinju, Korea.

89. Im YS, Park HY, Choi YJ and Cho YJ. 2001. Difference of component changes in salt-fermented spring and autumn anchovy, *Engraulis japonicus* sauce during fermentation. J Korean Fish Soc 34, 7-12.

90. Lee JH, Ji CI, Park DC, Gu YS, Park JH, Park YH and Kim SB. 1999. Isolation of taurine from cooking waste of anchovy factory ship. Korean J Food Sci Technol 31, 1120-1123.

91. Phend KD, Weinberg RJ and Rustioni A. 1992. Techniques to optimize postembedding single and double staining for amino acid neurotransmitters. J Histochem 40,

1011-1020.

92. Kato H, Rhue MR and Nishimura T. 1989. Role of the free amino acids and peptides in food taste: Trends and developments. In Flavor Chemistry. Teranishi R, Buttery RG, Shahidi F, eds. American Chemical Society, Washington, DC. p 158-174.

93. Cha YJ, Kim SJ, Jeong EJ, Kim H, Cho WJ and Yoo MY. 2004. Studies on taste compounds in Alasks pollock sikhae during fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr 33, 1515-1521.

94. Hayashi T, Yamaguchi K and Konosu S. 1981. Sensory analysis of taste-active compounds in the extract of boiled snow crab meat. J Food Sci 46, 479-483.

95. Yoon MS, Heu MS and Kim JS. 2010. Fatty acid composition, total amino acid and mineral contents of commercial Kwamegi. Kor J Fish Aquat Sci 43, 100-108.

96. Mok JS, Lee DS and Yoon HD. 2008. Mineral content and nutrional evaluation of fishes from the Korean coast. J Kor Fish Soc 41, 315-323.

97. Recommended Dietary Allowances for Koreans. The Korean Nutrition Society, Seoul, p157-218.

98. Kim JS, Kim HS and Heu MS. 2006. Introductory Foods. Hyoil Publishing Co., Seoul, p45-48.

99. Yoshimura M, Takahashi H and Nakanishi T. 1991. Role of sodium, potassium, calcium, magnesium on blood pressure regulation and antihypertensive dietary therapy. Japan J Nutr 49, 53-62.

100. Ariyoshi Y. 1993. Angiotensin converting enzyme inhibitors derived from food proteins. Trends Food Sci Technol 4, 139-144.

101. Kim SK, Byun HG, Park PJ, and Shahidi F. 2001. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. J Agric Food Chem 49, 2992-2997.

102. Saxena PR. 1992. Interaction between the renin-angiotensin aldosterone and sympathetic nervous system. J Cardiovascular Phamacology 19, S80

103. Hammond B, Kontos A and Hess ML. 1985. Oxygen radicals in the adult respiratory

distress syndrome, in myocardial ischemia and reperfusion injury, and in cerebral vascular damage. *Can J Physiol Pharmacol* 63, 173-187.

104. Oliver CN, Ahn B, Wittenberger ME and Stadtman ER 1985. Cellular regulation and malignant growth. Springer-Verlag. 320-331.

105. Yook C, Whang YH, Pek UH and Park KW. Preparation of sikhae with starch hydrolyzing enzymes/meat mixture. *Korean J Food Sci Technol* 22, 296-299.

106. Cha SH, Kim MJ, Yang HY, Jin CB, Oda TO and Kim DK. 2010. ACE, aglucosidase and cancer cell growth inhibitory activities of extracts and fractions from marine microalgae, *Nannochloropsis oculata*. *Kor J Fish Aquat Sci* 43(5), 437-444.

107. Choi HJ, Kang JS, Choi YW, Jeong YK and Joo WH. 2008. Inhibitory activity on the diabetes related enzymes of *tragonia tetragonioides*. *Kor J Biotechnol Bioeng* 23, 419-424.

108. Del Prato S, Bianchi C and marchetti P. 2007. Beta-cell function and anti-diabetic pharmacotherapy. *diabetes Metab Res Rev* 23, 518-527.

109. Van de Laar FA, Lucassen PL, Akkermans RP, Van de Lisdonk EH and De Grauw WJ. 2009. Alpha-glucosidase inhibitors for pepple withimpaired glucose tolerance or impaired fasting blood glucose. *Cochrane Detabase Sys Rev* 18, CD005061.

110. Tsujimoto T, Shioyama E, Moriya K, Kawaratani H, Shirai Y, Toyohara M, Mitoro A, Yamao J, Fujii H and Fukui H. 2008. Pneumatosis cystoides intestinalis following alpha-glucosidase inhibitor treatment: a case report and review of the literature. *World J Gastroenterol* 14, 6087-6092.

111. Zanaabaatar B, Song JH, Seo GS, Noh HJ, Yoo YB and Lee JS. 2010. Screening of anti-gout xanthine oxidase inhibitor from mushrooms. *Kor J mycol* 38, 85-87.

112. Kang DG, Kang SP, Chang DH, Kim SH and Yoon SS. 2001. Isolation and characterization of *Lactobacillus* strains isolated from Korean feces. *Korean J Food Sci Technol* 33, 567-573.

113. Nakamura S, Kato A, Kobayashi K. 1991. New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. *J Agric Food Chem* 39, 647-650.

114. Kurechi T and Kikugawa K. 1979. Nitrite lipid reaction in aqueous system:

inhibitory effects on n-nitrosamine formation. *J food Sci* 44, 1263-1266.

115. Park DC, Park JH, Gu YS, Han JH, Byun DS, Kim EM, Kim YM and Kim SB. 2002. Effect of salted-fermented fish products and their alternatives on nitrite scavenging activity of Kimchi during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 32, 942-948.

116. Heu MS and Ahn SH. 1999. Development and fractionation of proteolytic enzymes from an inedible seafood product distribution and fractionation of proteolytic enzymes. *Kor J Fish Aquat Sci* 32(4), 458-465.

117. Nagai T and Suzuki N. 2000. Preparation and characterization of several fish bone collagens. *J Food Biochem.* 24:427-436.

118. Kim JS Choi JD and Koo JG. 1998. Component characteristics of fish bone as a food source. *Korean Soc. Agric. Chem. and Biotechnol.* 41(1), 67-72.

119. Lee JG and Choe WK. 1974. Studies on variation of microflora during the fermentation of anchovy, *Engraulis japonica*. *Bull. Korean fish. Soc* 7(3), 105-114.

120. Lee YK, Park BH, N HK and Kim SD. 2005. Effect of chitosan-ascorbate and calcium lactate on the fermentation and quality characteristics of squid *sikhae*. *J East Asian Soc Dietary Life* 15(5), 598-605.

121. Souane M, Kim YB and Lee CH. 1987. Microbial characterization of gajami sik-hae fermentation. *Kor J Appl Microbiol Bioeng* 15(3), 150-157.

122. Shin JY, Yang SY and Song MD. 2002. Isolation and identification of lactic acid bacteria for direct-fed microbials. *Kon-Kok journal of natural science and technology* 13(2), 37-43.

123. Pack CD, Jung HK, Park HH and Hong JH. 2007. Identification and fermentation characteristics of lactic acid bacteria isolated from *Hahyangju nuruk*. *Korea J Food Preserv* 14(2), 188-193.

124. Speck ML. 1976. Interactions among lactobacillus and man. *J dairy Sci* 59, 336-343.

125. Lim SD, Kim KS, Do JR. 2008. Physiological Characteristics and ACE Inhibitory Activity of *Lactobacillus zeae* RMK354 Isolated from Raw Milk. *Korean J Food Sci Ani Resour* 28(5) 587-595.

126. Matsumura N, Fujii M, Takeda Y and Shimizu T. 1993. Isolation and characterization of angiotensin- I converting enzyme inhibitory peptides derived from bonito bowels. *Biosci Biotech Biochem* 57, 922-925
127. Smacchi E and Gubbenti M 2000. Bioactive peptides in dairy products: synthesis and interaction with proteolytic enzymes. *Food Microbiology* 17, 129-141.
128. Moon YG, Yeo YG, Heu MS. 2007. Growth and antioxidant activity on lactic acid bacteria and antimicrobial activity on fish pathogenic bacteria by *Prunella vulgaris var aleutica Fernald* extracts. *J Life Sci* 17, 1547-1554.
129. Ito N, Fukushima S and Hasebawa A. 1983. Cacinogenicity of BHA in F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 70, 343-352.
130. Jeong JK, Zheng Y, Choi HS, Hang GJ and Park KY. 2010. Catabolic enzyme activities and physiological functionalities of lactic acid bacteria isolated from korea traditional *meju*. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 39(12), 1854-1859.
131. Cha SD, Kim TW, Lee DH. 2010. Isolation and identification of lactobacillus plantarum CIB001 with bile salt deconjugation activity from kimchi. *Korean J Microbiol Biotechnol* 38, 222-262.
132. Lee SH, Seong SK, Kim SM, Choi WJ. 2001. Physiological characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi to select starter of fermented sausage. *J Anim Sci & Technol* 43, 393-400.
133. Chung SY, Kim NK and Yoon S. 1999. Nitrite scavenging effect of methanol fraction obtained from green yellow vegetable juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28, 342-347.
134. Poter FS. 1975. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitrosocompounds. *J Sci Food Agric* 26, 1761.
135. Dodds KL and Collins-Thomson DL. 1984. Incidence of nitrite-depletion lactic acid bacteria in cured meats and in meat starter cultures. *J Food Prot* 47, 7.
136. Speck ML. 1979. Reduction of nitrite and nitrate in food by lactic acid bacteria. 1st Biennial Marshall International Cheese Conference. Madison Wisconsin.