

전통 명태식해(食醃)의 생리기능성

차용준[†] · 이조은 · 정은경* · 김 훈 · 이정석**

창원대학교 식품영양학과

*동광제약

**동서바이오테크(주)

Physiological Functionalities of Traditional Alaska Pollack *Sik-hae*

Yong-Jun Cha[†], Cho-Eun Lee, Eun-Kyung Jeong*, Hun Kim and Jung-Suck Lee**

Dept. of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

*Dongkwang Pharm Co. Ltd., Pyongtaek 459-040, Korea

**Dongseo Biotech Co. Ltd., Busan 608-810, Korea

Abstract

The physiological functionalities such as antimicrobial activity, antioxidative activity, angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and bile acid binding capacity were measured for the solvent-fractionated methanol extracts of Alaska pollack *sik-hae* at various time intervals during fermentation. Two temperature schemes of fermentation were studied: constant temperature of 20°C (A) and stepwise change from 20°C (10 days) to 5°C (B). The methanol extracts of Alaska pollack *sik-hae* showed antimicrobial activities against 9 kinds of microorganisms including pathogenic and food poisoning strains. Among these, gram positive bacteria, in particular *Staphylococcus aureus*, showed more sensitivity to the extracts than gram negative bacteria and fungi. Antioxidative activity (EDA₅₀) increased until 15 days (A, 0.92 mg/mL) or 16 days of fermentation (B, 0.94 mg/mL), and then gradually decreased. ACE inhibitory activity was observed in all fermentation time except 0 day, and bile acid binding capacity at 15 days (A) and 16 days (B) only.

Key words: Alaska pollack *sik-hae*, antimicrobial activity, antioxidative activity, ACE inhibitory activity, bile acid binding capacity, physiological functionality

서 론

전통적 수산발효식품 중에서 식해법은 우리나라 동해안 및 남해 동부지역에서 성행한 발효법으로서, 소금 이외에 첨가된 맥아가루나 곡류 등의 유기산 발효에 의해 pH가 낮게 유지됨으로 염해법(鹽醃法)에 비해 비교적 낮은 식염농도(10% 이하)에서도 미생물의 생육 억제가 가능한 방법이다(1,2). 따라서 식해법은 저식염 발효제품을 지향하고자 하는 최근의 추세에 부합되는 방법이라 생각된다.

한편 식해와 제조원리가 같은 김치는 부패균과 병원성균의 성장과 증식을 저해하며, 부재료로 첨가되는 고춧가루에 의한 항돌연변이 효과와 유산균, 식이섬유소 및 마늘에 의한 항암 효과가 인정되고 있다(3-5). 이에 김치와 발효원리가 같고 첨가되는 부재료가 유사한 식해에서도 김치에서와 똑같은 생리 기능적 특성이 기대되며, 식해의 주재료인 생선류에는 동맥경화증을 예방하는 EPA와 DHA의 함량이 다른 식품에 비해서 높고, 숙성후에는 생선의 뼈가 연화되어 가식할 수 있으므로

칼슘 공급원으로도 우수하리라 생각된다.

따라서 식해는 전통발효식품으로서 우리의 입맛에 맞을 뿐 아니라 영양학적 측면이나, 시장성측면에서도 유리한 점이 기대된다. 하지만 식해에 관한 연구는 최근 일반적인 이화학적 및 미생물학적 성상에 관한 연구가 주를 이루고 있으며(6-8) 식해류의 생리기능성에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

이에 본 연구에서는 우리나라 동해안에서 어획되는 대표적인 어종이며, 주위에서 쉽게 구할 수 있는 명태를 원료로 하여 전통적 명태식해를 제조한 다음 저장·숙성조건에 따른 식해의 생리기능성을 구명하고자 하였다

재료 및 방법

실험재료

동결된 명태(Alaska Pollack, *Theragra chalcogramma*)를 경남 마산시 소재 어시장에서 구입하였으며, 부재료, 즉 무, 쌀, 조, 고춧가루, 엿기름(자굴산식품), 마늘, 생강, 소금(산내들 천

[†]Corresponding author. E-mail: yjcha@sarim.changwon.ac.kr
Phone: 82-55-279-7485, Fax: 82-55-281-7480

일염) 등은 경남 마산시 소재 농산물도매시장에서 구입하여 실험에 사용하였다.

명태식해의 배합비 결정 및 제조

명태식해 제조를 위해 전통적으로 제조된 문헌(1,6-9)을 기준으로 하여 Table 1과 같이 배합비를 결정하였다. 제조에서는 내장과 머리 및 꼬리를 제거한 동결명태를 해동한 다음, 뼈를 포함하여 폭 1 cm간격으로 썰어 식염 7%을 마른간법으로 가한 후, 5°C에서 24시간 방치하여 물기를 제거하였고, 무채도 무를 1 cm정도로 채를 썰어 식염 7% 수준으로 하여 5°C에서 24시간 방치하고 탈수하여 사용하였다. 물기를 제거한 동태육에 Table 1과 같은 배합비로 먼저 무채는 고춧가루와 버무리고, 곡류밥(멥쌀 및 조를 1:1로 섞음)은 따뜻할 때 엇기름가루를 뿌리고 나서 마늘, 생강을 버무렸다. 준비한 재료를 모두 버무리 유리 용기에 넣어 넣은 다음 밀봉하여 20°C 및 변온조건(20°C에서 10일간 숙성시킨 다음 5°C에서 저장함)에 저장하면서 발효숙성시켰다.

생리활성 물질의 추출

각 시료별 생리활성물질의 추출은 저온실(4°C)에서 methanol로서 용매추출을 하였다. 즉 균질화된 생시료 100 g에 6배량(v/w)의 methanol을 넣고 6시간 동안 교반 추출한 다음 Whatman No.2 여과지로 여과한 후 회전식 진공증발기(Eyela, N-INW, Japan)로 농축시켜 dimethyl sulfoxide에 녹인 다음 냉장고(4°C)에 보관하면서 시료로 사용하였다.

항균성 측정

항균성 시험에 사용한 균주는 식품의 부패나 식중독 원인균, 병원성균으로 gram 양성균 4종 및 gram 음성균 3종을 사용하였고, 피부염과 관련된 진균류도 2종을 선택하여 사용하였다(Table 2). 미생물들은 각각 3회 계대배양하여 활성화시킨 균주를 항균성 시험에 사용하였고, 미생물 배양에 사용된 배지는 세균의 경우 Muller-Hinton broth를, 곰팡이는 YM broth를 각각 사용하였다. 항균력 측정용 배지는 Table 2(Difco사, USA)와

Table 1. Recipe for the preparation of Alaska pollack sik-hae

Material	Composition (%)
Salted Alaska pollack ¹⁾	47.4
Cooked rice	9.5
Cooked millet	9.5
Red pepper (powder)	7.0
Malt powder	3.8
Salted shredded Chinese radish ²⁾	19.0
Garlic	2.4
Ginger	1.4
Total	100.0

¹⁾With sprinkling 7% table salt (w/w) on the surface of Alaska pollack meat, salted Alaska pollack was leaved for 24 hr at 5°C, and followed by washing and draining.

²⁾With sprinkling 7% table salt (w/w) on the surface of shredded Chinese radish, it was leaved for 24 hr at 5°C, and followed by washing and draining.

Table 2. Reference strains used for antibacterial activity experiment

Strain	Strains No. ¹⁾	Medium
Gram (+) bacteria		
<i>Bacillus subtilis</i>	KCTC 1021	Muller-Hinton agar
<i>Bacillus cereus</i>	KCTC 1012	Muller-Hinton agar
<i>Staphylococcus aureus</i>	KCTC 1916	Muller-Hinton agar
<i>Listeria monocytogenes</i>	KCTC 3710	Muller-Hinton agar
Gram (-) bacteria		
<i>Escherichia coli</i>	KCTC 1924	Muller-Hinton agar
<i>Salmonella typhimurium</i>	KCTC 2515	Muller-Hinton agar
<i>Enterobacter aerogenes</i>	KCTC 2190	Muller-Hinton agar
Mold		
<i>Aspergillus flavus</i>	KCTC 6961	Potato dextrose agar
<i>Aspergillus niger</i>	KCTC 6982	Potato dextrose agar

¹⁾Korean collection of type cultures.

같다.

항균성 시험은 paper disc법을 사용하였다. 즉 멸균 petri dish에 Muller Hinton agar를 분주하여 하룻밤 건조시킨 후, 균액을 각 petri dish 당 0.1 mL 분주하여 고체 배지 표면에 균일하게 도말하였다. 숙성기간별 일정농도의 추출물을 멸균된 paper disc(φ 8 mm, Toyo Seisakusho Co., Japan)에 흡수, 건조시켜 균주가 도말된 plate 표면에 올려놓은 후 37°C incubator에 넣고, 48시간 배양하여 paper disk 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로 항균활성을 측정하였다.

항산화성 및 항고혈압성 측정

항산화 효과 시험은 식품영양실험핸드북의 방법(10)에 준하여 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Aldrich Co., USA) 활성을 측정하였다. 이때 각 저장·숙성별 명태식해의 항산화성은 DPPH에 대한 전자공여능(electron donating ability, EDA(%))과 free radical inhibition의 50% 억제 농도인 EDA₅₀(mg/mL)을 구하여 비교하였다.

항고혈압성 측정은 angiotensin-I converting enzyme(ACE) 저해능으로 실험하였는데 ACE 조효소액 조제는 Cushman과 Cheung의 방법(11)에 따라 제조하였으며, ACE 저해활성측정은 trinitrobenzene sulfonate(TNBS)를 이용한 색도계 측정 방법(12)에 따라 측정하였다. 이때 효소저해 활성은 IC₅₀으로 나타내었는데, 여기서 IC₅₀은 ACE활성을 50% 저해하는데 필요한 ACE inhibitor 양(μg/mL)을 의미한다.

항 콜레스테롤성 측정

항 콜레스테롤성은 Camire 등의 방법을 변형한 담즙산 결합능(*in vitro*)으로서 시험(13)을 하였다. 즉 시료 0.1 g을 증류수 5 mL에 녹인 후 0.1 N HCl 용액 2 mL를 가하고 37°C 항온수조에서 1시간동안 진탕 교반시킨 다음 pH(7.0)를 조절하고 여기에 cholic acid 농도가 31.25 μM/mL 되도록 조제한 0.1 M 인산완충액(pH 7.0) 4 mL와 porcine pancreatin의 농도가 10 mg/mL 되도록 조제한 0.01 M 인산완충액(pH 7.0) 5 mL를 각각 가한 후 37°C 항온수조에서 1시간 동안 진탕 교반시켰다. 교반

된 용액에 1.33 M phosphoric acid 2 mL를 가하고 27,000 g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취하였고, 잔사에 0.01 M 인산 완충액(pH 7.0) 5 mL를 가한 후 혼합 및 원심분리하여 상등액만 취하였다. 상등액을 모두 혼합하고 1 N NaOH 용액으로 pH 7.0으로 조절한 후 0.1 mL씩을 시험관에 넣고 bile acid test reagent 0.5 mL를 가하였다. 이때 blank는 test reagent 대신에 blank solution을 첨가하였다. 그후 37°C에서 10분간 반응시킨 다음, 0.5 mL의 정지시약을 가하여 반응을 정지시키고 spectrophotometer(Verian 634s, Australia)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

항균성

명태식해의 조건별 저장기간에 따른 항균성을 살펴보기 위해 명태식해 methanol 추출물을 획득한 후 paper disc법으로서 9종의 균류에 대한 항균활성을 측정하였다(Table 3).

그 결과 균주에 따라 항균활성이 다르게 나타났는데, gram 양성균중 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus cereus*의 경우 명태식해 추출물 1,000 ppm 농도를 첨가할 경우에 명태식해 제조직후부터 8.5~9.5 mm의 저지환이 검출되었고, 20°C에서 6일 숙성한 시료(이하 20°C 6일)들에서는 500 ppm에서부터 항균활성이 나타나기 시작하여 저장기간중 가장 높은 활성을 나타내었다. 그후 20°C 15일과 변온조건에서 16일 저장한 시료(이하 변온 16일)에서 항균활성이 약간 감소되었다가 다시 저장기간에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 명태식해 숙성중 항균활성의 변화를 볼 때, 제조직후에 나타난 항균활성은 식해제조시 첨가된 마늘과 같은 항균성을 가지는 부재료들의 영향인 것으로 추정되며(14), 저장 및 숙성기간에 따른 항균활성의 변화는 명태식해의 발효·숙성과정에 관여하는 젖산균의 역할이 클 것으로 추정된다. 즉, 식해류는 김치와 같은 젖산발효를 행하게 되며 Kim(15)은 명태 식해를 20°C에서 숙성할 때 숙성 3일경에 젖산균중 *Leuconostoc*속이 최대를 나타낸 후 감소하며, 숙성 10일 이후의 총균수는 *Lactobacillus*와 *Pediococcus* 등의 젖산균이 대부분을 차지한다고 하였다. 일반적으로 이러한 젖산균은 생체조절기능이 있는 발효산물을 생성하며, 이들 probiotics는 항균물질을 생산할 수 있는 것으로 알려져 있다(16). 또한 젖산균에 의해 생성된 succinic acid, tartaric acid와 같은 유기산은 미생물의 특정 아미노산 이용을 저지함으로써 증식 억제 효과를 가진다고 하며(17), 그 외에 젖산균에 의해 생성되는 항균성 물질로서 H₂O₂, diacetyl, 기타 bacteriocin 등도 생성한다고 알려져 있다(18). 따라서 명태 식해 숙성과정 중에는 젖산균에 의해 생성된 항균물질들과 함께 부재료가 복합적으로 작용함으로써 항균활성을 나타내는 것으로 판단되었다.

*Staphylococcus aureus*에 대해서는 명태식해 제조직후부터 저장기간중에 모든 추출물 첨가 농도에서 항균활성이 있는 것으로 나타나, 명태식해는 *S. aureus*에 대해 특이적으로 강한

항균활성이 있는 것으로 추정되었다. 반면 *Listeria monocytogenes*에 대해서 제조 직후에는 항균작용이 없는 것으로 나타났고, 숙성이 진행됨에 따라 관능적으로 맛이 가장 좋은(자료 미제시) 20°C 6일 및 15일과 변온 16일 시료의 추출물 1,000 ppm을 가할 때 항균활성이 나타나기 시작하였다. 하지만 저장·숙성기간이 증가된 20°C 31일 및 변온 27일 시료에선 항균활성이 상실되는 현상을 나타내었다.

Gram 음성균중 *Enterobacter aerogenes*에 대해서는 숙성 조건 및 기간 등 전반적으로 항균성이 약한 것으로 나타났다. *Escherichia coli*의 경우 제조직후에는 1,500 ppm에서 항균성이 나타났으며, 숙성 20°C 6일경에는 1,000 ppm에서, 15일경에는 500 ppm에서 항균활성이 나타나기 시작함으로써 저장기간에 따라 대체로 항균활성이 증가하는 경향을 나타내었으며, 이는 변온조건에서도 유사한 경향을 나타내었다.

*Salmonella typhimurium*의 경우 제조직후에는 항균활성이 나타나지 않았으나 20°C 6일경부터 항균활성이 나타나기 시작하여 15일 및 변온 16일까지는 어느 정도 유지된 후 숙성 후반에는 활성이 소실되어 *L. monocytogenes*와 동일한 현상을 나타내었다.

한편, 명태 식해 추출물의 gram 양성균과 gram 음성균에 대한 항균활성을 비교하면 gram 양성균이 명태식해 추출물에 더 민감한 경향을 나타내었는데, 이는 균간의 특성차이 때문인 것으로 판단된다. 즉, gram 양성균의 세포벽은 peptidoglycan이 표면에 노출되어 항균물질에 의한 공격을 받기가 쉬어, 항균활성이 높았던 반면, gram 음성균의 경우에는 lipopolysaccharide를 주성분으로 하는 외막이 peptidoglycan을 보호하고 있기 때문에 작용하기 어려워 항균활성이 gram 양성에 비해 낮아지게 된 것으로 추정되었다(19).

그 외 진균류인 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus niger*는 항균활성이 제조직후가 저장·숙성중인 시료들보다 높은 활성이 있음을 나타내고 있어, 진균류는 명태식해 부재료에 의한 영향에 더 민감한 것으로 판단되었다.

항산화성

각 저장·숙성별 명태식해의 항산화성은 DPPH에 대한 전자공여능(Electron donating ability, EDA(%))과 free radical inhibition의 50% 억제 농도인 EDA₅₀(mg/mL)를 비교하였다(Table 4).

명태식해 제조직후인 0일 시료에서 항산화 효과가 가장 낮았으며, 20°C 15일 및 변온 16일에서 각각 항산화활성 10.86% (EDA₅₀ = 0.92 mg/mL)와 10.64%(0.94 mg/mL)으로 가장 높은 항산화성을 나타내었는데, 이 때의 명태식해가 관능적으로 가장 우수하였다(자료 미제시). 이는 작은 파(1.50 mg/mL)나 미나리(0.94 mg/mL)가 가지고 있는 항산화활성(20)과 같거나 강하다는 결과이며, 또한 L-ascorbic acid(20)와는 EDA₅₀의 경우 약 0.30 mg/mL의 차이만을 나타내고 있어, 위 숙성기간 및 저장조건에서의 명태식해는 강한 항산화성을 가지고 있는 것으로 추정되었다. 이는 김치를 시료로 한 Hwang 등(21)과

Table 3. Antimicrobial activity of the methanol extract of Alaska pollack *sik-hae* during fermentation

Microorganism	Storage time (day) ¹⁾	Clear zone (mm)			
		500 ppm	1,000 ppm	1,500 ppm	2,000 ppm
<i>Bacillus subtilis</i>	0	- ²⁾	8.5	10.5	12.0
	6 (A)	9.5	11.0	13.5	15.5
	15 (A)	-	9.0	11.0	13.0
	31 (A)	9.0	9.0	11.5	12.5
	16 (B)	-	9.0	12.5	13.5
	27 (B)	8.5	9.0	12.0	14.0
<i>Bacillus cereus</i>	0	-	9.5	11.5	12.5
	6 (A)	9.5	12.5	13.0	14.0
	15 (A)	-	8.5	12.5	14.0
	31 (A)	8.5	11.0	12.0	12.0
	16 (B)	-	9.0	11.5	12.5
	27 (B)	9.0	11.5	12.5	14.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	8.5	10.0	12.5	14.0
	6 (A)	10.0	12.0	13.5	14.5
	15 (A)	8.5	10.5	13.0	14.0
	31 (A)	10.5	12.0	14.0	14.0
	16 (B)	8.5	11.0	13.0	14.0
	27 (B)	9.5	11.0	13.5	15.0
<i>Listeria monocytogens</i>	0	-	-	-	-
	6 (A)	9.5	12.5	13.0	14.0
	15 (A)	-	8.5	11.0	12.5
	31 (A)	-	-	-	-
	16 (B)	-	9.0	12.0	13.0
	27 (B)	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	-	-	11.5	13.0
	6 (A)	-	-	-	-
	15 (A)	-	8.5	12.5	12.5
	31 (A)	-	-	-	-
	16 (B)	-	-	-	-
	27 (B)	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	0	-	-	11.0	12.0
	6 (A)	-	9.0	11.0	11.5
	15 (A)	8.5	9.5	12.0	12.5
	31 (A)	-	9.5	11.5	12.5
	16 (B)	8.5	9.0	12.0	12.0
	27 (B)	9.0	9.5	11.5	12.0
<i>Salmonella typhimurium</i>	0	-	-	-	-
	6 (A)	-	9.0	12.0	13.0
	15 (A)	-	-	12.0	12.5
	31 (A)	-	-	-	-
	16 (B)	-	8.5	11.5	12.5
	27 (B)	-	-	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	0	-	9.5	9.5	12.0
	6 (A)	-	-	-	10.0
	15 (A)	-	-	9.0	10.0
	31 (A)	-	-	-	-
	16 (B)	-	-	-	-
	27 (B)	8.5	10.0	11.0	11.5
<i>Aspergillus niger</i>	0	-	10.5	13.5	15.0
	6 (A)	-	11.0	11.5	12.0
	15 (A)	-	-	11.5	13.0
	31 (A)	-	9.0	9.5	12.0
	16 (B)	-	-	10.0	10.5
	27 (B)	-	11.0	12.0	12.5

¹⁾(A): Fermentation at 20°C, (B): Storage at 5°C after 10 days fermentation at 20°C. ²⁾-: No antimicrobial activity.

Lee와 Cheigh(22)의 연구에서도 발효가 진행된 숙성상태에서 항산화성이 더욱 우수하였다는 결과와 동일한 경향이였다. 그

Table 4. Antioxidative activity of the methanol extract of Alaska pollack *sik-hae* during fermentation

Fermentation period (day)	Antioxidant activity (%)	EDA ₅₀ ¹⁾ (mg/mL)
0	7.38	1.36
6 (A) ²⁾	7.49	1.34
15 (A)	10.86	0.92
31 (A)	9.88	1.01
16 (B)	10.64	0.94
27 (B)	9.88	1.01
L-ascorbic acid ³⁾	33.90 ⁴⁾	0.65
Small green-onion ³⁾ (whole plant)	30.54 ⁵⁾	1.50
Dropwort ³⁾ (stem & leaf)	40.66 ⁵⁾	0.94

¹⁾EDA₅₀ means the sample concentration to inhibit 50% of antioxidant activity ratio.

²⁾(A) and (B) were referred to comment in Table 3.

³⁾Reference; Cho et al. (20). ⁴⁾Concn = 0.25 mg. ⁵⁾Concn = 0.50 mg.

러나 명태식해에서 이 기간을 경과하게 되면 항산화활성이 약간 감소하는 경향을 나타내었다.

한편 Matsushita 등(23)은 핵산관련 물질이 항산화성을 가진다고 하였으며 그 중 hypoxanthin과 xanthin 등 분해생성물의 효과가 크다고 하였다. 일반적으로 hypoxanthin은 발효가 경과함에 따라 그 함량이 증가하지만, 숙성기간 중 명태식해의 핵산관련물질은 총 10 mg% 미만으로 소량이 존재하였으며 (15), hypoxanthin도 뚜렷이 증가하는 경향을 나타내지는 않아 핵산관련물질에 의한 항산화 효과는 크지 않을 것으로 추정되었다. 반면에 명태식해의 부재료로 사용된 마늘, 고춧가루, 생강 등은 항산화성 증진효과가 있다고 알려져 있으며(24), 명태식해 제조직후의 항산화성에 크게 기여하였을 것으로 추정되었다. 또한 단백질 가수분해물인 peptide류에 의한 항산화성도 잘 알려져 있는데(25), 숙성기간중 나타난 최대 항산화활성은 명태 단백질의 가수분해에 의해 증가된 peptide류가 크게 영향을 미쳤을 것으로 추정되었다. 또한 단백질 가수분해물의 항산화활성은 peptide내 또는 말단 잔기로서의 특정 아미노산의 존재에 의해 크게 영향을 받을 것으로 추정되는데(25), 일정 기간이 경과된 후 항산화활성이 감소되는 것은 항산화성을 나타내었던 peptide류가 지속된 단백질 가수분해에 의한 구조상의 변화에 의해 항산화활성이 소실되기 때문으로 추정되었다.

항고혈압성

명태식해의 저장온도와 저장·숙성기간에 따른 항고혈압성은 Table 5에 나타내었다.

명태식해 제조직후의 ACE 저해능은 검출되지 않았으나 20°C 6일, 15일 및 31일에서는 각각 78.95%(IC₅₀=15.8 µg/mL), 42.11%(29.68 µg/mL), 73.68%(16.97 µg/mL)로 나타났으며, 변온 16일 및 27일에서는 각각 52.63%(23.75 µg/mL)와 57.89%(21.59 µg/mL)였다. 따라서 명태식해의 항고혈압성은 첨가한 부재료에 의한 영향보다는 숙성중 활성이 발현되는 것으로 판단되었다. 한편 항고혈압 효과가 우수한 것으로 알려진 해조류

Table 5. Antihypertensive activity (ACE inhibitory activity) of the methanol extracts of Alaska pollack *sik-hae* during fermentation

Fermentation period (day)	ACE (%)	IC ₅₀ ¹⁾ (µg/mL)
0	ND ²⁾	ND
6 (A) ³⁾	78.95	15.83
15 (A)	42.11	29.68
31 (A)	73.68	16.97
16 (B)	52.63	23.75
27 (B)	57.89	21.59
16 (B)	52.63	23.75
27 (B)	57.89	21.59

¹⁾IC₅₀ means the sample concentration to inhibit 50% of ACE inhibitory ratio.

²⁾ND: No detection.

³⁾(A) and (B) were referred to comment in Table 3.

중 다시마와 미역류 추출물의 IC₅₀이 10.4~24.0 µg/mL 범위(26)를 나타낸 것으로 볼 때 명태식해의 항고혈압 효과가 우수한 것으로 판단된다.

일반적으로 ACE 저해능은 항산화성과 마찬가지로 단백질 가수분해물에 의한 효과가 매우 큰 것으로 알려져 있는데, 특히 저분자 peptide류로서 dipeptide류와 tripeptide류가 ACE 저해 활성이 높은 것으로 보고되어 있다(27). 또한 Lee 등(28)은 ACE 저해효과가 높은 흰분의 아미노산 조성을 분석한 결과 glutamic acid, cystein 및 leucine 등의 함량이 많았다고 하였으며, Yeum 등(29)은 단백질 가수분해물에 의한 ACE저해능은 단백질의 가수분해에 의해 생성된 저분자 peptide의 길이나 구조 및 아미노산의 종류나 배열순서 등의 복합적인 작용에 의한 것으로 추정하고 있다. 본 실험에서는 숙성기간과 함께 ACE 저해능이 계속적으로 상승하였는데, 명태식해 숙성기간의 계속적인 amino-N함량 증가(15)와 비교해 보면, 이는 저장기간 중에 지속적인 단백질의 가수분해가 일어나고 있음을 추정할 수 있고, 그 결과 항산화성에 영향을 미치는 peptide류보다는 더 작은 분자량의 peptide류나 아미노산들이 명태식해의 항고혈압성에 영향을 미치고 있는 것으로 추정되었다.

항콜레스테롤성

명태식해 추출물에 대한 bile acid 결합능(mM/g)으로 측정된 항콜레스테롤 활성을 Table 6에 나타내었다. 명태식해의 저장온도와 저장·숙성기간에서 20°C 15일과 변온 16일에서 각각 12.71 mM/g 및 23.80 mM/g의 bile acid 결합능이 나타나 콜레스테롤 활성이 있는 것으로 나타났으며, 나머지 구간에서는 항콜레스테롤 활성이 없는 것으로 나타났다.

한편 식이섬유원으로 사용하기 위해 다시마에서 추출한 alginate의 bile acid 결합능이 189.61 mM/g으로 나타나(30) 본 실험의 명태식해보다 약 8~15배 강하게 나타났다. 하지만 이러한 alginate는 단독으로 사용하지 못하며, 명태식해는 식품으로 직접 섭취되는 형태이므로 명태식해는 숙성기간중에 항콜레스테롤 활성이 어느 정도 나타나는 것으로 판단되었다.

Table 6. Bile acid binding capacity of the methanol extracts of Alaska pollack *sik-hae*

Fermentation period (day)	Bile acid binding capacity (mM/g)
0	ND ¹⁾
6 (A) ²⁾	ND
15 (A)	12.71
31 (A)	ND
16 (B)	23.80
27 (B)	ND

¹⁾ND: No detection.

²⁾(A) and (B) were referred to comment in Table 3.

요 약

본 연구에서는 전통적 명태식해를 제조한 다음 저장·숙성 조건에 따른 명태식해의 항균성, 항산화성, 항고혈압성 및 항콜레스테롤성 등의 생리적 기능특성에 대해 조사하였다. 항균성에서는 9종의 균주에 대해 모두 항균작용이 있는 것으로 나타났으며, 이중 gram 양성균에 대해 *Listeria monocytogenes*를 제외하고 저장 직후에 항균활성이 나타났으며, 모든 gram 양성균에 대해 전 저장기간 동안 항균활성이 확인되었고, *Staphylococcus aureus*에 대해 강한 항균활성을 나타내었다. 반면에 gram 음성균 및 진균류에 대해서는 항균활성이 gram 양성균에 비해 약하였다. 항산화성은 저장·숙성조건에 따라 모두 관능적으로 맛이 우수한 15~16일 경에 가장 강한 항산화활성을 나타내었으며, 그 후로는 저장기간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 항고혈압성은 명태식해 제조직후를 제외하고는 모든 저장·숙성조건에서 항고혈압활성이 나타났으며, 항콜레스테롤성은 20°C 15일과 변온 16일에서만 항콜레스테롤활성이 검출되었다. 이러한 결과를 바탕으로 할 때 전통적인 방법에 따라 제조된 명태식해는 김치류와 같은 우수한 생리적 기능성을 가지고 있었으며, 명태식해의 유통기간 연장을 위한 변온조건에서도 그 생리적 기능성이 계속해서 유지됨을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구의 일부는 2001년도 창원대학교 연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Lee MY, Lee HG. 1989. A bibliographical study on the shikke. *Korean J Dietary Clture* 4: 39-51.
- Lee CH, Lee EH, Lim MH, Kim SH, Chae SK, Lee KW, Koh KH. 1986. Characteristics of Korean fish fermentation technology. *Korean J Dietary Clture* 1: 267-278.
- 오연주, 황인주, Claus Leitzmann. 1994. 김치의 영양생리학적 평가. 김치의 과학. 한국식품과학회 심포지움. p 226-245.
- 신동화. 1990. 천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용. 식품과학과 산업 23: 68-77.
- 박건영, 최홍식. 1994. 김치의 항돌연변이성 및 항암성. 김치의 과학. 한국식품과학회 심포지움. p 205-225.
- Lee CH, Cho TS, Lim MH, Kang JW, Yang HC. 1983. Studies on the Sik-hae fermentation made by flat-fish. *Kor J Appl Microbiol Bioeng* 11: 53-58.
- Souane M, Kim YB, Lee CH. 1987. Microbial characterization of gajami sik-hae fermentation. *Kor J Appl Microbiol Bioeng* 15: 150-157.
- Jung HS, Lee SH, Woo KL. 1992. Effect of salting levels on the changes of taste constituents of domestic fermented flounder *Sikhae* of hamkyeng-do. *Korean J Food Sci Technol* 24: 59-64.
- Cha YJ, Kim SJ, Lee JS. 2001. Microbial characterization in traditional Alaska Pollack *Sik-hae* during fermentation. Abstract book p 266 presented at 2001 Annual Meeting of Japan Society for Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry, Kyoto, Japan.
- KSFSN. 2000. *Handbook of experiments in food science and nutrition*. Food science part. The Korean Society of Food Science and Nutrition, ed. Hyoil Press, Seoul. p 651-652.
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology* 20: 1637-1648.
- Matsui T, Matsufuji H, Osajima Y. 1992. Colorimetric measurement of angiotensin 1-converting enzyme inhibitory activity with trinitrobenzene sulfonate. *Biosci Biotech Biochem* 56: 517-518.
- Camire ME, Zhao J, Violett DA. 1993. *In vitro* binding of bile acids by extruded potato peels. *J Agric Food Chem* 41: 2391-2394.
- Kim SJ, Park KH. 1995. Antimicrobial activities of the extracts of vegetable kimchi. stuff. *Korean J Food Sci Technol* 27: 216-220.
- Kim SJ. 2000. Studies on quality characteristics of the Alaska Pollack *Sik-hae*. MS Thesis. Changwon National University, Changwon.
- 김수영. 2001. 유산균(lactic acid bacteria)의 기능과 의학적 이용. 기능성식품과 면역. 건국대학교 개교 55주년 기념 제3회 자연의학 심포지움. p 41-56.
- Yamamoto Y, Higashi K, Yoshi H. 1984. Inhibitory activity of acetic acid on yeast. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 31: 772-776.
- Daeschel MA. 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol* 43: 164-166.
- Nakamura S, Kato A, Kobayashi K. 1991. New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. *J Agric Food Chem* 39: 647-650.
- Cho SY, Han YB, Shin KH. 2001. Screening of antioxidant activity of edible plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 133-137.
- Hwang JH, Song YO, Cheigh HS. 2000. Fermentation characteristics and antioxidative effect of red mustard leaf kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1009-1015.
- Lee YO, Cheigh HS. 1995. Antioxidative effect of kimchi on the lipid oxidation of cooked meat. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 1005-1009.
- Matsushita S, Ibuki F, Aoki A. 1963. Chemical reactivity of the nucleic acids and their related substances on the oxidation of unsaturated fatty acids. *Arch Biochem Biophys* 102: 446-451.
- Cheigh HS, Hwang JH. 2000. Antioxidative characteristics of kimchi. *Food Industry and Nutrition* 5: 52-56.
- Yeum DM, Lee TG, Park YH, Kim SB. 1997. Antioxidative activity of enzymatic hydrolysates derived from anchovy muscle protein. *J Korean Fish Soc* 30: 842-849.

26. Lee EK. 1996. Separation and purification of antihypertensive substances from edible seaweeds. *MS Thesis*. Kangnung National University, Kangnung.
27. Matsumura N, Fujii M, Takeda Y, Shimizu T. 1993. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from bonito bowels. *Biosci Biotech Biochem* 57: 922-925.
28. Lee TG, Park YB, Park DC, Yeum DM, Kim IS, Gu YS, Park YH, Kim SB. 1998. Antiotensin converting enzyme inhibitory activity in enzymatic hydrolysates of anchovy muscle protein. *J Korean Fish Soc* 31: 875-881.
29. Yeum DM, Roh SB, Lee TG, Kim SB, Park YH. 1993. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of food proteins. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 226-233.
30. Im YS. 1997. Effect of extracting conditions on physicochemical properties of alginate from edible sea tangle (*Laminaria* spp.). *MS Thesis*. Kangnung National University, Kangnung.

(2002년 5월 21일 접수; 2002년 7월 30일 채택)