

발간등록번호

11-1541000-001258-01

해조 정유(essence oil)의 수산가공품 고품질화
첨가제로서의 응용 및 기능성소재 제품화
(Production of seaweed essence oil and its applications
as functional materials and food additive)

강릉원주대학교

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “해조 정유(essence oil)의 수산가공품 고품질화 첨가제로서의 응용 및 기능성소재제품화에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2012 년 1 월 13 일

주관연구기관명 : 강릉원주대학교

주관연구책임자 : 조 순 영

연 구 원 : 나 경 민

연 구 원 : 윤 민 경

연 구 원 : 권 수 현

연 구 원 : 최 성 미

연 구 원 : 이 승 주

연 구 원 : 최 혜 진

연 구 원 : 한 대 원

연 구 원 : 김 소 라

협동연구기관명 : 강릉시 수산업협동조합

협동연구책임자 : 홍 승 기

협동연구기관명 : 해송바이오산업(주)

협동연구책임자 : 최 응 순

요 약 문

I. 제 목

해조 정유(essence oil)의 수산가공품 고품질화 첨가제로서의 응용 및 기능성소재제품화

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

해조의 기능성 발현의 핵심 성분인 정유를 산업적 응용가능한 단가로 제조하여 여러 유용 기능성들(항균성, 항충치성, 항산화성, 항성인병 등)을 확인 검증함과 동시에 항산화·항균성을 활용한 지역수산가공품 고품질화 및 상용화

2. 연구개발의 필요성

가. 기술적 측면

- 기존 해조중의 기능성성분 추출법은 CH_2Cl_2 , CHCl_3 , MeOH 등 맹독성 유기용매를 써야하고 시간도 매우 오래 걸려 무공해 고효율적인 생리활성물질 추출법을 확립해야만 산업화 가능함
- 항균·항산화식품첨가제는 아직 지방상태로 유통되는 경우 많아 유화시킨뒤 사용해야 하므로 사용에 제약이 있거나 사용시 제품에 잘 섞이지 않아 항산화성 발현이 잘 되지않는 단점 있음

- 이 문제점 해결을 위해 유화제로 유화시키나 이는 인공유화제 사용으로 천연항균·항산화제의 의미를 퇴색시키는 문제점 있음
- 그 외 다른 항동맥경화증, 항고혈압성, 항비만성 기능성 소재들도 지용성인 경우가 많아 본 과제의 해조 정유는 수증기와 섞여있는 지방성분이어서 범용적으로 기능활성을 떨어뜨리지 않고 사용 극대화 가능

나. 경제·산업적 측면

- 적색어류 가공품화시 이제 소비자도 흰색만을 고집하지 않으므로 약간 붉거나 검은기가 있어도 상관없으나 산패취나 비린내가 조금이라도 있으면 상품화 곤란함
- 적색어류만이 우리나라에서 자급자족 가능성 높은 어종이므로 산패취가 없는 고품질의 수산가공 기술개발이 필요하고 그 해결책이 강력한 천연항산화제·천연방부제의 개발임
- 본 과제로 이문제 해결가능하나 아직 국내외적으로 해조정유를 어패류 가공제품에 이용된 사례없음
- 일본의 식품산업시장 550조원인데 비해 한국의 식품산업시장은 49조원에 지나지 않은 이유는 지역특산식품가공품의 미활성화에 있으므로 본 과제로 지역수산물가공품 개발 시도하여 한국의 식품산업의 획기적 발전 도모코자 함

다. 사회·문화적 측면(공공성 포함)

- 도시인이 수시로 바닷가를 가는 느낌을 주는 해조정유 제품(바다냄새가 바로 해조 정유 냄새임)을 개발 제공함으로써 도시인들로 하여금 안정한, 평정한 마음으로 되찾게 할 수 있음
- 결과적으로 스트레스가 완화되면서 질병 발생율을 사회 전체적으로 저감시킬 수 있음
- 이 소재로 부작용 거의 없는 항정신성 약으로의 개발도 가능하여 국민건강에도 크게 이바지 가능하여 중국에는 보건의료비 지출의 획기적 감소 가능

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 고수율로 고기능성의 해조 정유제조

- 미역, 다시마, 톳, 김 등 대중적인 해조 원료 사용하여 정유 추출제조
- 진공동결건조 마쇄후 알콜로 추출하거나 수증기증류법으로 정유추출제조
- Cellulose, protease, alginase 등의 효소로 전처리 후 수증기증류법으로 정유추출제조(인산, 초산 등을 적정 pH조절제로 활용)
- 추출제조정유로 각종 기능활성 확인 및 주활성물질 동정 시도

2. 시제품제작

- 비린내제어된 고품질 청어과메기, 양미리 건강어묵, 콩치 레토르트과우치, 청어, fillet 제품, 젓갈제품 등 지역수산가공품 제조에의 적용
- 산화방지, 저장성 향상에 의한 품질향상여부 측정 판단하여 수산가공시제품 제조
- 정신안정성을 활용한 “바다의 향” 이미지 부여해 해조정유자체로만의 시제품 화시도

IV. 연구개발 결과

1. 고수율로 고기능성의 해조 정유제조 및 추출 해조정유의 기본적인 생리기능성확인(항산화, 항균성, 항충치성등) 및 시제품화

수증기증류법과 Alginase, Viscozyme 등으로 다당 세포벽 분해를 시도한 뒤 수증기증류법으로 정유 추출제조를 시도한 결과, 향기성분 이외에는 해조로부터 본 수증기증류법으로는 정유 추출물질을 얻을 수 없었다. 그래서, 건조 해조 시료에 95% 에탄올을 첨가 추출하는 방법으로 해조 정유물질을 성공적으로 제조할 수 있었다. 해조정유의 항산화성을 확인해본 결과 모든 시료에서 강한 항산화성을 가짐을 확인할 수 있었으며, 톳과 다시마 추출제조정유의 자유기 소거효과는 대조군으로 사용한 합성항산화제인 포도씨유의 항산화 능력에 버금가는 효과를 가졌고, BHA(Butylated hydroxyanisole)의 항산화 능력에 비해서는 훨씬 더 강한 항산화 효과를 보였다. *Staphylococcus aureus*군에 대해서는 대조군에 비해 미역이 효과가 좋았고 *Bacillus subtilis*와 *Escherichia coli*군에 대해서는 모든 해조정유 시료에서 강한 항균효과를 나타냈으며, 충치 유발 균인 *Streptococcus mutans*에 대한 항균 효과를 알아본 결과 미역과 김의 정유에서 항균효과가 나타났다. 다시마의 항균성물질을 분리·정제·동정을 통해 항균주체가 5,7,8-trihydroxyflavone-7-O-glucuronide 물질임을 확인하였으며, 추출된 정유 모두 각각 다른 향기성분이 확인되었다. 따라서, 미역정유와 김정유는 항충치성 제품소재로 충분히 이용가능하다고 판단되고, 미역·톳·다시마·김정유 들이 모두 수산가공 식품의 저장성향상 및 품질향상제로서 활용될 수 있을 것으로 사료되었다.

2. 해조정유를 고품위 등푸른 생선 가공제품제조용 식품첨가제로서의 적용하여 산화방지, 비린내제어 및 저장성 향상도모

미역정유, 다시마정유를 각각 첨가한 고등어 어묵, 꽁치 fillet, 간고등어, 꽁치과메기제품을 제조하여 가온시험으로 25±0.5℃에서 보관하여 여러 가지 화학적 및 미생물 변화를 측정, 해조 정유가 가공제품의 저장성향상에 미치는 영향을 알아보려고 시도하였다. 그 결과, 저장기간 일반 제품에 비해 해조정유

첨가 제품의 낮은 휘발성 염기질소함량과 적은 총 생균수, 부패취 감소, 항산화효과 등의 결과로 해조 정유 첨가가 수산 가공제품의 저장성을 향상시킴을 확인할 수 있었다.

3. 해조정유를 고품위 젓갈제품제조용 식품첨가제로서의 적용하여 저장성 향상 및 고품질 젓갈제품화 성공

김, 톳, 미역, 다시마의 정유를 각각 첨가한 명란젓, 창란젓, 오징어젓제품들을 제조하여 가온시험으로 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하면서 여러 가지 화학적 및 미생물적 변화를 측정, 해조 정유가 젓갈제품의 저장성향상에 미치는 영향을 알아보았다. 그 결과, 해조정유 무첨가 일반제품에 비해 해조정유 첨가 제품이 저장중 낮은 휘발성 염기질소함량과 적은 총 생균수, 부패취 감소, 항산화효과 등의 결과를 나타냄으로서 해조 정유 첨가가 젓갈제품의 저장성을 향상시킴을 확인할 수 있었다.

4. 동물실험을 통한 해조정유 및 그 추출잔사물의 건강기능성 검증

해조정유 및 그 추출잔사물의 항비만과 고지혈증 및 동맥경화성 혈관계질환의 예방효과를 동물실험을 통해 확인하였으며, 해조정유로부터는 항고혈압성분 및 향기성분을 분리 동정해 내었다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 한국의 기능성화장품은 미백, 주름개선, 자외선 차단제 등 3가지로 한정되어 있어 기능성 화장품 소재의 활발한 발전이 없으나, 먹는 화장품 식품시장은 매우 크기 때문에 해조 정유의 항고혈압성, 항혈전성, 항동맥경화증능력 등이 먹어서 피부를 좋게 하고 혈액을 좋게 하는 key첨가소재로서 해조 정유가 이용될 수도 있다고 봄
- 천연 식품 첨가물 소재(항산화제·항방부첨가제)로서 적색어류가 갖고 있던 문제점, 즉 지방산패에 의한 비린내와 산패물에 의한 썩린 맛을 해소함으로써 수산가공업체 기술

력 향상과 매출 증대를 동시에 추구할 수 있음

- 벤처기업 (주)해송바이오산업에서는 해조정유 신제품화를, 그리고 강릉수협에서는 고품위 지역수산물 가공 신제품 제조에 해조 정유를 적극 활용함으로써 고부가가치 수산물 가공신상품 출시 가능할 것으로 사료됨
- 향산화성, 항균성이 뛰어난 해조정유를 이용한 속초양념젓갈제품(오징어젓, 명란젓, 창란젓)에 각각 적용하여 해조정유의 항균·향산화능에 의해 유통기한이 연장됨을 확인하였고, 해조정유의 건강기능성이 가미된 저염 건강식품으로서의 건강저염 양념젓갈제조 산업화의 활성화를 크게 기여할 것임
- 젓갈업체에 본과제 특허기술에 대한 이전을 1건 성사시켰고, 앞으로 2건 더 특허기술 이전 할 예정임

SUMMARY

I. Title

Production of seaweed essence oil and its applications as functional materials and food additive

II. Objectives and significances

- Preparation of essential oil products from seaweeds such as sea tangle, sea mustard, laver, and bundle
- Application of seaweeds essential oils as food antioxidants & antimicrobial additives of marine processed foods such as Jeotgal, Guamegi, Kamaboko, and retort pouched seafood products
- Identification of health functionality in the essential oils of seaweeds

III. The contents and scope of this study

- Extraction of seaweed essential oil from *Undaria pinnatifida* Suringar, *Porphyra tenera*, *Hizikia fusiforme* and *Laminaria japonica*
- Identification of biologically active substance from seaweed essential oil of *Undaria pinnatifida* Suringar, *Porphyra tenera*, *Hizikia fusiforme* and *Laminaria japonica*
- The application in the processed marine products for removal of fishy smell in the pacific saury guamegi, mackerel fish paste, pacific saury retort and pacific saury fille products by adding seaweed essential oil as food additives

- Extension of the storage days by adding seaweed essential oil as food additives
- Quality improvement of marine processed products such as guamegi, fish paste, retort pouched seafood products and Jeotgal by adding the seaweed essential oil as food additives

IV. Results of research

- Ideal extraction method of essential oils is the ethanol extraction method
- Verification of anti-arteriosclerosis and anti-lifestyle diseases in the seaweed essential oil fed rat
- Identification of the Key compounds such as 5,7,8-trihydroxyflavone and on antimicrobial activities of the seaweed essential oils
- Identification of the Key compounds such as benzoic acid, nonanoic acid, and pentadecane on flavor of the seaweed essential oils
- Identification of the Key compounds such as hexonoic acid and nonanoic acid on flavor of the seaweed essential oils
- Developments of antioxidant and antimicrobial fishes processed products such as the salted mackerel product, the mackerel kamaboko, the filleted pacific saury product, the pacific Guamegi, the Myungran Jeot, the Changran Jeot, and the squid Jeot by adding seaweed essential oils as antioxidant and antimicrobial additives to fishes processed products

CONTENTS

Description for submission	1
Summary	2
Summary in English	8
Contents in English	10
Contents	11
Chapter 1. Concept of research project	12
Chapter 2. Current research status of lotus in domestic and foreign countries	15
Chapter 3. Contents of the project and research results	17
Chapter 4. Achievement and contribution to related fields	128
Chapter 5. Application plan of research results	130
Chapter 6. Information obtained during implementation of project	133
Chapter 7. Reference	142

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	12
제 1 절 연구개발의 필요성	12
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용	13
제 2 장 국내·외 기술개발 현황	15
제 1 절 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황	15
제 2 절 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지 하는 위치	16
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	17
제 1 절 이론적, 실험적 접근방법	17
제 2 절 연구내용 및 결과	39
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	128
제 1 절 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연 구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술발 전에의 기여도	128
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	130
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	133
제 1 절 연구사례의 조사	133
제 2 절 세부 기술사항의 검토 분석	134
제 3 절 특허 및 기술도입과의 중복여부에 대한 검토·분석	137
제 4 절 원재료에 대한 검토 분석	138
제 5 절 산업계 현황	141
제 7 장 해조정유의 수율 추정	143
제 8 장 해조정유의 항충치성을 이용한 의약외품 시제품화 시도	143
제 9 장 해조정유의 시장성 예상	143
제 10 장 해조정유활용 가공 제품	144
제 11 장 참고문헌	145

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

- 기존 해조중의 기능성성분 추출법은 CH_2Cl_2 , CHCl_3 , MeOH 등 맹독성 유기용매를 써야 하고 시간도 매우 오래 걸려 무공해 고효율적인 생리활성물질 추출법을 확립해야만 산업화 가능함
- 향균·항산화식품첨가제는 아직 지방 상태로 유통되는 경우 많아 유화 시킨뒤 사용해야하므로 사용에 제약이 있거나 사용시 제품에 잘 섞이지 않아 항산화성 발현이 잘 되지 않는 단점 있음
- 이 문제점 해결을 위해 유화제로 유화시키나 이는 인공유화제 사용으로 천연향균·항산화제의 의미를 퇴색시키는 문제점 있음
- 그 외 다른 향동맥경화증, 항고혈압성, 항비만성 기능성 소재들도 지용성인 경우가 많아 본 과제의 해조 정유는 수증기와 섞여있는 지방성분이어서 범용적으로 기능활성을 떨어트리지 않고 사용 극대화 가능

2. 경제·산업적 측면

- 적색어류 가공품화시 이제 소비자도 흰색만을 고집하지 않으므로 약간 붉거나 검은기가 있어도 상관없으나 산패취나 비린내가 조금이라도 있으면 상품화 곤란함
- 적색어류만이 우리나라에서 자급자족 가능성 높은 어종이므로 산패취가 없는 고품질의 수산가공 기술개발이 필요하고 그 해결책이 강력한 천연항산화제·천연방부제의 개발임
- 본 과제로 이문제 해결가능하나 아직 국내외적으로 해조정유를 어패류 가공에 이용된 사례없음
- 일본의 식품산업시장 550조원인데 비해 한국의 식품산업시장은 49조원에 지나지 않은 이유는 지역특산식품가공품의 미활성화에 있으므로 본 과제로 지역수산특산가공품 개발 시도하여 한국의 식품산업의 획기적 발전 도모코자 함

3. 사회·문화적 측면(공공성 포함)

- 도시인이 수시로 바닷가를 가는 느낌을 주는 해조정유 제품(바다냄새가 바로 해조정유 냄새임을)을 개발 제공함으로써 도시인들로 하여금 안정한, 평정한 마음으로 되찾게할 수 있음
- 결과적으로 스트레스가 완화되면서 질병발생율을 사회전체적으로 저감시킬 수 있음
- 이 소재로 부작용 거의 없는 항정신성약으로의 개발도 가능하여 국민건강에도 크게 이바지 가능하여 중국에는 보건의료비 지출의 획기적 감소 가능

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 연구개발의 최종목표

- 해조의 기능성 발현의 핵심 성분인 정유를 산업적 응용가능한 단가로 제조하여 여러 유용 기능성 들(항균성, 항충치성, 항산화성, 건강기능 등)을 확인 검증함과 동시에 항산화·항균성 활용한 지역수산물가공품 고품질화 및 기능성 해조정유 향제품화

2. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
1차 년도	2008. 10 ~ 2009. 9	<ul style="list-style-type: none"> - 고수율로 해조 정유를 추출해 내는 방안 모색 - 추출 해조 정유의 기본적인 생리 기능성 확인(항산화, 항균성, 항충치성 등) 	<ul style="list-style-type: none"> - 미역, 다시마, 톳, 김 등 대중적인 해조 원료 사용하여 정유 추출제조 - 진공동결건조 마쇄후 알콜로 추출하거나 수증기증류법으로 정유추출제조 - Cellulose, protease, alginase 등의 효소로 전처리 후 수증기증류법으로 정유추출제조(인산, 초산 등을 적정 pH조절제로 활용) - 추출제조정유로 각종 기능활성 확인 및 주활성물질 동정 시도 	<ul style="list-style-type: none"> - 고수율로 고기능성의 해조 정유제조
2차 년도	2009. 10 ~ 2010. 9	<ul style="list-style-type: none"> - 해조 정유의 주활성인 항산화·항균성을 활용한 비린내 제어 고품질 지역수산물가공품의 제조 	<ul style="list-style-type: none"> - 비린내 제어된 고품위 과메기, 건강어묵, 레토르트파우치, fillet 제품 등 지역수산물가공품 제조에의 적용 - 산화방지, 저장성 향상에 의한 품질향상여부 측정 판단하여 수산물가공시제품 제조 	<ul style="list-style-type: none"> - 시작품 제작
3차 년도	2010. 10 ~ 2011. 9	<ul style="list-style-type: none"> - 해조정유 첨가 양념젓갈제품의 제조 - 해조 정유의 항충치성을 활용한 의약외품 제품화 - 해조정유의 건강 기능활성 활용하여 기능성 향제품화 	<ul style="list-style-type: none"> - 고품질 양념젓갈제품의 포장조건 확립 - 정신안정성을 활용한 “바다의 향” 이미지 부여 해조정유자체로만의 제품화시도 	<ul style="list-style-type: none"> - 시작품 제작 - 시작품 제작

제 2 장 국내·외 기술개발 현황

제 1 절 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황

1. 국내기술동향

- 라벤다 등의 허브 정유는 일부 제조하는 곳이 있으나, 다시마 등 해조 정유 제조하는 곳은 없고, 연구개발된 사례도 없음
- 단지, 각종 해조들과 한약재를 섞어 한약 달이듯이 하여 얻은 추출액으로 화장품팩 만드는 시도를 한 특허출원이 1건 있을 뿐이었음

2. 국외기술동향

- 프랑스에서는 많은 해조추출물을 국내외 화장품회사에 보습성 등의 일반 화장품 기본 요구능에 탁월함을 강조하면서 공급하고 있음
- 일본에서는 일부 연구자에 의해 해조 정유 얻는 실험을 하는 수준이고, 이의 기능성을 확인하여 그것을 활용한 소재화 시도나 상품화에는 아직 이르지 못했음

3. 향후 전망

- 한국의 기능성화장품은 미백, 주름개선, 자외선 차단제 등 3가지로 한정되어 있어 기능성 화장품 소재의 활발한 발전이 없으나, 먹는 화장품 식품시장은 매우 크기 때문에 해조 정유의 항고혈압성, 항혈전성, 항동맥경화증능력 등이 먹어서 피부를 좋게 하고 혈액을 좋게 하는 key첨가소재로서 해조 정유가 매우 적합하다고 봄
- 인허가에 큰 어려움이 없는 의약외품 시장으로 마케팅하면 해조 정유의 항충치성 등의 기능성을 잘 살리면 해조 활용신산업으로서 크게 번창할 것임(구강 항충치제로서의 수요는 가글 제조나 치과병원내 수요만으로 1200억원 시장이라는 비공식적 통계도 있을 정도로 시장이 매우 큼)

4. 기술동향 분석 결론

- 프랑스에서는 많은 해조에 대해 추출물을 얻어 국내 화장품회사에도 평균 3-4가지 해조 추출물을 납품하고 있으나, 단순히 보습성이 우수하니 사용해 보라는 수준의 마케팅임
- 본 과제로 해조의 종류에 따라 산지에 따라 시기에 따라서도 그 기능성은 달라지므로 면밀한 해조 종류별 시기별 산지별 기능성을 잘 검증하여 data base화하면 해조 응용신 산업 분야 창출가능하리라 봄
- 특히 구강충치방지제의 시장이 크게 주목되고 천연 방부제와 천연 향산화제시장도 100 억원정도로 크므로 목적성 응용실험이 본 과제를 통해서 이루어져야 된다고 사료됨

제 2 절 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치

1. 타 산업 및 국내외 연계·협력 가능성, 산업체 참여시기 및 방법

- 우선 해조종류별 산지별(시기별은 시험하기 현실적으로 불가능) 정유추출물의 향균성, 향산화성, 항충치성 등의 활성 검증이 이루어지고 난 뒤에 타산업 및 국내외 연계·협력 해야 함
- 본 과제의 경우 해송바이오에서 해조 정유자체 상용화를 할 것이고, 해조 정유의 향산화 성과 향균성은 적색어류(고도불포화지방산이 많아 가공 중 산패도 쉽게 일어나고 그로인 한 단백질 변성 및 부패도 심각함)의 고품위 가공품화(예를 들면 건강기능성이 가미된 유통기한 연장 속초양념젓갈제품 등)에 활용 지역특산 수산가공품화 및 상용화기술을 지역수산가공업체들에게 공급해 나갈 것임
- 항충치성 및 항정신성은 3년차에 가능성 소재 제품으로서 해송바이오에서 제품화 또는 화장품회사나 제약회사에의 기술이전시도 예정임

2. 국내 연구개발 대신 외국기술도입에 대한 가능성 검토

- 삼성이나 LG도 기존 DVD player 생산시에는 많은 royalty를 지불하고 있어서 신기술인 블루레이 DVD를 자체 개발했다고 할 정도이므로, 본 개발 기술은 서양인이 요구하는 기능성과 우리와는 괴리가 있으므로 국내 연구개발이 이상적임

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 이론적, 실험적 접근방법

1. 해조정유 추출

해조(김, 툇, 다시마, 미역) 100 g을 1000 mL Erlenmeyer flask에 넣은 후 95% 에탄올 시료량의 5배(w/v)인 500 mL을 첨가한 후에 30°C에서 30분 동안 초음파 추출(sonication : Power SONIC 520 HWASHIN)하였다. 추출한 추출액을 여과지(1 mm-pore-size, Whatman No.2)로 여과하여 에탄올 추출액을 수득하고, 이를 회전 감압농축기(Rotavator :R-200, Buchi, switzerland)로 40°C에서 감압농축하여 에탄올을 제거한 후 동결 건조하여 -40°C 이하에서 보관하면서 실험에 사용하였고, 추출 잔사는 자연 건조하여 -40°C 이하에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 해조 정유 수증기증류법은 상기 방법에 cellulase, protease, alginase 등의 효소를 전처리하여 증기증류법으로 정유추출을 시도하였다.

2. 항균성, 항산화성 분석

가. DPPH 라디칼 소거능

불포화 지방산 라디칼의 모델로서 안정한 유리 라디칼인 α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH·)을 이용하여 DPPH 라디칼이 감소하는 정도를 분광광도계(자외-가시분광광도계 Jasco. JP/V-550)로 측정하여 간접적으로 시료의 항산화 활성을 측정하였다. 시료조제는 해조 정유를 에탄올과 증류수(1:5:4)로 용해하여 사용하였고 에탄올과 증류수(5:4)에 녹여서 0.1, 1, 10 및 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 하였다. 미리 에탄올 용액을 blank로 하여 분광광도계의 영점을 조정한 후 DPPH 3.94 mg을 에탄올 25 mL에 녹여 DPPH용액을 만들어 시료 용액 250 μL 에 DPPH용액 1 mL을 10초 동안 Voltex로 진탕한 뒤 원심분리기((HITACHI, 6000rpm, 15°C, 10min))에 3분 동안 돌리고 실온에서 30분간 방치, 517 nm에서 흡광도를 측정¹⁾하였다. 시료의 blank로 DPPH 용액대신 같은 양의 에탄올을 가하였고, 대조군으로 시료 용액대신에 같은 양의 에탄올을 가하여 측정 하였으며 3회 반복 실험하여 결과를 평균하여 수치를 구하였다.

$$\text{DPPH 소거능(\%)} = 1 - \frac{(S_b - S_s)}{C} \quad (C : \text{control}, S_s: \text{sample}, S_b : \text{sample blank})$$

나. 항균성 균주

항균검색을 위해 사용한 균주는 *Escherichia coli* KCTC7039, *Bacillus subtilis* KCTC1021, *Candida albicans* KCTC7270, *Streptococcus mutans* KCTC3065, *Staphylococcus aureus* KCTC1621로서 한국과학기술원 생명공학연구소 유전자은행으로부터 분양받았다. 균은 계대 배양하여 사용하였다.

다. 해조 정유의 항균활성

해조 정유의 항균활성 검색은 paper disc법²⁾을 수정하여 실시하였다. 각 균주 1백금이를 취하여 5ml의 broth에 접종하였고, 이 활성액 1ml를 두께가 4~5mm인 배지에 주입한 후 구부린 유리막대로 균일하게 펼치고 멸균된 6.0mm filter paper disc(Whatman AA Discs)를 배지위에 놓고, 해조 정유와 Ethanol, 증류수를 각각 1:5:4로 조제한 시료액을 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 2500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 주입시켰다. 주입된 추출액의 용매를 휘발시키고 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 동안 배양하여 Paper disc 주위에 생성된 inhibition zone의 직경을 측정하였다. 또한 대조군으로 종자유 중 포도씨유와 현재 합성 항산화제로 널리 쓰이고 있는 butylated hydroxyanisole(BHA)를 사용하여 위와 같은 방법으로 측정하였다.

라. 최소생육저해농도(minimum inhibitory concentration: MIC)

해조 정유에 대한 최소생육저해농도는 Kudo 등 방법³⁾을 수정하여 측정하였다. 추출물 시료를 위와 같은 방법으로 제공하고 시료의 농도 500~2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도가 되도록 조절한 배지를 Plate에 분주하여 응고시켰다. 여기에 균주를 2 mL씩 분주 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 배양하여 미생물의 증식 여부를 확인하여 최소생육저해농도를 구하였다.

3. 항균성물질의 분리 및 동정

가. 실험재료

본 연구에 사용된 해조류 중 주시험 시료인 다시마 (*Kjellmaniella crassifolia*)는 강릉 사근진 앞바다에서 채취하여 실험에 사용하였다. 또한, 남해산 다시마 (South seatangle)를 사용하여 비교하였으며, 다시마 못지않은 소비대상종인 미역, 김 등도 함께 강릉시 소재 주문진 수산 시장에서 구입하여 실험에 이용하였다. 시료를 추출·분획하여 항균(antimicrobial)활성 효과 탐색 시료로 사용하였다.

항균활성 실험에 사용된 paper disk (8 mm)는 Toyoroshi Kaisa Ltd. (Japan)회사제품을 구입하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 균주는 *Esherichia coli* KCTC2469, *Staphylococcus aureus* KCTC1621, *Candida albicans* KCTC7270 로서 유전자은행(KCTC)로부터 분양받아 사용하였으며, 대조균으로는 Ampicillin, Amphotericin B를 사용하였다. 그 외 연구에 사용된 용매 및 시약은 특급 또는 일급 시약을 사용하였다.

나. 실험방법

(1) 해조 정유의 분리정제

해조 정유 제조는 Bligh and dyer 방법⁴⁾을 기본으로 행하였다 (Fig. 1). 실험에 사용된 각 시료들은 증류수로 세척한 후 염분을 제거하고 homogenizer로 균일하게 분쇄하였다. 비커에 약 100 g 씩 채취하여 CHCl_3 100 mL를 넣고 균질화한 후, MeOH 200 mL를 넣어 같은 방법으로 균질화하였다. 8000 rpm에서 1분간 homogenizing, CHCl_3 100 mL 가한 후 6000 rpm에 1분간 homogenizing, 증류수 100 mL를 가하고 2000 rpm에서 30초간 homogenizing하였다. 교반 한 시료를 모두 buchner funnel에 옮겨서 천천히 흡인여과 하였다. 이 액이 충분히 여과되면 소량의 CHCl_3 로 잔사를 씻어낸 후, 여기에 CHCl_3 150~200 mL를 가하고 8000 rpm에서 1분간 homogenizing하고 다시 흡인여과를 하였다. 이 여액은 separate funnel로 옮겨 하룻밤 정치를 하고 2층으로 분리가 된 추출물을 삼각플라스크에 받은 후, 암소에서 무수 Na_2SO_4 를 가하여 탈수한 후 여과지로 여과를 하고 둥근 플라스크로

옹겨 rotary evaporator로 농축하였다. 평량한 등근 플라스크로 옹겨서 용매를 완전히 제거하고, 질소를 충전하여 -20℃에서 보존하여 사용하였다.⁵⁾

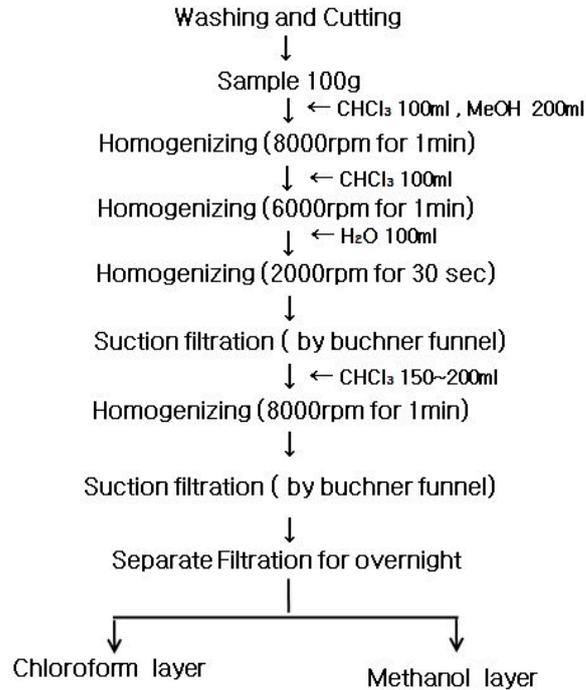


Fig. 1. Flow chart for preparation of active extracts from seaweed.

(2) 항균활성 측정

각 시료의 지용성인 chloroform 획분과 수용성인 methanol 획분으로 나누어 추출하였다. 얻어진 추출물 및 분획물로 disc-diffusion assay⁶⁾를 이용하여 항균활성을 측정되었다. 실험에 사용된 각 해조류 (Jinuari, Dolkim, Suemiyok, Southsea seatangle, Sagunjin seatangle) 추출물을 멸균된 직경 8 mm paper disc에 2.0 mg/disc의 농도로 흡착하여 건조시킨 후, 이를 각 실험세균이 접종된 agar disc에 올려 배양하고 disc를 포함한 growth inhibition zone의 직경을 측정하였다. 시판 항생의약품인 Ampicillin, Amphotericin B를 항생제(항균제)로 사용하여 비교실험하였다^{7,8)}.

(3) Vaccum liquid chromatography(VLC) 분획구간별 항균활성 측정

Crude 추출된 해조추출물을 다시 silica gel vacuum liquid chromatography로써 총 10개의 획분으로 나눈 후, 각 분획층을 항균실험에 도입 사용하였다⁷⁾(Fig. 2-3). 멸균된 paper disc에 흡수, 건조시켜 균주가 도말된 plate 표면에 올려놓은 후 37°C incubator에서 24시간 배양하여 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로부터 각 분획물의 항균활성을 1, 2차에 걸쳐 측정하였다⁹⁾. 이 결과로부터 최소저해농도 (minimum inhibitory concentration : MIC)를 분석하였다.

(4) TLC (Thin layer chromatography)에 의한 분획

실험에 사용한 TLC plate는 Silica gel 60 F₂₅₄ (20X20cm, Merck KGA, 64271 Darmstadt, Germany)을 사용하였으며, plate는 105°C에서 1시간 전처리하고 방냉한 후 사용하였다. TLC plate 위에 vaccum liquid chromatography (VLC)에 의해 분획되어 항균활성을 띤 물질에 대하여 점적하여 25% methanol (in CHCl₃)에 전개시켰다. 분리된 물질의 위치를 확인하고, 50% H₂SO₄ 용액을 plate에 분무하여 105~110°C의 dry oven에 넣었다가 10분 후에 꺼내어 확인하였다. 분리된 각각의 band를 긁어내어 유리용기에 담아 추출용매로 녹여 -20°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

(5) 기기분석에 의한 분획된 물질의 동정

TLC에 의한 분리 구간의 전체적인 검색 후 효과를 나타낸 band에 대하여 기기 분석을 행하였다. 즉, UV spectrophotometer (JASCO, Japan), HPLC (HP 1100, Hewlett-packed, U.S.A) 등으로 분리 물질에 대한 기기분석을 행하여 핵심성분의 본체를 추적하여 보았다.

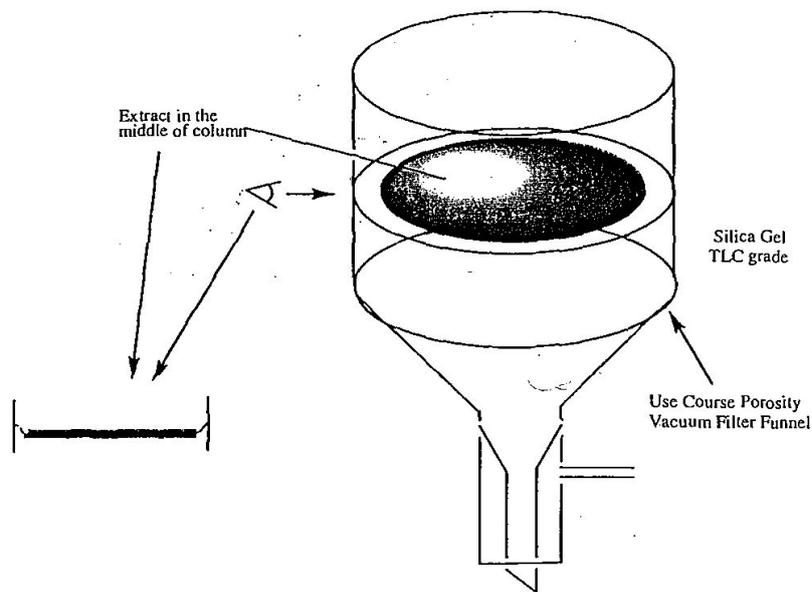
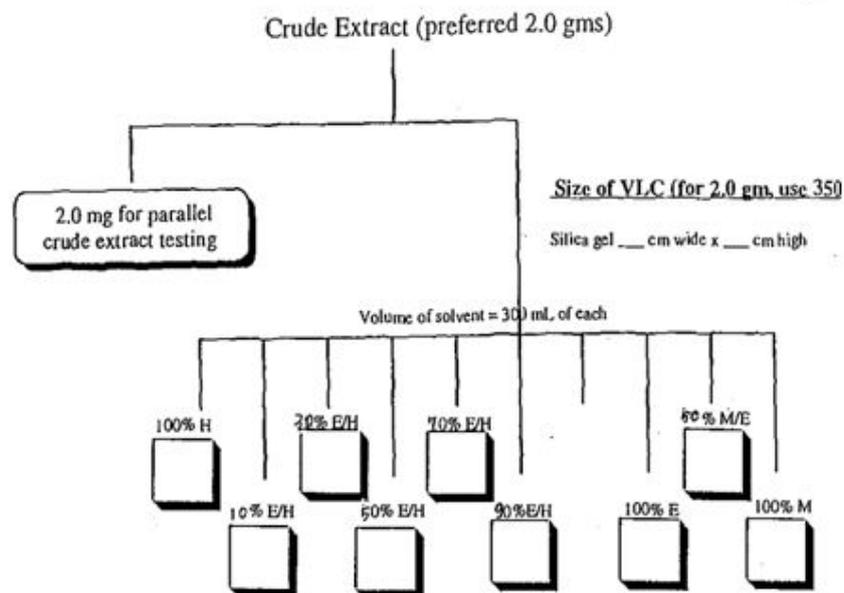


Fig. 2. Fractionation of crude extracts by Silica gel vacuum liquid chromatography (VLC).



H : hexane E : ethyl acetate M : methanol

Fig. 3. Fractionation of crude extracts by Silica gel vacuum liquid chromatography (VLC).

4. 항충치성 분석

추출 해조 정유에 95%에탄올과 증류수를 1:5:4(w/v)의 비율로 제조 후 paper disc법을 이용하여 500, 1000, 1500, 2000, 2500 µg/mL의 농도를 주입시켰다. 사용한 균주로는 *Streptococcus mutans*로 사용하였다

5. 동물실험을 통한 항고지혈증기능성 등 항성인병 검증

가. 실험동물 및 사육환경

시험에 사용한 SPF 음성 140 ± 10 g의 Sprague Dawley(SD)계 흰쥐[(주) 효창사이언스(대구)]로부터 구입한 후 1주일 간 검역과 순화, 사육을 거쳐 건강한 동물만을 실험에 이용하였다. 본시험의 사육환경은 온도 22±3℃, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(07:00~19:00)로 설정된 경성대학교 약학대학 실험동물 사육실(TECNIPLAST, Italy)에서 실시되었다. 사료는 실험동물용 고품사료(중앙실험동물, 서울)를 음수는 상수도를 자유 섭취시켰다. 실험 시간 전 24시간 동안 물만 주고 절식하였다. 이때 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 실험동물을 일정시간(오전 10:00-12:00) 내에서 처치하였다. 생리식염수로 희석한 4% tween 80을 사용하여 시료를 200 mg/kg 용량으로 4주간 각각의 실험군에 경구용 needle zonde를 사용하여 투여 하였다.

나. 고지혈증의 유발

실험동물의 식이성 고지혈증의 유발은 beef tallow를 첨가한 조제 시료를 6주간 사육하여 유발시켰다(Table 1).

다. 혈청 및 효소원의 조제

시료의 투입이 끝난 실험동물을 CO₂로 가볍게 마취시켜 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하였고, 채취한 혈액은 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 지질, lipid peroxide, hydroxyl radical 함량 및 superoxide dismutase 활성 측정에 사용하였다.

라. 체중 및 지방 조직의 무게 측정

체중 변화는 실험 개시일로부터 1주일마다 측정하였으며, 지방 조직의 무게는 복강 및 고환주위의 지방을 채취하여 산출하였다.

Table 1. Composition of basal and hyperlipidemic diet

Ingredient	Basal Diet (%)	Hyperlipidemic Diet (%)
Casein	20.0	20.0
DL-Methionine	0.3	0.3
Corn Starch	15.0	15.0
Sucrose	50.0	34.5
Fiber ¹⁾	5.0	5.0
Corn oil	5.0	-
AIN-mineral Mixture ²⁾	3.5	3.5
AIN-vitamin Mixture ³⁾	1.0	1.0
Choline Bitartate	0.2	0.2
Beef Tallow	-	20.5

¹⁾ Cellulose : Sigma Co. LTD., USA.

²⁾ Mineral mixture based on the pattern of Rogers and Haper(1965) contain the following (g/kg diet): calcium phosphate dibasic 500.0, sodium chloride 74.0, potassium citrate monohydrate 220.0, potassium sulfate 52.0, magnesium oxide 24.0, magnesium carbonate 3.5, ferric citrate 6.0, zinc carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, chromium potassium sulfate 0.55, sucrose, finely powered make 1,000.

³⁾ Vitamin mixture(g/kg diet): thiamine HCl 0.6, biotin 0.02, riboflavin 0.6, cyanocobalamine 0.001, pyridoxine HCl 0.7, retinyl acetate 0.8, nicotinic acid 3.0, DL-tocopherol 3.8, Ca-pantothenate 1.6, 7-dehydrocholesterol 0.0025, folic acid 0.2, methionine 0.005, sucrose, finely powered make 1,000.

마. Total lipid 함량 측정

Sulfo-phospho-vanillin reaction의 원리를 이용한 Fringe 와 Dunn¹⁰⁾의 방법에 의하여 지질을 진한 황상과 함께 가열 한 후 vanillin 인산을 가하여 나타나는 핑크색을 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선에 준해 혈중 함량은 mg/dL로 표시하였다.

바. Total cholesterol 함량 측정

Richmond 등¹¹⁾의 효소법에 의하여 조제된 kit(AM 202-K, Asan)를 사용하여 실험하였다. 빙냉상에서 효소시약(cholesterol esterase 20.5 U/L, cholesterol oxidase 10.7 U/L, sodium hydroxide 1.81 g/L함유)을 효소시약 용해액(potassium phosphate monobasic 13.6 g/L, phenol 1.88 g/L 함유)에 용해한 용액에 시료 20 μ L에 조제한 효소시액 3.0 mL을 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C 에서 5 분간 incubation하여 시약 blank를 대조로 파장 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선에 준해 혈중 함량은 mg/dL로 표시하였다.

사. Triglyceride 함량 측정

McGowan 등¹²⁾의 방법에 준하여 조제된 kit(AM 157S-K, Asan)를 사용하여 실험하였다. 빙냉상에서 효소시약(lipoprotein lipase 10800U, glycerol kinase 5.4U, peroxidase 135000U, L- α -glycero phosphooxidase 160U 함유)을 효소시약 용해액 [N,N-bis(2-hydroxyethyl) -2-aminomethane sulfonic acid 0.427 g/dL 함유]에 용해한 용액에 시료 20 μ L에 조제한 효소시액 3.0 mL을 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 10 분간 incubation하여 시약 blank를 대조로 파장 550 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선에 준해 혈중 함량은 mg/dL로 표시하였다.

아. Phospholipid 함량 측정

Chen 등¹³⁾의 효소법에 의하여 조제된 kit(Iatron Chem. Co.)를 사용하여 실험하였다. 빙냉상에서 효소시약 (phospholipase 3.9U, choline oxidase 5.6U, peroxidase 3.6U, 4-

aminoantipyrine 0.3252 mg 함유)을 효소시약 용해액[tris(hydroxymethyl)-aminomethane 6.057 mg 함유]에 용해한 용액에 시료 20 μ L에 조제한 효소시액 3.0 mL을 첨가한 후 37°C에서 20분간 incubation하여 파장 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선에 준해 그 함량을 mg/dL로 표시하였다.

자. High density lipoprotein-cholesterol(HDL-C) 함량 측정

Noma 등¹⁴⁾의 효소법에 의하여 조제된 kit(AM 203-K, Asan)를 사용하여 실험하였다. 혈청 20 μ L에 침강시약(dextran sulfate 0.1%, magnesium chloride 0.1M 함유) 0.2 mL를 가하고 잘 혼합한 후 실온에서 10분간 방치하고 3000 rpm에서 10 분간 원심분리 하였다. 그 상층액을 0.1 mL 취하여 효소시액 3.0 mL와 잘 혼합하여 37°C에서 5분간 incubation하여 시약 blank를 대조로 파장 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선에 준해 그 함량을 mg/dL로 표시하였다.

차. LDL-cholesterol 함량 측정

Low density lipoprotein-cholesterol(LDL-C) 함량은 Fridewald 등¹⁵⁾의 방법에 따라 다음의 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{LDL-C} = [\text{총콜레스테롤양} - (\text{HDL-C} + \text{Triglyceride양}/5)]$$

카. 혈중 Lipid peroxide 함량 측정

Yagi 등¹⁶⁾의 방법에 따라 혈청 20 μ L에 1/12N H₂SO₄ 4.0 mL를 가하여 혼합하고 10% phosphotungstic acid 0.5 mL를 가하여 실온에서 5분간 방치한 후 원심분리하여 침전물인 혈청단백질만 취해서 다시 1/12N H₂SO₄ 2.0 mL와 10% phosphotungstic acid 0.3 mL를 가하여 원심분리하였다. 침전물만을 취하여 증류수 4.0 mL와 0.67% thiobarbituric acid와 acetic acid를 1:1로 혼합한 용액을 1.0 mL를 가하고 95°C에서 60분간 반응시켜 실온에서 냉각 후 n-BuOH을 5.0 mL를 첨가하여 3000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 생성된 홍색의 n-BuOH을 취해 spectrofluorometer를 사용하여(Ex : 515 nm, Em : 553 nm) 흡광도를 측정하였다. 포

준 용액으로 tetraethoxypropane 0.5 nmole을 같은 방법으로 반응시켜 흡광도를 측정하고 다음의 식에 의해 혈청 lipid peroxide 함량을 산출하였다.

$$\begin{aligned} & \text{Serum lipid peroxide(nmole/mL serum)} \\ & = 0.5 \times (\text{sample의 흡광도} / \text{표준용액의 흡광도}) \times 1.0 / 0.02 \end{aligned}$$

파. 혈중 Hydroxyl radical 함량 측정

Kobatake 등¹⁷⁾의 방법에 따라 혈청 34.8 μL 에 0.54M NaCl, 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.4), 10mM NaN_3 , 7mM deoxyribose, 5mM ferrous ammonium sulfate 및 증류수로서 333.3 μL 가 되도록 첨가하여 vortex에서 잘 혼합하여 37°C 에서 15 분간 정치하였다. 혈청 67 μL 를 취하고 여기에 8.1% sodium dodecyl sulfate 75 μL , 20% acetic acid 500 μL 및 재증류수 25 μL 를 넣어 혼합하였다. 여기에 다시 1.2% thiobarbituric acid 333 μL 를 가하여 water bath(100°C)에서 30 분간 가열한 후 실온에서 냉각한 다음 700 \times g에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 파장 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 의하여 hydroxyl radical(nmole/mg protein)의 함량을 정량하였다.

타. 혈중 Superoxide dismutase(SOD) 활성 측정

Oyanagui¹⁸⁾의 방법에 따라 정량하였다. 혈청을 potassium phosphate buffer로써 100배 희석하여 그 중의 100 μL 를 시험관에 넣고 여기에 재증류수 500 μL , 시약 A(3mM hydroxylamine / 3mM hypoxanthine) 200 μL 및 시약 B(7.5mU/mL xanthine oxidase(XO) with 0.1mM EDTA-2Na) 200 μL 를 넣고 잘 혼합한 다음, 37°C water bath에서 40분간 정치한다. 반응액에 시약 C(300 of sulfanilic acid / 5.0 mg N-1-naphthyl-ethylenediamine in 500 mL of 16.7% acetic acid) 2.0 mL를 넣어 실온에서 20분 동안 정치한 다음 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 준하여 혈청 중의 superoxide dismutase 활성을 측정하였다. 효소 활성도는 superoxide dismutase의 U/mg protein으로 표시하였다. SOD의 1 Unit는 50% 억제되는 adrenochrome의 생성을로서 산출하였다.

하. 단백질 정량 및 통계처리

단백질의 함량은 Lowry 등¹⁹⁾의 방법에 준하여 bovine serum albumin(Sigma, Fr. V)을 표준 품으로 하여 측정하였다. 본 실험에서 얻어진 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test로 그 유의성을 나타내었다.

6. 항고혈압성분의 분리정제

가. 재료 및 검색용 시료의 조제

실험 재료로는 이미 건조된 자연산 미역 엽상체 (줄기포함, Natural *Undaria pinnatifida*), 양식산 미역 엽상체 (Cultural *Undaria pinnatifida*), 다시마 (*Laminaria japonica*), 미역 포자엽 (일명 미역귀 : Sporophyll of *Undaria pinnatifida*), 구멍쇠미역 (*Agarum cribrosum*) 등의 일반 식용 해조류를 사용하였다. 자연산 미역은 동해 정동에서 6월에 채취한 것을 구입하였고, 양식산 미역은 울진에서 3월에 채취한 것을, 다시마는 주문진에서, 미역귀는 주문진에서, 자연산 쇠미역은 고성에서, 각각 6월에 채취한 것을 구입하였다. 재료는 정방 1 cm 크기로 세절후 믹서로 1분간 3번 분쇄하여 저온실에 보관하면서 사용하였다.

나. 시약

항고혈압성 측정용 시약인 Lung acetone powder (Rabbit, 유래) 및 Hippuryl-His-Leu (Acetate Salt)는 Sigma (U.S.A.)이었으며, Trinitrobenzene Sulfonate (TNBS)는 東京化成 (Japan)이었다. 이외에는 분석용 일급 시약을 구입하여 사용하였다.

다. 생리 활성 물질의 용매 추출

각 시료별 생리 활성 물질 추출은 상온 또는 열수로써(Jang, 1992) Fig. 4, 5와 같이 실시하였다. 먼저 첫 번째 추출법으로 미리 분쇄해 둔 시료 10 g을 처음에는 증류수 100 mL로 상온에서 1 hr씩 교반 추출한 후, 원심분리 (HITACHI, 6000

rpm, 15°C, 10 min)하여 추출액과 잔사를 얻었다. 이 추출액은 진공 동결 건조 시켜 상온수 fraction으로 하였으며, 잔사에 대해서는 증류수 1000 mL를 넣어 water bath (KMC-1205 SW1, 100°C, 1 hr)에서 추출해서 원심분리 (HITACHI, 6000 rpm, 15°C, 10 min)하여 상등액은 진공 동결 건조시켜 열수 fraction으로 하였고, 잔사는 acetone, methanol 순으로 추출 및 filtration (Toyo filter No.4)하여 각각 acetone fraction, methanol fraction을 얻어 회전식 진공증발기(Japan, A-3S)로 농축시켰다. 증류수 추출구는 증류수에 녹여 시료액으로 사용하였고, acetone구는 Acetone (HPLC Grade, UV Cutoff 330 nm)에 녹인 후, 검색용 시료로 사용하였으며, methanol구는 DMSO (Dimethyl Sulfoxide, C_2H_6SO)에 녹여 모두 냉장 온도에 보관하면서 사용하였다. 두 번째 추출에서는 상온수, ether, acetone, methanol, 열수 순으로 추출하였으며, 각 농축 시료의 용매로는 각각 증류수, acetone, acetone, DMSO, 증류수로 녹여 시료액으로 사용하였다 (Fig. 5).

라. 추출 수율 측정

추출 수율의 측정은 추출에 사용한 시료의 건물(乾物)에 대한 추출물의 총 Soluble Solid 함량의 백분비로 하였다.

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{Concentraed matter의 weight}}{\text{Soluble solid의 weight}} \times 100$$

마. 항고혈압성 검사

시료의 Angiotensin -I Converting enzyme에 대한 활성 저해능으로써 그 항고혈압성을 나타내었다.

바. Angiotensin -I convertiong enzyme (ACE) 조효소액 조제

ACE 조효소액 조제는 Cushman and Cheung²⁰의 방법에 따라 Fig. 6 에서와 같이 조제하였다. 즉, Lung acetone powder (rabbit, sigma Co.) 1 g에 Sodium borate

buffer (PH 8.5) 10 mL를 넣어 5°C, 24 hr 교반 후 원심분리 (10000 rpm, 30 min) 후 상등액을 조효소액으로서 취하여 4°C에 보관해두고서 사용하였다.

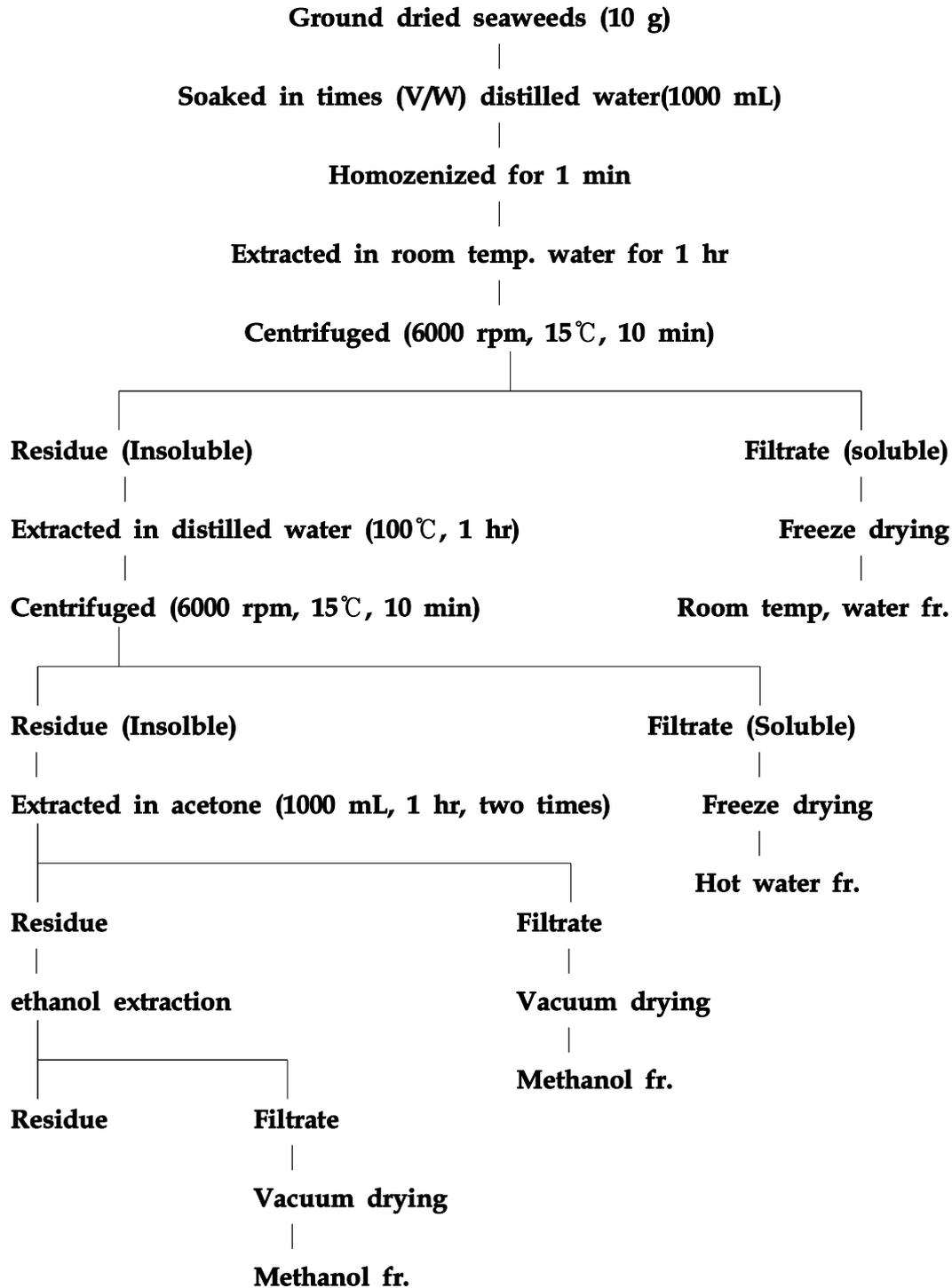


Fig. 4. 1st Procedure for the extraction of bioactive compounds from the dried seaweeds.

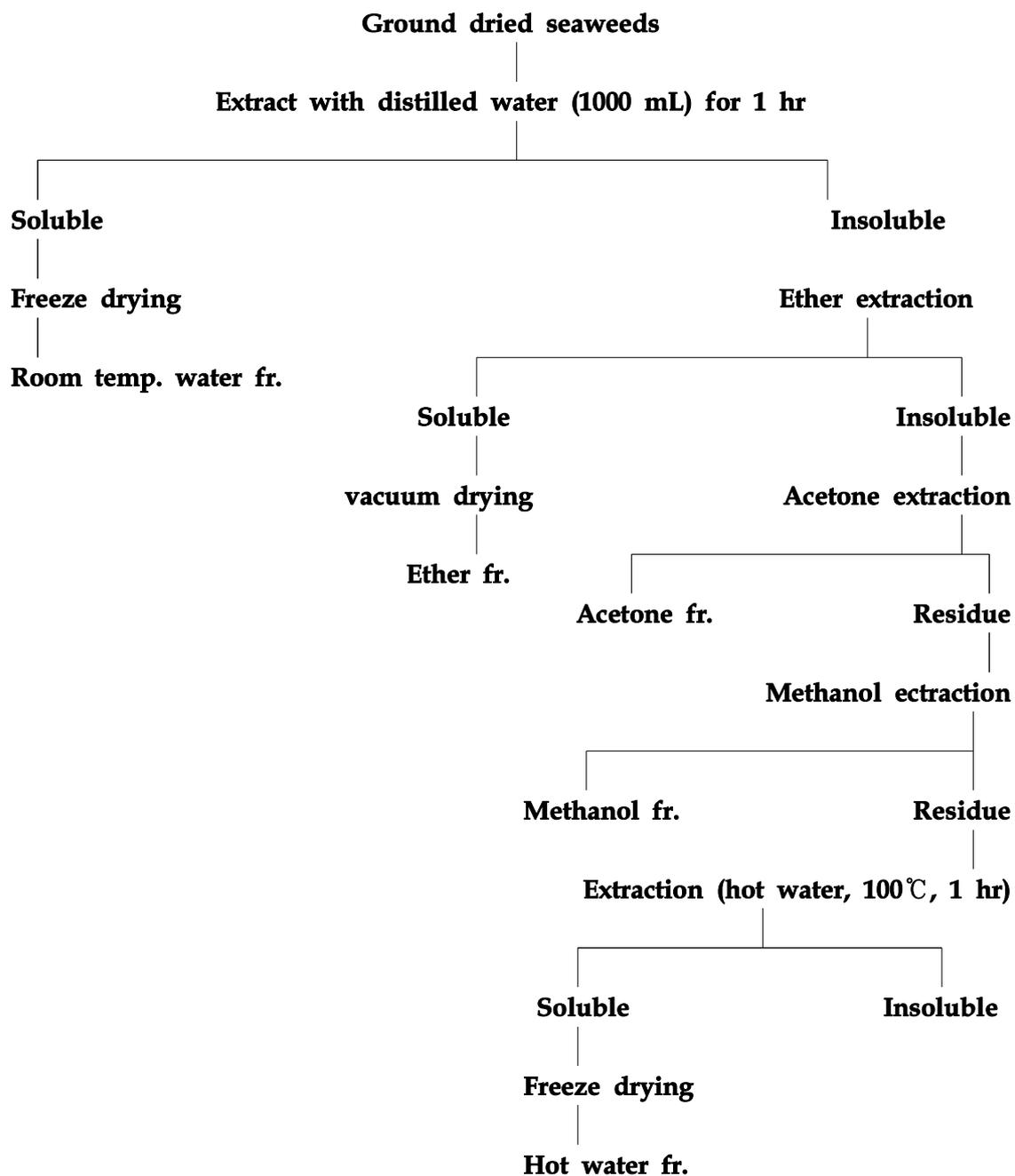


Fig. 5. Second Procedure for the extraction of bioactive compounds from the dried seaweeds.

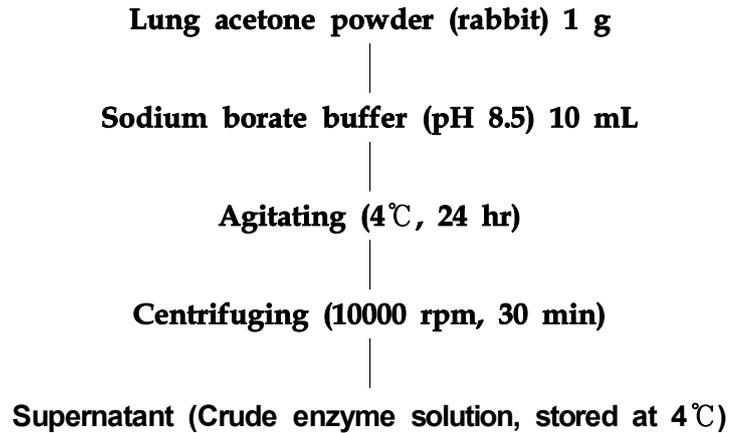


Fig. 6. Flow sheet of procedure for the preparation of crude angiotensin - I converting enzyme (ACE) solution.

사. Angiotensin - I converting enzyme (ACE) 저해 활성 측정

ACE 저해 활성 측정은 TNBS (Trinitrobenzene Sulfonate)를 이용한 색도계 측정의 방법²¹⁾에 따라 Table 2과 같이 사용하였다. 즉, 시료액 25 μ L에 50 μ L의 Hip-His-Leu (2.5 mM in borate buffer containing 200 mM NaCl, pH 8.3)을 넣은 다음, 앞서 기술한 바와 같이 조제한 ACE 조효소액을 5배 희석한 것, 50 μ L를 넣어 37°C에서 1시간 incubation시켰다. 반응 정지액으로 0.5 N HCl 250 μ L를 첨가하였고, pH는 Kolthoff buffer (0.1 M Na₂HPO₄-1.0 N NaOH (1:2)) 250 μ L를 넣어 맞추었고, 이어 TNBS Solution 25 μ L 넣은 후, 20분간 incubation하고 Sulfite (4 mM Na₂SO₃ in 0.2 M NaH₂PO₄)를 넣어 ultraviolet-visible Spectrophotometer (Beckman England)로 416 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

$$\text{ACE 저해율 (\%)} = \left(1 - \frac{AS - AB}{AC - AB} \right) \times 100$$

AS : 시료 첨가구의 흡광도

AB : 시료 무첨가구의 흡광도

AC : 대조구의 흡광도

Table 2. Procedure for determining ACE Inhibitory Activity with TNBS

	Vol (μL)		
	Blank	Control	Sample
Inhibitor	-	-	25
H₂O	25	25	-
ACE solution	50	50	50
0.5 N HCl	400	-	-
12.5 mM Hip-His-Leu	150	150	150
Incubated at 37°C for 90 min			
0.5 N HCl	-	400	400
Kolthoff buffer¹	250	250	250
0.1 M TNBS solution	25	25	25
Incubated at 37°C for 20 min			
Sulfite²	4500	4500	4500
Measured at 416 nm			

¹⁾ 0.1 M Na₂HPO₄ . 1.0 N NaOH (1:2)

²⁾ 4 mM Na₂SO₃ in 0.2 M NaH₄PO

아. 분리정제법

항고혈압성 활성이 전반적으로 높았던 추출 획분에 대한 활성물질의 대량 분리 정제를 시도해 보았다. 즉, 한외 여과법을 실시하였다. 본 실험에서 사용된 한외 여과 장치는 plate and frame type의 module을 갖는 system (DDS, japan)으로서, 막 면적은 0.0336 m²이었다. 사용된 막은 FS 61 PP로서 분획 분자량은 20,000이었다. 공급액은 실험이 진행되는 동안 계속하여 교반을 실시하였으며, 항온 circulator를 열교환기와 연결시켜서 module로 들어가기 전에 온도를 일정하게 유지하였다. 실험이 완료된 후에는 filter membrane을 초기 water flux가 회복될 때까지 충분히 물로 세정하였다.

자. 회수율 (Recovery yield)의 계산

투과액으로 회수되는 각 성분의 회수율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Recovery yield (\%)} = C_p / C_F \times 100$$

C_p : 투과액의 고형분 함량

C_F : 처리액의 고형분 함량

7. 해조정유활용 가공제품 및 젓갈제품의 저장성향상 측정

가. 가공제품의 제조방법

(1) 해조정유를 활용한 비린내 제어된 고품위 간고등어 제조

본 연구에 사용한 고등어(*Scomberjaponicus*, Mackerel, 원산지 : 일본)는 체장: 39-40 cm, 체중: 480-490 g으로 주문진 현대농수산에서 구입하여 빙장상태로 실험실로 운반하여 실험에 사용하였다. 해조 정유는 다시마와, 미역 정유를 사용하였으며, 다시마는 동해 연안산 다시마(*Laminaria Japonica*), 미역은 동해 연안산 미역(*Undaria pinnatifida*)으로서 건조된 것을 주문진 수산시장에서 구입, 정유화하여 사용하였다. 간고등어 제조는 안동식 간고등어의 처리공정²³⁾에 따라 제조하였다. 제조 방법은 원재료인 고등어를 세척한 다음 아가미와 내장을 제거하여 흐르는 물에 세척하였다. 염도 3% 소금물이 담긴 염장통에 세척한 고등어를 1시간 30분가량 담가 염장하고 물간이 끝난 고등어를 머리가 위로, 꼬리는 아래로 세워서 1시간 동안 탈수시킨 후 수분이 제거된 고등어를 안쪽과 바깥쪽으로 물간에 사용한 동일 염을 일정하게 뿌려주었다. 남은 수분제거를 위해 고등어를 20도 각도로 꼬리가 위로 올라가게 기울여 숙성대에 진열하였다. 해조 정유의 첨가는 고등어 무게비 0.1%, 0.5%로 분무형식으로 첨가하였으며, 해조 정유는 미역, 다시마 정유를 사용하였다. 숙성실 온도는 고등어 양에 따라 -5℃를 기준으로 ±4℃를 유지하고 숙성 시간은 12시간 기준으로 ±5시간을 엄수하였다. 포장은 한 마리씩 공기포장하여 25±0.5℃에 저장한 후 실험에 사용하였다.

(2) 해조정유를 활용한 비린내 제어된 고품위 고등어 건강 어묵제조

원료 고등어를 육을 제외한 모든 부위 제거하여 세척 후 탈수를 하였다. 어육에 해조정유를 첨가 후 0℃에서 분쇄기에 어육을 분쇄하여 사각틀에 일정형태로 넣어 일정한 크기로 잘랐다. 140℃의 기름에서 1차 튀김 후 160℃에서 2차로 튀겨서 완전히 익혀내 후 1시간동안 냉각하였다. 최종적으로 제조된 어묵제품을 일반 PE포장지에 포장하여 25±0.5℃에 저장, 시험분석 연구에 사용하였다.

(3) 해조정유를 활용한 비린내 제어된 고품위 꽂치 fillet 제품제조

원료 꽂치를 해동하여 내장을 제거하고 등뼈를 중심으로 포를 떼서 fillet를 만들어 사용했고 해조정유를 첨가 후 멸균팩에 담아 25±0.5℃에 저장, 시험분석 연구에 사용하였다.

(4) 해조정유를 활용한 비린내 제어된 고품위 꽂치 과메기 제조

원료 꽂치를 해동하여 머리와 꼬리를 잘라 내고 배를 갈라 내장을 제거후 필렛 상태로 만든후 세척하였다. 해조정유를 첨가 후 자연건조를 6시간, 냉풍건조(5℃)를 4시간, 동결(-45℃)건조를 6시간, 냉풍건조(5℃)를 8시간, 동결건조(-45℃) 4시간을 반복 후 최종적으로 냉풍건조(5℃) 6시간을 하여 꽂치 과메기를 제조하여 멸균팩에 담아 25±0.5℃에 저장, 시험분석 연구에 사용하였다.

(5) 해조정유를 활용한 비린내 제어된 고품위 꽂치 레토르트파우치제품 제조

원료 꽂치를 깨끗이 씻은 후 머리와 꼬리를 잘라 내고 배를 갈라 내장을 제거후 필렛상태로 만들었다. 제품의 혼탁을 방지하고 curd 생성을 감소시키기 위하여 혈액 제거를 실시하였고, 담수 또는 Be'3° 정도의 식염수에 5 ~ 20분간 담그었다. 염지는 우선 묽은 소금물에 잠시 담갔다가 15~20°Be'의 소금물에 옮겨 20 ~ 30분간 염지시켰다. 이 때 자주 저어주어야 하며 소금물의 온도는 10℃ 이하를 유지하도록 하였다. 염지된 것은 칭량하여 관에 보기 좋게 담그고 살 재입한 레토르트를

찜통에 넣어 100℃ 증기로 약 40분간 찌었다. 이 때 어육의 단백질이 응고하여 수분이 분리되므로 찌 뒤에는 파우치를 기울여 물기를 제거하고 조미액 40~50g을 주입하였다. 식염수를 넣은 파우치를 탈기함(또는 찜통)에 넣어 95℃에서 20분간 탈기시킨 후 즉시 밀봉을 하고 밀봉된 파우치는 가압솥 살균, 살균이 끝나면 즉시 흐르는 물에서 37℃까지 빨리 냉각시켜 최종적으로 레토르트 파우치에 옮겨 담아 공기포장하여 25℃의 배양기(Description Incubator, IB-25G JEIO TECH)에서 저장한 후 시험분석 연구에 사용하였다.

나. 젓갈제품의 제조방법

(1) 해조정유를 활용한 고품질 젓갈 제조방법

제조한 젓갈은 명란젓, 창란젓, 오징어젓이며, 제조방법은 냉동된 명란, 창란, 오징어를 상온에서 해동하여 세척후 원료양의 고춧가루 3%, 소금 3%, 해조정유를 각각 1%, 3%를 첨가하였으며, 해조정유 첨가를 용이하기 위해 주정에 녹여 첨가하였으며, 25℃의 배양기(Description Incubator, IB-25G JEIO TECH)에서 저장, 시험분석 연구에 사용하였다.

(2) 포장법에 따른 해조정유 첨가 젓갈 제품제조

젓갈제품의 최적 포장지 및 포장방법을 결정하기 위한 연구로 Polyethylene(PE) 필름, Aluminum(AL) 필름, Retort pouch(PET+AL+PP)를 저장용기로 사용하였으며, 가스충전효과를 위해 AL 필름에 합기포장, 질소충전, 진공포장을 각각 하여, 25℃의 배양기(Description Incubator, IB-25G JEIO TECH)에서 저장, 시험분석 연구에 사용하였다.

다. 저장성향상 측정

(1) 미생물 수 및 pH 측정

저장 중 가공제품의 미생물 총균수는 3M Aerobic Count Plate film, 대장균수는 3M E.coli/Coliform Count Plate film, 효모수는 3M Yeast and Mold Count Plate

film 건조필름법을 사용하였으며, 유산균수는 BCP첨가 한천배지(DIFCO)를 사용하였다. pH 측정은 시료 10 g을 취해서 증류수 20 mL를 가해 균질화 시킨 후 pH meter(Mettler Toledo, SevenEasy pH, switzerland)로 측정하였다.

(2) 아미노태질소 함량(NH₂-N)

아미노태질소 함량측정은 포르몰적정 방법²⁴⁾에 따라, 시료 5 g에 증류수 45 mL를 가한 후 마쇄(homogenize)한다. 200 mL 메스플라스크에 옮겨 증류수로 정용해서 여과(filter paper No.2)한 후 여과액 중 100 mL를 취하여 0.1N NaOH으로 적정하여 pH 8.4로 맞춘다. 여기에 중성 포르말린 용액(Formaldehyde solution, 35%) 20 mL를 첨가한 후 다시 0.1N NaOH으로 적정하여 pH 8.4에 도달하는 시점을 종말점으로 하였다.

$$\text{포르몰태질소 (mg\%)} = \frac{1.4 \times (A - B) \times F \times D}{S} \times 100$$

A : 포르말린을 첨가한 후 본 실험에 소비된 0.1N NaOH 용액의 소비 mL 수

B : 포르말린을 첨가한 후 바탕 실험(blank)에 소비된 0.1N NaOH 용액의 소비 mL 수

F : 0.1N NaOH 용액의 역가(factor값)

D : 희석배수(100 mL/200 mL이므로 0.5)

S : 시료무게(g)

(3) VBN 및 TBA가 항산화 측정

시료 2 g을 취해 증류수 16 mL를 가하고 20% TCA용액 2 mL를 넣고 잘 마쇄한 다음 10분간 방치한 후 여과하여 상정액을 취한 후 Conway unit를 이용한 미량 확산법으로 휘발성 염기질소의 양을 구하였다. TBA가는 시료 20 g을 취하여 4℃로 냉각된 20% Trichloroacetic acid in 2M phosphoric acid용액 50 mL를 1.5분간 균질하게 마쇄 시킨후 마쇄액을 100 mL 정용 플라스크에 옮긴 후 증류수로 100 mL로 정용 후 흔들어 혼합하였다. 이 액 50 mL를 Whatman No 1 여과지로 여과한 후 원심분리기 15000 ppm에서 10분간 돌린 후 상층액만 5 mL 취해 실린지로 여과하

여 시험관에 옮긴 후 0.005M 2-thiobarbituric acid(TBA) 5 mL를 넣었다. 혼합(vortexing)한 다음 암소에서 상온으로 15시간 방치한 후 발색된 액을 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. TBA가는 측정된 흡광도에 5.2를 곱한 수치로 하였다.

(4) Trimethylamine (TMA)의 측정

시료용액 1 mL를 50 mL 공전 시험관에 넣고 10% formalin 1mL, toluene 10mL, 25% KOH 3mL를 가하여 격렬하게 80회 진탕하여 5분간 방치한 다음 분리된 상층부 용액 7mL에 무수망초를 넣어 수분을 제거하였다. 탈수 toluene층 5 mL를 다른 공전시험관에 취하여 0.02% picric acid-toluene용액 2mL와 혼합하여 10분간 방치한후 410nm에서 흡광도를 측정하였다.

(5) 갈변도

1g의 시료를 40 mL의 10% trichloroacetic acid 용액을 원심분리관에 넣어 혼합한 뒤 흔들어 주며 2시간 동안 실온에 방치하고 이 용액을 원심 분리하여 상층액만 취하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. 휘발성 향기성분 분석

향기성분은 GC-MS(Agilent 6980 gas chromatograph/5973 mass selective detector, Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber(50/30 μ m Divinylbenzene/Caboxen on polydimethyl siloxane)을 FID가 설치된 GC의 주입구에 넣어 5분간 탈착시켜 분석하였으며 column은 HP-5M5(30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m)에 주입하였다. 오븐 온도는 40°C에서 2분 유지한 후 10°C/min으로 승온하여 250°C에서 2분간 지속시켰다.

제 2 절 연구내용 및 결과

1. 해조정유 추출

미역, 다시마, 툇, 김 등 대중해조를 사용하여 진공 동결건조 마쇄 후 수증기증류법으로 정유추출 제조를 시도한 결과, 향기성분 이외에는 해조로부터 본 수증기증류법으로는 정유 추출물질을 얻을 수 없었다. Alginase, Viscozyme 등의 효소로 전처리 후 세포벽 분해를 시도한 뒤 수증기증류법으로 정유 추출 제조를 시도하였으나 수증기증류법으로 이용하여 해조로부터는 정유 추출 물질을 얻을 수 없었다.

진공 동결건조 마쇄 후 95%에탄올로 추출하여 정유추출제조 건조 해조 시료에 95% 에탄올을 1 : 5(w/v)의 비율로 첨가하여 해조 정유물질을 성공적으로 제조하였다. 결과적으로 수증기증류법을 이용하여 해조로부터 정유 추출 물질을 얻을 수 없었으며, 에탄올을 이용하여 해조 정유물질을 제조할 수 있었다.

2. 항균성, 항산화성 분석

가. 추출 해조 정유의 항산화성 확인

DPPH 활성산소 소거능으로서 확인해 본 항산화성은 Table 3-4에 나타냈으며, 해조정유의 항산화성 효능에 대한 대조군으로 합성항산화제인 BHA (Butylated hydroxyanisole)와 공장에서 사용하는 천연 항산화제인 포도씨유를 사용하였다. 각 실험군을 100 µg/mL의 농도로 자유기 소거 효과를 확인해 본 결과 미역 정유 35.6%, 김 정유 54.8%, 툇 정유 89.5%, 다시마 정유가 86.8%로 나타났다. 툇과 다시마의 정유의 경우 포도씨유의 처리군(93.0%)보다 낮았고, BHA의 처리군(75.6%) 결과보다는 높은 자유기 소거 효과를 보였으나, 처리 농도가 낮을수록 툇 정유물의 자유기 소거효과가 동일농도의 BHA와 포도씨유와 비교 하였을 때 소거능이 높게 나타났다. DPPH radical 소거능 IC₅₀ 값(항산화 활성 결과를 50% 저해하는 데 필요한 DPPH양)은 BHA의 처리군이 71.9 µg/mL, 포도씨유 처리군이 51.1 µg/mL였으며, 미역 정유 140.8 µg/mL, 김 정유 92.2 µg/mL, 툇 정유 49.1 µg/mL, 다시마 정유 60.4 µg/mL와 비교 하였을 때, 다시마 정유와 툇 정유의 경우는 매우 우수한 항산화성을 가지고 있음을 확인하였다(Table 5-6, Fig. 7-8).

Table 3. DPPH radical scavenging effect of *Hizikia fusiforme* essential oil

시료	DPPH radical scavenging effect (%) (Mean±SD)			
	0.1 µg/mL	1 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL
툃 정유	-0.4 ± 0.5	7.5 ± 1.3	23.6 ± 1.9	89.5 ± 0.5
BHA	-5.1 ± 2.4	-4.4 ± 2.4	1.5 ± 2.3	75.6 ± 0.5
포도씨유	-6.2 ± 2.4	-4.8 ± 2.4	18.5 ± 2.4	93.0 ± 2.1

Table 4. DPPH radical scavenging effect of *Laminaria japonica* essential oil

시료	DPPH radical scavenging effect (%) (Mean±SD)			
	0.1 µg/mL	1 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL
다시마 정유	1.2 ± 0.3	1.9 ± 1.1	9.3 ± 1.1	86.8 ± 0.3
BHA	-5.1 ± 2.4	-4.4 ± 2.4	1.5 ± 2.3	75.6 ± 0.5
포도씨유	-6.2 ± 2.4	-4.8 ± 2.4	18.5 ± 2.4	93.0 ± 2.1

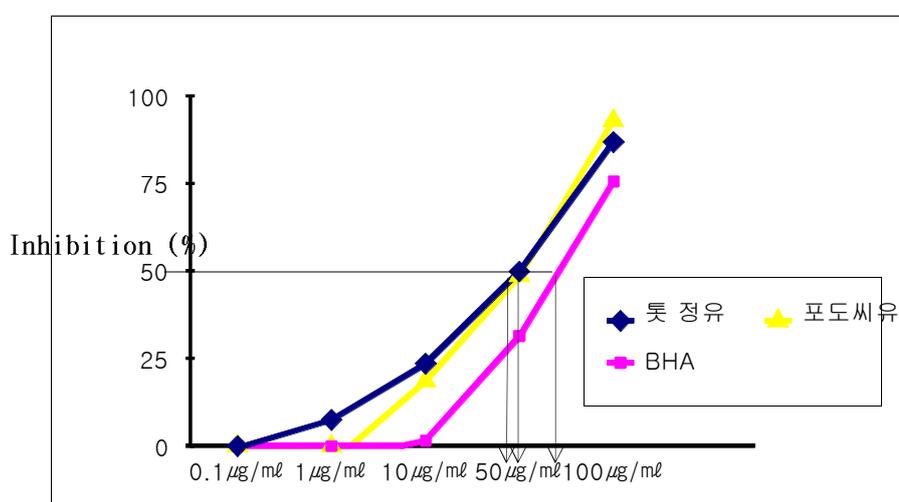


Fig. 7. DPPH radical scavenging of IC₅₀ value. *Hizikia fusiforme* essential oil, BHA, Grape seed oil.

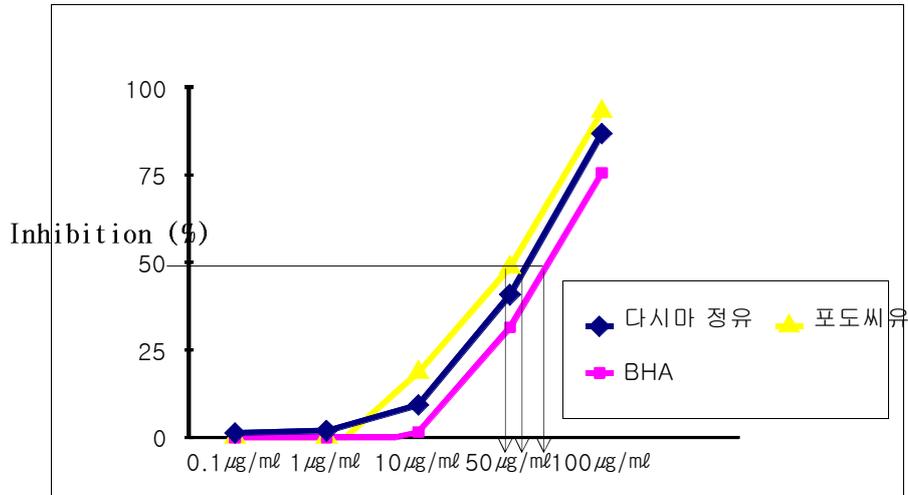


Fig. 8. DPPH radical scavenging of IC₅₀ value. *Laminaria japonica* essential oil, BHA, Grape seed oil.

Table 5. DPPH radical scavenging of IC₅₀ value

Sample	IC ₅₀ value(μg/mL) (Mean±SD)
투스 정유	49.1 ± 1.3
BHA	71.9 ± 1.8
포도씨유	51.1 ± 1.1

Table 6. DPPH radical scavenging of IC₅₀ value

시료	IC ₅₀ value(μg/mL) (Mean±SD)
다시마 정유	60.4 ± 1.3
BHA	71.9 ± 1.8
포도씨유	51.1 ± 1.1

나. 추출 해조 정유의 항균성 확인

해조 정유의 항균성은 Table 7-8, Fig 9-18에 나타냈으며, 대조군으로는 BHA와 포도씨유를 사용하였다. 포도씨유에서는 항균 효과가 나타나지 않았으나, 본 실험에서 사용한 시료에서는 대부분의 균에 대한 항균 효과를 나타내었다. 특히 *Bacillus subtilis*과 *Escherichia coli* 균에 대한 항균효과가 매우 컸었으며, 즉 *B. subtilis*균에 시료를 2.5 mg/mL의 농도로 loading하였을 때 대조구인 BHA는 16.3 mm로 나타났으나, 다시마, 김, 미역 정유가 각각 clear zone 직경 40 mm, 20.6 mm, 18.8 mm로서 매우 뛰어난 항균효과를 나타내었다. 같은 농도로 *E. coli*균에 loading하였을 때 BHA는 18 mm, 김, 미역 정유가 각각 36 mm, 38 mm로서 매우 강한 항균 효과를 나타냈으며, 다시마정유에서는 *E. coli*균에 대한 항균 효과가 없었다. *Staphylococcus aureus*균에 대해서는 김 정유는 BHA보다 낮은 항균 효과를 나타내었지만 2 mg/mL, 2.5 mg/mL의 농도에서 각각 6.8 mm, 8.4 mm로 항균 효과를 나타내었고, 미역 정유는 BHA보다 뛰어난 항균효과를 나타내었으며, 2.5 mg/mL로 loading하였을 때 BHA는 16 mm인 반면에 미역은 30 mm로 두배 가량의 높은 *Staphylococcus aureus*항균 효과를 나타내었다. *Candida albicans*의 균에 대해서는 전반적으로 전 시료에서 낮은 항균 효과를 나타내었다. 최소생육저해농도 (minimum inhibitory concentration: MIC)측정 결과 *B. subtilis*균에 대한 MIC값은 대조구인 BHA가 0.4 mg/mL, 다시마, 미역 및 김 정유는 각각 0.7 mg/mL, 0.7 mg/mL 및 0.5 mg/mL로 대조구 보다 다소 높은 최소 생육저해농도를 나타내었고, *E. coli*균에 대해서는 BHA는 1 mg/mL, 미역, 김 정유가 모두 0.5 mg/mL로 BHA보다 낮은 MIC값을 나타내었다(Table 9-10). *Can. albicans*균에 대해서는 BHA가 2.5 mg/mL를 나타내었고 다시마, 미역 및 김 정유는 각각 2 mg/mL, 1 mg/mL 및 2.7 mg/mL로 미역 정유가 다소 낮게 나타났고 다시마, 김 정유는 BHA와 비슷한 수치를 나타내었다. 이 결과로 다시마와 김정유가 강한 항균성을 가지는 것을 확인하였다. 충치 유발균인 *Streptococcus mutans*에 대한 항균 효과를 알아본 결과, BHA는 항균효과가 나타나지 않았고 미역과 김에서 항균효과가 나타났으나, 다시마에서는 항균 효과를 발견할 수 없었다. 미역은 1mg/ml, 1.5mg/ml, 2mg/ml, 2.5mg/ml의 농도에서 clear zone 직경 6.6mm, 7.4mm, 9.2mm, 11mm로서 뛰어난 항균효과를 나타내었고, 김은 2mg/ml, 2.5mg/ml에서 각각 7mm, 7.6mm의 항균효과를 나타내었다. *S. mutans*균에 대한 MIC측정 결과, 미역은 1mg/ml, 김은 1.65mg/ml로 낮은 최소생육저해 농도를 나타내어 항충치성 효과가 탁월하여 향후 항충치성 정유 추출물로서의 상품화 가능성이 매우 높다고 판단되었다.

Table 7. Antibacterial activities of the essential oil of *Porphyra tenera*

균주	분류	저해환(mm)*			
		Conc. (mg/mL)	김 정유	포도씨유	BHA
<i>Bacillus subtilis</i>		0.5	7.6	N.D**	6.4
		1	7.2	N.D	11
		1.5	10.4	N.D	1.4
		2	19.3	N.D	13.6
		2.5	20.6	N.D	16.6
<i>Escherichia coli</i>		0.5	7	N.D	0
		1	10	N.D	7
		1.5	17.6	N.D	10
		2	23.4	N.D	16
		2.5	36	N.D	18
<i>Candida albicans</i>		0.5	0	N.D	0
		1	0	N.D	72
		1.5	0	N.D	11.6
		2	0	N.D	15.5
		2.5	6.8	N.D	16
<i>Staphylococcus aureus</i>		0.5	0	N.D	0
		1	0	N.D	7.2
		1.5	0	N.D	11.6
		2	6.8	N.D	15.4
		2.5	8.4	6.4	16
<i>Streptococcus mutans</i>		0.5	0	N.D	N.D
		1	0	N.D	N.D
		1.5	0	N.D	N.D
		2	7	N.D	N.D
		2.5	7.6	N.D	N.D

* 시료를 Paper disc(6mm, diameter)에 흡수시켰으며 특정균 배양 후 한천평판배지에 나타난 크기를 mm단위로 나타내었다.

** : N.D : not detected.

Table 8. Antibacterial activities of the essential oil of *Undaria pinnatifida* Suringar

균주	분류	저해환(mm)*			
		Conc. (mg/ml)	미역 정유	포도씨유	BHA
<i>Bacillus subtilis</i>		0.5	0	N.D**	6.4
		1	7	N.D	11
		1.5	14	N.D	11.4
		2	16	N.D	13.6
		2.5	18.8	N.D	16.3
<i>Escherichia coli</i>		0.5	7	N.D	0
		1	14	N.D	7
		1.5	23.4	N.D	10
		2	36.8	N.D	16
		2.5	38	N.D	18
<i>Candida albicans</i>		0.5	0	N.D	0
		1	0	N.D	7.2
		1.5	0	N.D	11.6
		2	0	N.D	13.4
		2.5	6.6	N.D	14
<i>staphillococcus aureus</i>		0.5	7	N.D	0
		1	12	N.D	7.2
		1.5	18	N.D	11.6
		2	20	N.D	15.4
		2.5	30	6.4	16
<i>streptococcus mutans</i>		0.5	0	N.D	N.D
		1	6.6	N.D	N.D
		1.5	7.4	N.D	N.D
		2	9.2	N.D	N.D
		2.5	11	N.D	N.D

* 시료를 Paper disc(6mm, diameter)에 흡수시켰으며 특정균 배양 후 한천평판배지에 나타난 크기를 mm단위로 나타냄

** : N.D : not detected.

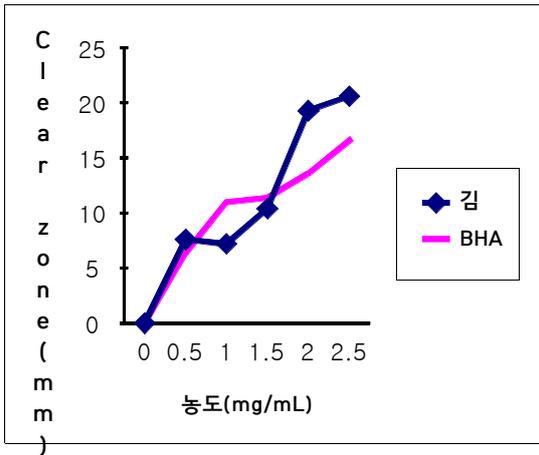


Fig. 9. Antimicrobial activity of *Porphyra tenera* essential oil against *Bacillus subtilis*.

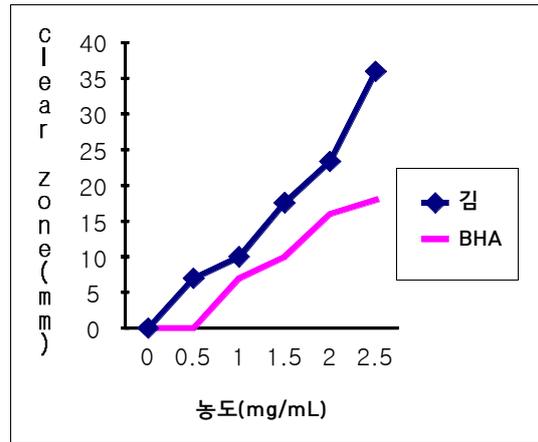


Fig. 10. Antimicrobial activity of *Porphyra tenera* essential oil against *Escherichia coli*.

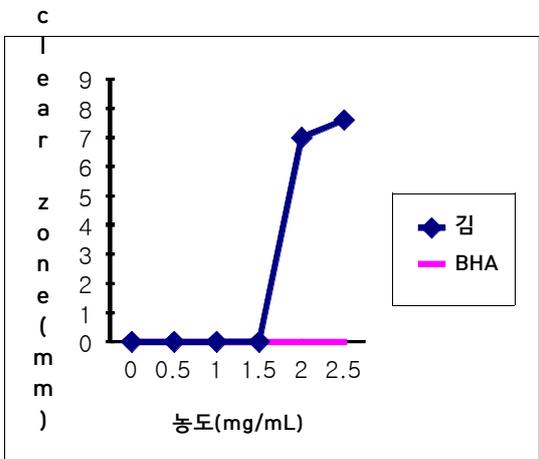


Fig. 11. Antimicrobial activity of *Porphyra tenera* essential oil against *Streptococcus mutans*.

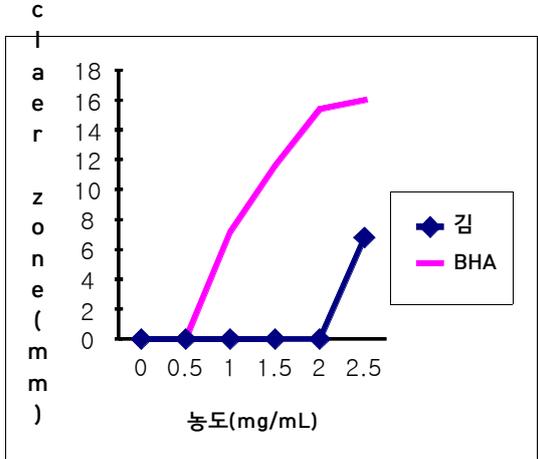


Fig. 12. Antimicrobial activity of *Porphyra tenera* essential oil against *Candida albicans*.

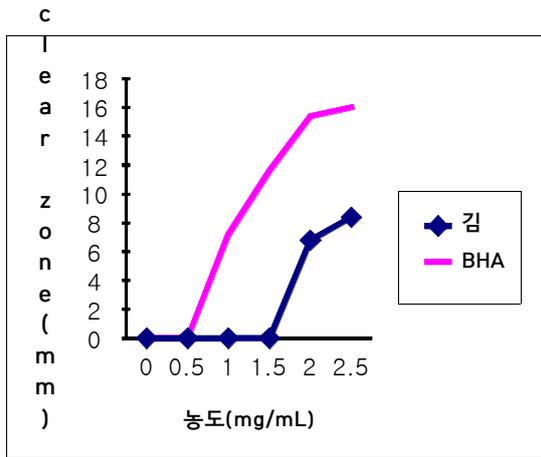


Fig. 13. Antimicrobial activity of *Porphyra tenera* essential oil against *Staphylococcus aureus*

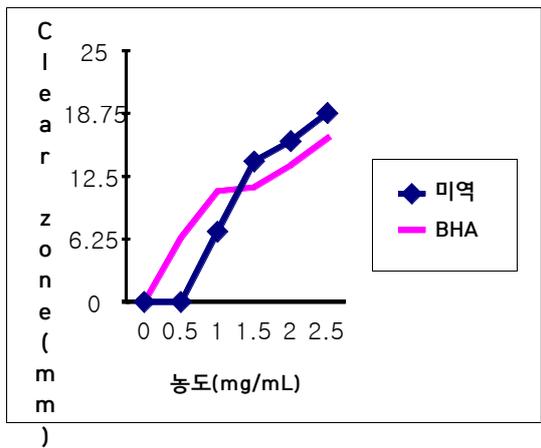


Fig. 14. Antimicrobial activity of *Undaria pinnatifida* Suringar essential oil against about *Bacillus subtilis*

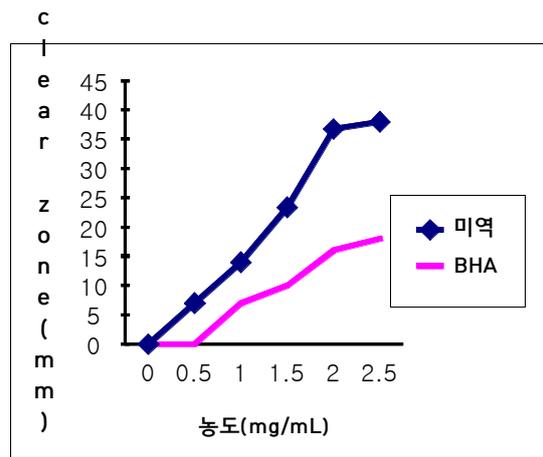


Fig. 15. Antimicrobial activity of *Undaria pinnatifida* Suringar essential oil against *Escherichia coli*

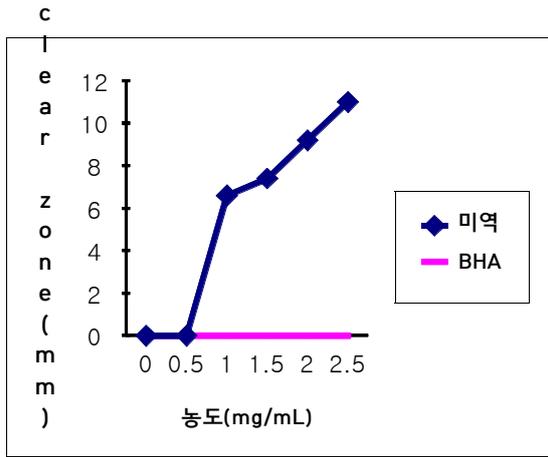


Fig. 16. Antimicrobial activity of *Undaria pinnatifida Suringar* essential oil against *Streptococcus mutans*

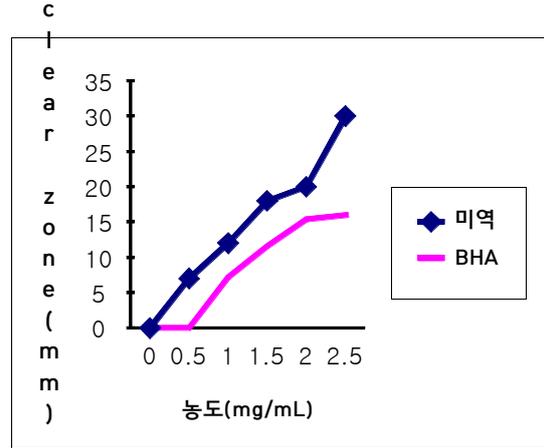


Fig. 17. Antimicrobial activity of *Undaria pinnatifida Suringar* essential oil against *Staphylococcus aureus*

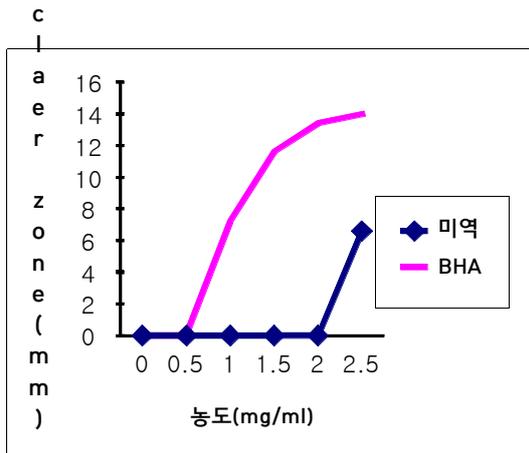


Fig. 18. Antimicrobial activity of *Undaria pinnatifida Suringar* essential oil against *Candida albicans*

Table 9. Minimum inhibitory concentration(MIC) of the essential oil extract of *Porphyra tenera*

균주	분류	MIC(mg/mL)		
		김 정유 추출물	포도씨유	BHA
<i>Bacillus subtilis</i>		0.5	-*	0.4
<i>Escherichia coli</i>		0.5	-*	1
<i>Candida albicans</i>		2.7	-*	2.5
<i>Staphillococcus aureus</i>		1.7	-*	1
<i>Streptococcus mutans</i>		1.7	-*	-

Table 10. Minimum inhibitory concentration(MIC) of the essential oil extract of *Undaria pinnatifida Suringar*

균주	분류	MIC(mg/mL)		
		미역 정유 추출물	포도씨유	BHA
<i>Bacillus subtilis</i>		0.65	-	0.4
<i>Escherichia coli</i>		0.5	-	1
<i>Candida albicans</i>		1	-	2.5
<i>Staphillococcus aureus</i>		0.5	-	1
<i>Streptococcus mutans</i>		1	-	-

3. 항균성물질의 분리 및 동정

가. 항균활성 검색

해조류 중 Jinuari, Dolkim, Suemiyok, South sea sea tangle, Sagunjin sea tangle을 Bligh-Dyer법으로 추출한 조추출물을 대상으로 disc-diffusion assay를 이용하여 측정된 식품 인체 장내 상주균으로서 nitrosamine 형성에 관여하는 그람음성 세균인 *E. coli*, 황색포도상구균인 *S. aureus* 및 병원성 fungi의 일종인 *C. albicans*에 대한 항균활성의 결과는 Table 11에 나타내었다. 모든 해조류의 organic layer에서는 사용 균주인 *E. coli*, *S.aureus*, *C.albicans*에 대해서 항균력이 거의 나타나지 않았다. 그러나 남해산 다시마 (South sea seatangle)의 methanol layer에서는 *E.coli* 8 mm/2 mg, *S. aureus* 10 mm/2 mg, *C. albicans* 10 mm/2 mg의 항균활성이 나타났다. 또한, 사근진 토종다시마 (Sangunjin seatangle)의 methanol layer에서는 *E. Coli* 16 mm/2 mg, *S. aureus* 17 mm/2 mg, *C. albicans* 13 mm/2 mg로 항균활성이 나타났다. 이 결과로부터, 남해산 다시마 조추출물보다 사근진 토종다시마 조추출물이 약 1.5배의 더 높은 항균활성을 나타내었다.

대조균으로 강력한 합성항균제로 알려진 Ampicillin는 *E.coli* 26 mm/2 mg, *S. aureus*는 25 mm/2 mg로 나타났지만, *C. albicans*에 대해서는 항균성이 나타나지 않았다(Table 12). 그러나 Amphotericin B는 *C. albicans*에 대해서만 13 mm/2 mg의 항균활성을 나타내었다. 사근진 토종다시마 조추출물의 항균활성은 합성항균제에 비해 낮은 수치이지만 활성 본체로의 정제 이전이 조추출물 상태에서의 활성임을 감안하면 높은 활성이며 천연항균제로서의 가치 또한 고려하여야 한다고 판단된다. 이러한 관점에서 활성의 증대와 항균력의 본체를 밝히기 위한 다음 단계의 작업으로 VLC에 의한 획분의 구분과 정제를 수행하였는데, 특히 methanol layer에서 높은 항균력을 보이는 사근진 토종다시마에 대한 1차 항균 활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다. Methanol layer(original)에서 *E. coli* 12 mm/2 mg, *S. aureus* 13 mm/2 mg, *C. albicans* 12 mm/2 mg으로 나타났으며, 6번 획분 (fr. 6) (Hex : EtOAc = 10 : 90)에서 *E. coli* >38 mm/1 mg, *S.aureus* 38 mm/1 mg, *C. albicans* >38 mm/1 mg로 가장 활성이 높게 나왔다. 그러나 정제된 물질임을 감안하여 농도

를 1/10로 줄여서 다시 2차 항균활성 측정을 하였다. 그 결과는 Table 13과 같다. 1차 측정에서 결과되는 다른 7번 획분(fr. 7 ; Hex : EtOAc = 0 : 100)에서 *E. coli* >12 mm/0.2 mg, *S.aureus* 25 mm/0.2 mg, *C. albicans* 25 mm/0.2 mg의 결과가 나왔다. 이는 대조군보다도 훨씬 강력한 항균활성을 나타내는 결과이다. 반면, Water layer에서는 전혀 항균활성이 나타나지 않았다. 이는 에탄올, 메탄올 추출물의 항균활성 결과가 물 추출물의 항균활성 결과에 비해 월등히 좋은 활성이 나타났다는 다른 연구결과와도 비슷한 성향을 보인다²⁵⁾.

한편, 톱은 증류수, ethanol, ether, hexane으로 각각 추출하였을 때 각 시료 추출액은 *E. coli* 에 대해서는 증류수 추출물을 제외한 모든 용매 추출물이, *B. subtilis*에 대해서도 methanol 추출물이 높은 항균성을 보였다고 보고하였다. 따라서 추출용매에 따른 해조류의 항균활성은 대상 해조류의 종류 및 시험균종에 따라 차이가 있음을 알 수 있다.

그리고 7번 획분의 항균활성의 최소저해농도를 확인하는 실험을 행한 결과는 Table 14과 같다. 최소저해농도는 *E. coli* 와 *S. aureus*에 대해서 확인하였고, 항균활성이 높았던 fr. No. 7의 분획물의 *E. coli*, *S. aureus*에 대한 최소저해농도는 0.01mg/disc로 결정되었다.

Table 11. The antimicrobial activity for seaweeds from east sea, Korea

(mm/2mg)

	<i>E. coil</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
Jinuari Chloroform ext.	—	—	—
Methanol ext.	—	—	—
Dolkim Chloroform ext.	—	—	—
Methanol ext.	—	—	—
Suemiyok Chloroform ext.	—	—	—
Methanol ext.	—	—	—
South sea seatangle			
Chloroform ext.	—	—	—
Methanol ext.	8	10	10
Sagunjin seatangle Chloroform ext.	—	—	—
Methanol ext.	16	17	13
Control Ampicillin	26	25	—
Amphotericin B	—	—	21

- : not detected.

Numbers are the diameter of clear zone.

Table 12. The antimicrobial activity for 1st Silica gel vacuum liquid chromatography fractions of Sagunjin sea tangle methanol extracts

(mm)

		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	
Control	Ampicillin	30/2 mg	32	-	
	Amphotericin B	-	-	18	
Sea tangle	Methanol ext. (original)	12/2 mg	13	12	
VLC	Hex : EtOAC	fr.1 (100:0)	16/2 mg	16	26
		fr.2 (90:10)	20/2 mg	18	38
		fr.3 (70:30)	32/2 mg	24	>38
		fr.4 (50:50)	36/1 mg	26	>38
		fr.5 (30:70)	26/1 mg	30	>38
		fr.6 (10:90)	>38/1 mg	38	38
		fr.7 (0:100)	>38/2 mg	38	>38
	fr.8 EtOAC : MeOH (1:1)	14/2 mg	18	>38	
	fr.9 MeOH	-	-	-	
	fr.10 Water	-	-	-	

- : not detected.

Numbers are the diameter of clear zone.

Table 13. The antimicrobial activity for 2nd Silica gel vacuum liquid chromatography fractions of Sagunjin seatangle methanol extracts

		(mm)				
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>		
Control	Ampicillin	35/2 mg	36	-		
	Amphotericin B	-	-	20		
Seatangle	Methanol ext. (original)	18/2 mg	24	12		
VLC	fr.1	(100:0)	-/0.2 mg	-	13	
	fr.2	(90:10)	-/0.2 mg	-	13	
	fr.3	(70:30)	-/0.2 mg	-	15	
	fr.4	Hex : EtOAC	(50:50)	8/0.2 mg	-	15
	fr.5		(30:70)	9/0.2 mg	9	9
	fr.6		(10:90)	12/0.2 mg	13	13
	fr.7		(0:100)	28/0.2 mg	25	25
	fr.8	EtOAC : MeOH	(1:1)	9/0.2 mg	8	8
	fr.9	MeOH		-	-	-
	fr.10	Water		-	-	-

- : not detected.

Numbers are the diameter of clear zone.

Table 14. Minimum inhibitory concentration (MIC) of methanol and VLC fractions of Sagunjin seatangle methanol extracts

		(mm)	
		<i>E. coil</i>	<i>S. aureus</i>
Control	1 mg/disk	36.0	36.0
	2 mg/disk	36.0	36.0
Original MeOH	0.2 mg	8.0	9.0
	0.5 mg	10.0	10.5
	1.0 mg	15.5	13.5
	2.0 mg	18.0	24.0
G(7) fr.	0.005 mg/disk	-	-
	0.01	9.0	8.0
	0.02	10.0	11.0
	0.05	12.0	12.0
	0.10	18.0	19.0
	0.20	28.0	25.0

- : not detected.

Numbers are the diameter of clear zone.

나. 기기분석을 통한 항균활성 물질의 분리

추출물들 중에서 높은 활성이 확인된 항균활성을 보인 추출물을 vacuum liquid chromatography (VLC)로 순수 분리한 뒤, 분리된 획분 중 활성이 확인된 것을 다시 Fig. 19와 같이 Sep-pak C18으로 70% MeOH, 90% MeOH, 100% MeOH, CH₂Cl₂/Et₂O 로 분획하였다. 이 분획물에 대해서 25% MeOH(in CHCl₃)을 전개용매로 하여 TLC 전개시킨 결과는 Fig. 20와 같다. 이 중에 a 물질만이 UV spot이 관찰되었다. 이를 토대로 a 성분으로 인해 항균활성이 있을 것이라는 1차 추정을 하고 기기분석을 하였다.

항균활성을 보이는 분획물에 대하여 HPLC, UV-Spectra 등 기기분석을 하였다. 7번 획분 (fr. 7)에 대해서 Acetonitrile/H₂O=80% 이동상용매를 흘려서 HPLC 분석 결과 Fig. 21을 얻었다. HPLC chromatogram 중에서 2번 peak가 가장 높게 나타나는 것을 알 수 있었다. 그러나 Peak 2번이 단일물질로 보기에 분리되어 있어 단일 peak로 2차 분리를 행한 결과 2번 peak가 두개의 물질(2a, 2b)이 겹쳐진 것으로 확인되었으며, 총 5개의 물질로 분리되었다. 이 결과를 바탕으로 분리된 물질에 대해서 disc-diffusion assay를 이용하여 항균활성을 측정한 결과는 Table 15에 나타내었다. 이 결과로 2번 peak에 대해서 항균활성이 있는 것으로 추정하고 이 물질을 FG1이라고 명명하기로 하였다. 항균활성을 측정한 결과는 FG1-2a는 *E. coli* 균주에 대해서 27 mm/0.4 mg, *S. aureus* 균주에 대해서는 31 mm/0.4 mg으로 나타났고, FG1-2b는 *E. coli* 균주에 대해서 12 mm/0.4 mg, *S. aureus* 균주에 대해서는 22 mm/0.4 mg로 나타났다. 이에 반해 Control antibiotics는 *E. coli*, *S. aureus* 균주에 대해서 각각 22 mm/0.4 mg, 17 mm/0.4 mg로 나타났다. 정제되어 있는 합성항균제보다 더 활성이 좋았다. 이 결과로 7번 분획물이 항균활성이 있는 것으로 사료되며, 천연항균제로서의 가능성을 기대해 볼 수 있다.

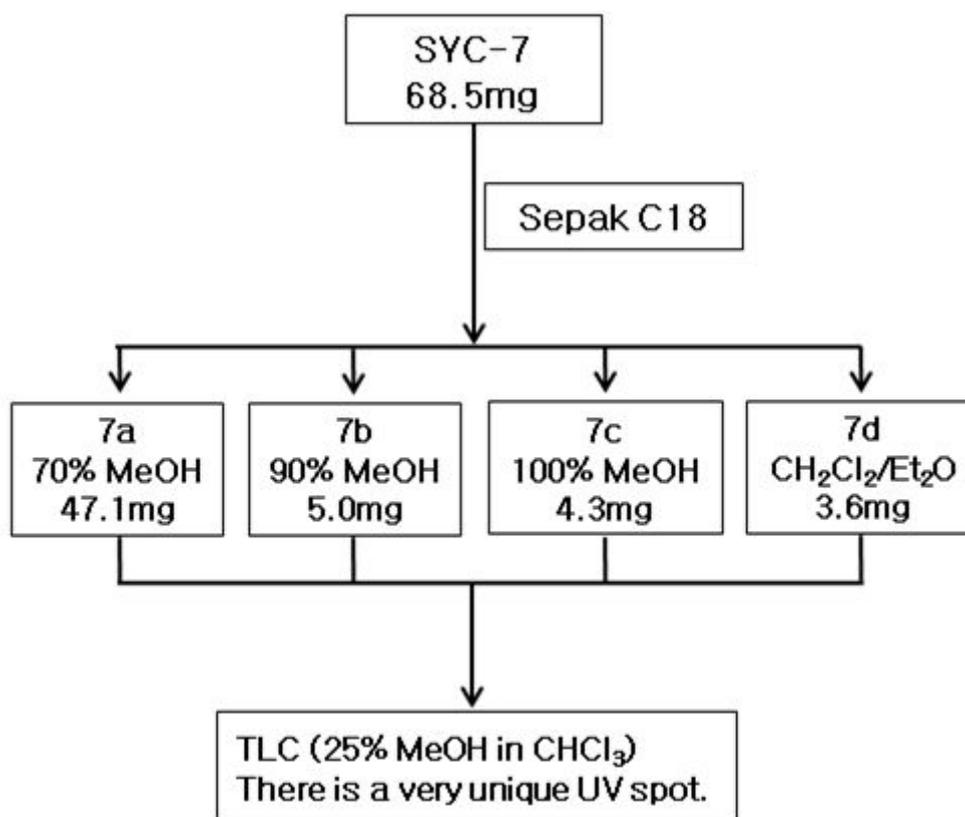


Fig. 19. Sep-pak fractionation for major antimicrobial fr. of silica gel vacuum liquid chromatography. Only 7a in TLC has the unique UV spot.

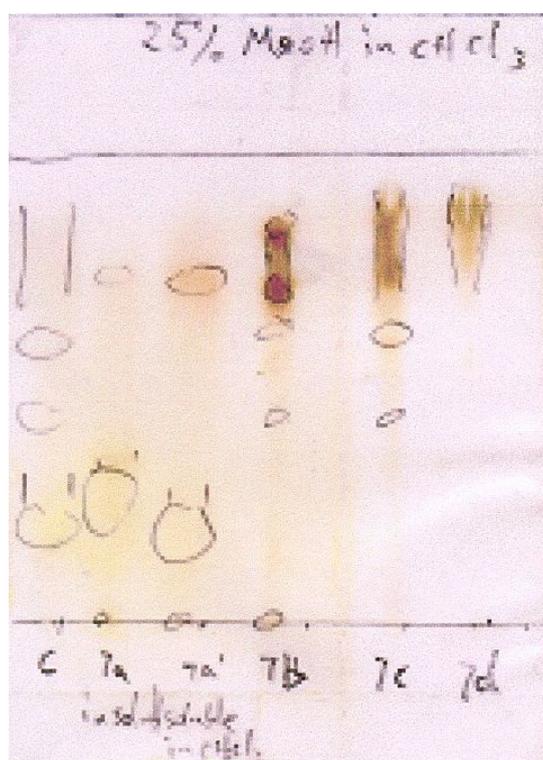


Fig. 20. Typical TLC patterns for Sep-pak fractionations of silica gel vacuum liquid chromatography fr. No. 7.

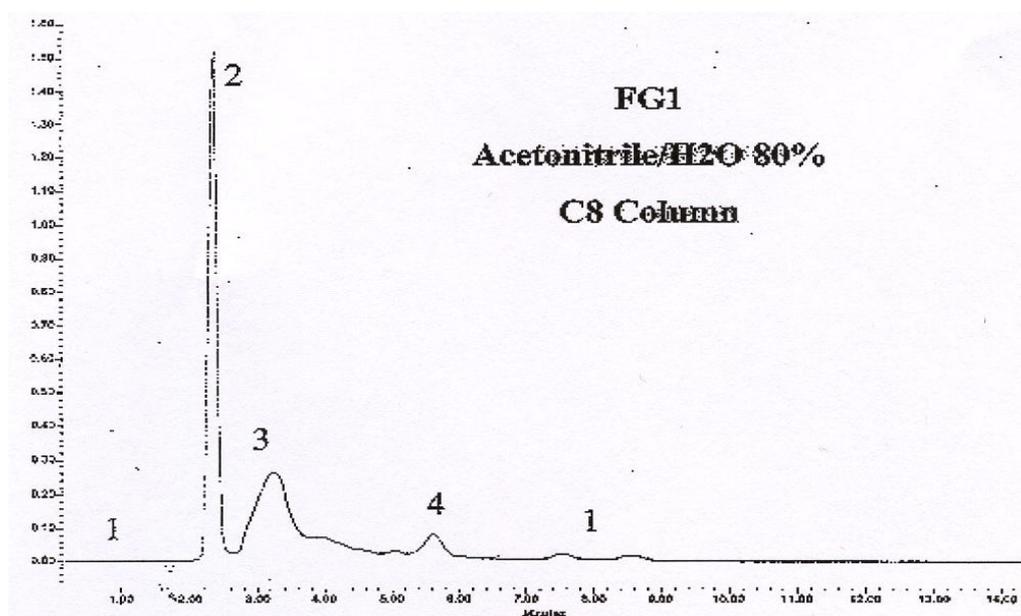


Fig. 21. The HPLC chromatogram for antimicrobial activity fraction of Sagunjin seatangle.

Table 15. Antimicrobial and antifungal activity for HPLC fractionated compounds of FG1

(mm/0.4 mg)

Samples	Clear zone diameters	
	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Control antibiotics*	22	17
FG1-1	15	20
2a	27	31
2b	12	22
3	8	18
4	8	8

Numbers are the diameter of clear zone.

* Antibiotic drug against *E. coli* is Ampicillin, and antibiotic drug against *C. albicans* is Amphotericin B.

다. 항균활성 물질의 본체 검색

항균활성 물질로 추정되는 FG1-2a와 FG1-2b의 UV spectra 분석을 실시한 결과는 각각 Fig. 22-23과 같이 나타났다.

사근진 토종다시마로부터 Bligh-Dyer 방법에 의한 메탄올 추출물의 분획물을 Silica gel column, chromatography, recycling preparative-HPLC 등을 실시하여 항균활성을 나타내는 2개의 화합물을 분리하여 이화학적 성상 및 spectra data (HPLC, UV spectra), 비교에 의해 FG1-2a는 5,7,8-trihydroxyflavone(Norwogonin, Fig. 24)과 FG1-2b는 5,7,8-trihydroxy-flavone (7-O-glucuronide, Fig. 25)의 고유의 UV-Visible spectra와 거의 일치하였다. 이 결과부터 토종다시마의 항균활성이 FG1-2a과 FG1-2b에 의한 것이며, 그 물질은 flavonoid 계통 인 것으로 사료된다.

Flavonoid류는 현재까지 약 4,000종 이상이 알려져 있다. Flavonoid는 담황색 또는 노란색을 띠는 색소화합물로서 식물 중에는 대부분 당과 결합된 배당체 (glycoside)형태로 존재하며, 하루 한 사람 섭취량이 약 23~1,000 mg 정도이고 특이한 부작용이 없는 것으로 알려져 있다.²⁶⁾ 이들의 기능성에 대한 평가로는 항산화작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강 작용, 모세혈관 강화작용 등이 보고된 바 있다.²⁷⁻³⁰⁾

동해산 거대조류에서 다시마에서 특히 *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* 등의 식중독균과 병원성균을 죽이는 강력한 항균제가 발견되어 분리·정제·동정을 하였다. 이 결과로 천연항균제로의 가능성을 기대 할 수 있다.

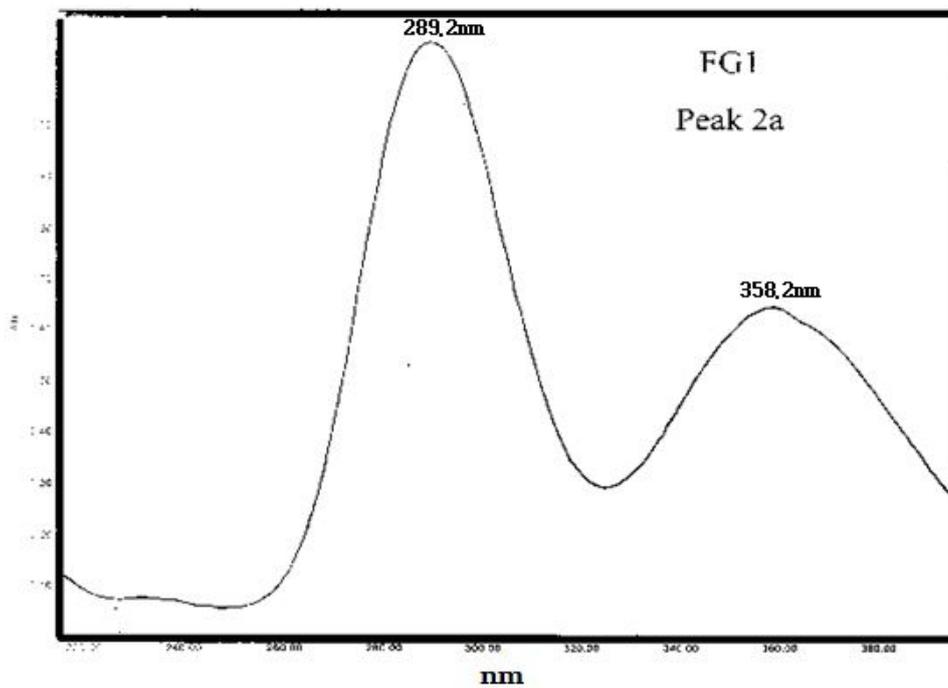


Fig. 22. UV spectra for peak 2a of FG1 fraction isolated by HPLC.

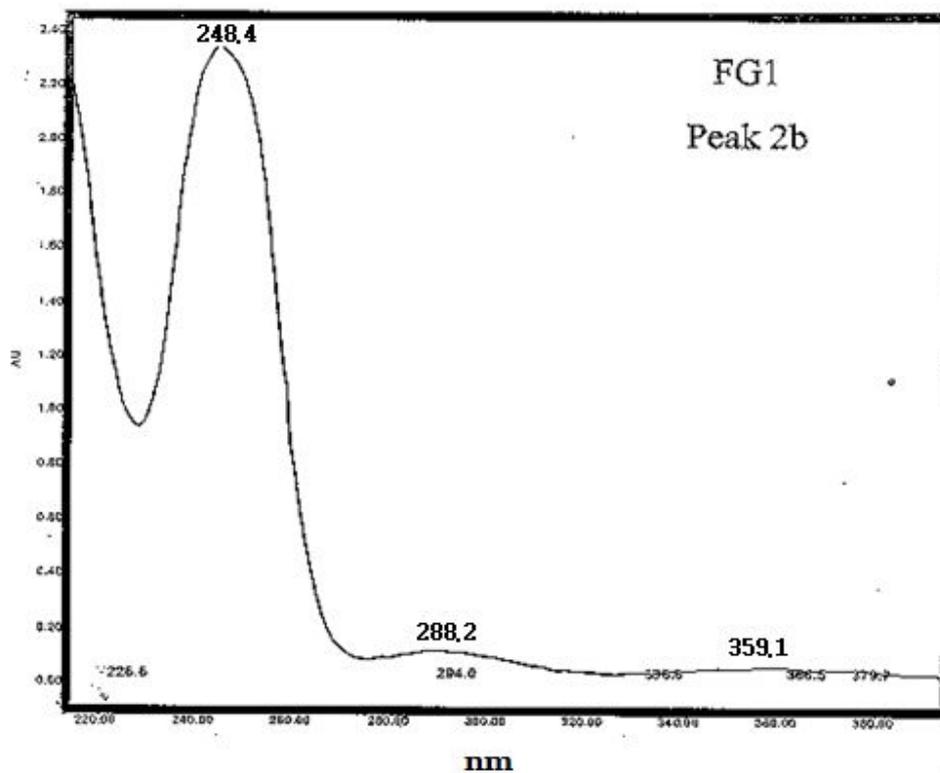


Fig. 23. UV spectra for peak 2b of FG1 fraction isolated by HPLC.

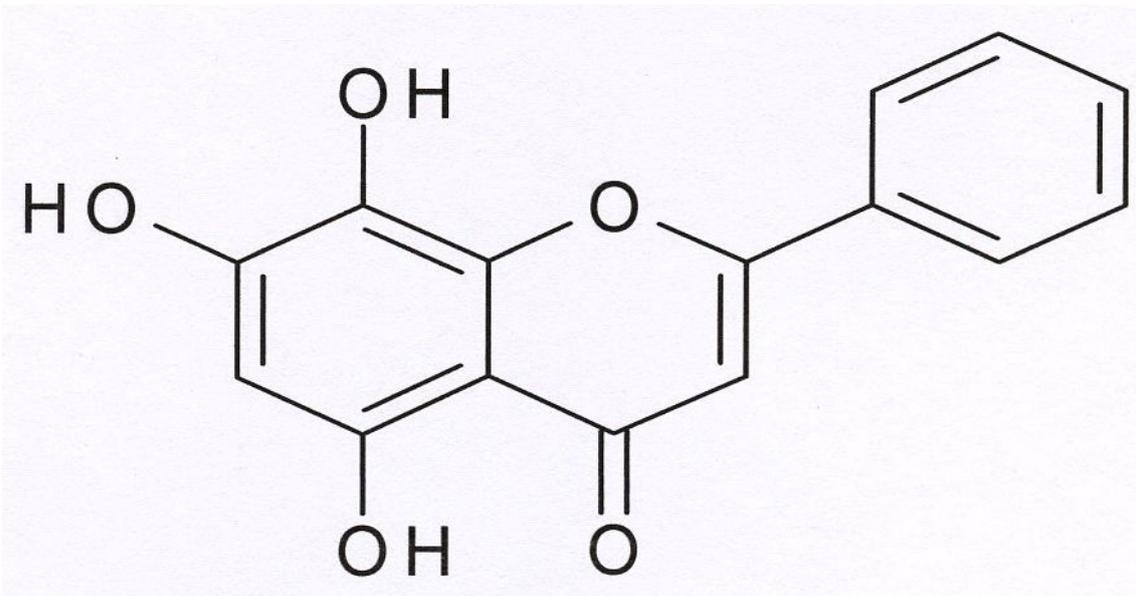


Fig. 24. Proposed structure of for peak 2a of FG1.

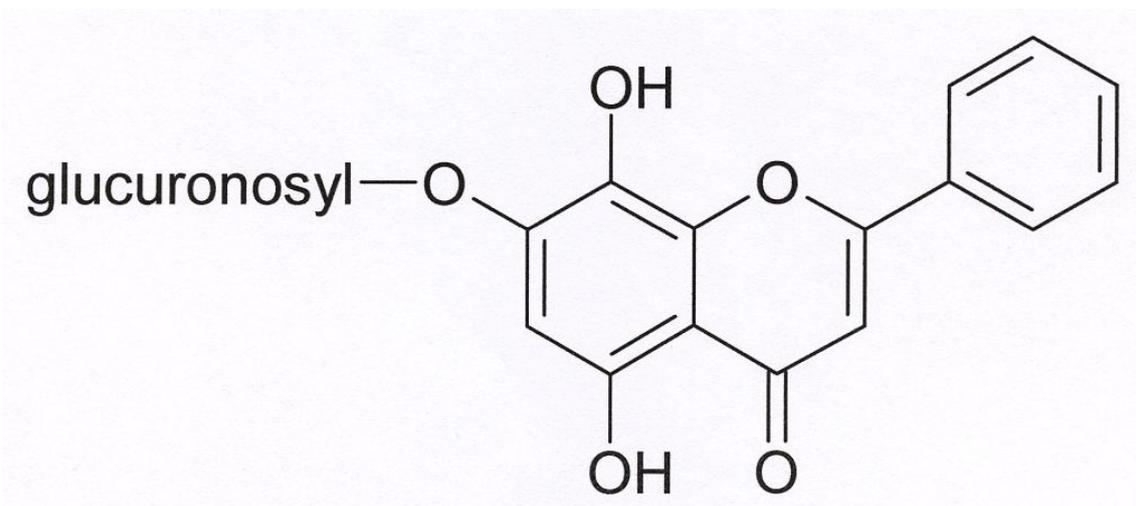


Fig. 25. Proposed structure for peak 2b of FG1.

4. 휘발성 향기 성분 분석

다시마정유와, 미역정유의 정유성분을 GC/MS를 분석한 결과는 Table 16-17에 나타내었다. 분석결과 다시마정유는 Benzoic acid, Nonanoic acid, Pentadecane 등 27가지의 물질이 나왔으며, 미역정유는 Hexonoic acid, Nonanoic acid 등 34가지의 물질이 나왔다.

Table 16. Components identified from *Laminaria japonica* essential oil

RT	Components	Peak area
2.302	Acetaldehyde	0.30
2.540	Ethanol	77.62
2.714	Dimethylamine-D1	0.51
3.203	Acetic acid	0.59
3.821	1,4-Dideuterobutane	0.24
5.765	2,3-Butanediol	0.59
5.977	1-Propene	0.14
6.325	Cyclotrisiloxane,hexamethyl	0.20
8.964	Butanoic acid	0.13
9.092	1-Octen-3-ol	0.48
9.331	Cyclotetrasiloxane	0.51
9.504	Pyrazine	0.49
10.232	Oxirane	0.43
10.534	Triethylamine	0.56
10.875	2,3-Dihydro-benzofuran-3-ol	0.21
11.120	Nonanal	0.56
11.789	Cyclopentasiloxane	0.23
11.957	Benzoic acid	1.21
12.002	Nonanoic acid	1.53
14.222	4-(4-Chlorophenyl)-2,6-diphenylpyridine	0.21
14.776	4-Carboethoxy-2-methylloxazole	3.62
16.366	2-Methylbenzyl cyanide	0.13
16.462	Pentadecane	3.90

Table 17. Components identified from *Undaria pinnatifida* Suringar essential oil

RT	Components	Peak area
2.540	Ethanol	35.95
3.271	Hexanal	0.80
6.808	1-Acethyl-2,2-dimethylcyclobutane	0.55
9.157	Hexonoic acid	11.81
9.324	Furan	0.88
9.974	4,5-Dimethyl-2-formylfuran	0.33
10.090	trans-3,4-Dimethyl-2-hexene	0.66
10.438	Isothiazole	0.39
10.605	3,5-Octadien-2-one	1.75
10.991	3-Octanol	1.24
11.152	6-Methyl-3,5-heptadien-2-one	0.74
11.281	Cyclohexanol	4.70
11.783	2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	0.64
11.931	Benzoic acid	0.18
12.459	Isopropylpyrazine	0.67
12.967	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde	0.25
13.006	1H-Pyrrole-2,5-dione	1.65
13.431	Nonanoic acid	2.07
13.695	Methanone,dicyclopropyl-	0.49
14.280	2H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	0.89
14.396	2-Oxo-1-methyl-3-isopropylpyrazine	0.64
14.441	Octadecane	0.58
14.776	4-Carboethoxy-2-methyloxazole	1.40
14.808	1-Bromomethyl-2-chlorocyclohexane	1.81
15.227	Tetradecane	0.32

5. 동물실험을 통한 항고지혈증기능성 검증

가. 해조 정유 식이에 의한 흰쥐에서의 체중 변화

흰쥐에게 beef tallow를 첨가한 조제시료를 첨가하여 인위적으로 비만 및 고지혈증을 유발 시킨 후 해조 분말, 해조 정유, 해조 정유추출 잔사물을 각각 고지혈증 유도 쥐에 6주간 매일 200 mg/Kg 체중분량씩 강제 경구투여하고, 1주일마다 체중 변화를 측정하였다(Table 18). Table 18에 나타내었듯이, 일반 식이를 한 쥐의 체중은 6주에 220.8 ± 28.6 g이고 고지방식이만 한 흰쥐는 331.7 ± 31.7 g 으로 50.2%정도 무게가 증가한 비만 흰쥐가 되는 것으로 나타났다. 4주까지 고지방식이만 한 흰쥐와 시료 식이군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 5주부터 유의적인 차이를 보이면서 시료간에도 차이를 보이기 시작하였다. 6주째에는 고지방식이만 한 흰쥐에 비해 미역 정유 식이가 9%, 김 정유 식이가 3%, 톳 정유 식이가 10%. 다시마 정유 식이가 13%정도 낮게 나타났는데, 이 결과로 고지방식으로 인해 증가하는 체중을 해조 정유가 억제하는 것을 확인하였다. 뿐만 아니라 해조 분말뿐만 아니라 해조 정유 추출잔사물도 억제 효과를 보였으며, 특히 해조 정유 추출 잔사물이 뛰어난 효과를 보였다.

Table 18. Effect of seaweed on the body weight in rats fed a normal and hyperlipidemic diet for 4 weeks

Sample	Dose (mg/kg)	(Weeks)					
		1	2	3	4	5	6
		Body weight gain(g)					
Normal		69.7±8.3 ^b	117.9±10.6 ^b	138.5±19.4 ^e	181.7±29.6 ^b	211.7±27.2 ^f	220.8±28.6 ^f
Control		88.5±9.5 ^a	161.3±21.3 ^a	221.7±30.5 ^{abc}	251.2±21.1 ^a	306.8±20.5 ^{ab}	331.7±31.7 ^a
미역							
분말	200	83.9±7.2 ^a	165.5±19.8 ^a	198.3±18.6 ^{bcd}	236.5±20.6 ^a	281.3±19.1 ^{bcd}	293.6±24.5 ^{bcd}
정유	200	81.8±8.6 ^a	154.7±18.7 ^a	210.4±17.2 ^{abcd}	249.7±19.4 ^a	294.8±18.3 ^{abcd}	300.7±19.8 ^{bcd}
정유 추출잔사물	200	90.3±9.4 ^a	160.2±20.8 ^a	195.6±21.3 ^{cd}	226.9±18.8 ^a	274.5±19.5 ^{cde}	281.2±18.6 ^{de}
김							
분말	200	91.7±7.9 ^a	171.8±18.9 ^a	211.7±19.9 ^{abcd}	250.6±21.7 ^a	298.4±17.7 ^{abc}	311.8±20.1 ^{abc}
정유	200	89.4±7.6 ^a	169.3±21.4 ^a	223.4±20.6 ^{ab}	247.8±20.1 ^a	310.6±16.2 ^a	320.4±17.3 ^{ab}
정유 추출잔사물	200	86.5±8.5 ^a	170.7±20.1 ^a	210.2±18.5 ^{abcd}	248.5±19.3 ^a	228.5±18.5 ^{abcd}	300.5±19.6 ^{bcd}
툇							
분말	200	88.1±9.4 ^a	173.2±17.8 ^a	197.6±18.9 ^{bcd}	245.4±18.5 ^a	285.6±14.2 ^{abcd}	295.7±17.4 ^{bcd}
정유	200	86.2±9.0 ^a	172.4±17.9 ^a	201.4±19.8 ^{abcd}	247.9±17.9 ^a	288.5±20.1 ^{abcd}	299.3±14.3 ^{bcd}
정유 추출잔사물	200	87.7±6.2 ^a	168.8±18.5 ^a	187.6±20.5 ^d	231.8±20.2 ^a	281.3±19.5 ^{bcd}	285.4±16.5 ^{cde}
다시마							
분말	200	85.6±7.5 ^a	159.9±17.3 ^a	201.4±18.7 ^{abcd}	235.5±13.5 ^a	271.4±18.3 ^{de}	285.6±14.9 ^{cde}
정유	200	86.8±8.6 ^a	163.3±19.8 ^a	227.6±16.2 ^a	241.1±19.2 ^a	287.2±17.2 ^{abcd}	288.7±18.3 ^{cde}
정유 추출잔사물	200	86.9±7.8 ^a	162.6±18.6 ^a	192.3±17.3 ^d	227.9±18.6 ^a	262.4±18.6 ^e	268.9±15.9 ^e

Values are mean±SD (n=6).

^{a-f}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

나. 해조 정유 식이에 의한 흰쥐에서의 지방 조직의 무게 변화

식이성 고지혈증을 유도한 흰쥐에서 해조 분말, 해조 정유 및 해조정유 추출산물을 첨가한 식이가 흰쥐의 지방조직에 미치는 영향을 관찰한 결과를 Table 19에 나타내었다. 식이성 고지혈증을 유도한 쥐에서 시료를 4주간 경구투여한 후 지방조직의 양을 측정된 결과 추복막 지방의 무게는 다시마 실험군은 모두 지방조직량이 유의적으로 감소하였으며, 미역과 다시마 정유 식이가 증가한 지방조직량을 유의적으로 감소하였다. 고환의 지방무게는 해조 정유식으로 인한 지방조직량 억제 효과는 보이지 않았으며, 김 정유 추출산물을 제외한 해조 정유 추출산물이 유의적으로 고환의 지방조직량을 감소시키는 것을 확인하였다.

Table 19. Abdominal fat pad weight in the normal and fat diet-induced rats fed seaweed for 4 weeks

Sample	Dose (mg/kg)	Retroperitoneal	Epididymal
		mg / g body weight	
Normal		6.3±3.2 ^f	7.8±2.0 ^f
Control		14.9±2.1 ^a	12.4±1.4 ^{abc}
미역			
분말	200	12.3±1.3 ^{bcd}	11.9±1.0 ^{abcd}
정유	200	14.5±2.4 ^{bc}	13.1±1.1 ^a
정유 추출잔사물	200	10.3±1.4 ^{de}	10.4±1.0 ^{de}
김			
분말	200	13.9±1.5 ^{abc}	12.3±1.3 ^{abc}
정유	200	15.2±1.4 ^a	12.5±1.4 ^{ab}
정유 추출잔사물	200	12.9±2.1 ^{abc}	12.1±1.2 ^{abc}
푼			
분말	200	13.8±1.4 ^{abc}	11.6±0.9 ^{abcd}
정유	200	14.2±1.2 ^{abc}	12.2±1.0 ^{abc}
정유 추출잔사물	200	12.1±1.3 ^{cd}	10.9±1.1 ^{cd}
다시마			
분말	200	12.0±1.3 ^{cd}	11.2±0.8 ^{bcd}
정유	200	13.8±1.5 ^{bc}	11.8±0.9 ^{abcd}
정유 추출잔사물	200	9.4±1.5 ^e	9.4±0.9 ^e

Values are mean±SD (n=6).

^{a-f}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

다. 해조 정유 식이에 의한 흰쥐에서의 혈청 지질 성분의 변화

고지혈증을 유도한 흰쥐에서 해조 분말, 해조 정유, 해조 정유 추출잔사물을 경구투여 한 후 혈청지질성분의 농도변화 결과를 Table 20에 나타내었다. Table 20에 나타내었듯이, 4주 동안 일반 식이를 한 흰쥐의 혈청 인지질 농도는 120.4 ± 14.6 mg/dl이고 고지혈증을 유도한 흰쥐는 148.7 ± 10.2 mg/dl으로 23.2%정도 혈청 인지질 농도가 증가하였다. 혈청 인지질에 미치는 영향은 해조 정유와 해조 분말모두 유의적인 차이를 보이지 않은 반면에, 해조 정유 추출잔사물은 고지혈증으로 증가한 혈청 인지질 농도를 유의적으로 감소시켰다. 4주 동안 일반 식이를 한 쥐의 혈청 중성지질 농도는 68.7 ± 7.3 mg/dl이고 고지혈증을 유도한 흰쥐는 200.3 ± 12.4 mg/dl으로 191.6%정도 혈청 중성지질 농도가 크게 증가하였다. 혈청 중성지질에 미치는 영향은 해조 정유모두 유의적인 차이를 보이지 않은 반면에, 해조 정유 추출잔사물은 고지혈증으로 증가한 혈청 중성지질 농도를 유의적으로 감소시켰으며, 특히 다시마 정유 추출 잔사물이 26.6% 감소시켰다.

Table 20. Effect of seaweed on the concentration of serum lipids in rats fed a hyperlipidemic diet for 4 weeks

Treatment	Dose (mg/kg)	Phospholipid	Triglyceride
		mg / dl	
Normal		120.4±14.6 ^d	68.7±7.3 ^f
Control		148.7±10.2 ^a	200.3±12.4 ^a
미역			
분말	200	138.8±11.7 ^{abc}	181.6±11.8 ^{bc}
정유	200	142.5±12.3 ^{abc}	190.5±10.7 ^{ab}
정유 추출 잔사물	200	131.3±11.5 ^{bcd}	167.4±12.5 ^{de}
김			
분말	200	146.2±10.8 ^{ab}	191.2±11.4 ^{ab}
정유	200	148.5±9.4 ^a	195.4±11.9 ^{ab}
정유 추출 잔사물	200	145.6±11.8 ^{abc}	182.5±13.6 ^{bc}
톳			
분말	200	140.7±10.7 ^{abc}	186.2±9.6 ^{abc}
정유	200	142.7±11.3 ^{abc}	192.9±10.6 ^{ab}
정유 추출 잔사물	200	133.6±10.4 ^{abcd}	173.4±9.9 ^{cd}
다시마			
분말	200	136.9±10.1 ^{abc}	183.2±10.2 ^{bc}
정유	200	141.9±11.2 ^{abc}	187.8±8.4 ^{ab}
정유 추출 잔사물	200	130.5±10.3 ^{cd}	158.2±10.1 ^e

Values are mean±SD (n=6).

^{a-f}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

라. 해조 정유 식이에 의한 흰쥐에서의 혈청 cholesterol 함량 변화 및 동맥경화지수 고지혈증을 유도한 흰쥐에서 해조 분말, 해조 정유, 해조 정유 추출잔사물을 경구투여 한 후 혈청 cholesterol농도 변화와 동맥경화지수 변화에 미치는 영향을 조사한 결과를 Table 21에 나타내었다. 4주 동안 일반 식이를 한 쥐의 혈청 총 cholesterol 농도는 56.8 ± 6.3 mg/dl이고 고지혈증을 유도한 흰쥐는 91.6 ± 5.2 mg/dl으로 61.3%정도 혈청 총cholesterol농도가 증가하였다. 혈청 총cholesterol농도에 미치는 영향은 해조 정유와 김 처리군이 유의적인 차이를 보이지 않은 반면에, 김을 제외한 해조분말과 해조 정유 추출잔사물은 고지혈증으로 증가한 혈청 총 cholesterol농도를 유의적으로 감소시켰다. 고지혈증으로 감소한 혈청 HDL-cholesterol농도는 톳 처리군과 다시마 처리군 식이로 인해 감소한 혈청 HDL-cholesterol농도를 유의적으로 증가하였다. 혈청 LDL-cholesterol농도에 미치는 영향은 미역, 다시마 정유 추출잔사물을 제외한 모든 실험군에서 고지혈증으로 증가한 LDL-cholesterol농도에 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 체내에 HDL-콜레스테롤에 대한 중성지방 농도를 대표하는 동맥경화지수(Atherosclerosis Index)는 모든 실험군이 고지혈증으로 증가한 동맥경화지수를 유의적으로 낮춰주었으며, 특히 정유 추출잔사물이 가장 효과가 뛰어났다.

이 결과로 실험에 사용한 해조중에 다시마가 고지방 식이 비만 흰쥐의 동맥경화 위험을 감소시킬 수 있음을 확인하였으며, 특히 처리군중에 다시마 정유 추출잔사물이 가장 효과가 뛰어났음을 확인하였다.

Table 21. Effect of seaweed on serum cholesterol and AI in rats fed a hyperlipidemic diet for 4 weeks

Treatment	Dose (mg/kg)	Cholesterol (mg / dl)			
		Total	HDL	LDL	AI
Normal		56.8±6.3 ^g	41.6±2.4 ^a	2.6±0.6 ^a	0.4±0.1 ^h
Control		91.6±5.2 ^a	31.8±1.2 ^f	7.6±0.9 ^b	1.9±0.2 ^a
미역					
분말	200	83.6±6.1 ^{cd}	35.4±2.2 ^{def}	7.2±0.8 ^{bc}	1.4±0.1 ^{de}
정유	200	90.5±4.2 ^{ab}	33.5±1.2 ^{def}	7.5±0.7 ^b	1.7±0.1 ^b
정유 추출간사물	200	76.8±4.3 ^{ef}	35.6±1.2 ^{bc}	6.7±0.7 ^a	1.2±0.1 ^f
김					
분말	200	90.4±5.1 ^{ab}	32.9±1.4 ^{ef}	7.5±0.6 ^b	1.8±0.1 ^b
정유	200	92.6±3.5 ^a	33.5±1.2 ^{def}	7.5±0.6 ^b	1.8±0.1 ^b
정유 추출간사물	200	89.3±4.0 ^{ab}	33.7±1.2 ^{cdef}	7.5±0.7 ^b	1.7±0.1 ^{bc}
툇					
분말	200	85.2±4.2 ^{bcd}	34.8±1.5 ^{cde}	7.4±0.6 ^{bc}	1.5±0.1 ^d
정유	200	89.9±5.2 ^{ab}	33.8±1.5 ^{cde}	7.5±0.6 ^b	1.7±0.1 ^{bc}
정유 추출간사물	200	80.6±3.2 ^{de}	34.9±1.4 ^{cde}	7.2±0.6 ^{bc}	1.3±0.1 ^e
다시마					
분말	200	81.7±4.2 ^{de}	35.2±1.5 ^{cde}	7.0±0.5 ^{bc}	1.3±0.1 ^e
정유	200	88.5±3.2 ^{abc}	34.3±1.5 ^{cde}	7.4±0.6 ^{bc}	1.6±0.1 ^c
정유 추출간사물	200	74.3±3.2 ^f	37.3±1.2 ^b	6.6±0.5 ^c	1.0±0.1 ^g

Values are mean±SD (n=6).

^{a-f}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

마. 해조 정유 식이에 의한 흰쥐에서의 간장 조직중의 지질 및 cholesterol 함량 변화

해조 분말, 해조 정유, 해조 정유 추출잔사물의 비만억제 효과를 규명하기 위해 고지방 식이로 고지혈증을 유발시킨 흰쥐에 각각의 시료를 투여한 후 간장 조직의 지질과 cholesterol 함량변화를 관찰하였다(Table 22).

간장 조직중의 총지질 함량은 변화는 혈청 지질농도와 혈청 cholesterol 함량 변화와 달리 김, 톳 정유 식이가 고지혈증 유발로 인해 증가한 총지질 함량을 감소하였으며, 해조 정유 추출잔사물과 김을 제외한 모든 해조분말 투여도 감소함을 확인하였다. 간장 조직중의 중성지질 함량은 미역, 다시마 정유 추출잔사물을 제외한 모든 실험군이 고지혈증으로 인해 증가한 중성지질 함량을 유의적으로 감소시키지 못했으며, 간장 조직중의 cholesterol 함량은 모든 실험군이 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 22. Effect of seaweed on the hepatic lipid concentration of hepatic tissue of rat fed a hyperlipidemic diet for 4 weeks

Sample	Dose (mg/kg)	Total lipid	Triglyceride	Cholesterol
		mg / g of tissue		
Normal		16.8±2.0 ^f	9.4±1.0 ^d	2.6±0.5 ^b
Control		34.9±2.2 ^a	26.4±2.1 ^a	6.3±0.4 ^a
미역				
분말	200	31.4±1.4 ^{cd}	25.2±2.0 ^{abc}	6.2±0.5 ^a
정유	200	33.7±1.3 ^{ab}	26.2±1.7 ^{ab}	6.2±0.5 ^a
정유 추출잔사물	200	30.2±1.2 ^{de}	24.3±1.8 ^{bc}	6.0±0.6 ^a
김				
분말	200	33.7±1.4 ^{ab}	26.1±1.3 ^{ab}	6.2±0.6 ^a
정유	200	31.4±1.3 ^{cd}	25.3±1.4 ^{abc}	6.3±0.3 ^a
정유 추출잔사물	200	32.8±1.4 ^{bc}	26.8±1.4 ^a	6.2±0.4 ^a
툃				
분말	200	30.4±1.5 ^{de}	25.1±1.3 ^{abc}	6.0±0.4 ^a
정유	200	31.6±1.2 ^{cd}	25.9±1.4 ^{ab}	6.2±0.4 ^a
정유 추출잔사물	200	29.9±1.2 ^{de}	24.8±1.0 ^{abc}	6.0±0.4 ^a
다시마				
분말	200	30.9±1.3 ^{de}	24.9±1.2 ^{abc}	6.0±0.3 ^a
정유	200	33.8±1.4 ^{ab}	25.8±1.3 ^{abc}	6.1±0.4 ^a
정유 추출잔사물	200	29.4±1.2 ^e	23.9±1.3 ^c	5.8±0.4 ^a

Values are mean±SD (n=6).

^{a-f}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

바. 혈중 과산화지질의 생성, 혈청 hydroxyl radical 생성 및 superoxide dismutase(SOD) 활성에의 영향

식이성 고지혈증을 유도한 뒤 해조 분말, 해조 정유, 해조 정유 추출잔사물을 투여하였을 때 혈중 과산화지질의 함량과 과산화지질생성계 및 제거계에 미치는 영향을 관찰하였다(Table 23-24). 혈중 과산화지질 함량은 고지혈증을 유발시킨 실험군이 52.4 ± 2.2 nmole/ml로 정상군의 26.9 ± 3.6 nmole/ml 보다 2배가량 증가하는 것으로 확인되었으며, 혈청 hydroxy radical의 함량도 2배 이상 증가 하는 것으로 나타났다. 한편, 미역 정유와 김 분말 투여군을 제외한 모든 실험군이 대조군에 비해 통계학적으로 고지혈증으로 인해 증가한 혈중 과산화지질 함량을 유의성 있게 감소시키는 효과가 있음을 확인하였고, 해조 정유 추출잔사물이 가장 좋았으며, 특히 다시마 정유 추출잔사물이 혈중 과산화지질 함량 증가를 크게 억제하였다. 혈청 hydroxy radical 함량은 해조 정유중 다시마 정유만 고지혈증으로 인해 증가한 혈청 hydroxyl radical 함량을 억제하였으며, 미역, 다시마 분말과 미역, 다시마 정유 추출잔사 투여도 유의적으로 감소하였다. Superoxide dismutase(SOD)활성에 미치는 영향에서는 모든 시료 투여군이 고지혈증 유발 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있게 SOD 효소활성에 영향을 미치지 않았다.

본 연구결과 해조 분말뿐만 아니라 정유 및 정유 추출잔사물이 고지혈증 유발로 인한 비만으로 지질대사 이상과 과산화물의 축적을 예방하는데 효과가 있음을 확인하였으며, 해조류중 다시마가 가장 큰 효과가 있음을 나타내는 결과라고 판단된다.

Table 23. Effect of seaweed on the blood lipid peroxide in rats fed a hyperlipidemic diet for 4 weeks

Treatment	Dose (mg/kg)	TBARS
		MDA nmol/mg protein
Normal		26.9±3.6 ^h
Control		52.4±2.2 ^a
미역		
분말	200	45.8±3.1 ^{de}
정유	200	49.6±2.6 ^{ab}
정유 추출잔사물	200	40.7±2.0 ^f
김		
분말	200	49.4±2.3 ^{abc}
정유	200	48.7±4.2 ^{bcd}
정유 추출잔사물	200	46.2±1.5 ^{cde}
툃		
분말	200	47.2±2.2 ^{bcd}
정유	200	48.7±2.1 ^{bcd}
정유 추출잔사물	200	43.3±2.2 ^{ef}
다시마		
분말	200	42.4±1.9 ^f
정유	200	47.9±2.2 ^{bcd}
정유 추출잔사물	200	36.7±1.4 ^g

Values are mean±SD (n=6).

^{a-h}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

Table 24. Effect of seaweed on the serum hydroxyl radical and superoxide dismutase activities in rats fed hyperlipidemic diet 4 weeks

Treatment	Dose (mg/kg)	Hydroxy radical	SOD
		nmol / mg protein	Unit / mg protein
Normal		3.0±0.4 ^e	3.5±0.3 ^a
Control		5.9±0.3 ^a	1.7±0.2 ^{bcd}
미역			
분말	200	5.2±0.3 ^{cd}	1.8±0.1 ^{bcd}
에탄올추출물	200	5.7±0.3 ^{ab}	1.7±0.1 ^{bcd}
에탄올추출잔사물	200	5.2±0.2 ^{cd}	1.8±0.2 ^{bc}
김			
분말	200	5.7±0.3 ^a	1.7±0.2 ^{cd}
에탄올추출물	200	5.8±0.2 ^a	1.6±0.1 ^d
에탄올추출잔사물	200	5.6±0.2 ^{ab}	1.7±0.1 ^{bcd}
퉁			
분말	200	5.7±0.3 ^a	1.8±0.2 ^{bcd}
에탄올추출물	200	5.8±0.3 ^a	1.7±0.2 ^{cd}
에탄올추출잔사물	200	5.6±0.2 ^{ab}	1.8±0.2 ^{bc}
다시마			
분말	200	5.2±0.3 ^{cd}	1.8±0.2 ^{bcd}
에탄올추출물	200	5.4±0.3 ^{bc}	1.7±0.1 ^{bcd}
에탄올추출잔사물	200	4.9±0.2 ^d	1.9±0.1 ^b

Values are mean±SD (n=6).

^{a-e}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

6. 항고혈압성분의 분리정제

가. 시료별 추출 구간에 따른 수율 및 ACE 저해 효과

자연산 미역 엽상체, 양식산 미역 엽상체, 다시마, 미역 포자엽, 구멍쇠미역을 각 용매별로 순차 추출하여 얻은 추출 구간별 수율과 ACE 저해 효과를 조사한 결과는 Table 25, 26 과 같다. 1차 순차 추출 방법에서 (Table 25) 시료 용매 추출 구간별 수율을 살펴보면 상온수 추출 획분에서는 최소 양식산 미역이 12.5%에서부터 최대 자연산 미역 42.1% 까지 나타나, 평균 수율 34%로 비교적 높은 수율을 보였으나, 열수, acetone, methanol 추출구에서는 평균 수율이 각각 10.5%, 3.1%, 2.8% 순으로 나타나 상온수 추출 획분에 비하여 매우 낮은 수율을 나타내었다. 2차 순차 추출 방법에서는 (Table 26) 시료 용매 추출 구간별 수율을 살펴보면 상온수 추출 획분에서는 최소 양식산 미역 13.5%에서부터 최대 미역귀 42.9%까지 나타나 평균 수율 28.6%로 1차 순차 추출 방법 때와 마찬가지로 비교적 높게 나타났는데, ether, acetone, methanol, 열수 추출구에서는 평균 수율이 각각 7.0%, 2.0%, 1.5%, 9.2%로 나타나 상온수 추출 획분에 비해 역시 낮은 수율을 나타내었다. ACE 저해 효과 결과 (Table 25), 첫 번째 순차 추출 방법에서는 다시마의 열수 추출구에서 IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)가 12.4 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 낮은 농도에서, ACE 저해 효과가 있었으며, 자연산 미역, 양식산 미역, 자연산 다시마, 구멍 쇠미역의 상온수 추출 획분에서 각각 15.9, 14.9, 15.5, 13.3 $\mu\text{g/mL}$ 로 높게 나타났으며 자연산 미역, 구멍 쇠미역의 열수 추출구에서도 각각 14.4, 13.3 $\mu\text{g/mL}$ 로 높게 나타났다. Acetone 추출구에서는 양식산 미역의 ACE 저해 효과가 20.3 $\mu\text{g/mL}$ 로 높게 나왔다. Methanol 추출구에서는 다시마에서만 272.7 $\mu\text{g/mL}$ 로 ACE 저해 효과를 보았다. 미역귀는 상온수, 열수, acetone, methanol, 추출구 모두 ACE저해 효과가 나타나지 않았다. 2차 순차 추출 방법에서 (Table 26) ACE저해 효과를 살펴보면 1차 순차 추출 방법때와 마찬가지로 다시마의 상온수, 열수 추출구에서 각각 10.4 $\mu\text{g/mL}$ 로 높은 효과를 보였으며, 상온수 추출구에서는 자연산 미역, 양식산 미역, 구멍쇠미역이 각각 21.4, 14.4, 24.0 $\mu\text{g/mL}$ 로 비교적 높게 나타났으며, ether 추출구에서는 자연산 미역, 양식산 미역이 30.2 $\mu\text{g/mL}$, 68.7 $\mu\text{g/mL}$ 로 비교적 높은 효과를 보인 반면, 자연산 다시마, 구멍쇠미역은

103.9 µg/mL, 150.1 µg/mL로 미역보다 낮은 효과를 나타내었다. Aceton 추출구에서는 양식산 미역이 31.4 µg/mL로 가장 높은 반면, 자연산 미역, 구멍쇠미역이 각각 288.5, 184.0, 336.8 µg/mL로 양식산 미역 추출획분보다 낮았다. Methanol 추출구에서는 자연산 다시마만 169.4 µg/mL를 나타내었다. 열수 추출획분에서는 자연산 미역, 양식산 미역이 각각 16.3, 40.8 µg/mL로 비교적 높게 나왔다. 미역귀는 1차 순차 추출방법 때와 마찬가지로 나타나지 않았다. Abe 등³¹⁾은 green laver (*Monostroma nitidum*)의 추출물이 흰쥐의 혈장 cholesterol을 저하시키는 효과에 대한 실험에서 green laver(*Monostroma nitidum*)를 ethyl ether, 80% methanol, water, 67% ethanol로 순차 용매 추출하여 항콜레스테롤 효과를 확인한 결과, 물 추출 fraction에서 쥐의 혈장 콜레스테롤을 현저히 낮추는 것을 발견했으며, Water-Insoluble fraction에도 다소간 효과를 보았는데, ether fraction에서는 효과가 없었다고 한다. 효과를 보인 두 fraction을 분리한 결과 각각 alginine 및 glycine betaine과 β-homo betain이 분리되었다고 한다. 한편 Maruyama 등³²⁾은 식품중에 존재하는 ACE 저해 인자는 가열 처리에 안정하며, 체내에서 흡수가 용이한 저분자 물질로서 그 저해능은 혈압 강하제보다 활성이 낮지만 상시 섭취하는 식품중에 존재한다는 점에서 그 유용성이 기대된다고 보고하였는데, 본연구에서도 시료별로 최대 항고혈압성을 가지는 용매 추출구는 전체적으로 극성이 강한 물추출구인 상온수, 열수 추출구에서 높은 효과를 보이며 대체로 해조에서의 항고혈압성분 물질은 비극성 용매 보다는 극성 용매에서 추출되는 물질로 사료되었다.

Table 25. Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory efficiency of each extracts obtained by 1st extraction experiment.

	Room temp.	water	Boiling water		Aeton		Methanol	
	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)
Natural Underia innatifida	42.1	15.9	9.0	14.4	2.66	177.0	0.3	ND^{*2}
Cultural Underia pinnatifida	12.2	14.9	11.7	9.1	3.6	20.3	0.5	ND
Laminaria japonica	37.7	15.5	12.3	12.4	1.0	110.1	10.4	272.7
Sprophyll of Underia pinnatifida	40.1	ND	8.7	ND	5.4	ND	1.3	ND
Atarum cribrosum	38.2	13.3	10.8	13.3	2.8	317.7	1.6	ND

^{*1} IC₅₀ means the sample concentration to inhibit 50% of ACE inhibitory ratio.

^{*2} ND : not detected.

Table 26. Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory efficiency of each extracts obtained by 2nd extraction experiment

	Room temp. water		Ether		Aetone		Methanol		Boiling water	
	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)	Yield (%)	IC ₅₀ ^{*1} (µg/mL)
Natural Underia innatifida	33.4	21.4	7.8	30.2	0.6	288.5	0.9	ND ^{*2}	10.5	16.3
Cultural Underia pinnatifida	13.5	14.4	6.7	68.7	0.3	31.4	0.1	ND	10.2	40.8
Laminaria japonica	30.3	10.4	4.3	103.9	1.0	184.0	1.2	169.4	5.6	10.4
Sprophyll of Underia pinnatifida	42.9	ND	11.5	ND	7.7	ND	3.1	ND	13.4	ND
Atarum cribrosum	23.0	24.0	4.5	150.1	0.6	336.8	2.3	ND	6.1	ND

^{*1} IC₅₀ means the sample concentration to inhibit 50% of ACE inhibitory ratio.

^{*2} ND : not detected.

나. 한외 여과에 의한 생리 활성 물질의 분리 및 회수율

ACE 저해 효과를 IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)로 비교해 본 결과, 대체로 1, 2차 순차 용매 추출 모두 강한 항고혈압성을 나타낸 다시마의 상온수, 열수 추출획분에 대하여 일상 식이에 가까운 1차 순차 추출 방법에서 얻어진 자연산 다시마의 상온수, 열수 추출획분을 filter membrane Cut off가 20,000인 한외 여과 장치를 이용하여 분리한 결과가 Table 27와 같다. 각 획분 즉, 다시마 상온수 추출 원액, 다시마의 상온수 추출 여과액중 분자량이 20,000이상인 고분자 물질, 분자량이 20,000이하인 저분자 다시마 상온수 추출구, 다시마 열수 추출구 원액, 다시마 열수 여과액중 분자량이 20,000이상인 것과 다시마 열수 여과액중 분자량이 20,000이하인 저분자 물질로 나누었다. 먼저, 회수율을 보면 다시마 상온수 여과액중 분자량이 20,000이상인 것은 9%, 분자량이 20,000이하인 것은 78.8%로 회수되었다. 다시마 열수 원액에서 다시마 열수 여과액중 분자량이 20,000이상인 것은 64%, 분자량이 20,000이하인 것은 28.7%로 비교적 높게 회수되었다. 이 등은 한외 여과를 이용하여 다시마 열수 추출물로부터 가용성 저분자량의 정미 성분을 분리하였는데, 한외 여과와 Diafiltration을 실시하여 투과량의 Flux profile과 전체 고흡분, 정미 성분의 회수율을 조사한 결과, 한외 여과를 실시한 경우가 비교적 높은 회수율을 보였다고 한다. ACE 저해 효과를 보면 IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)의 농도가 다시마 열수 추출 획분중 분자량 20,000이하인 것이 24.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 그 활성이 가장 높았으며, 다시마 상온수 추출 여과액중 분자량 20,000이상인 것에서 각각 25.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 42.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 활성이 높았다. 한편, 다시마 상온수 추출 여과액중 분자량 20,000이하인 것은 297.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 다소 활성은 다른 획분에 비해 낮았으나 절대값으로 볼때 다소 강한 활성을 나타내었다. 그 외 해조중에 존재해 있으리라 여겨지는 alginate와 cellulose에 대해 그 항고혈압성을 측정해 본 결과 sodium alginate 300과 sodium alginate 900, cellulose의 IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)의 농도가 각각 134.6, 111.1, 53.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타났다.

Table 27. Fractionation of natural *Laminaria japonica* water extracts by ultrafiltration and their ACE inhibitory activities

		weight (Recovery%)	IC₅₀ (μg/ml)
Room temp. water extracts	(original)	0.2g	316.5
After ultrafiltration	above 20000 Da	0.018g (0.9g)	25.1
	below 20000 Da	0.1575g (78.8g)	297.6
Boiling water extracts	(original)	0.06g	93.9
After ultrafiltration	above 20000 Da	0.0384g (64.0g)	42.4
	below 20000 Da	0.0172g (28.7g)	24.9
Sodium alginate 300			134.6
Sodium alginate 900			111.1
Cellulose			53.1

다. 분리된 획분에 대한 정성적인 동정시험

자연산 다시마의 물 추출물에 대한 한외 여과로 분리된 획분들의 정성 반응을 살펴 본 결과, Table 28와 같이 나타났다. Phenol 성분 검출 지시약인 Folin's reagent 에서는 다시마 상온수 추출 여과액, 열수 추출 여과액 고분자, 저분자 4획분 모두 무반응이었다. ACE 저해 요인인 peptide 여부는 amino acid와 peptide성분의 검출 지시약인 ninhydrin reagent로 검출해 본 결과, 다시마 상온수 추출 여과액 분자량 20,000 이하의 획분에서 강하게 검출되었으며, 분자량이 20,000 이상에서도 약간 검출된 것으로 보아 다시마의 저분자 물질인 ACE 저해 peptide가 상온수 추출로 많이 회수 된 것을 알 수 있었다.

Table 28. Qualitative analyses of each fractions isolated from natural *Laminaria japonica* water extracts by ultrafiltration

	Room temp. water extract		Boiling water extract	
	Concentrate (>20000 Da)	Permeable fr. (<20000 Da)	Concentrate (>20000 Da)	Permeable fr. (<20000 Da)
Folin's reagent	-	-	-	-
N i n h y d r i n reagent	-	+++	-	-
AgNO₃ solution	-	+++	-	+

* +++ : dark color, + : light color.

라. 다시마 상온수, 열수 추출 획분 및 한외 여과 획분에 대한 정량 분석

다시마 상온수 및 열수의 한외여과분리획분물에 대한 protein, NH₂-N량을 측정 한 결과를 Table 29에 나타내었다. 다시마의 상온수 추출물 및 열수추출물의 20,000Da. 이상과 이하의 두획분으로 한외여과 분리후, 각 획분들에 대한 당이나 질소, 아미노태질소 함량비율이 두 분자량 그룹들 둘 다 비슷한 수준을 유지하고 있었다. 즉, 아직 한외여과만으로 확실한 분리 정제가 이루어졌다고는 할 수 없고, 단지 한외여과로 분자량별 대별은 가능하였다. 그렇지만, 분획물들에 대한 항고혈압활성측정결과 (Table 27)를 보면 다시마 상온수 추출물의 경우는 한외여과만으로도 확연한 고활성획분을 얻어낼 수가 있었으므로 한외여과에 의한 활성물질 분리정제로 큰 의미가 있다고 본다. 왜냐하면, 본 상온수나 열수추출물이 고점성이어서 일반 column법에 의한 분리정제는 매우 힘들기 때문이다. 한편, 다시마 열수추출물은 수올면에서 볼 때 단순한 열수추출만으로도 고활성이면서 제법 순도 높은 물질로 얻을 수 있다고 판단되었다. 그러나, 좀 더 고압을 가할 수 있는 liquid column 분리 system을 만들어 내어 대량 순수 분리하는 방안을 구축하여 확실한 순수물질로의 분리정제를 앞으로 더욱 시도해 나가야만 하리라 사료된다.

Table 29. Quntitive analysis of each fractions isolated from natural *Laminaria japonica* water extracts by ultrafiltration

		glucose (mg/mL)	N (mg%)	protein (%)	NH ₂ -N (mg%)
After ultrafiltration of room temp. water extracts					
	above 20000 Da	0	0.0168	0.1050	13.956
	below 20000 Da	0.0010	0.0182	0.1138	13.375
After ultrafiltration of boiling water extracts					
	above 20000 Da	0.0005	0.0238	0.1488	8.14
	below 20000 Da	0.0002	0.0238	0.1488	14.538

7. 해조정유활용 수산 가공제품의 저장성향상 측정

가. 해조정유를 활용한 고품위 간고등어 제품제조

(1) pH 측정

미역, 다시마 정유를 첨가한 간고등어를 제조, 정유 첨가량을 시료무게의 0.1%, 0.5%로 달리하여 첨가하여 가온실험으로 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하며 21일간 1주일 간격으로 pH의 변화를 조사한 결과는 Fig. 26과 같다. 저장기간동안 pH가 지속적으로 증가하였는데, 어육 중의 pH는 사후에 해당반응의 진행에 따라 생성되는 젖산과 상관관계가 높아 생성된 젖산에 의해 pH가 저하되며, 적색육 어류의 경우 최저도달점(ultimate pH)이 pH 5.6~5.8에 이르기도 한다.³³⁾ 그러나 시간이 경과함에 따라 여러 종류의 효소가 육단백질을 분해하여 아미노태, 암모니아 질소가 점차 증가하여 pH 상승을 유발하는 것으로 알려져 있으며, pH가 증가함은 오염 미생물이 어류의 단백질을 분해시켜 저분자량의 peptide와 amino acid, amine 등 양성 전해질을 생성하고 이들 물질이 완충작용을 하는 것으로 알려져 있는데, 본 연구에서는 이러한 완충작용으로 pH가 상승한 것으로 판단된다.³⁴⁾ Park 등³²⁾은 적색육 어류에서는 pH 6.2-6.4 정도가 초기 부패점으로, pH 6.5 이상은 식용이 곤란한 정도의 선도로 판단하였는데 다시마 정유 0.1%와 대조군은 저장 21일째 초기 부패를 보였다. 반면에 미역 정유 0.5%, 다시마 정유 0.5% 첨가 간고등어는 일반 간고등어에 비해 낮은 pH를 보였으며, 다시마 정유 0.5%가 가장 낮은 pH를 보였으며 합성항산화제인 소르빈산과 비슷한 수치였다.

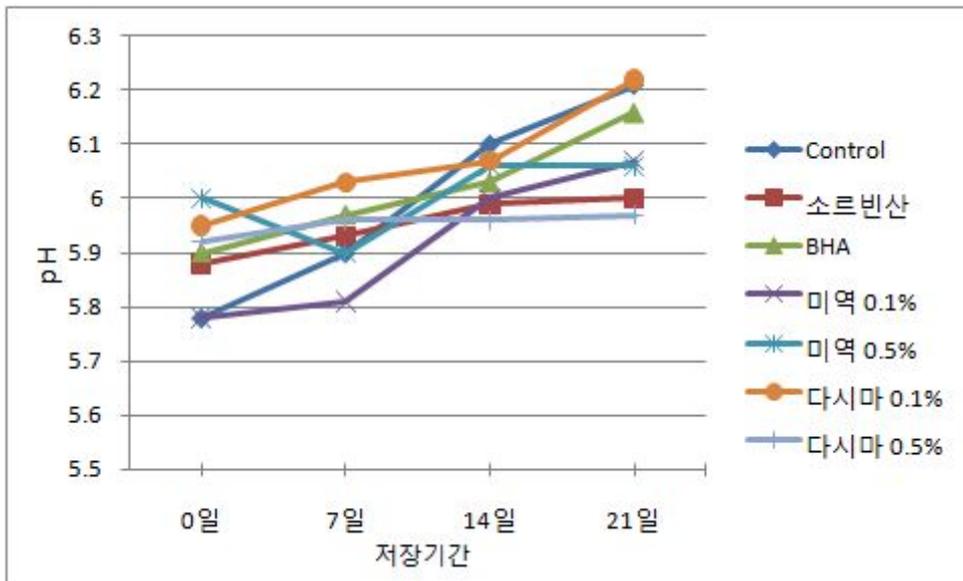


Fig. 26. Changes of the pH of the salted mackerel with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C.

(2) 휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

해조 정유 첨가 간고등어의 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 저장기간에 따른 VBN의 변화를 조사한 결과는 Fig. 27과 같다. VBN함량은 저장기간동안 지속적으로 증가하였으며, 저장 마지막날인 21일째 해조정유 첨가 간고등어의 부패지표를 나타내는 휘발성 염기 질소함량(VBN)이 낮았으며 특히 정유첨가량이 높을수록 부패도가 일반 간고등어에 비해 미역 정유 0.5% 첨가 간고등어가 30%, 다시마 정유 0.5% 첨가 간고등어가 16.2%로 크게 낮았다. 이 결과로 해조 정유 0.5% 첨가가 간고등어의 부패를 억제하였음을 확인하였다.

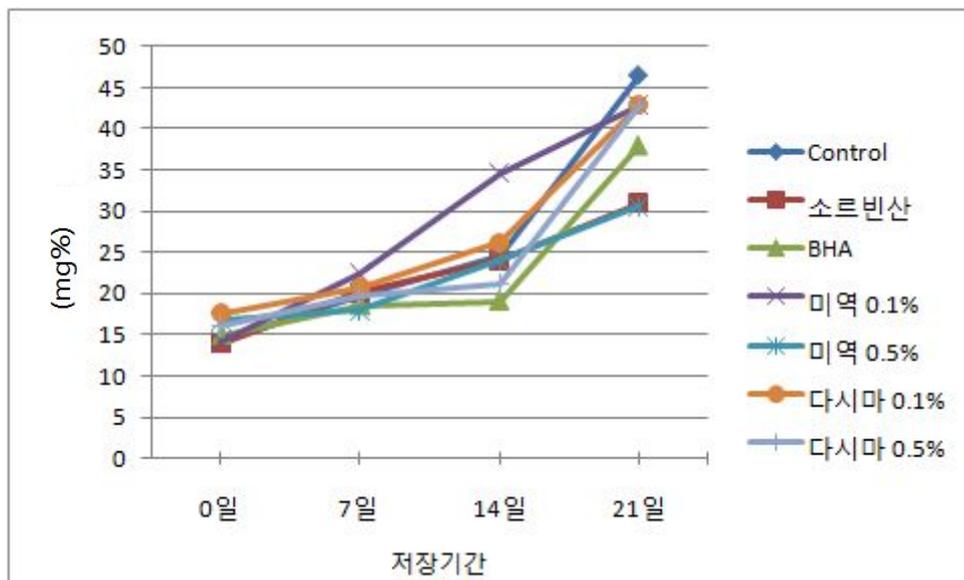


Fig. 27. Changes of the volatile basic nitrogen of the salted mackerel with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(3) Thiobarbituric acid(TBA) value

해조 정유 첨가 간고등어의 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 저장기간에 따른 TBA의 변화를 조사한 결과는 Fig. 28과 같다. 지질 산화정도를 나타내는 TBA는 저장 마지막날인 21일째 까지 지속적으로 증가하였으며, 저장 21일째 미역, 다시마 정유 0.1% 첨가 간고등어가 일반 간고등어에 비해 지질 산화정도가 활발히 일어난 반면에 미역, 다시마 정유 0.5% 첨가 간고등어는 일반 간고등어에 비해 지질 산화정도가 저장기간동안 완만하게 증가하였으며, 저장 21일째 합성항산제에 비해 억제정도는 낮지만 일반 간고등어에 비해 지질 산화를 억제하였다.

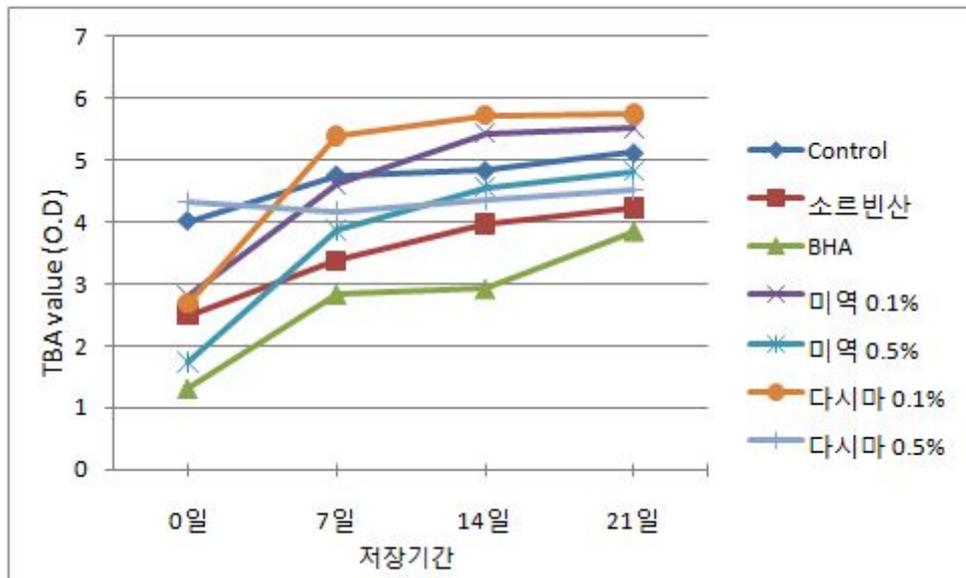


Fig. 28. Changes of the thiobarbituric acid value of the salted mackerel with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(4) 미생물 측정

해조 정유 첨가 간고등어의 $25\pm 0.5^\circ\text{C}$ 저장기간에 따른 총생균수의 변화를 조사한 결과는 Fig. 29와 같다. 총 생균수도 정유 첨가량이 높을수록 적었는데 저장 21일째 일반 간고등어의 3.15×10^8 CFU/g에 비해 미역 정유 0.5% 첨가 간고등어 1.17×10^8 CFU/g, 다시마 정유 0.5% 첨가 간고등어가 3.2×10^7 CFU/g로 적었다.

이상의 결과로 해조 정유 첨가가 간고등어 제품의 저장성을 향상시킴을 확인하였다.

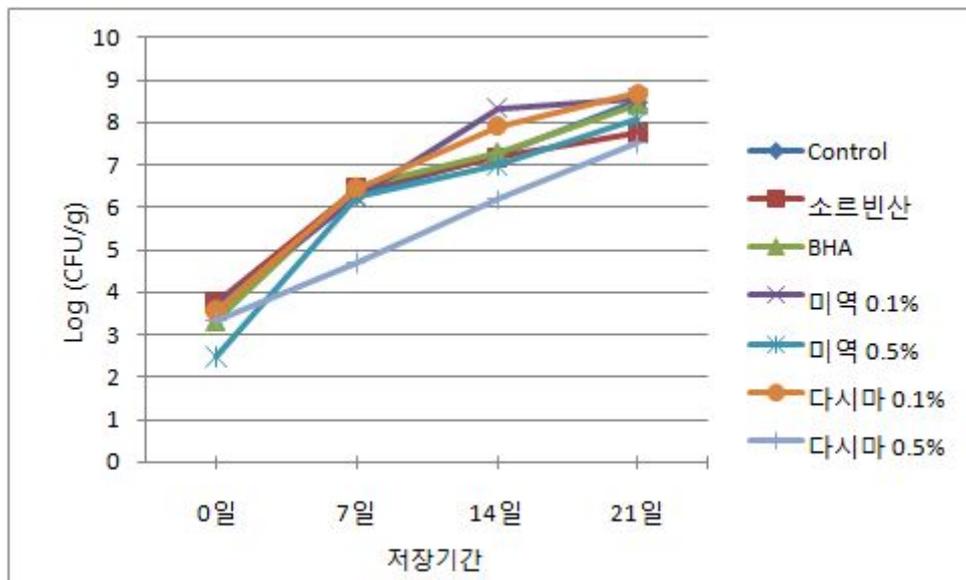


Fig. 29. Changes of the total viable cells value of the salted mackerel with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^\circ\text{C}$.

나. 해조정유를 활용한 고품위 고등어어묵 제품제조

(1) pH 측정

미역, 다시마 정유를 첨가한 고등어어묵을 제조, 정유 첨가량을 시료무게의 0.1%, 0.5%로 달리하여 첨가하여 가온실험으로 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하며 12일간 3일 간격으로 pH의 변화를 조사한 결과는 Fig. 30과 같다. 저장기간 동안 pH가 지속적으로 감소하였으며, 저장 3일째까지 시료간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 저장 6일째부터 다시마 정유 첨가 고등어어묵이 일반 고등어어묵에 비해 pH 감소가 완만해 지면서, 저장기간 마지막 날인 12일째 미역 정유 0.5% 첨가 고등어어묵과 함께 pH감소가 낮았다. 이 결과로 해조 정유가 저장기간 동안 산패로 인한 pH감소를 억제한 것을 확인하였다.

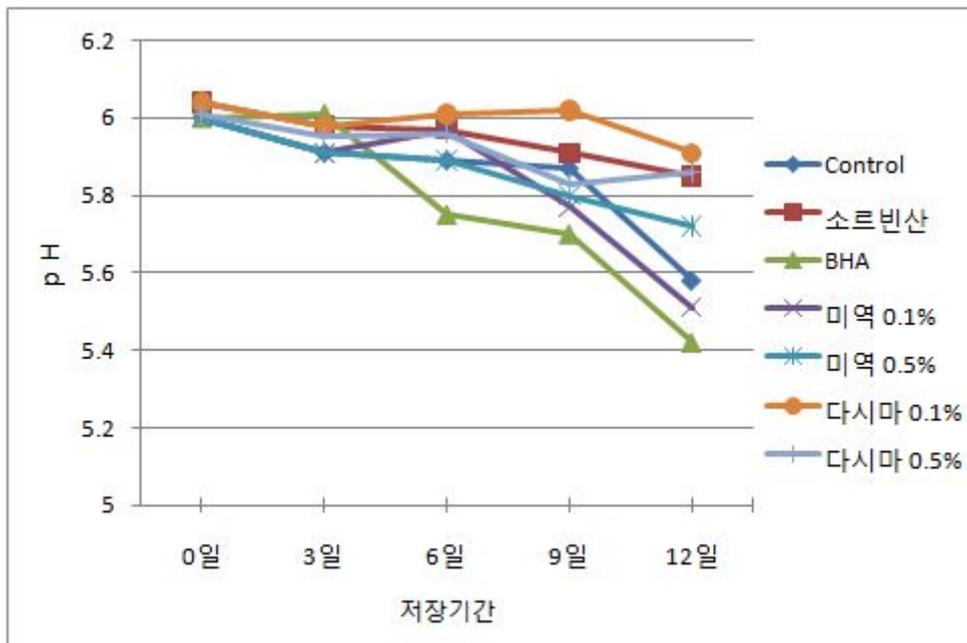


Fig. 30. Changes of the pH of the mackerel fish paste with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(2) 휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

해조 정유 첨가 고등어어묵의 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 저장기간에 따른 VBN 함량의 변화를 조사한 결과는 Fig. 31과 같다. VBN함량은 저장기간동안 지속적으로 증가하였으며, 저장 마지막날인 12일째 해조정유 첨가 고등어어묵의 VBN 함량이 낮았으며 특히 정유첨가량이 높을수록 부패도가 일반 고등어어묵에 비해 미역 정유 0.5% 첨가 고등어어묵이 12.5%, 다시마 정유 0.5% 첨가 고등어어묵이 11.8%로 크게 억제하였다. 이 결과로 해조 정유 0.5% 첨가가 고등어어묵의 부패를 억제하였음을 확인하였다.

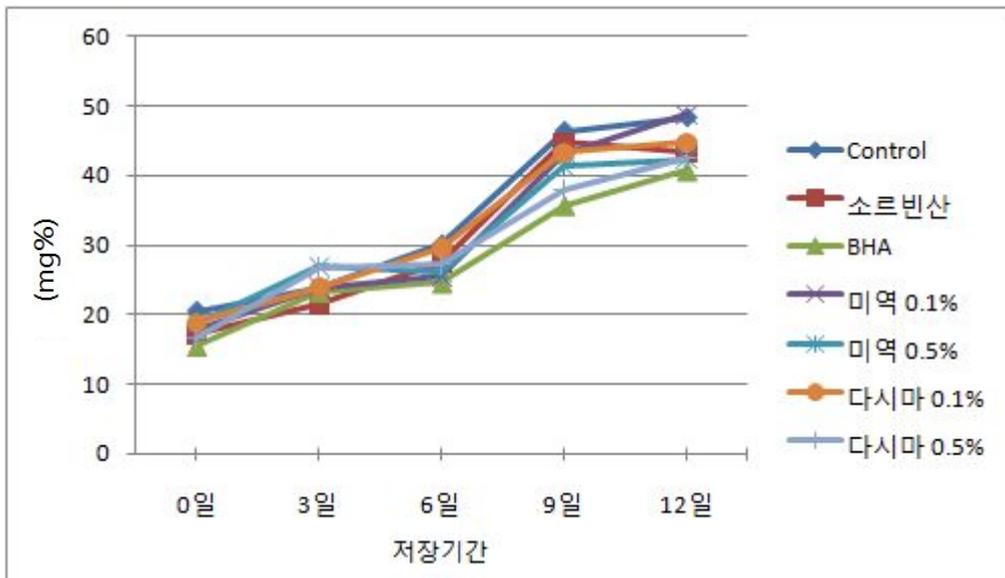


Fig. 31. Changes of the volatile basic nitrogen of the mackerel fish paste with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(3) 미생물 측정

해조 정유 첨가 고등어어묵의 $25\pm 0.5^\circ\text{C}$ 저장기간에 따른 총균수의 변화를 조사한 결과는 Fig. 32와 같다. 총균수는 일반 고등어어묵이 저장 12일째 9.3 Log/CFU/g에 비해 해조정유 첨가 고등어어묵이 적었으며 첨가량이 높을수록 총균수가 적었는데 미역 정유 0.5% 첨가 고등어어묵이 8.1 Log/CFU/g, 다시마 정유 0.5% 첨가 고등어어묵이 8.5 Log/CFU/g으로 총균수가 적었다.

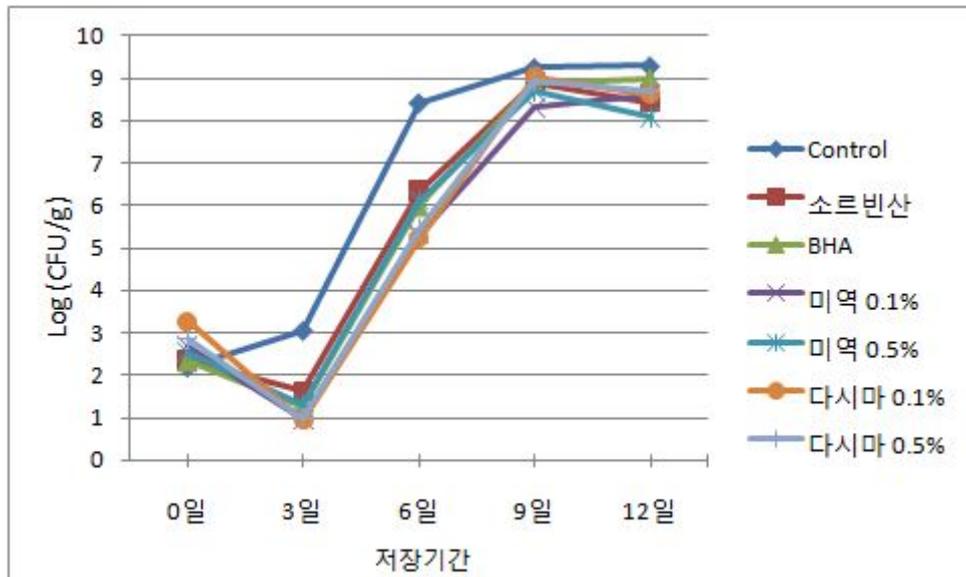


Fig. 32. Changes of the total viable cells of the mackerel fish paste with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^\circ\text{C}$.

(4) 갈변도 측정

해조 정유 첨가 고등어어묵의 $25\pm 0.5^\circ\text{C}$ 저장기간에 따른 갈변도의 변화를 조사한 결과는 Fig. 33과 같다. 갈변도의 변화는 저장기간동안 그 수치가 증가하였으며, 저장기간 12일째 일반 고등어어묵에 비해 미역 정유 0.5% 첨가 고등어어묵이 10%, 다시마 정유 0.5% 첨가 고등어어묵이 35%로 갈변화를 억제한 것을 확인하였다.

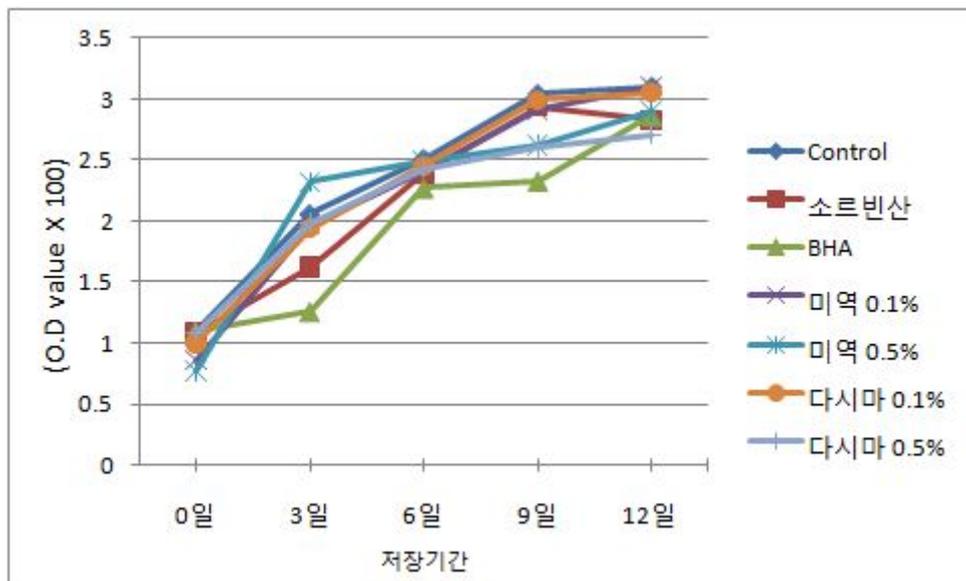


Fig. 33. Changes of the browning of the mackerel fish paste with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^\circ\text{C}$.

다. 해조정유를 활용한 고품위 꽁치 fillet 제품제조

(1) 휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

미역, 다시마 정유를 첨가한 꽁치 fillet을 제조, 정유 첨가량을 시료무게의 0.1%, 0.5%로 달리하여 첨가하여 가온실험으로 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하며 6일간 2일간격으로 VBN 함량의 변화를 조사한 결과는 Fig. 34과 같다. 저장 2일째까지 시료간에 유의적인 변화를 보이지 않았으나, 저장 4일째부터 시료간에 차이를 보였으며, 저장 6일째 일반 꽁치 fillet에 비해 해조정유 0.5% 첨가 꽁치 fillet의 부패지표를 나타내는 휘발성 염기질소함량(VBN)이 낮았으며 일반 꽁치 fillet에 비해 미역 정유 0.5% 첨가 꽁치 fillet이 8.9%, 다시마 정유 0.5% 첨가 꽁치 fillet이 15.5%로 크게 낮았다. 이 결과로 해조 정유 0.5% 첨가가 간고등어의 부패를 억제하였음을 확인하였다.

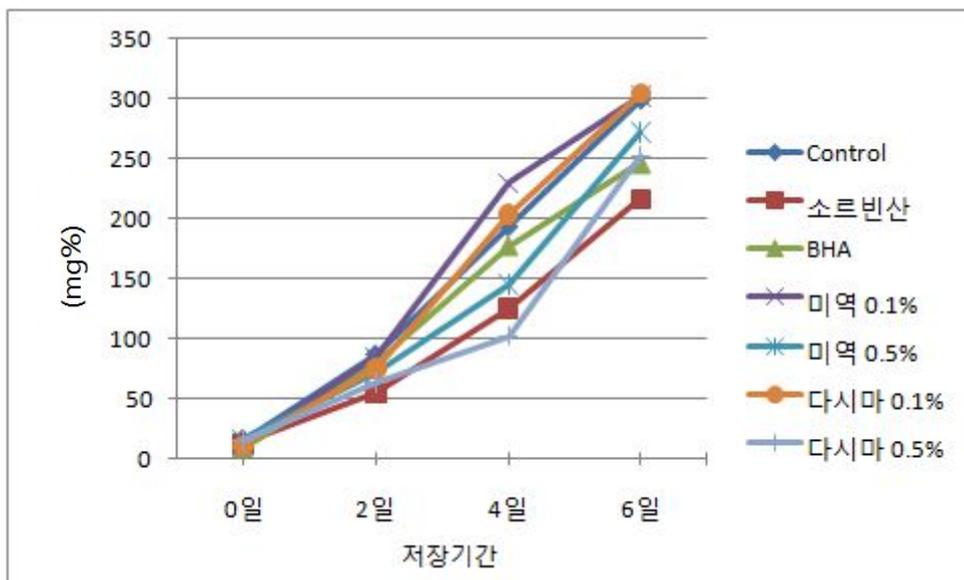


Fig. 34. Changes of the volatile basic nitrogen of the pacific saury fillet with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(2) Trimethylamine(TMA) 함량 측정

해조 정유 첨가 꽁치 fillet의 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 저장기간에 따른 부패취(TMA)의 변화를 조사한 결과는 Fig. 35와 같다. 저장 2일째부터 일반 꽁치 fillet에 비해 해조 정유 첨가 꽁치 fillet의 부패취가 유의적으로 낮았으며, 저장기간 마지막날인 6일째 TMA 값이 일반 꽁치 fillet이 29.84 mg/100 g에 비해 미역 정유 0.5% 첨가 꽁치 fillet이 37%, 다시마 정유 0.5% 첨가 꽁치 fillet이 31%로 낮았으며 이결과로 해조 정유가 꽁치 fillet의 부패취를 크게 억제하였음을 확인하였다.

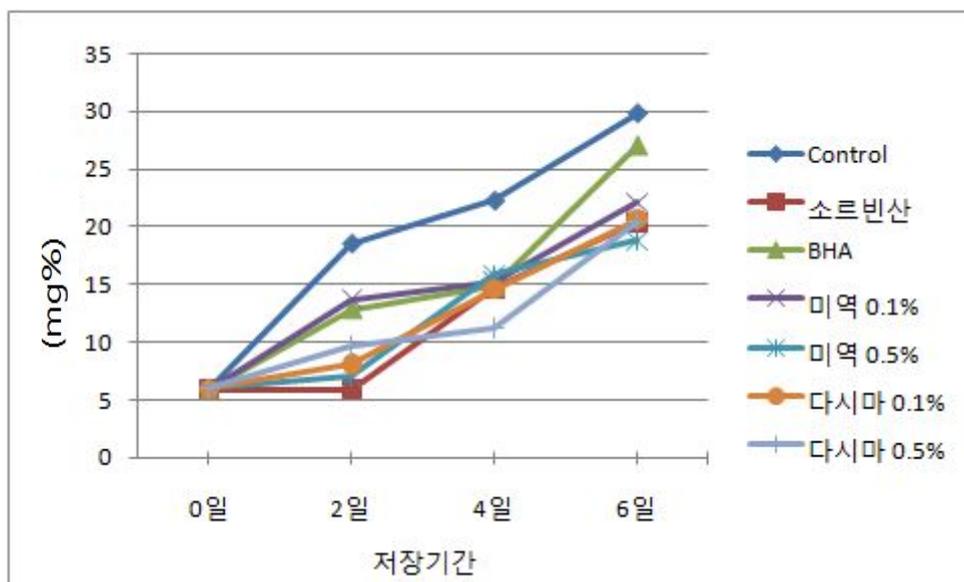


Fig. 35. Changes of the TMA of the pacific saury fillet with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(3) 미생물 측정

해조 정유 첨가 꽁치 fillet의 $25\pm 0.5^\circ\text{C}$ 저장기간에 따른 총생균수의 변화를 조사한 결과는 Fig. 36과 같다. 총 생균수도 정유 첨가량이 높을수록 적었는데 저장 21일째 일반 꽁치 fillet이 9.3×10^8 CFU/g에 비해 미역 정유 0.5% 첨가 꽁치 fillet이 1.2×10^7 CFU/g, 다시마 정유 0.5% 첨가 꽁치 fillet이 4.2×10^8 CFU/g로 적었다.

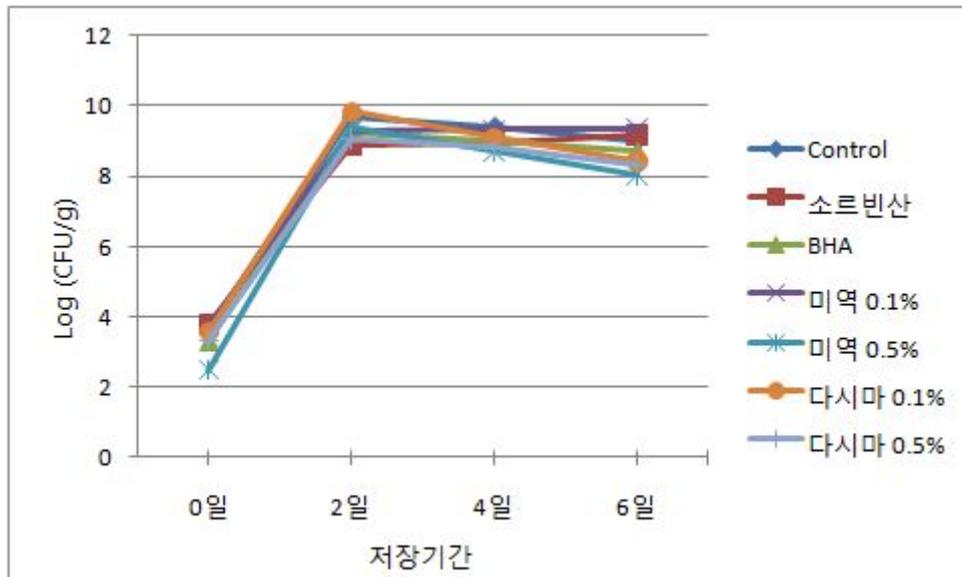


Fig. 36. Changes of the total viable cells of the pacific saury fillet with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^\circ\text{C}$.

라. 해조정유를 활용한 고품위 꽁치 과메기 제품제조

(1) pH 측정

미역, 다시마 정유를 첨가한 꽁치 과메기를 제조, 정유 첨가량을 시료무게의 0.5%로 가온실험으로 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하며 21일간 7일 간격으로 pH의 변화를 조사한 결과는 Fig. 37과 같다. 저장기간동안 pH가 지속적으로 감소하였으며, 합성 항산화제인 BHA 첨가 꽁치 과메기를 제외하고 나머지 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

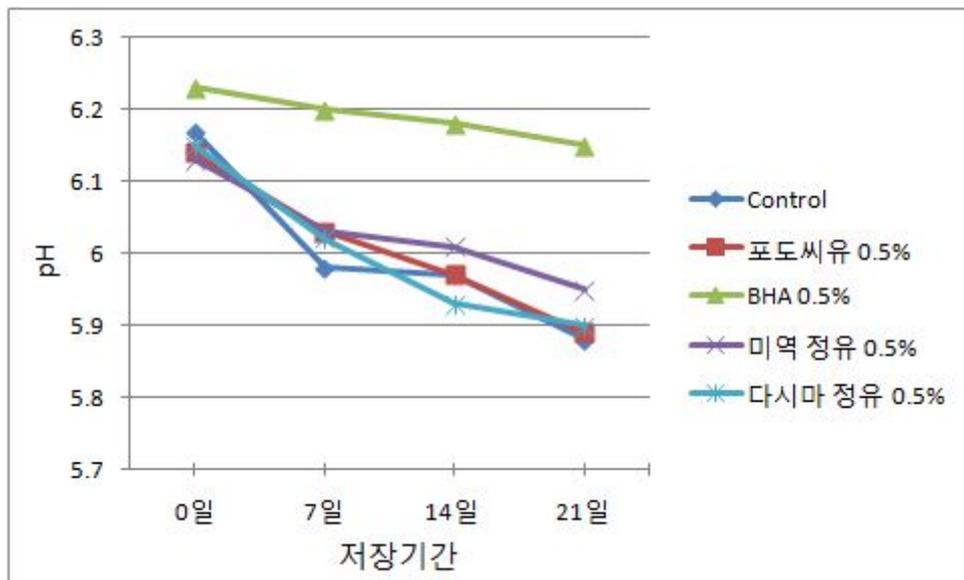


Fig. 37. Changes of the pH of the pacific saury guamegi with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(2) 휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

해조 정유 첨가 콩치과메기의 $25\pm 0.5^\circ\text{C}$ 저장기간에 따른 VBN 함량의 변화를 조사한 결과는 Fig. 38과 같다. VBN함량은 저장기간동안 지속적으로 증가하였으며, 저장 마지막날인 21일째 일반 콩치 과메기에 비해 다시마 정유 첨가 콩치과메기의 VBN 함량이 낮았으며 10.5%로 크게 억제하였다. 이 결과로 다시마 정유 첨가가 콩치과메기의 부패를 억제하였음을 확인하였다.

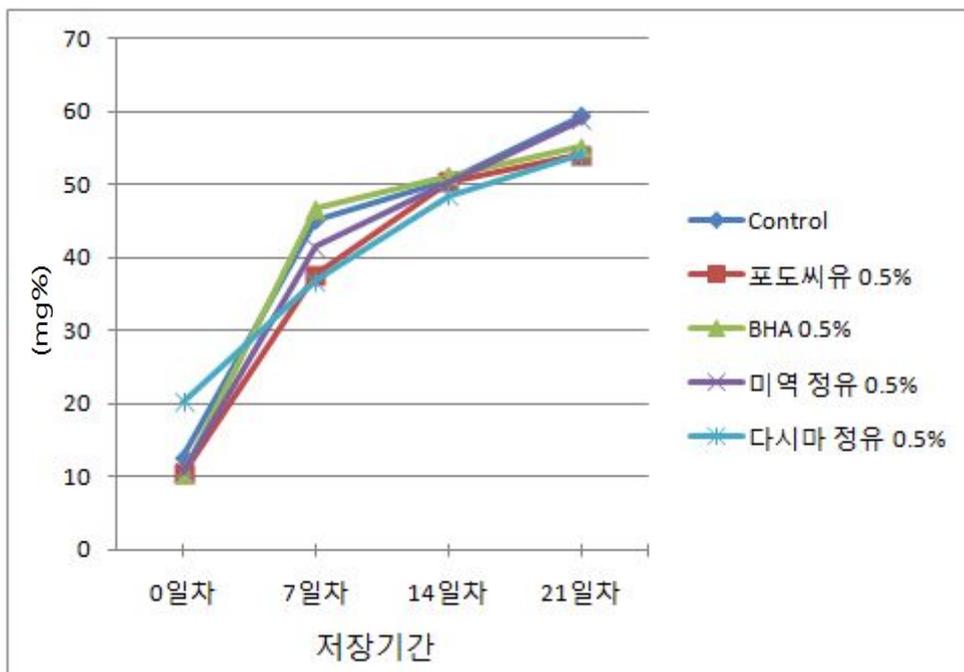


Fig. 38. Changes of the volatile basic nitrogen of the pacific saury guamegi with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^\circ\text{C}$.

(3) Trimethylamine(TMA) 함량 측정

해조 정유 첨가 꽁치과메기의 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 저장기간에 따른 부패취(TMA)의 변화를 조사한 결과는 Fig. 39와 같다. 저장 7일째 일반 꽁치과메기에 비해 해조 정유 첨가 꽁치과메기의 부패취가 유의적으로 낮았으며, 저장기간 마지막날인 21일째 TMA값이 일반 꽁치과메기 23.1 mg/100 g에 비해 미역 정유 0.5% 첨가 꽁치과메기가 23%, 다시마 정유 0.5% 첨가 꽁치과메기는 14%로 낮았으며 이결과로 해조 정유가 꽁치과메기의 부패취를 크게 억제하였음을 확인하였다.

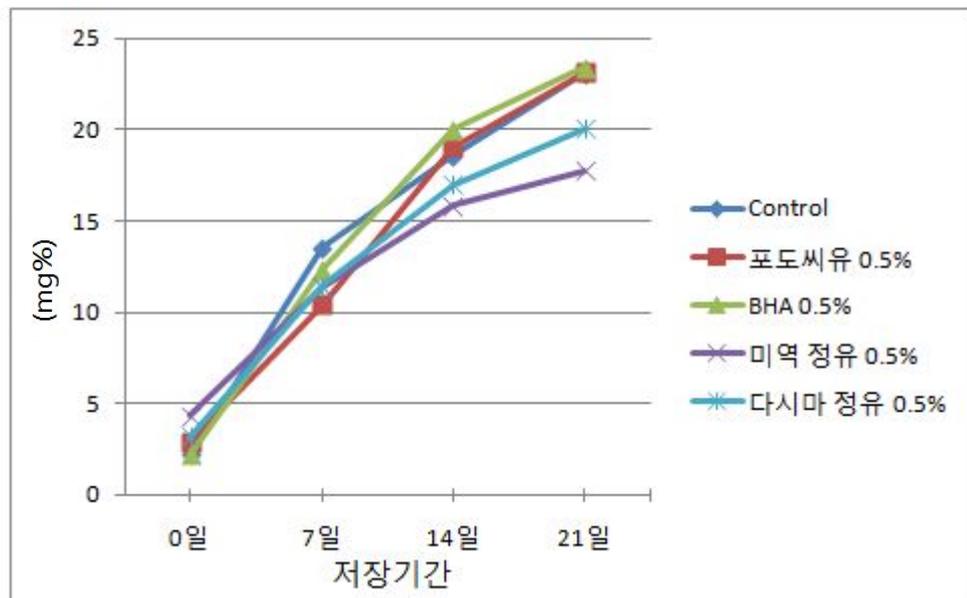


Fig. 39. Changes of the TMA of the pacific saury guamegi with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(4) Thiobarbituric acid(TBA) value

해조 정유 첨가 콩치과메기의 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 저장기간에 따른 TBA의 변화를 조사한 결과는 Fig. 40과 같다. 지질 산화정도를 나타내는 TBA는 저장 마지막날인 21일째 까지 지속적으로 증가하였으나, 시료간에 유의적 차이를 보이지 않았다.

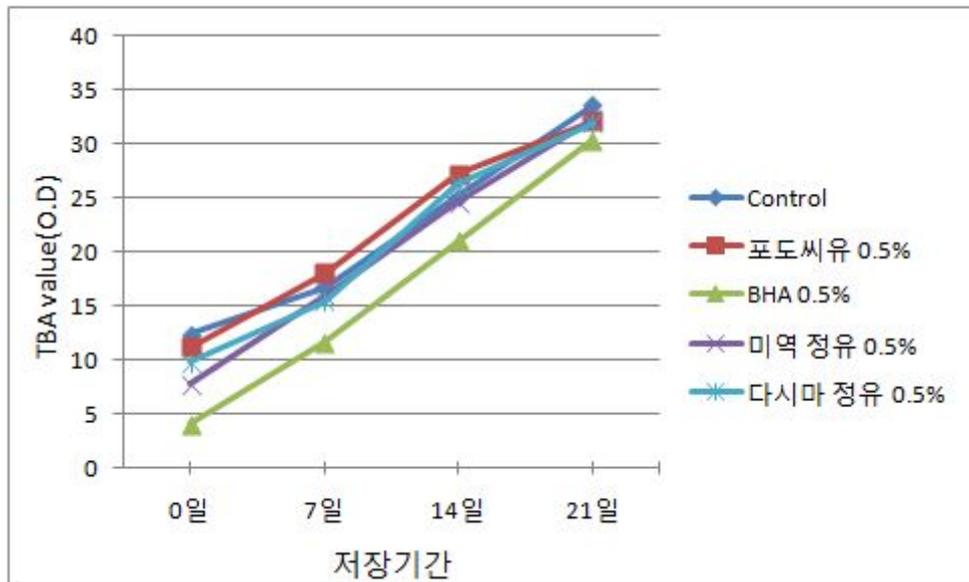


Fig. 40. Changes of the thiobarbituric acid of the pacific saury guamegi with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

마. 해조정유를 활용한 고품위 꽁치 레토르트 제품제조

(1) pH 측정

미역, 다시마 정유를 첨가한 꽁치 레토르트를 제조, 정유 첨가량을 시료무게의 0.5%로 가온실험으로 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하며 42일간 7일 간격으로 pH의 변화를 조사한 결과는 Fig. 41과 같다. 저장기간 동안 pH가 지속적으로 감소하였으며, 일반 꽁치 레토르트에 비해 해조 정유 첨가 꽁치 레토르트의 pH 감소가 완만하였다. 이 결과로 해조 정유가 저장기간 동안 산패로 인한 pH감소를 억제한 것을 확인하였다.

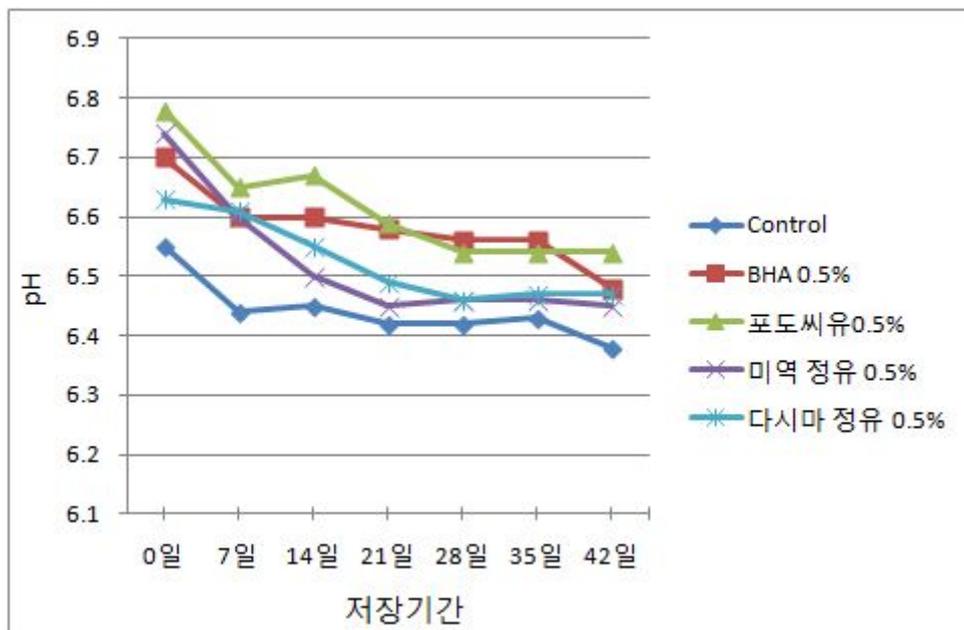


Fig. 41. Changes of the pH of the pacific saury retort with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(2) 휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

해조 정유 첨가 콩치 레토르트에 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 저장기간에 따른 VBN 함량의 변화를 조사한 결과는 Fig. 42와 같다. VBN함량은 저장기간동안 지속적으로 증가하였으며, 저장 마지막날인 42일째 일반 콩치 레토르트에 비해 해조 정유 첨가 콩치 레토르트의 VBN 함량이 낮았으며 다시마 정유 첨가 콩치 레토르트가 20.0%, 미역 정유 첨가 콩치 레토르트가 26.0%로 크게 억제하였다. 이 결과로 해조 정유 첨가가 콩치 레토르트의 부패를 억제하였음을 확인하였다.

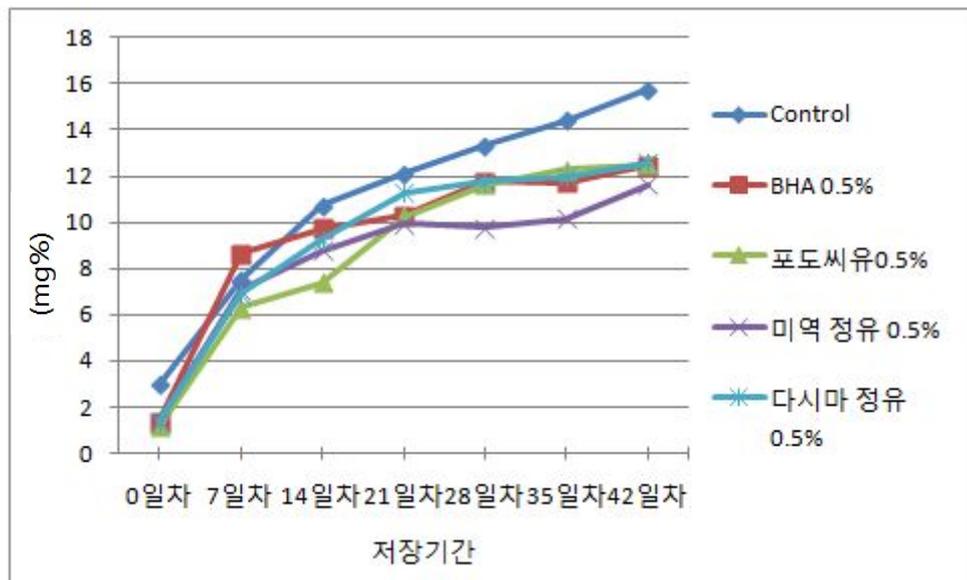


Fig. 42. Changes of the volatile basic nitrogen of the pacific saury retort with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

(3) Thiobarbituric acid(TBA) value

해조 정유 첨가 콩치 레토르트 of $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 저장기간에 따른 TBA의 변화를 조사한 결과는 Fig. 43과 같다. 지질 산화정도를 나타내는 TBA는 저장기간동안 지속적으로 증가하였으며, 저장 7일째부터 일반 콩치 레토르트와 해조정유 첨가 콩치 레토르트간에 유의적인 차이를 보였으며, 마지막날인 35일째까지 해조정유가 콩치 레토르트의 산화를 억제한 것을 확인할 수가 있었다.

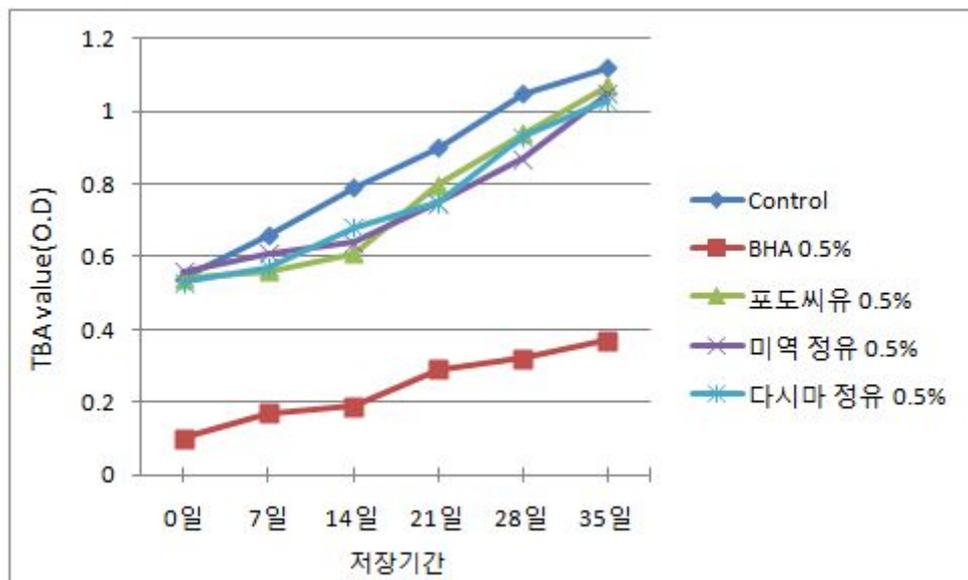


Fig. 43. Changes of the thiobarbituric acid of the pacific saury retort with seaweed essence oil during storage at $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

8. 해조정유활용 젓갈제품의 저장성향상 측정

가. 해조정유를 활용한 고품질 명란젓 제품제조

(1) pH 측정

해조정유를 활용한 고품질 명란젓의 숙성기간에 따른 pH 변화는 Table 30과 같다. 초기 명란젓의 pH는 4.7-6.1 로 시료간에 유의적 차이를 보였다. 일반 명란젓은 저장 9일까지 지속적으로 pH가 증가한 반면에, 항산화제 및 항균제 첨가 명란젓과 해조정유 첨가 명란젓은 pH 변화가 없거나 감소하였다.

Table 30. Changes of the pH of the *Myungran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

시료	저장기간(일)			
	0	3	6	9
Control	6.0±0.0 ^{de}	6.0±0.0 ^d	6.0±0.0 ^b	6.3±0.1 ^a
솔빈산 1%	5.2±0.0 ^g	5.1±0.0 ^h	5.0±0.0 ⁱ	5.0±0.0 ^j
솔빈산 3%	4.7±0.0 ^h	4.9±0.0 ⁱ	4.9±0.0 ^j	4.8±0.0 ^k
포도씨유 1%	6.0±0.0 ^{bcd}	6.0±0.0 ^e	5.8±0.0 ^{ef}	5.9±0.0 ^d
포도씨유 3%	6.0±0.0 ^{cde}	6.0±0.0 ^d	6.1±0.0 ^a	6.2±0.0 ^b
Trehalose 1%	6.0±0.0 ^{cde}	5.9±0.0 ^g	5.9±0.0 ^c	6.0±0.0 ^c
Trehalose 3%	6.1±0.0 ^{abc}	5.9±0.0 ^f	5.8±0.0 ^f	5.6±0.0 ⁱ
김 정유 1%	6.1±0.2 ^{ab}	6.1±0.0 ^a	5.9±0.0 ^d	5.8±0.0 ^e
김 정유 3%	6.1±0.8 ^{abc}	6.1±0.0 ^a	5.9±0.0 ^c	5.8±0.0 ^e
다시마 정유 1%	6.1±0.0 ^a	6.1±0.0 ^a	5.9±0.0 ^{cd}	5.8±0.1 ^e
다시마 정유 3%	6.0±0.1 ^{ef}	6.1±0.2 ^b	5.8±0.0 ^g	5.7±0.0 ^{ef}
미역 정유 1%	6.0±0.0 ^{bcd}	6.1±0.1 ^a	5.8±0.0 ^{ef}	5.7±0.0 ^f
미역 정유 3%	6.0±0.0 ^{bcd}	6.1±0.1 ^a	5.8±0.0 ^e	5.6±0.0 ^{hi}
툇 정유 1%	6.0±0.1 ^{cde}	6.1±0.0 ^b	5.8±0.0 ^e	5.8±0.0 ^e
툇 정유 3%	6.0±0.0 ^f	6.0±0.0 ^c	5.7±0.0 ^h	5.7±0.0 ^{fg}

Values are mean±SD (n=3).

^{a-k}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(2) 휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

해조정유를 활용한 고품질 명란젓의 숙성기간에 따른 VBN 변화는 Table 31과 같다. 초기 VBN함량은 19.3-26.0 mg% 이었으며 일반 명란젓에 비해 해조정유 첨가 명란젓의 VBN함량이 높게 나타났다. 저장 3일째부터는 해조정유 첨가 명란젓이 일반 명란젓뿐만 아니라 솔빈산을 제외한 향산화제와 향균제 첨가 명란젓보다 VBN함량이 낮게 나타났으며, 저장 마지막 날까지 유의적인 차이를 보였다. 이 결과, 해조정유 첨가로 인해 명란젓의 부패를 크게 억제한 것을 확인하였으며, 향산화제와 향균제보다 효과가 좋음을 확인하였다.

Table 31. Changes of the volatile basic nitrogen of the *Myungran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: mg%)

시료	저장기간(일)			
	0	3	6	9
Control	19.8±1.3 ^{cd}	44.8±2.1 ^a	115.9±18.7 ^a	156.9±5.2 ^b
솔빈산 1%	19.3±0.0 ^d	44.9±0.5 ^a	50.6±0.9 ^{de}	52.1±1.4 ^d
솔빈산 3%	19.6±1.1 ^d	42.1±1.6 ^b	43.5±1.6 ^{ef}	50.5±1.2 ^d
포도씨유 1%	21.4±1.0 ^{bcd}	40.9±1.1 ^b	54.6±2.7 ^d	111.9±0.9 ^c
포도씨유 3%	21.8±0.7 ^{bcd}	29.2±1.0 ^e	66.0±4.6 ^c	155.6±1.8 ^b
Trehalose 1%	22.8±2.2 ^b	32.0±0.3 ^d	88.6±0.6 ^b	177.0±4.7 ^a
Trehalose 3%	23.1±0.3 ^b	31.8±0.7 ^d	86.5±1.6 ^b	113.9±3.0 ^c
김 정유 1%	23.6±0.7 ^b	23.4±2.2 ^h	34.7±1.2 ^f	41.4±4.6 ^{gh}
김 정유 3%	23.1±0.5 ^b	25.4±1.0 ^{gh}	35.7±0.5 ^f	40.3±1.1 ^{gh}
다시마 정유 1%	22.1±1.1 ^{bc}	23.8±0.7 ^h	34.3±1.0 ^f	37.6±1.3 ^h
다시마 정유 3%	22.7±2.3 ^b	26.6±1.1 ^{fg}	37.1±1.6 ^f	44.4±2.1 ^{fg}
미역 정유 1%	21.7±0.6 ^{bcd}	36.3±0.6 ^c	35.1±0.2 ^f	41.4±2.4 ^{gh}
미역 정유 3%	21.0±1.2 ^{bcd}	25.3±1.1 ^{gh}	34.1±2.5 ^f	38.5±1.1 ^h
툇 정유 1%	22.5±1.1 ^b	28.2±0.7 ^{ef}	40.2±2.1 ^f	45.2±1.1 ^{ef}
툇 정유 3%	26.0±2.1 ^a	28.1±1.1 ^{ef}	38.7±2.6 ^f	49.2±1.2 ^{de}

Values are mean±SD (n=3).

^{a-h}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(3) Thiobarbituric acid(TBA) value

해조정유를 활용한 고품질 명란젓의 숙성기간에 따른 TBA 변화는 Table 32와 같다. 해조정유 첨가에 따른 명란젓의 항산화효과는 확인 할 수 없었다.

Table 32. Changes of the thiobarbituric acid of the *Myungran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: O.D)

시료	저장기간(일)			
	0	3	6	9
Control	0.1±0.0 ^g	0.1±0.0 ^{def}	0.1±0.0 ^{bcd}	0.1±0.0 ^{ef}
솔빈산 1%	0.1±0.0 ^{defg}	0.2±0.0 ^b	0.3±0.0 ^a	0.4±0.0 ^a
솔빈산 3%	0.1±0.0 ^{cdefg}	0.1±0.0 ^{def}	0.3±0.0 ^a	0.4±0.0 ^a
포도씨유 1%	0.1±0.0 ^g	0.2±0.0 ^a	0.1±0.0 ^{bcd}	0.2±0.0 ^b
포도씨유 3%	0.1±0.0 ^g	0.2±0.0 ^a	0.2±0.0 ^b	0.2±0.0 ^{bcd}
Trehalose 1%	0.1±0.0 ^g	0.1±0.0 ^{ef}	0.1±0.0 ^{cd}	0.2±0.0 ^{bcd}
Trehalose 3%	0.1±0.0 ^{fg}	0.1±0.0 ^f	0.1±0.0 ^{bcd}	0.2±0.0 ^{cdef}
김 정유 1%	0.1±0.0 ^{defg}	0.1±0.0 ^f	0.1±0.0 ^{cd}	0.2±0.0 ^{bcde}
김 정유 3%	0.1±0.0 ^{bcdef}	0.1±0.0 ^f	0.1±0.0 ^{bc}	0.2±0.0 ^{bcdef}
다시마 정유 1%	0.2±0.0 ^{bcd}	0.1±0.0 ^{cd}	0.1±0.0 ^{bcd}	0.2±0.0 ^{cdef}
다시마 정유 3%	0.2±0.0 ^{bcde}	0.1±0.0 ^{def}	0.1±0.0 ^d	0.1±0.0 ^f
미역 정유 1%	0.2±0.0 ^{bc}	0.2±0.0 ^c	0.1±0.0 ^{cd}	0.1±0.0 ^{ef}
미역 정유 3%	0.3±0.0 ^a	0.2±0.0 ^c	0.1±0.0 ^{cd}	0.1±0.0 ^{def}
툇 정유 1%	0.1±0.0 ^{efg}	0.1±0.0 ^{cdef}	0.1±0.0 ^{bcd}	0.1±0.0 ^{def}
툇 정유 3%	0.2±0.0 ^b	0.1±0.0 ^{cde}	0.1±0.0 ^{bcd}	0.2±0.0 ^{bc}

Values are mean±SD (n=3).

^{a-g}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(4) 총균수 측정

해조정유를 활용한 고품질 명란젓의 숙성기간에 따른 총균수의 변화는 Table 33 과 같다. 해조정유 첨가 명란젓의 초기 총균수는 일반 명란젓의 총균수와 비교하여 크게 차이를 보이지 않았으나, 저장 3일째부터 저장마지막날인 9일째까지 총균수가 급격히 증가한 일반 명란젓에 비해 해조정유 첨가 명란젓은 저장기간 동안 초기 총 균수와 비교하여 크게 차이를 보이지 않았다.

Table 33. Changes in the number of total viable cell count of the *Myungran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: CFU/g)

시료	저장기간(일)			
	0	3	6	9
Control	7.1×10 ⁵	1.1×10 ⁷	1.9×10 ⁹	2.2×10 ⁹
솔빈산 1%	6.6×10 ⁵	6.5×10 ⁵	5.7×10 ⁵	7.4×10 ⁸
솔빈산 3%	6.4×10 ⁵	4.6×10 ⁵	4.7×10 ⁵	5.3×10 ⁸
포도씨유 1%	6.8×10 ⁵	5.9×10 ⁵	5.2×10 ⁸	7.9×10 ⁶
포도씨유 3%	8.5×10 ⁵	3.8×10 ⁶	9.6×10 ⁸	1.6×10 ⁹
Trehalose 1%	5.8×10 ⁵	5.2×10 ⁷	3.6×10 ⁸	1.1×10 ⁹
Trehalose 3%	4.8×10 ⁵	1.2×10 ⁶	4.2×10 ⁶	1.2×10 ⁷
김 정유 1%	6.3×10 ⁵	5.7×10 ⁵	6.0×10 ⁵	5.2×10 ⁵
김 정유 3%	7.5×10 ⁵	4.1×10 ⁵	6.5×10 ⁵	3.3×10 ⁵
다시마 정유 1%	4.8×10 ⁵	4.6×10 ⁵	4.7×10 ⁵	5.2×10 ⁵
다시마 정유 3%	3.6×10 ⁵	4.7×10 ⁵	9.0×10 ⁵	4.7×10 ⁵
미역 정유 1%	5.0×10 ⁵	3.3×10 ⁵	6.6×10 ⁵	5.1×10 ⁵
미역 정유 3%	4.5×10 ⁵	4.4×10 ⁵	1.1×10 ⁶	4.4×10 ⁵
툇 정유 1%	4.6×10 ⁵	4.7×10 ⁵	4.3×10 ⁵	4.9×10 ⁵
툇 정유 3%	5.7×10 ⁵	3.1×10 ⁵	9.4×10 ⁵	3.6×10 ⁵

(5) 유산균수 측정

해조정유를 활용한 고품질 명란젓의 숙성기간에 따른 유산균수의 변화는 Table 34와 같다. 저장 6일째 일반 명란젓에 비해 해조정유 첨가 명란젓의 유산균수가 높게 나타났으며, 저장 마지막 날인 9일째는 약 10배 이상으로 높게 나타났다. 총균수는 일반 명란젓이 높았으나, 해조정유 첨가 명란젓의 유산균수가 상대적으로 높게 나타난 결과를 바탕으로 해조정유를 첨가가 명란젓중의 유산균수 상승이라는 발효 제품 품질 지수를 향상시킴을 확인하였다.

Table 34. Changes in the number of lactic acid bacteria of the *Myungran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: CFU/g)

시료	저장기간(일)	
	6	9
Control	3.4×10 ⁴	5.7×10 ⁴
김 정유 1%	5.6×10 ⁵	6.9×10 ⁵
김 정유 3%	5.9×10 ⁵	5.3×10 ⁵
다시마 정유 1%	6.5×10 ⁵	5.7×10 ⁵
다시마 정유 3%	3.5×10 ⁶	4.6×10 ⁵
미역 정유 1%	3.8×10 ⁵	5.4×10 ⁵
미역 정유 3%	4.3×10 ⁵	7.1×10 ⁵
툃 정유 1%	3.1×10 ⁵	1.0×10 ⁶
툃 정유 3%	7.8×10 ⁵	5.1×10 ⁵

나. 해조정유를 활용한 고품질 창란젓 제품제조

(1) pH 측정

해조정유를 활용한 고품질 창란젓의 숙성기간에 따른 pH 변화는 Table 35에 나타냈었다. 창란젓의 초기 pH는 6.0-6.2 로 나타내었으며, 저장 12일까지 지속적으로 증가하여 6.4-7.1 까지 나타냈다. 저장기간 동안 pH 증가폭이 일반 창란젓이 가장 높았으며, 해조정유 첨가 창란젓에 비해 유의적으로 높았다. 이 결과, 해조정유가 알칼리성을 띄는 창란젓의 부패물질을 억제한 것으로 판단된다.

Table 35. Changes of the pH of the *Changran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

시료	저장기간(일)				
	0	3	6	9	12
Control	6.2±0.0 ^a	6.5±0.0 ^a	6.6±0.1 ^a	7.0±0.0 ^a	7.1±0.0 ^a
미역 정유 1%	6.2±0.0 ^a	6.2±0.0 ^{bc}	6.4±0.0 ^b	6.4±0.1 ^c	6.5±0.1 ^b
미역 정유 3%	6.2±0.1 ^a	6.2±0.2 ^b	6.4±0.0 ^b	6.5±0.0 ^b	6.4±0.0 ^c
다시마 정유 1%	6.1±0.0 ^{ab}	6.1±0.1 ^c	6.4±0.0 ^b	6.5±0.0 ^b	6.4±0.0 ^c
다시마 정유 3%	6.0±0.0 ^b	6.2±0.1 ^{bc}	6.4±0.0 ^b	6.4±0.0 ^{bc}	6.4±0.0 ^c
김 정유 1%	6.1±0.1 ^{ab}	6.2±0.0 ^{bc}	6.4±0.0 ^b	6.4±0.0 ^{bc}	6.4±0.0 ^c
김 정유 3%	6.0±0.0 ^b	6.3±0.0 ^b	6.4±0.0 ^b	6.4±0.0 ^{bc}	6.4±0.0 ^c

Values are mean±SD (n=3).

^{a-c}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(2) 휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

해조정유를 활용한 고품질 창란젓의 숙성기간에 따른 VBN 변화는 Table 36과 같다. 초기 VBN함량은 9.3-14.7 mg% 로 일반 창란의 VBN함량이 해조정유 첨가 창란젓보다 높게 나타났다. 저장기간 동안 VBN함량은 지속적으로 증가하였으며, 저장 3일째부터 크게 부패한 일반 창란젓에 비해 저장기간 동안 해조정유 첨가 창란젓의 VBN함량은 증가폭이 좁았다. 이 결과, 해조정유 첨가가 창란젓의 부패를 크게 억제한 것을 확인하였다.

Table 36. Changes of the volatile basic nitrogen of the *Changran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: mg%)

시료	저장기간(일)				
	0	3	6	9	
Control	14.7±0.4 ^a	72.3±0.5 ^a	176.4±2.6 ^a	283.1±5.2 ^a	355.0±2.3 ^a
미역 정유 1%	13.2±2.8 ^{ab}	19.1±0.7 ^b	24.6±2.1 ^b	32.7±2.2 ^c	50.4±3.1 ^b
미역 정유 3%	10.7±0.4 ^d	20.5±3.3 ^b	25.5±1.7 ^b	31.5±0.6 ^c	49.4±2.4 ^{bc}
다시마 정유 1%	11.2±0.6 ^{bc}	17.7±1.4 ^b	22.0±1.2 ^b	40.1±12.6 ^{bc}	52.0±2.9 ^b
다시마 정유 3%	9.6±0.1 ^d	19.0±0.5 ^b	24.1±1.4 ^b	42.2±2.3 ^{bc}	49.8±1.8 ^{bc}
김 정유 1%	9.6±0.4 ^d	18.8±0.4 ^b	23.6±1.4 ^b	48.2±1.5 ^b	50.5±1.3 ^b
김 정유 3%	9.3±0.7 ^d	18.9±0.4 ^b	22.9±1.2 ^b	36.7±7.6 ^{bc}	45.9±1.1 ^c

Values are mean±SD (n=3).

^{a-d}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(3) Thiobarbituric acid(TBA) value

해조정유를 활용한 고품질 창란젓의 숙성기간에 따른 TBA 변화는 Table 37과 같다. 저장 12일째 일반 창란젓과 비교하여 해조정유 첨가에 따른 창란젓의 항산화 효과의 유의적인 차이는 확인 할 수 있었다.

Table 37. Changes of the thiobarbituric acid of the *Changran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

(단위: O.D)

시료	저장기간(일)				
	0	3	6	9	12
Control	0.2±0.0 ^a	0.3±0.0 ^c	0.3±0.0 ^e	0.5±0.0 ^a	0.6±0.0 ^a
미역 정유 1%	0.2±0.0 ^b	0.4±0.0 ^b	0.4±0.0 ^{cd}	0.4±0.0 ^{ab}	0.5±0.0 ^c
미역 정유 3%	0.2±0.0 ^b	0.4±0.0 ^b	0.5±0.0 ^{bc}	0.4±0.0 ^b	0.5±0.0 ^c
다시마 정유 1%	0.2±0.0 ^b	0.4±0.0 ^b	0.4±0.0 ^{de}	0.3±0.0 ^c	0.4±0.0 ^d
다시마 정유 3%	0.2±0.0 ^b	0.3±0.0 ^c	0.3±0.0 ^e	0.2±0.0 ^d	0.2±0.0 ^e
김 정유 1%	0.2±0.0 ^b	0.4±0.0 ^{ab}	0.5±0.0 ^{ab}	0.5±0.0 ^{ab}	0.6±0.0 ^{bc}
김 정유 3%	0.2±0.2 ^b	0.5±0.0 ^a	0.6±0.0 ^a	0.5±0.0 ^a	0.6±0.0 ^b

Values are mean±SD (n=3).

^{a-e}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(4) 총균수 측정

해조정유를 활용한 고품질 창란젓의 숙성기간에 따른 총균수의 변화는 Table 38 과 같다. 해조정유 첨가 창란젓의 초기 총균수는 일반 창젓의 총균수와 비교하여 적었으며, 저장 3일째부터 모든 시료의 총균수가 감소하여 저장마지막날인 9일째까지 변화가 크게 없었다.

Table 38. Changes in the number of total viable cell count of the *Changran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: CFU/g)

시료	저장기간(일)			
	0	3	6	9
Control	6.0×10 ⁵	4.5×10 ⁴	6.0×10 ⁴	6.0×10 ⁴
미역 정유 1%	7.5×10 ⁴	4.0×10 ⁴	6.7×10 ⁴	7.5×10 ⁴
미역 정유 3%	6.6×10 ⁴	4.0×10 ⁴	5.0×10 ⁴	4.3×10 ⁴
다시마 정유 1%	4.2×10 ⁴	4.0×10 ⁴	5.2×10 ⁴	7.0×10 ⁴
다시마 정유 3%	3.0×10 ⁴	4.5×10 ⁴	4.0×10 ⁴	6.0×10 ³
김 정유 1%	4.0×10 ⁴	3.8×10 ⁴	3.6×10 ⁴	5.0×10 ⁴
김 정유 3%	6.4×10 ⁴	4.6×10 ⁴	6.2×10 ⁴	7.0×10 ⁴

(5) 유산균수 측정

해조정유를 활용한 고품질 창란젓의 숙성기간에 따른 유산균수의 변화는 Table 39와 같다. 저장 3일째 일반 창란젓과 해조정유 첨가 창란젓 간의 유산균수 차이를 보이지 않은 반면, 저장 마지막 날인 6일째 약 3배 이상으로 높게 나타났다. 이 결과, 해조정유 첨가가 창란젓중의 유산균수 상승이라는 발효제품 품질 지수를 향상 시킴을 확인하였다.

Table 39. Changes in the number of total viable cell count of the *Changran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: CFU/g)

시료	저장기간(일)	
	3	6
Control	2.0×10 ³	3.0×10 ³
미역 정유 1%	2.0×10 ³	1.0×10 ⁴
미역 정유 3%	8.0×10 ²	1.0×10 ⁴
다시마 정유 1%	4.5×10 ³	1.0×10 ⁴
다시마 정유 3%	2.0×10 ³	2.0×10 ⁴
김 정유 1%	8.0×10 ³	3.0×10 ⁴
김 정유 3%	4.0×10 ³	1.0×10 ⁴

다. 해조정유를 활용한 고품질 오징어젓 제품제조

(1) pH 측정

해조정유를 활용한 고품질 오징어젓의 숙성기간에 따른 pH 변화는 Table 40에 나타냈었다. 오징어젓의 초기 pH는 6.0-6.2 로 나타내었으며, 저장 12일까지 지속적으로 증가하여 6.1-8.2 까지 나타났다. 저장기간 동안 pH 증가폭이 일반 오징어젓이 가장 높았으며, 해조정유 첨가 오징어젓에 비해 유의적으로 높았다. 이 결과, 해조정유가 알칼리성을 띄는 부패물질을 억제한 것으로 판단된다.

Table 40. Changes of the pH of the fermented squid with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

시료	저장기간(일)				
	0	3	6	9	12
Control	6.1±0.0 ^{cd}	6.8±0.1 ^a	7.8±0.1 ^a	8.2±0.0 ^a	8.2±0.0 ^a
미역 정유 1%	6.1±0.0 ^a	6.1±0.0 ^{bc}	6.1±0.0 ^b	6.2±0.0 ^b	6.2±0.0 ^b
미역 정유 3%	6.1±0.0 ^{bcd}	6.1±0.0 ^d	6.1±0.0 ^b	6.2±0.0 ^b	6.2±0.0 ^c
다시마 정유 1%	6.1±0.0 ^{abc}	6.1±0.0 ^{bc}	6.1±0.0 ^b	6.2±0.0 ^b	6.2±0.0 ^{bc}
다시마 정유 3%	6.1±0.0 ^{abc}	6.0±0.0 ^d	6.1±0.0 ^b	6.1±0.0 ^{bc}	6.1±0.0 ^d
김 정유 1%	6.1±0.0 ^{ab}	6.1±0.0 ^b	6.1±0.0 ^b	6.2±0.0 ^a	6.2±0.0 ^{bc}
김 정유 3%	6.1±0.0 ^{abc}	6.1±0.0 ^{cd}	6.1±0.0 ^b	6.2±0.0 ^b	6.2±0.0 ^{bc}
툇 정유 1%	6.1±0.0 ^d	6.1±0.0 ^{bc}	6.1±0.0 ^b	6.2±0.0 ^b	6.2±0.0 ^{bc}
툇 정유 3%	5.9±0.0 ^e	6.0±0.0 ^d	6.0±0.0 ^c	6.1±0.0 ^c	6.1±0.0 ^d

Values are mean±SD (n=3).

^{a-e}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(2) 휘발성염기질소(VBN) 함량 측정

해조정유를 활용한 고품질 오징어젓의 숙성기간에 따른 VBN 변화는 Table 41과 같다. 초기 VBN함량은 13.1-20.4 mg% 로 일반 오징어젓의 VBN함량이 해조정유 첨가 오징어젓보다 높게 나타났다. 저장기간 동안 VBN함량은 지속적으로 증가하였으며, 저장 3일째부터 크게 부패한 일반 오징어젓에 비해 저장기간 동안 해조정유 첨가 오징어젓의 VBN함량은 증가폭이 좁았다. 이 결과, 해조정유 첨가가 오징어젓의 부패를 크게 억제한 것을 확인하였다.

Table 41. Changes of the volatile basic nitrogen of the fermented squid with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

(단위: mg%)

시료	저장기간(일)				
	0	3	6	9	12
Control	15.8±0.9 ^a	130.9±7.4 ^a	350.9±14.2 ^a	458.0±14.2 ^a	526.8±7.7 ^b
미역 정유 1%	13.1±1.2 ^c	16.8±1.2 ^b	20.9±1.4 ^{bc}	20.0±1.0 ^b	36.1±1.0 ^b
미역 정유 3%	15.0±0.5 ^{bc}	14.6±3.3 ^b	18.9±0.8 ^c	20.1±0.4 ^b	36.1±0.8 ^b
다시마 정유 1%	15.6±2.1 ^{bc}	21.2±6.5 ^b	23.4±4.4 ^{bc}	23.7±3.5 ^b	36.4±1.4 ^b
다시마 정유 3%	15.4±1.8 ^{bc}	17.2±0.4 ^b	19.1±0.5 ^c	24.0±3.3 ^b	36.9±1.4 ^b
김 정유 1%	20.4±6.1 ^{bc}	17.6±0.4 ^b	24.3±0.7 ^{bc}	20.2±0.8 ^b	36.8±1.6 ^b
김 정유 3%	15.2±0.5 ^{bc}	17.7±1.4 ^b	24.4±3.0 ^{bc}	22.4±1.6 ^b	35.8±1.1 ^b
툇 정유 1%	15.0±0.6 ^{bc}	18.4±0.5 ^b	22.6±0.9 ^{bc}	20.8±0.2 ^b	37.0±1.0 ^b
툇 정유 3%	18.1±0.9 ^{ab}	18.7±0.2 ^b	26.0±2.1 ^b	24.2±2.1 ^b	35.8±1.1 ^b

Values are mean±SD (n=3).

^{a-c}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(3) Thiobarbituric acid(TBA) value

해조정유를 활용한 고품질 오징어젓의 숙성기간에 따른 TBA 변화는 Table 42와 같다. 일반 오징어젓과 비교하여 해조정유 첨가 오징어젓의 항산화효과는 유의적인 차이는 확인 할 수 없었다.

Table 42. Changes of the thiobarbituric acid of the fermented squid with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: O.D)

시료	저장기간(일)				
	0	3	6	9	12
Control	0.1±0.0 ^f	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^b	0.1±0.0 ^b	0.1±0.0 ^a
미역 정유 1%	0.1±0.0 ^{ef}	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^f	0.1±0.0 ^c	0.1±0.0 ^{abc}
미역 정유 3%	0.1±0.0 ^d	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^{cd}	0.1±0.0 ^c	0.1±0.0 ^{abc}
다시마 정유 1%	0.1±0.0 ^{de}	0.1±0.0 ^c	0.1±0.0 ^{ef}	0.1±0.0 ^c	0.1±0.0 ^c
다시마 정유 3%	0.1±0.0 ^d	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^{de}	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^{abc}
김 정유 1%	0.2±0.0 ^c	0.1±0.0 ^b	0.1±0.0 ^{cd}	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^{abc}
김 정유 3%	0.2±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a
툇 정유 1%	0.1±0.0 ^{de}	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^d	0.1±0.0 ^c	0.1±0.0 ^{bc}
툇 정유 3%	0.2±0.0 ^b	0.1±0.0 ^b	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^{bc}	0.1±0.0 ^{ab}

Values are mean±SD (n=3).

^{a-f}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(4) 총균수 측정

해조정유를 활용한 고품질 오징어젓의 숙성기간에 따른 총균수의 변화는 Table 43과 같다. 저장 초기에 일반 오징어젓에 비해 해조정유 첨가 오징어젓의 총균수가 많았으나 3일째부터 저장마지막날인 9일째까지 총균수가 급격히 증가한 일반 오징어젓에 비해 해조정유 첨가 오징어젓은 저장기간 동안 초기 총균수와 비교하여 크게 차이를 보이지 않았다. 이 결과, 해조정유가 오징어젓의 미생물증식을 억제하는 것을 확인하였다.

Table 43. Changes in the number of total viable cell count of the fermented squid with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

(단위: CFU/g)

시료	저장기간(일)			
	0	3	6	9
Control	4.5×10 ⁴	8.0×10 ⁴	4.0×10 ⁵	2.0×10 ⁶
미역 정유 1%	4.5×10 ⁴	5.0×10 ⁴	4.0×10 ⁴	4.3×10 ⁴
미역 정유 3%	6.0×10 ⁴	5.0×10 ⁴	7.0×10 ⁴	5.0×10 ⁴
다시마 정유 1%	7.0×10 ⁴	6.0×10 ⁴	8.0×10 ⁴	8.6×10 ⁴
다시마 정유 3%	6.5×10 ⁴	4.0×10 ⁴	8.0×10 ⁴	6.0×10 ⁴
김 정유 1%	8.0×10 ⁴	5.5×10 ⁴	4.5×10 ⁴	6.5×10 ⁴
김 정유 3%	9.0×10 ³	5.0×10 ³	1.2×10 ³	6.0×10 ³
툇 정유 1%	6.0×10 ⁴	5.0×10 ⁴	6.8×10 ⁴	7.0×10 ⁴
툇 정유 3%	8.5×10 ⁴	5.0×10 ⁴	4.4×10 ⁴	8.0×10 ⁴

(5) 유산균수 측정

해조정유를 활용한 고품질 오징어젓의 숙성기간에 따른 유산균수의 변화는 Table 44와 같다. 저장 3일째부터 일반 오징어젓에 비해 해조정유 첨가 오징어젓 간의 유산균수가 4배 이상 많았으며, 6일째 약 2배 이상으로 높게 나타났다. 이 결과, 해조정유 첨가가 오징어젓중의 유산균수 상승이라는 발효제품 품질 지수를 향상시킴을 확인하였다.

Table 44. Changes in the number of total viable cell count of the fermented squid with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

(단위: CFU/g)

시료	저장기간(일)	
	3	6
Control	2.0×10 ²	1.0×10 ³
미역 정유 1%	2.0×10 ³	4.0×10 ⁴
미역 정유 3%	2.0×10 ³	2.0×10 ⁴
다시마 정유 1%	2.2×10 ³	1.0×10 ⁴
다시마 정유 3%	4.8×10 ³	2.0×10 ⁴
김 정유 1%	2.0×10 ³	3.0×10 ⁴
김 정유 3%	1.0×10 ³	2.0×10 ³
툃 정유 1%	7.2×10 ³	5.0×10 ⁴
툃 정유 3%	8.0×10 ²	1.0×10 ⁴

9. 해조정유 첨가 수산가공품의 포장법에 따른 저장성향상 측정

가. 해조정유 첨가 명란젓의 포장법에 따른 제품제조

(1) pH 측정

포장법에 따른 해조정유 첨가 명란젓의 숙성기간 pH 변화는 Table 45에 나타나 있다. 초기 pH는 5.1 이었으며 저장 6일째까지 지속적으로 pH가 증가하다 저장 9 일째부터 저장 마지막 날까지 pH가 지속적으로 감소하였다. pH 감소폭은 AL 소재 필름이 가장 높았으며, PE 필름이 가장 낮았다.

Table 45. Changes in the pH of the *Myungran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	5.1±0.0 ^a	5.9±0.0 ^b	6.0±0.0 ^a	5.9±0.0 ^a	6.0±0.0 ^a
PET+CPP	5.1±0.0 ^a	5.9±0.0 ^a	5.8±0.1 ^b	5.7±0.0 ^b	5.7±0.0 ^b
PET+AL+CPP	5.1±0.0 ^a	5.9±0.0 ^a	5.9±0.0 ^a	5.4±0.0 ^e	5.4±0.0 ^c
PET+AL+CPP 질소충진	5.1±0.0 ^a	5.9±0.0 ^a	5.9±0.0 ^a	5.4±0.0 ^d	5.3±0.0 ^d
PET+AL+CPP 진공포장	5.1±0.0 ^a	6.0±0.0 ^a	6.0±0.0 ^a	5.7±0.0 ^c	5.4±0.0 ^d

Values are mean±SD (n=3).

^{a-d}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(2) VBN 측정

포장법에 따른 해조정유 첨가 명란젓의 숙성기간 VBN함량 변화는 Table 46에 나타내었다. VBN함량은 저장 마지막 날까지 지속적으로 증가하였으며, 저장 3일째 부터 포장법에 따라 유의적인 차이를 보였다. 저장 12일째 PET+AL+CPP laminated 된 retort pouch 용기의 VBN함량이 가장 낮았으며, 합기포장과 질소충전을 하였을 때 보다 진공포장을 하였을 때 VBN함량이 낮았다. 이 결과, 제조한 해조정유 첨가 명란젓의 상용 유통 제품화를 위해 PET+AL+CPP laminated된 retort pouch 용기에 진공포장을 하는 것이 부패억제에 바람직하다고 판단된다.

Table 46. Changes in the volatile basic nitrogen of the *Myungran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

(단위: mg%)

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	20.4±1.7 ^a	32.7±0.5 ^d	50.2±1.4 ^a	96.1±1.5 ^b	128.2±5.6 ^{ab}
PET+CPP	20.4±1.7 ^a	34.4±1.0 ^{bc}	43.5±0.8 ^b	58.1±1.1 ^c	115.8±5.8 ^{cd}
PET+AL+CPP	20.4±1.7 ^a	35.4±1.0 ^b	49.3±2.8 ^a	106.9±5.1 ^a	120.9±2.2 ^{bc}
PET+AL+CPP 질소충전	20.4±1.7 ^a	43.1±0.0 ^a	49.4±1.6 ^a	98.6±4.6 ^a	131.8±2.5 ^a
PET+AL+CPP 진공포장	20.4±1.7 ^a	34.2±1.2 ^{bc}	48.0±3.0 ^{ab}	62.7±3.6 ^c	111.7±1.4 ^d

Values are mean±SD (n=3).

^{a-d}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(3) Thiobarbituric acid(TBA) value

포장법에 따른 해조정유 첨가 명란젓의 숙성기간 TBA 변화는 Table 47에 나타내었다. 저장 3일째부터 포장법에 따라 TBA값이 유의적으로 차이를 보였으며 저장 12일째는 포장용기에 따른 유의적인 차이는 없었으나, 질소충전을 하였을 때 TBA 값이 가장 낮았다. 이 결과로 해조정유 첨가 명란젓을 질소충전하여 포장하였을 때 산화를 방지하는 것을 알 수 있었다.

Table 47. Changes of the thiobarbituric acid of the *Myungran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

(단위: O.D)

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.4±0.0 ^a
PET+CPP	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^{ab}	0.1±0.0 ^c	0.1±0.0 ^c	0.4±0.0 ^a
PET+AL+CPP	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^b	0.1±0.0 ^c	0.2±0.0 ^b	0.4±0.0 ^a
PET+AL+CPP 질소충전	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^{ab}	0.2±0.0 ^b	0.1±0.0 ^b	0.3±0.0 ^b
PET+AL+CPP 진공포장	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^c	0.1±0.0 ^d	0.1±0.0 ^c	0.4±0.0 ^a

Values are mean±SD (n=3).

^{a-d}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

나. 저장용기에 따른 해조정유 첨가 창란젓 제품제조

(1) pH 측정

포장법에 따른 해조정유 첨가 창란젓의 숙성기간 pH 변화는 Table 48에 나타내었다. 저장기간 동안 pH는 지속적으로 상승하였으며, 증가폭은 PE필름과 AL필름이 가장 낮았다.

Table 48. Changes in the pH of the *Changran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	6.0±0.0 ^a	6.6±0.0 ^a	6.6±0.0 ^a	6.7±0.0 ^e	6.8±0.0 ^c
PET+CPP	6.0±0.0 ^a	6.5±0.0 ^b	6.6±0.0 ^a	6.7±0.0 ^d	6.9±0.0 ^b
PET+AL+CPP	6.0±0.0 ^a	6.4±0.0 ^d	6.6±0.0 ^a	6.8±0.0 ^b	6.8±0.0 ^c
PET+AL+CPP 질소충전	6.0±0.0 ^a	6.6±0.0 ^a	6.6±0.0 ^a	6.9±0.0 ^a	7.0±0.0 ^b
PET+AL+CPP 진공포장	6.0±0.0 ^a	6.5±0.0 ^c	6.6±0.0 ^a	6.8±0.0 ^c	7.2±0.0 ^a

Values are mean±SD (n=3).

^{a-e}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(2) VBN 측정

포장법에 따른 해조정유 첨가 창란젓의 숙성기간 VBN함량 변화는 Table 49에 나타내었다. VBN함량은 저장 마지막 날까지 지속적으로 증가하였으며, 저장 3일째 부터 포장법에 따라 유의적인 차이를 보였다. 저장 12일째 PET+AL+CPP laminated 된 retort pouch 용기의 VBN함량이 가장 낮았으며, 합기포장과 질소충전을 하였을 때 보다 진공포장을 하였을 때 VBN함량이 낮았다. 이 결과, 제조한 해조정유 첨가 창란젓의 상용 유통 제품화를 위해 PET+AL+CPP laminated된 retort pouch 용기에 진공포장을 하는 것이 부패억제에 바람직하다고 판단된다.

Table 49. Changes in the volatile basic nitrogen of the *Changran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: mg%)

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	8.4±0.9 ^a	26.5±1.0 ^a	135.3±1.2 ^a	175.7±5.1 ^b	210.9±6.5 ^b
PET+CPP	8.4±0.9 ^a	19.2±1.1 ^c	113.5±0.2 ^b	158.6±0.7 ^c	183.2±7.4 ^c
PET+AL+CPP	8.4±0.9 ^a	19.7±0.4 ^c	136.0±2.2 ^a	200.9±3.1 ^a	213.0±0.9 ^{ab}
PET+AL+CPP 질소충전	8.4±0.9 ^a	19.2±0.3 ^c	113.2±1.6 ^b	164.8±3.0 ^c	225.6±9.5 ^a
PET+AL+CPP 진공포장	8.4±0.9 ^a	24.8±0.7 ^b	107.6±1.6 ^c	109.0±1.2 ^d	124.3±0.7 ^d

Values are mean±SD (n=3).

^{a-d}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(3) Thiobarbituric acid(TBA) value

포장법에 따른 해조정유 첨가 창란젓의 숙성기간 TBA 변화는 Table 50에 나타내었다. 저장 3일째부터 포장법에 따라 TBA값이 유의적으로 차이를 보였으며 저장 6일째부터 저장 12일째까지 가스충전방법에 따른 TBA의 변화는 없었으나, AL필름이 다른 용기에 비해 산화를 억제한 것을 확인 할 수 있었다.

Table 50. Changes of the thiobarbituric acid of the *Changran Jeot* with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

(단위: O.D)

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.4±0.0 ^a
PET+CPP	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^b	0.2±0.0 ^b	0.2±0.0 ^b	0.3±0.0 ^b
PET+AL+CPP	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.2±0.0 ^b	0.2±0.0 ^c	0.3±0.0 ^c
PET+AL+CPP 질소충전	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^b	0.2±0.0 ^b	0.2±0.0 ^c	0.3±0.0 ^c
PET+AL+CPP 진공	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^b	0.2±0.0 ^b	0.2±0.0 ^c	0.3±0.0 ^c

Values are mean±SD (n=3).

^{a-c}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

다. 저장용기에 따른 해조정유 첨가 오징어젓 제품제조

(1) pH 측정

포장법에 따른 해조정유 첨가 오징어젓의 숙성기간 pH 변화는 Table 51에 나타내었다. pH는 저장 마지막 날까지 지속적으로 증가하였으며, 저장 3일째부터 포장법에 따라 유의적인 차이를 보였다. 저장 12일째 PET+AL+CPP laminated된 retort pouch 용기의 pH가 가장 낮았으며, 합기포장과 질소충전을 하였을 때 보다 진공포장을 하였을 때 pH가 낮았다.

Table 51. Changes of the pH of the fermented squid with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	6.7±0.0 ^a	6.8±0.0 ^c	7.6±0.0 ^a	8.0±0.0 ^a	8.3±0.0 ^a
PET+CPP	6.7±0.0 ^a	6.7±0.0 ^d	7.3±0.0 ^a	7.5±0.0 ^c	7.7±0.0 ^d
PET+AL+CPP	6.7±0.0 ^a	6.8±0.0 ^b	7.3±0.0 ^a	7.5±0.0 ^c	7.8±0.0 ^c
PET+AL+CPP 질소충전	6.7±0.0 ^a	6.9±0.0 ^a	7.5±0.0 ^a	7.8±0.0 ^b	8.0±0.0 ^b
PET+AL+CPP 진공	6.7±0.0 ^a	6.8±0.0 ^e	6.7±0.0 ^b	7.3±0.0 ^d	7.6±0.0 ^e

Values are mean±SD (n=3).

^{a-e}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(2) VBN 측정

포장법에 따른 해조정유 첨가 오징어젓의 숙성기간 VBN함량 변화는 Table 52에 나타내었다. VBN함량은 저장 마지막 날까지 지속적으로 증가하였으며, 저장 3일째 부터 크게 부패하였으며, 포장법에 따라 유의적인 차이를 보였다. 저장 12일째 AL 필름의 VBN함량이 가장 낮았으며, 질소충전과 진공포장을 하였을 때 보다 합기포장을 하였을 때 VBN함량이 낮았다. 이 결과, 제조한 해조정유 첨가 오징어젓의 상용 유통 제품화를 위해 AL필름에 진공포장을 하는 것이 부패억제에 바람직하다고 판단된다.

Table 52. Changes in the volatile basic nitrogen of the fermented squid with seaweed essence oil during storage at 25±0.5°C

(단위: mg%)

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	13.9±2.0 ^a	252.0±0.8 ^a	341.2±6.6 ^a	443.8±5.8 ^a	584.7±10.0 ^a
PET+CPP	13.9±2.0 ^a	227.0±4.5 ^b	294.5±2.4 ^b	376.5±10.9 ^b	515.8±11.6 ^a
PET+AL+CPP	13.9±2.0 ^a	196.0±2.2 ^c	285.0±1.7 ^b	369.7±7.0 ^b	445.9±9.7 ^c
PET+AL+CPP 질소충전	13.9±2.0 ^a	143.4±0.6 ^e	255.2±3.7 ^c	439.9±6.1 ^a	492.2±8.8 ^b
PET+AL+CPP 진공포장	13.9±2.0 ^a	150.3±2.2 ^d	280.9±3.8 ^{bc}	344.7±2.2 ^c	472.6±10.0 ^b

Values are mean±SD (n=3).

^{a-c}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

(3) Thiobarbituric acid(TBA) value

포장법에 따른 해조정유 첨가 오징어젓의 숙성기간 TBA 변화는 Table 53에 나타내었다. 저장 12일째까지 포장법에 따라 TBA값이 유의적으로 차이를 보이지 않았다.

Table 53. Changes of the thiobarbituric acid of the fermented squid with seaweed essence oil during storage at 25±0.5℃

(단위: O.D)

저장용기	저장기간 (일)				
	0	3	6	9	12
PE	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^{ab}	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a
PET+CPP	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^b	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a
PET+AL+CPP	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^b	0.1±0.0 ^b	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a
PET+AL+CPP 질소충전	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a
PET+AL+CPP 진공포장	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^{ab}	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a

Values are mean±SD (n=3).

^{a-b}Values with the same letter are not significantly different(p<0.05).

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발 목표의 달성도 및 관련분야의 기술발전예의 기여도

1. 연구개발의 목표 및 연구수행내용

구분	세부연구개발 목표	달성도	연구개발 수행내용
1차 년도	고수율로 해조 정유제조해내는 방안모색	100 %	해조내 기존 존재유지함량이상의 고형물이 해조 정유획분에 추출 되었는지 여부 확인
	추출 해조 정유의 향산화성, 향 균성, 향충치성 확인 검증	100 %	추출해조정유의 향산화성, 향균성 (향충치성 포함)이 기존 유기용매 로 추출한 지방획분의 기능성 보 다 우수한지 여부 확인
2차 년도	해조정유 향성인병 효능에 대 한 동물실험 시도 확인	100 %	동물실험을 통한 항고지혈증·항 동맥경화증 기능성 검증 확인하였 고, 항고혈압성분의 존재도 확인함
	추출 해조 정유의 향산화성을 활용한 산화방지 고품질 수산 가공품 제조	100 %	고도불포화지방산 다량 함유 생선 의 4가지의 가공품화에 해조정유 향산화성 적용 및 효과 확인
	추출 해조 정유의 향균성을 활 용한 저장성 향상 및 부패 억 제 고품질 수산가공품 제조	100 %	고도불포화지방산 다량 함유 생선 의 4가지의 가공품화에 해조정유 향균성 적용 및 효과 확인
3차 년도	해조정유첨가로 고품위양념젓 갈 제품제조시험	100 %	3가지의 양념젓갈제품에 해조정유 적용 및 유통기한 연장효과 확인
	해조정유첨가 고품위 수산가공 제품의 포장방법결정 시험 및 시제품화	100 %	해조정유 첨가 양념젓갈제품의 포 장방법결정 및 시제품화
	해조정유의 향충치성을 활용한 의약외품 제품화	100 %	해조정유 첨가 향충치성의약외품 가글type 시제품화

2. 관련분야의 기술발전예의 기여도

가. 향기제품산업

- 해조정유제품의 항성인병활성 확인 검증 및 기능성정유제품에로의 신규개발성공으로 신규향기제품산업 분야 및 건강식품산업 등에의 다양한 활용처 개척에 기여가능

나. 수산가공제품산업

- 원료어획량은 많으나 가공중 지방산패로 인해 고품위 가공식품화가 곤란하였던 값싼 등푸른 생선의 고품위 가공식품 재품화에 기여가능
- 사양산업중의 하나인 젓갈제품의 고기능성화에 활용함으로써 젓갈산업부흥에 크게 기여가능

다. 건강기능식품제품산업

- 해조정유 또는 해조조체자체로서도 우수한 건강기능식품화 가능함을 증명해 보였음
- 해조의 건강기능성의 essence의 하나로 해조정유의 건강기능 효능 확인함으로써 해조의 건강기능식품화 형태의 다양화에 기여

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구개발 성과

나. 논문게재 성과

게재 연도	논문명	저자			학술 지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신 저자	공동 저자				
2010	Antiarteriosclerosis and Antihyperlipidemia functionality of Sea mustard (<i>Undaria pinnatifida</i>) in Sprague Dawley rats	이승주	조순영	최종원 하왕현 최혜진	한국수산과학회지	Vol. 13, No. 3	국내	
2010	해조류로부터 항고혈압성분의 분리정제	이승주	조순영	하왕현 최혜진	한국수산과학회지	Vol. 43, No. 5	국내	
2011	Antiobesity and Antihyperlipidemia functionality of Sea tangle (<i>Laminaria Japonica</i>) in Sprague Dawley Rats	이승주	조순영	최종원 김종욱 장혁재	Fisheries and Aquatic Sciences	Vol. 14, No. 4	국내	
2011	툃(<i>Hizikia fusiformis</i>)의 Sprague-Dawley 계 흰쥐에서 항고지혈증 및 항동맥경화증 효능	이승주	조순영	최종원 임미진 김광우	한국수산과학회지	Vol. 44, No. 5	국내	

나. 특허성과

출원된 특허의 경우				
출원 연도	특 허 명	출원인	출원국	출원번호
2009	항산화 활성을 갖는 다시마 정유 추출물을 유효성분으로 함유하는 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2009-0106644
2009	항산화 활성을 갖는 톳 정유 추출물을 유효성분으로 함유하는 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2009-0106646
2009	김 정유 추출물을 유효성분으로 함유하는 항균 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2009-0106643
2009	미역 정유 추출물을 유효성분으로 함유하는 항균 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2009-0106645
2009	다시마 정유추출물에서 항균성물질의 분리 및 동정	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2009-0121687
2009	해조류 추출물을 유효성분으로 함유하는 세균성 감염 질환 또는 혈전 관련 질환의 예방 및 치료용 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2009-0080089
2010	김을 유효성분으로 함유하는 비만 또는 고지혈증 및 동맥경화성 혈관계 질환의 예방 및 치료용 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2010-0079516
2010	톳을 유효성분으로 함유하는 비만 또는 고지혈증 및 동맥경화성 혈관계 질환의 예방 및 치료용 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2010-0079519
2010	다시마를 유효성분으로 함유하는 비만 또는 고지혈증 및 동맥경화성 혈관계 질환의 예방 및 치료용 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2010-0079517
2010	미역을 유효성분으로 함유하는 비만 또는 고지혈증 및 동맥경화성 혈관계 질환의 예방 및 치료용 조성물	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2010-0079518
2011	다시마를 함유한 저장성이 탁월하고 미네랄이 다량 함유된 간고등어를 제조하는 제조방법	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2011-123365
2011	미역을 함유한 저장성이 탁월하고 미네랄이 다량 함유된 간고등어를 제조하는 제조방법	강릉원주대학교산학협력단	대한민국	10-2011-123366

다. 경제사회 과급성과

산업지원 성과 (단위 : 건)			
기술지도	기술이전	기술평가	합계
5	1	0	6

2. 연구성과 활용계획

가. 활용계획

- 한국의 기능성화장품은 미백, 주름개선, 자외선 차단제 등 3가지로 한정되어 있어 기능성 화장품 소재의 활발한 발전이 없으나, 먹는 화장품 식품시장은 매우 크기 때문에 해조 정유의 항고혈압성, 항혈전성, 항동맥경화증능력 등이 먹어서 피부를 좋게 하고 혈액을 좋게 하는 key첨가소재로서 해조 정유가 매우 적합하다고 봄
- 천연 식품 첨가물 소재(항산화제·항방부첨가제)로서 적색어류가 갖고 있던 문제점, 즉 지방산패에 의한 비린내와 산패물에 의한 찌린 맛을 해소함으로써 수산가공업체 기술력 향상과 매출 증대를 동시에 추구할 수 있음
- 벤처기업 (주)해송바이오산업의 해조정유 신제품화를, 그리고 강릉수협은 고품위 지역수산물 가공 신제품 제조에 해조 정유를 적극 활용함으로써 고부가가치 수산물 가공신상품 출시 가능하도록 하겠음

나. 해조정유를 이용한 속초양념젓갈에 적용

- 항산화성, 항균성이 뛰어난 해조정유를 이용한 고품위 속초양념젓갈(오징어젓, 명란젓, 창란젓)에 적용하여 유통기한 연장능을 확인하였으며, 젓갈의 기존 저장성문제를 해결하여 건강기능식품으로서 산업화를 가능 하게끔 하였음
- 현재 젓갈업체에 1건의 특허기술이전을 하였으며, 앞으로 젓갈업체에 특허기술이전을 2건 정도 더 할 예정임

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1 절. 연구사례의 조사

1. 외국의 경우

- 프랑스에서는 해조엑기스추출물을 제조하여 화장품회사에 보습제, 자외선 차단제로서 공급하고 있음
- 일본에서는 다시마에센스나 향을 제조하는 특허출원 사례는 4건 있으나 모두 분해엑기스 추출형태이고, 그 외 해조에 대한 정유추출 시도는 없음
- 미국에서는 착즙형태로 오렌지로부터 정유를 추출해내는 특허출원 사례는 있으나 해조정유 관련은 아직 보고 없음

2. 국내의 경우

- 국내에서는 허브 정유만이 일반 화장품, 생활용품 등에 대부분 사용되고 있으며, 추출법 또한 외국에서는 허브 정유를 수증기 증류법으로 추출하여 산업화 되고 있는 것과는 달리 국내에서의 추출법은 이러한 방법과 달라 수율이 적을 뿐아니라 향취 자체도 상이하야 대부분 수입에 의존하고 있는 실정임
- 다시마 등과 같은 해조 정유를 제조하는 곳은 없으며, 연구 개발된 사례도 없음

3. 조사연구개발사례에 대한 평가

- 국내에서는 아직까지 해조 정유에 대한 기술개발이 이루어지지 않은 상태이며, 프랑스의 Secma사만이 오직 해조엑기스추출물을 제조하여 국내 화장품회사에 평균 3-4가지 해조추출물을 납품하고 있으나, 단순히 보습성이 우수하니 사용해 보라는 수준임
- 또한, 국내에서 상용화되어 있는 허브 정유의 추출방법에 대한 기술개발 이루어지지 않고 있어 대부분 수입에 의존하고 있음
- 해조 정유 추출 방법에 대한 기술개발의 확립과 고기능성의 해조 정유를 개발함으로써 허브 정유 시장에 버금가는 고수익을 창출할 것으로 기대됨

제 2 절 세부 기술사항의 검토 분석

1. 국내·외 기술수준 비교표

구 분	국 내	국 외
향료 산업	- 원료는 수입에 의존하고 있으며 대부분 화장품, 향수 산업으로 발달	- 선진국들은 이미 활성화되어 대부분의 아시아 국가들의 화장품, 향수산업에 영향을 줌
해조 정유 산업	- 개발 연구 사례 없음	- 프랑스 Secma사만이 화장품원료로 개발 상용화함 - 일본은 단지 일반식물·꽃 정유를 얻는 정도의 수준임

2. 주요 기술사항 및 그 기술수준의 분석평가

가. 외국의 경우

- 해조 정유 추출 기술 : 프랑스 Secma사가 보유하고 있으나, 효율적인 추출법이라 하기 힘들
- 해조 정유의 기능성 기능성 확인 기술 : 프랑스 Secma사에서도 특별히 해조 정유의 기능성을 보는 수준의 제품 상용화하고 있지 못함
- 해조 정유의 기능성 활용 기술 : 프랑스 Secma사에서도 아직 항정신성 기능성 등 본 과제에서 추구하려는 기능성 활용기술 보유하고 있지 못하나, 일본은 식품감성공학기법으로 접근 활용 시도중임

나. 국내의 경우

- 해조 정유 추출 기술 : 아직 시도되고 있지 않고, 제주도에서 일부 라벤다 등 허브로부터 간이 수증기증류법으로 제조하는 수준임
- 해조 정유의 기능성 확인 기술 : 항정신성, 신경안정 등의 기능성 확인 능력은 없으나 향충치성·항생성·항균성·항방부성·항산화성 기능 확인은 충분히 가능함
- 해조 정유의 기능성 활용 기술 : 해조 정유의 향충치성 활용 기술, 항균·항산화기능의 가공식품 제품에의 응용기술 등은 보유하고 있으나, 항정신성에 대한 기능

성 활용기술은 보유하고 있지 않음

다. 개발되었거나 개발 중인 새로운 기술

- 해조를 진공동결건조한 뒤 인체에 무해한 ethanol로 정유 및 기능성 성분을 100% 추출해내는 기술은 신청자의 예비실험에서 확보했고, 이는 본 과제를 통해 기존 수증기 증류법과 그 효과를 비교 검토해 볼 예정임
- 상기 추출법은 해조로부터 지용성 기능성분을 단시간내 무공해적으로 추출해내는 방법으로서 초임계추출이나 아임계추출법보다 더 현장적용하기 쉬운 기술이라 판단됨
- 즉, 초임계 추출이나 아임계추출법으로도 유용 생리활성물질과 정유를 단번에 무공해적으로 추출해낼 수는 있으나 장치가 너무 고가이고 한번에 처리할 수 있는 원료량이 g단위로서 계속 반복해야 하므로 현실성이 없어 현장 적용 불가능함

3. 기존 공정방법 및 기술의 사례 조사 평가분석

가. 기술적인 평가

- 천연정유의 제조 방법으로는 그 원료와 향료의 존재 상태 및 성질 등에 따라 다르며 일반적인 방법은 증류법이 많이 이용되고 있음

(1) 수증기 증류법

- 식물의 잎이나 줄기 또는 뿌리 등을 채집·음건해 절단 파쇄한 후 이를 원료로 하여 증기를 통과시켜 향기성분을 수증기와 함께 공비현상을 이용, 냉각기를 통과시켜 응축·분리, 정유와 유출수를 얻는다. 수증기 증류법은 간편하고 효율적인 방법이나 정유함량이 적고 정유에 수용성 성분이 많거나 열에 의해 손상될 우려가 있는 것은 적합지 않다.

(2) 압착에 의한 제조법

- 압착에 의한 제조는 주로 정유함량이 많고 가격이 저렴한 과일의 과피에서 에센셜 오일을 추출하는데 이용된다. 압착에 의해 추출된 성분은 불순물이 많아 원심분리기로 제거시킨다. 압착법은 수작업에 의한 압착정

유와 기계적인 압착 정유의 2가지가 있다.

(3) 흡수에 의한 제조법

- 정제된 동물성 유지에 꽃향기를 흡수, 포화시킨 것을 알콜로 처리해 향료를 분리, 취득한 것이다. 이는 고온의 작용을 받지 않는 성질을 이용한 것으로 자스민 오일 등이 있다.

(4) 용제추출에 의한 제조법

- 용제로서는 주로 극성인 용매와 비극성인 용매를 사용하는데 비극성 용매로는 하이드로카본으로 조성된 헥산, 벤젠 등이 이용되며, 극성 용매로는 메탄올, 에탄올, 아세톤 등이 이용된다. 용제를 추출할 때는 향기 성분뿐 아니라 수지·왁스·색소가 동시에 추출되어 반고형 상태로 점성을 가지고 있다.
- 본 과제에서는 기본적인 수증기증류법과 효소를 처리한 후 수증기 증류법의 방법을 시도하면서 진공동결건조 후 에탄올 추출해내어 고수율 및 고기능성의 최적 해조 정유제조 방법을 확립 모색할 것임

나. 경제적인 평가 : 제조원가, 투자규모 등

- 국내 향료산업은 원료에 대한 수입의존율이 100%에 이른며, 우리나라 향료 생산업체가 차지하는 비중은 전체시장의 20%에 불과함
- 특히, 향료의 내수시장은 연간 1000억원 규모를 보이고 있어 다른 동남아시아의 향료시장 규모에 비해 크고 조합 완제품의 수입비중이 높아 국산화율이 저조한 것으로 분석됨
- 국내산 해조를 이용하여 최적의 정유 추출방법을 모색함으로써 100% 수입에 의존하고 있는 정유 생산 시장의 새로운 활로를 개척할 수 있음

다. 산업기술에 미치는 파급효과 분석

- 향료시장은 나날이 증가하고 있으며 해조 정유 기술을 독자적으로 개발해 넘으로써 수산가공품 천연식품첨가제 및 기능성소재 식품으로서 획기적인 아이টে으로

급부상할 것임

4. 주요 관련기술의 검토

- 단지 국내에서는 라벤다 등의 허브 정유를 제조해내는 기술만이 있을 뿐이며 해조 정유에 관한 제조업체 및 연구 개발 사례가 없는 실정임

제 3 절 특허 및 기술도입과의 중복여부에 대한 검토·분석

1. 관련기술의 특허내용과 차이점 비교

- 국내에서는 각종 해조들과 한약재를 섞어 한약 달이듯이 하여 얻은 추출액으로 화장품팩을 만드는 시도만 하였음
- 프랑스에서는 해조추출물을 국내외 화장품회사에 보습성 등의 일반 화장품 기본 요구능에 탁월함을 강조하면서 공급하고 있을 뿐 식품첨가제 및 기능성 소재 제품화는 하지 않았음
- 일본에서는 해조 정유를 얻는 실험을 하는 수준이며, 해조 정유의 기능성 및 그것을 활용한 소재화 시도나 상품화에는 아직 이르지 못했음

2. 관련기술도입 내용과 차이점 비교

- 향균·항산화식품첨가제는 아직 지방상태로 유통되는 경우가 많은데 이는 유통시킨 뒤 사용해야하므로 사용에 제약이 있거나 사용시 제품에 잘 섞이지 않는 문제점이 있음
- 또한, 해조중의 flavonoid, 색소, sterol 등의 기능성이 좋은 것은 지용성이어서 유기용매를 사용해야 하며, 식품첨가물로 첨가할 시에는 물로 녹여서 첨가해야 함
- 이를 해결하기 위해 인공유화제로 유화시키는데, 이는 천연향균·항산화제의 의미를 퇴색시키는 문제점 발생
- 천연 향균·항산화제인 해조 정유를 추출함에 수증기 증류법을 사용하면

이미 수증기와 함께 정유가 추출되면서 물에 녹아 있어 식품첨가제나 기타 기능성 첨가제로 활용하기에 매우 적합함

제 4 절 원재료에 대한 검토 분석

1. 원재료의 국내·외 수급현황(생산, 수요, 수출입량 등) 및 그 전망

○ 적색어류 및 해조류의 생산량

(단위 : M/T)

구 분	2002	2003	2004	2005	2006
가자미류	13,816	13,017	12,038	15,319	19,879
도루묵	3,381	1,928	2,472	2,401	2,647
양미리	7	1,047	2,419	3,925	4,197
고등어류	141,751	122,044	184,274	135,596	101,427
꽁치	7,099	1,424	2,960	4,319	697
해조류	10,427	5,154	9,060	15,212	13,754

출처 : 통계청 사회통계국 농어업생산통계과

- 적색어류와 해조류의 국내 어획 및 생산이 꾸준히 늘고 있어, 고부가가치 산업화가 크게 요구되는 시점임

○ 품종별 수산가공품 생산량

단위 : M/T

종류별	시도별	2002	2003	2004	2005	2006
통조림	전국	83,043	80,608	159,638	138,585	149,487
	서울특별시	-	-	-	-	-
	부산광역시	-	16	-	68	-
	대구광역시	-	-	-	-	-
	인천광역시	-	-	-	-	-
	광주광역시	-	-	-	-	-
	대전광역시	-	-	-	-	-
	울산광역시	-	-	-	-	-
	경기도	-	-	-	-	-
	강원도	-	-	-	-	-
	충청북도	-	-	-	-	-
	충청남도	-	-	-	-	-
	전라북도	-	-	-	-	44
	전라남도	16,039	4,553	5,020	9,053	9,008
	경상북도	3,098	670	1,044	-	1,959
	경상남도	63,906	75,369	153,574	129,464	138,476
	제주도	-	-	-	-	-
	원양	-	-	-	-	-
	해조제품	전국	82,946	28,511	71,265	153,597
서울특별시		277	145	-	-	-
부산광역시		903	1,112	1,532	3,020	1,951
대구광역시		-	-	-	-	-
인천광역시		197	109	-	29	106
광주광역시		-	-	-	-	-
대전광역시		-	-	-	-	-
울산광역시		882	905	223	461	156
경기도		716	758	7,171	4,802	2,532
강원도		82	100	139	11	19
충청북도		-	-	0	-	-
충청남도		536	1,036	1,386	150	5,444
전라북도		726	1,065	690	767	852
전라남도		78,074	22,422	59,464	143,923	123,270
경상북도		-	-	-	-	-
경상남도		171	117	107	191	800
제주도		382	742	553	243	538
원양		-	-	-	-	-

출처 : 농림수산식품부 수산정책관 수산정책과

- 적색어류인 양미리·고등어·꽂치 등을 해조 정유를 사용하여 비린내제어된 고품위 지역수산가공품으로 제조함으로써 지역경제에 이바지할 수 있음

- 또한, 해조 정유의 여러 가지 가능성을 검증 확인하여 각종 식품첨가제로서 이용함으로써 해조 정유 자체만으로도 고부가가치상품화 가능

2. 원재료에 관련된 국내·외 기술의 현황분석 및 전망

- 국내 기술의 현황 및 전망
 - 국내의 허브 정유는 일부 제조하는 곳이 있으나 기술적인 면에서는 걸음마 단계여서 대부분 수입에 의존하고 있음
 - 다시마 등 해조 정유를 제조하는 곳은 없으며 연구 개발된 사례도 없음
 - 정유시장은 꾸준히 증가하는 추세이며 대부분 수입에 의존하고 있는 실정에 비추어 볼때 해조정유를 개발함으로써 향후 꾸준히 성장할 수 있는 블루칩이 될 수 있음

<Essential oil market in Korea>

구 분	2002	2003	2004	2005	2006
생산량(M/T)	13.94	12.77	15.79	14.94	16.18
수입실적 (mill US\$)	636.04	671.65	806.81	865.81	815.90

- 국외 기술의 현황 및 전망
 - 선진국의 경우에는 허브정유 관련 하여서는 이미 오래전부터 전통적으로 민간 요법으로 뿐만 아니라 일상 생활용품으로 자리잡고 사용되어 오고 있음
 - 하지만, 해조정유 관련하여서는 프랑스 secma사만이 많은 해조추출물을 국내외 화장품회사에 보습성 등의 일반 화장품 기본 요구능에 탁월함을 강조하면서 공급하고 있음
 - 일본에서는 일부 연구자에 의해 해조 정유 얻는 실험을 하는 수준이고, 이의 가능성을 확인하여 그것을 활용한 소재화 시도나 상품화에는 아직 이르지 못했음
 - 해조정유의 개발을 통하여 건강 지향적 요소와 웰빙컨셉의 세계적인 추세에 따라 국내에서의 소비뿐만 아니라 수출 상품으로서의 물꼬를 틀것으로 기대됨

제 5 절 산업계 현황

1. 제품수명주기 (Product life cycle)

가. 생산하려는 제품이 세계시장에서 현재 어느 상태에 있으며

나. 생산 또는 수출을 시작할 때에 동 제품이 선진국에서는 어느 상태에 있을 것인지 각각 아래의 커브위에 (1), (2)로 표기함

	(1)	(2)		
개발기	도입기	성장기	포화기	쇠퇴기

2. 시장규모

- 주시장(국가 또는 지역) : 미국 , 영국 , 프랑스
- 시장규모

구 분	현재의 시장규모	예상되는 시장규모
세계시장규모	545 백만 \$	(2010 년) 918 백만 \$
한국시장규모	1967 백만원	(2010 년) 2558 백만원

3. 세계시장의 성격

- 안정성이 큼 ■ 영속성이 있음
- 성장성이 있음 ■ 독점성 (또는 과점성)이 있음

4. 본 기술을 보유하고 있는 외국회사는?

5개사 미만 ■, 회사 : Secma (국명 : 프랑스)와 일본 Kao 등 2개사

제 7 장 해조정유의 수율 추정

해조정유의 수율은 해조에 들어있는 기름(油)의 양이 건조해조당 2~4% 함유되어 있으나, 본 해조정유를 추출해내기 위해서는 주정을 사용해야 되고, 동시에 식품첨가물로 해조정유를 사용할 때에는 해조정유 1g당 주정 20ml이상은 첨가하여야만 사용가능하다. 따라서, 건조해조로부터의 해조정유의 실질적인 추출수율은 20%이상이라 할 수 있으므로, 해조정유의 산업적 이용에는 단가면에서 큰 문제가 없을 것으로 사료된다.

제 8 장 해조정유의 항충치성을 이용한 의약외품 시제품화 시도

주정에 녹인 해조정유를 95%이상되는 물(증류수)와 함께 Homogenizer로써 고속분쇄 mixing함으로써 가글type의 항충치성 의약외품 용액 시제품화 가능하였다[본 책자 143쪽 시제품사진 참조].

또한, 껌base에 항충치성 해조정유를 섞어서 껌으로 제조해냄으로써 항충치성 껌 시제품화도 가능하였다.

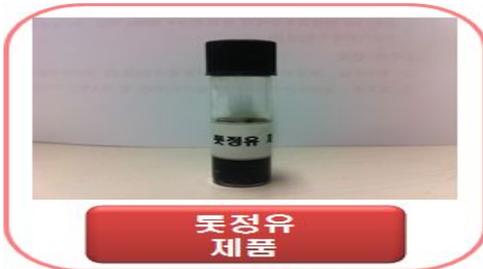
제 9 장 해조정유의 시장성 예상

해조정유의 항충치성을 활용하여 가글type 의약외품제품화 및 항충치성껌에의 항충치성 첨가제로서의 사용이 가능하므로 해조정유의 시장성은 매우 클 것으로 예상된다.

아울러, 현 2000억원 국내시장을 형성하고 있는 젓갈제품의 천연 항균제로서의 사용이 크게 기대된다.

또한, 해조향에 의한 정신건강에의 기여로 도시인들을 위한 건강정유로서 새로운 향제품으로서의 신제품화도 충분히 가능하다고 사료된다.

제 10 장 해조정유 활용 가공제품



꽃정유
제품



미역정유
제품



다시마정유
제품



김정유
제품



향충치성의약품시제품
[향충치성기름제품]



미역정유 첨가 콩치
레토르트 제품
<PET+AL+PP 적층외포장지>



다시마정유 첨가 오징어젓
진공포장 제품
<PET+PP 적층외포장지>



다시마정유 첨가 간고등어
진공포장제품
<PET+Nylon 적층외포장지>

제 11 장 참고문헌

- 1) Blois MS. 1958. Antioxide determination by the use of a stable free radical, *Nature*, 4617: 1198.
- 2) Piddock LJV. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J Appl Bacteriol*, 68: 307.
- 3) Kudo T and Safa N. 1990. Development of a simple method for antibiotic susceptibility testing in algae using paper disks. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56: 455.
- 4) Bligh EG and Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J Biochem Physiol*, 37: 911-917.
- 5) 강소영, 오명주, 신종암. 2005. 한국산 해조류의 어류병원성세균에 대한 항균활성, *한국어병학회지*, 18: 147-156.
- 6) Kuhnan J. 1976. In *The Flavonoids : A class of semi-essential food components : their role in human nutrition*. *World Rev. Nutr Diet*, 24: 117-191.
- 7) 이옥환, 정승현, 손종연. 2004. 용매별 정향 추출물의 항균활성, *한국식품영양과학회지*, 33: 494-499.
- 8) 김용두, 김경제, 조덕봉. 2003. 표고버섯(*Lentinus edodes*)추출물의 항균활성, *한국식품저장유통학회지*, 10: 89-93.
- 9) 한완수. 2004. 丹蔘으로부터 항균물질의 분리, *한국생약학회지*, 12: 179-182
- 10) Fringe CS and Dunn RM. 1980. The Colorimetric method for determination of serum total lipids based on the sulfo-phosphanilli reaction an *J. Clin pathol*, 52: 82-92.
- 11) Richmond W. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. *Clin Chem*, 22: 1579.
- 12) McGowan MW, Artiss JD and Stramdborgh DR. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem*, 29: 538.
- 13) Chen PS, Toribara TY and Warnerm H. 1956. Microdetermination of

- phosphorus. *Anal Chem*, 1756-1760.
- 14) Noma S, Matsushita T and Komori. 1986. High-density lipoprotein cholesterol levels of very old people in the diagnosis of dementia. *Oxford Journals*, 15: 267-270.
 - 15) Friedwald WT, Levy RL and Fedreicson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without was of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 18: 499-506.
 - 16) Yagi K. 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids*, 45: 337-342.
 - 17) Kobatake Y, Saito M, Kuroda K, Kobayashi S and Innami S. 1987. Influence of fish consumption on serum lipid and lipid peroxide concentrations in middle aged subjects, *J Japan Soc Nutr & Food Sci*, 40: 103-110.
 - 18) Oyanagui Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem*, 42: 290-296.
 - 19) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Rardall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193: 265.
 - 20) Cushman DW and Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharm*, 20: 1637.
 - 21) Toshiro Matsui, Hiroshi Matsufuji, and Yutaka Osajima. 1992. Colorimetric Measurement of Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitory Activity with Trinitrobenzene Sulfonate. *Biosci Biotech Biochem*, 56(3): 517-518.
 - 22) Hu YM. 2005. *Le grand chef*. 10, Gimmyoung, Korea, 10-101.
 - 23) Korean food industry association. 1999. *Food codex*. Hanil printing. Seoul. 715-717.
 - 24) 도정룡, 김기주, 조진호, 김영명, 김병삼, 김현구, 임상동, 이수원. 2005. 생약재의 항균, 항고혈압 및 항암 활성, *한국식품과학회지*, 37: 206-213.
 - 25) Kuhnan, J. 1976. In *The Flavonoids : A class of semi-essential food components : their role in human nutrition*. *World Rev Nutr Diet*, 24: 117-191.

- 26) Hertog MGL, Fesken SF, Hollman PCH, Katan MB and Kromhout D. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342: 1007-1011.
- 27) Monforte MT, Trovato A, Kirjavainen S, Forestieri AM and Galti EM. 1995. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (note II): Hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rat. *Farmacologia*, 50: 595-599.
- 28) Kawaguchi K, Mizuno T, Aida K and Uchino K. 1997. Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. *Bioscience Biotechnol Biochem*, 61: 102-104.
- 29) Cha JY, Kim SY, Jeong SJ and Cho YS. 1999. Effects of hesperetin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. *Korean J Life Science*, 9: 389-394.
- 30) Sohn JS and Kim MK. 1998. Effects of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. *Korean Nutr Soc*, 31: 684-696.
- 31) Abe S and Kaneda T. 1973. Studies on the Effect of Marine Products on Cholesterol Metabolism in Rats - VIII. The Isolation of Hypocholesterolemic Substance from Green Laver. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 39(4): 383.
- 32) Maruyama S, Mitachi H, Awaya J, Kurono M, Tomizuka N and Suzuki H. 1987. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of the C-terminal hexapeptide of α 1-casein. *Agric Biol Chem*, 51: 2557-2567.
- 33) Park YH, Jung DS and Kim ST. 1997. Processing and Using of Fishery Science. Hyungseol Press, Seoul, Korea, 1-73.
- 34) Yang ST and Lee HS. 2000. Effects of modified atmosphere packaging on the shelf-life of semi-dried mackerel. *J Kyungshung Univ*, 21: 141-154.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 수산기술사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 수산기술사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.