

## Chitosan-Ascorbate 및 Calcium Lactate가 오징어 식해의 숙성과 품질 특성에 미치는 영향

이에경 · 박범호 · 노홍균 · 김순동<sup>†</sup>

대구가톨릭대학교 식품산업학부 식품공학전공

### Effect of Chitosan-Ascorbate and Calcium Lactate on the Fermentation and Quality Characteristics of Squid Sikhae

Ye-Kyung Lee, Bum-Ho Park, Hong-Kyoon No and Soon-Dong Kim<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Technology, Food Industrial Technology, Catholic University of Daegu, Gyongsan 712-702, Korea

#### Abstract

Effects of chitosan-ascorbate(CA) and calcium lactate(CL) on fermentation and quality of squid sikhae were investigated. CA and LA were added at 0.5% (designated CA1 and CL1) and 1.0%(CA2 and CL2) concentrations, respectively and fermented for 12 days at 10°C. pH of CA-added sikhae was higher than that of control, while acidity of the former was lower than that of the latter. During 12 days of fermentation, CA-added sikhae showed higher protease activity than control by 2.3~2.6 times and CL-added sikhae by 2.8~3.6 times. At 12 days of fermentation, CA-added sikhae revealed higher amylase activity than control by 1.2~1.4 times and CL-added sikhae by 1.5~1.9 times. CA-added sikhae also showed higher amino-nitrogen content than control by 1.4~1.7 times and CL-added sikhae by 1.9~3.5 times. In comparison of CA1 with CA2, CA2 showed all higher pH, protease and amylase activity, and amino-nitrogen content than CA1. In analysis of electrophoresis, molecular weights of major proteins in raw squid were 116.9~119.0, 96.5 and 59.3 kDa. However, after fermentation for 12 days, a protein band of 119.0 kDa disappeared but a new protein band with below 14 kDa appeared in sikhae, especially CA-added sikhae. In sensory evaluation, the intensity of sour taste was the highest for control and the lowest for CA2. Softness of squid was the highest for control and the lowest for CA2. Overall acceptability was the best for CA2. In conclusion, these results suggest use of 1% CA in sikhae preparation as addition of CA(CA2) increased the protease and amylase activity, nitrogen content of amino form, sensory acceptability as well as shelf-life of sikhae.

**Key words :** Chitosan-ascorbate, calcium lactate, squid sikhae, quality characteristics.

#### 서 론

식해(食醃)는 어류에 곡류, 고춧가루, 무, 마늘, 생강 등의 부재료를 첨가하여 발효시킨 우리나라 전통발효식품으로 어류에 존재하는 효소에 의한 자가분해와 숙성 중에 번식하는 미생물에 의하여 발효를 유도하는 염해법과 발효과정 중에 생성된 유기산에 의해 저장성을 부여하는 식해법으로 구분된다(Shu HK 1987). 염해법은 젓갈 제조에 주로 이용되는 방법으로 어육을 소금에 절여 내염성 미생물의 생육을 유도하면서 유해미생물의 번식을 억제시키는 원리를 내포하고 있다. 식해법은 우리나라 동해안 또는 남해 동부지역에서 성행하는 방법으로 어육에 맥아분 및 곡물과 함께 젓산균의 번식이 잘

이루어지는 무와 같은 채소류를 첨가하여 발효시키는 김치와 비슷한 제조원리를 갖고 있다(Lee SW 1986). 함경도 식해는 염해법과 식해법의 절충법으로 어육에 소금과 조밥, 고춧가루, 마늘, 생강 등을 넣어 일정기간동안 자가 숙성시킨 다음 발효 무를 넣어 젓산발효를 유도한다(Choi *et al* 2002b).

식해에 관한 연구로는 명태식해(Shin SM 2004, Shu HK 1987, Cha *et al* 2002, Choi *et al* 2002a, Cha *et al* 2004, Shin 2004), 오징어식해(Choi *et al* 2001a, Choi *et al* 2001b, Lee *et al* 1996, Kim *et al* 1994a), 가자미식해(Jung *et al* 1992, Moussa *et al* 1987) 등이 있으며 전통적으로 계승되어온 제조법을 중심으로 한 연구가 대부분이며 숙성 원리면에서 제조법을 체계화하려는 연구는 매우 부족하여 전보(Lee *et al* 2005)에서는 식해법과 염해법 및 그 절충법에 젓산균 starter를 첨가한 실험을 행하여 오징어 식해제조를 위한 바람직한 방법을 확립하였다.

<sup>†</sup> Corresponding author : Soon-Dong Kim, Tel : +82-53-850-3216, Fax : +82-53-850-3216, E-mail : kimsd@cu.ac.kr

한편, chitosan-ascorbate는 chitosan의 amino기와 ascorbic acid가 Schiff 반응에 의하여 생성된 염(Riccardo *et al* 1984)으로 체내에서 단백질 대사에는 영향을 주지 않으면서 지질 대사를 저해함으로써 비만을 예방하는 효과가 있으며(Kanouchi *et al* 1997), 지방의 과다 섭취로 나타나는 Crohn's병의 치유 및 예방에 효과(Tsujikawa *et al* 2003)를 나타내고, 비타민 C의 항산화능을 향상시키는 동시에 chitosan의 안정성을 높이는 작용이 있는 것으로 알려져 있다(Zoldners *et al* 2005). 또, calcium lactate는 수용성 칼슘제로서 칼슘 보충제로 널리 사용되고 있으며(Lee *et al* 1988) 효모의 생육을 저해하고(Pattison & Gelroth 1989, Lee *et al* 2003) 곰팡이 발생을 억제하여 식품의 저장성을 높이는 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 오징어 식해의 제조법 개선과 품질 향상을 꾀하기 위하여 전보(Lee *et al* 2005)에서 확립된 방법으로 오징어 식해를 제조함에 있어 chitosan-ascorbate와 calcium lactate 첨가가 식해의 숙성과 품질 변화에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료 및 방법

경북 동해안에서 어획된 오징어를 경산시 마트에서  $-25^{\circ}\text{C}$ 에서 동결된 상태로 구입하여 사용하였다. 부재료로는 메조, 고춧가루, 엿기름, 생강, 마늘, 정제염(Jeil Salt Co Ltd, Korea), calcium lactate(Duksan Pure Chemicals Co Ltd, Korea)를 사용하였으며, chitosan-ascorbate(CA)는 5%의 ascorbic acid(Sigma Co USA)용액 100 mL에 chitosan(746 kDa, Chito life Co Ltd, Korea) 5 g의 비율로 용해하여 동결건조한 분말을 사용하였다.

### 2. 실험구분 및 식해 제조

실험은 Table 1과 같이 control, CA 0.5% 첨가(CA1), CA 1.0% 첨가(CA2), calcium lactate 0.5% 첨가(CL1), calcium lactate 1.0% 첨가(CL2)로 구분하였다. 냉동오징어(수분함량 80%)는  $15^{\circ}\text{C}$ 에서 해동한 후 껍질을 제거하고 몸통부분을  $1 \times 3 \text{ cm}$ 로 썬 후 7%(w/w)되게 소금을 가하여  $10^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간동안 절였다. 무는  $0.5 \times 3 \text{ cm}$ 로 채 썰고 7% 되게 소금을 넣어  $10^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간동안 절여 두었다가 물기를 제거한 후 사용하였다. 메조밥은 엿기름가루와 버무리고, 고춧가루, 마늘 및 생강은 젓산균 starter(*L. plantarum*:  $10^{10}$  cell/mL)와 함께 절인 무와 버무리 후 절인 오징어와 잘 혼합하여 250 mL들이 뚜껑이 있는 유리용기에 211.5 g씩 담아  $10^{\circ}\text{C}$ 에서 숙성시켰다.

### 3. pH 및 산도

Table 1. Experimental plots (g)

Materials	Control	CA1	CA2	CL1	CL2
Squid <sup>1)</sup>	100	100	100	100	100
Cooked millet	40	40	40	40	40
Red pepper powder	8	8	8	8	8
Malt powder	5	5	5	5	5
Radish <sup>2)</sup>	50.5	50	49.5	50	49.5
Garlic	4	4	4	4	4
Ginger	2	2	2	2	2
Seed culture <sup>3)</sup>	2	2	2	2	2
Chitosan-ascorbate(CA)	-	0.5	1	-	-
Calcium lactate(CL)	-	-	-	0.5	1

<sup>1)</sup> Squid was salted with NaCl(7%, w/w) for 1 days at  $10^{\circ}\text{C}$ .

<sup>2)</sup> Radish was sliced and salted with NaCl(7%, w/w) for 1 days at  $10^{\circ}\text{C}$ .

<sup>3)</sup> 10% radish juice fermented for 1 day at  $37^{\circ}\text{C}$  by *L. plantarum* was used as a seed culture.

식해 1병(211.5 g)에 증류수 1050 mL를 넣고 ACE homogenizer(AM-10, Nihonseiki Kaisha Ltd, Japan)로 균질화 한 후 여과하여 얻은 여액 20 mL를 취하여 pH는 pH meter(720P, Isted, Korea)로, 산도는 pH 8.2가 될 때까지 소비된 0.1N NaOH mL를 구하여 lactic acid %로 나타내었다.

### 4. 젓산균수 및 총균수

상기 pH 측정용 균질액 1 mL를 취하여 멸균한 1% peptone수로 순차적으로 희석한 후 총균수는 nutrient agar (Becton, Dickinson & Co USA) 배지, 젓산균수는 0.002% bromophenol blue를 함유하는 Difco™ Lactobacilli MRS agar (Becton, Dickinson & Co USA) 배지에 혼합하여  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 배양 후 나타나는 colony 수를 계측하였다(Lee *et al* 1996).

### 5. Protease 및 Amylase 활성

Protease 활성은 Lim & Yoo(1999)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 오징어 육질부분 10 g에 0.1M NaCl 용액(pH 3.0) 20 mL를 가하여 병병하에서 파쇄, 원심분리(15,000 rpm, 10분)한 상정액을 효소액으로 사용하였다. 효소반응은 0.6% casein을 함유하는 0.1M NaCl 용액(pH 3.0) 0.5 mL에 효소액

0.5 mL를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 10% TCA 1.25 mL를 가하여 15,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상정액을 얻었다. 이 상정액 0.5 mL에 0.55M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5 mL, 1N Folin 시약 0.5 mL를 가한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준품 tyrosine의 검량선(tyrosine  $\mu\text{g}/0.5 \text{ mL} = 5.56 \times \text{OD} - 0.22, r=0.9987$ )에 의하여 함량을 산출하였다. 효소 활성은 시료 1 g에 1시간 동안 반응하여 생성한 tyrosine  $\mu\text{g}/\text{hr}$ 로 나타내었다.

$\beta$ -Amylase의 활성은 Choi *et al*(2002)의 방법에 따라, 식해 10 g에 0.1M NaCl 용액(pH 4.4) 20 mL를 가하여 빙냉하에서 파쇄, 원심분리(15,000 rpm, 10분)한 상정액을 효소액으로 사용하였다. 다음에 pH 4.4로 조정된 1% 가용성 전분 용액 1 mL에 효소용액 1 mL를 가하여 30°C에서 1시간동안 반응시킨 후 잔존하는 전분의 양을 I<sub>2</sub> 용액으로 정색시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 식해 1 g이 1시간 동안 반응하여 분해시킨 전분량으로 나타내었다.

## 6. 아미노태 질소함량

식해 육질부 5 g을 75% ethanol로 추출, 여과한 여액을 시료로 하여 Formal 법(The Korean Society of Food Science and Nutrition 2000)에 준하여 측정하여 mg/g으로 표시하였다.

## 7. 전기영동

오징어식해의 육질부 0.4 g에 8 M의 urea, 2% mercapto-ethanol 2% sodium dodecyl sulfate를 함유하는 20 mM tris-HCl 완충용액(pH 8.0) 7.5 mL를 가하여 균질화한 후 100°C에서 2분간 가열, 실온에서 20시간 교반하여 가용화하였다. 단백질 함량은 Biuret 법(Gornall *et al* 1949)에 의해 정량하였다. 전기영동은 전기영동 세트(Power N Pac 200, Bio-Rad, USA)를 사용하여 Laemmli의 방법(Laemmli UK 1970)에 따라 10% polyacrylamide gel을 이용하였으며 분자량 표준으로 SDS-PAGE standard(Broad range 161-0318, Bio-Red, USA)를 사용하였다.

## 8. 관능검사

식품공학을 전공하는 대학생 및 대학원생으로 구성된 50명의 관능요원에 의하여 신맛, 비린맛, 연화 정도 및 종합적인 맛을 9점-scale법(Meilgaard *et al* 1987)으로 전혀 없다 또는 아주 싫다(1점), 아주 약하다 또는 싫다(2점), 보통 약하다 또는 보통 싫다(3점), 약간 약하다 또는 약간 싫다(4점), 약하지도 강하지도 않다 또는 좋지도 싫지도 않다(5점), 약간 강하다 또는 약간 좋다(6점), 보통 강하다 또는 보통 좋다(7점), 강하다 또는 좋다(8점) 및 아주 강하다 또는 아주 좋다(9점)로 평가하였다.

## 9. 통계처리

관능검사를 제외한 모든 실험은 3회 반복으로 실험하여 평균치와 표준편차로 나타내었으며, 관능검사 결과는 관능요원 50명의 평균치와 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, IL, USA Version 12.0) software package를 이용하여 Duncan's multiple range test 및 *t*-test를 행하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. pH 및 산도

오징어식해를 10°C에서 12일간 숙성시키면서 pH와 산도의 변화를 조사한 결과는 Table 2와 같다. pH와 산도는 숙성 정도를 나타내는 지표로 chitosan-ascorbate(CA)를 0.5% 및 1% 첨가한 CA1과 CA2가 대조구에 비하여 pH는 높고 산도는 낮은 경향을 나타내었으며, calcium lactate(LA)를 0.5% 및 1% 첨가한 CL1 및 CL2도 CA보다는 낮으나 대조구보다는 높은 pH와 낮은 산도를 나타내었다.

Lee *et al*(1996)은 오징어 식해를 10°C에서 12일간 숙성시켰을 때 pH는 5.38, 산도는 1.17%로 보고하였으나 본 실험의 경우 pH는 3.98~4.53, 산도는 1.57~2.40%로 상당한 차이를 나타내었는데 이러한 차이는 재료조성 등 숙성환경의 차이에서 온 결과라 생각된다(Lee *et al* 2005).

식해 발효는 김치와 같은 젖산 발효로 생성된 젖산이 pH와 산도의 변화에 영향(Park & Lee 2005)을 주는 바 CA에서 높은 pH와 낮은 산도 값을 나타내는 현상은 CA에 의하여 젖산균의 생육이 저해됨을 나타내며, 이는 chitosan 및 CA가 항균력을 나타낸다는 연구 결과(Jung *et al* 2001)와 일치한다. 한편 CL의 첨가구도 대조구에 비하여 숙성이 억제되는 경향을 나타내었는데 이러한 현상은 발효시 생성된 젖산과 CL이 완충작용(Kim *et al* 1997)을 함으로써 나타난 현상으로 사료된다.

### 2. 총균수 및 젖산균수

오징어식해를 10°C에서 12일간 숙성시키면서 총균수와 젖산균수를 조사한 결과는 Table 3과 같다. 총균수와 젖산균수는 다같이 CL군>대조군>CA군 순이었다. 젖산균 비는 숙성기간이 경과함에 따라 점차 증가하였으며 숙성 9일째에 최고치를 나타내었고, CA2에서 가장 높았다. CA군에서 총균수가 낮은 것은 CA의 항균력 때문으로 사료되며(Jung *et al* 2001), CL에서 총균수가 가장 높은 현상은 CL의 완충능 때문이라 사료된다(Kim *et al* 1997).

Kim *et al*(1994b)은 10°C에서 10일간 숙성시킨 오징어식해의 총균수는 9.96 log cfu/mL, 젖산균수는 7.23 log cfu/mL

**Table 2. Changes in pH and acidity of squid sikhae added with chitosan-ascorbate and calcium lactate**

Measurements	Samples <sup>1)</sup>	Fermentation days				
		0	3	6	9	12
pH	Control	5.65±0.21 <sup>aA</sup>	5.52±0.23 <sup>aA</sup>	5.01±0.27 <sup>bB</sup>	4.46±0.18 <sup>cB</sup>	3.98±0.12 <sup>dC</sup>
	CA1	5.70±0.22 <sup>aA</sup>	5.69±0.26 <sup>aA</sup>	5.54±0.23 <sup>aAB</sup>	4.99±0.20 <sup>bA</sup>	4.49±0.18 <sup>cAB</sup>
	CA2	5.72±0.21 <sup>aA</sup>	5.71±0.25 <sup>aA</sup>	5.64±0.25 <sup>aA</sup>	5.15±0.18 <sup>bA</sup>	4.63±0.17 <sup>cA</sup>
	CL1	5.68±0.22 <sup>aA</sup>	5.57±0.24 <sup>aA</sup>	5.28±0.20 <sup>aAB</sup>	4.76±0.17 <sup>bAB</sup>	4.29±0.14 <sup>cB</sup>
	CL2	5.69±0.23 <sup>aA</sup>	5.62±0.21 <sup>aA</sup>	5.42±0.19 <sup>aAB</sup>	4.89±0.16 <sup>bA</sup>	4.38±0.15 <sup>cAB</sup>
Acidity (lactic acid %)	Control	0.45±0.03 <sup>dA</sup>	0.76±0.04 <sup>cA</sup>	1.92±0.07 <sup>bA</sup>	2.24±0.09 <sup>aA</sup>	2.40±0.08 <sup>aA</sup>
	CA1	0.39±0.03 <sup>eAB</sup>	0.60±0.02 <sup>dB</sup>	1.28±0.05 <sup>cD</sup>	1.59±0.06 <sup>bD</sup>	1.80±0.05 <sup>aD</sup>
	CA2	0.39±0.02 <sup>eB</sup>	0.55±0.02 <sup>dC</sup>	1.10±0.04 <sup>eE</sup>	1.43±0.05 <sup>bE</sup>	1.57±0.07 <sup>aE</sup>
	CL1	0.42±0.02 <sup>eAB</sup>	0.76±0.05 <sup>dA</sup>	1.72±0.06 <sup>cB</sup>	2.05±0.07 <sup>bB</sup>	2.19±0.06 <sup>aB</sup>
	CL2	0.42±0.03 <sup>eAB</sup>	0.60±0.04 <sup>dB</sup>	1.18±0.06 <sup>cC</sup>	1.64±0.06 <sup>bC</sup>	2.02±0.07 <sup>aC</sup>

<sup>1)</sup> Abbreviation : See Table 1.

<sup>2)</sup> Values are mean±standard deviations of triplicate determinations, different superscripts within a row(a~d) and a column(A~D) indicates significant difference at  $p<0.05$ .

**Table 3. Changes in number of total microbe and lactic acid bacteria of squid sikhae added with chitosan-ascorbate and calcium lactate during fermentation at 10 °C**

Measurements	Samples <sup>1)</sup>	Fermentation days				
		0	3	6	9	12
TM <sup>5)</sup> (log cfu/mL)	Control	5.15±0.14 <sup>cA</sup>	6.24±0.16 <sup>bA</sup>	7.53±0.24 <sup>aAB</sup>	7.81±0.25 <sup>aAB</sup>	7.73±0.25 <sup>aAB</sup>
	CA1	5.36±0.13 <sup>cA</sup>	6.28±0.21 <sup>bA</sup>	6.62±0.21 <sup>bC</sup>	7.21±0.23 <sup>aBC</sup>	7.30±0.24 <sup>aBC</sup>
	CA2	5.18±0.13 <sup>cA</sup>	5.34±0.13 <sup>cB</sup>	6.09±0.15 <sup>bD</sup>	6.84±0.20 <sup>aC</sup>	7.16±0.23 <sup>aC</sup>
	CL1	5.40±0.15 <sup>cA</sup>	6.31±0.17 <sup>bA</sup>	7.33±0.23 <sup>aB</sup>	7.62±0.24 <sup>aAB</sup>	7.69±0.24 <sup>aB</sup>
	CL2	5.42±0.15 <sup>cA</sup>	6.49±0.19 <sup>bA</sup>	7.99±0.25 <sup>aA</sup>	8.18±0.26 <sup>aA</sup>	8.20±0.26 <sup>aA</sup>
LA <sup>6)</sup> (log cfu/mL)	Control	4.60±0.15 <sup>cB</sup>	5.95±0.16 <sup>bA</sup>	7.44±0.25 <sup>aAB</sup>	7.76±0.26 <sup>aA</sup>	7.64±0.26 <sup>aA</sup>
	CA1	4.85±0.14 <sup>dAB</sup>	6.00±0.15 <sup>cA</sup>	6.52±0.16 <sup>bC</sup>	7.14±0.23 <sup>aBC</sup>	7.20±0.22 <sup>aB</sup>
	CA2	4.70±0.13 <sup>cAB</sup>	5.04±0.22 <sup>cB</sup>	6.01±0.13 <sup>bD</sup>	6.79±0.20 <sup>aC</sup>	7.06±0.21 <sup>aB</sup>
	CL1	4.90±0.14 <sup>cAB</sup>	6.01±0.14 <sup>bA</sup>	7.23±0.24 <sup>aAB</sup>	7.55±0.24 <sup>aAB</sup>	7.59±0.25 <sup>aA</sup>
	CL2	4.85±0.13 <sup>cA</sup>	6.18±0.17 <sup>bA</sup>	7.88±0.25 <sup>aA</sup>	8.11±0.27 <sup>aA</sup>	8.09±0.25 <sup>aA</sup>
LA/TM(%)	Control	28.57	52.33	81.22	87.98	81.27
	CA1	30.43	51.83	80.10	85.77	80.94
	CA2	33.33	50.00	82.26	88.14	80.22
	CL1	32.00	50.25	79.86	85.65	80.35
	CL2	26.92	48.70	77.72	84.94	77.87

<sup>1)</sup> Abbreviation : See Table 1.

<sup>2)</sup> Values are mean±standard deviations of triplicate determinations, different superscripts within a row(a~d) and a column(A~C) indicates significant difference at  $p<0.05$ .

으로 젖산균비는 18%라 보고하였다. 그러나 10℃에서 9일간 숙성시킨 본 실험에서는 젖산균비가 88%로 큰 차이를 보였다. 이러한 결과는 본 실험에서 사용한 젖산균 starter의 영향이라 사료된다. 오징어 식해의 숙성은 수분함량에 따라 큰 차이가 있는데 Lee *et al*(1996)은 본 실험에서와 같이 수분함량이 80%인 오징어식해를 10℃에서 숙성시킨 결과 젖산균의 최대균수를 나타내는 일수가 8일째로 본 실험의 9일째와 유사하였다.

### 3. Protease 및 Amylase 활성과 아미노태 질소 함량

오징어식해를 10℃에서 12일간 숙성시키면서 protease 및 amylase의 활성도와 아미노태 질소의 함량을 조사한 결과는 Table 4와 같다. Protease의 활성도는 담금일에 CL2<CL1<대조군<CA1<CA2 순으로 처리별에 따른 활성 차이를 나타내었으며, 활성이 최대로 나타나는 숙성일은 대조군과 CL군은 12일, CA군은 6일이었었다. 또, 최대 활성도 값을 비교한 결과 CA는 대조군에 비하여 2.3~2.6배, CL군에 비하여 2.8~3.6배로 높은 활성을 나타내었다.

그러나 amylase 활성도는 담금일에는 각 처리구가 6.6~9.9 mg/g/hr로 비슷한 값을 나타내었으며 숙성일수가 경과됨에 따라 CA2>CA1>대조군>CL2>CL1순으로 다같이 활성이 증가하는 경향을 나타내었고, 숙성 12일째의 활성도는 CA는 대조군의 1.2~1.4배, CL군의 1.5~1.9 배의 높은 활성을 나타내었다.

아미노태 질소의 함량은 담금일(2.3~4.2 mg/g)에서부터 차이를 보여 숙성일이 경과함에 따라 줄곧 증가하는 경향을 나타내었는데 숙성 12일째의 함량은 CA군이 대조군에 비하여 1.4~1.7배, CL군에 비하여 1.9~3.5배의 높은 함량을 나타내었다.

Kim *et al*(1994)은 오징어 식해의 아미노태 질소함량은 10℃ 내외에서는 숙성기간의 경과에 따라 계속 증가하는 경향을 보인다고 하여 본 실험 결과와 유사하였으며 20℃에서는 숙성 10일경에 최고치에 달하였다고 하였다.

### 4. 전기영동

CA 및 CL을 첨가하여 10℃에서 12일간 숙성시킨 오징어

**Table 4. Activities of protease and amylase, and amino-nitrogen content of squid sikhae added with chitosan-ascorbate and calcium lactate during fermentation at 10℃**

Measurements	Fermentation days	Control	CA1 <sup>1)</sup>	CA2 <sup>2)</sup>	CL1 <sup>3)</sup>	CL2 <sup>4)</sup>
Protease (Try $\mu$ g/hr)	0	11.71±0.38 <sup>cd5)</sup>	28.31±0.87 <sup>bc</sup>	35.49±1.11 <sup>ac</sup>	8.56±0.19 <sup>dc</sup>	7.01±0.16 <sup>ed</sup>
	3	13.93±0.45 <sup>cc</sup>	38.62±1.29 <sup>ba</sup>	42.28±1.29 <sup>aA</sup>	12.42±0.08 <sup>db</sup>	10.03±0.21 <sup>ec</sup>
	6	13.98±0.43 <sup>cbC</sup>	39.62±1.21 <sup>ba</sup>	44.41±1.35 <sup>aA</sup>	12.05±0.39 <sup>db</sup>	10.05±0.23 <sup>ec</sup>
	9	14.32±0.47 <sup>cb</sup>	34.03±1.04 <sup>bb</sup>	39.58±1.22 <sup>ab</sup>	12.31±0.41 <sup>db</sup>	10.62±0.23 <sup>eb</sup>
	12	16.89±0.52 <sup>ca</sup>	34.59±1.06 <sup>bb</sup>	38.64±1.17 <sup>ab</sup>	14.32±0.45 <sup>da</sup>	12.27±0.40 <sup>ea</sup>
Amylase (degradated starch mg/g/hr)	0	6.83±0.23 <sup>de</sup>	8.91±0.27 <sup>be</sup>	9.89±0.28 <sup>de</sup>	6.61±0.18 <sup>de</sup>	7.13±0.24 <sup>ee</sup>
	3	12.51±0.39 <sup>cd</sup>	16.58±0.52 <sup>bd</sup>	19.02±0.61 <sup>ad</sup>	9.27±0.29 <sup>ed</sup>	10.38±0.30 <sup>dd</sup>
	6	18.02±0.47 <sup>cc</sup>	22.44±0.63 <sup>bc</sup>	26.48±0.82 <sup>ac</sup>	11.84±0.38 <sup>cc</sup>	14.92±0.47 <sup>dc</sup>
	9	22.21±0.51 <sup>cb</sup>	28.17±0.86 <sup>bb</sup>	32.34±1.01 <sup>ab</sup>	14.93±0.43 <sup>bb</sup>	18.71±0.56 <sup>db</sup>
	12	25.89±0.84 <sup>ca</sup>	31.56±0.95 <sup>ba</sup>	35.37±1.08 <sup>aA</sup>	18.22±0.52 <sup>ca</sup>	21.35±0.65 <sup>da</sup>
Amino- nitrogen (mg/g)	0	2.62±0.09 <sup>ce</sup>	3.29±0.08 <sup>be</sup>	4.18±0.16 <sup>de</sup>	2.61±0.09 <sup>ee</sup>	2.33±0.09 <sup>de</sup>
	3	3.31±0.11 <sup>cd</sup>	4.35±0.15 <sup>bd</sup>	6.09±0.17 <sup>ad</sup>	3.04±0.09 <sup>dd</sup>	2.74±0.08 <sup>ed</sup>
	6	6.76±0.24 <sup>cc</sup>	9.76±0.29 <sup>bc</sup>	12.08±0.35 <sup>ac</sup>	5.12±0.18 <sup>dc</sup>	3.83±0.13 <sup>ec</sup>
	9	8.31±0.27 <sup>cb</sup>	11.79±0.33 <sup>bb</sup>	13.82±0.45 <sup>ab</sup>	6.47±0.23 <sup>db</sup>	4.17±0.15 <sup>eb</sup>
	12	9.47±0.32 <sup>ca</sup>	13.33±0.41 <sup>ba</sup>	15.94±0.46 <sup>aA</sup>	7.15±0.24 <sup>da</sup>	4.52±0.17 <sup>ea</sup>

<sup>1-4)</sup> Abbreviation : See Table 1.

<sup>5)</sup> Values are mean±standard deviations of triplicate determinations, different superscripts within a row(a~d) and a column(A~E) indicates significant difference at  $p<0.05$ .

식해 육질부 단백질의 SDS-PAGE 결과는 Fig. 1과 같다. 생 오징어에서 분리된 단백질 band는 11종으로 myosin heavy chain(MHC)으로 추정되는 116.9~119.0 kDa과 actin과 tropomyosin으로 추정되는 59.3 kDa 및 96.5 kDa 단백질이 뚜렷하게 분리되었다(Lee *et al* 2005). 그러나 각 처리별로 10°C에서 12일간 숙성시킨 식해에서는 MHC가 소실되는 반면 14 kDa 이하의 단백질이 새롭게 나타나는 경향을 보였다. 또 이러한 경향은 CL에 비하여 CA가 현저하여 protease 및 아미노태 질소의 함량 변화와 비슷한 경향을 나타내었다.

식해 숙성 중의 이러한 변화는 오징어 자체에 존재하는 효소, 젓산균이 분비하는 효소, 엷기름 효소의 복합적인 작용과 CA 및 CL의 영향에 의한 결과라 사료된다. 그러나 Lee *et al*(1996)은 오징어 식해의 숙성 중에 전형적인 근섬유 단백질인 myosin heavy chain, actin 및 tropomyosin이외에 myosin light chain도 소실되거나 저분자화한다고 보고하여 본

실험의 결과와 다소 상이하였는데 이러한 경향은 오징어의 종류와 재료 조성과도 관련이 있는 것으로 사료된다.

### 5. 관능검사

10°C에서 12일간 숙성시킨 오징어 식해 육질부에 대하여 관능검사를 행한 결과는 Table 5와 같다. 신맛의 강도와 연화정도는 대조구>CL1>CL2>CA1>CA2로 CA2가 가장 낮아 pH와 산도의 결과와 일치하였으며 CA군은 단단한 조직감이 느껴졌다. 이는 대조구에 비해 CA군이 분해가 덜 되어 숙성 속도가 느려 신맛이 강하지 않고 조직감이 적당한 육질을 유지하는 것으로 판단된다. 종합적인 기호도는 CA2가 가장 높았다.

### 요약 및 결론

오징어 식해의 숙성과 품질에 미치는 chitosan-ascorbate (CA) 또는 calcium lactate(LA)의 첨가(0.5% 첨가; CA1, CL1, 1% 첨가; CA2, CL2) 효과를 조사하였다. pH는 CA군이 대조군에 비하여 높은 반면 산도는 낮은 경향을 나타내었으며, CL군도 CA보다 뚜렷하지는 않으나 동일한 경향을 나타내었다. Protease의 활성도는 전 숙성기간을 통하여 CA 첨가군이 대조군보다 2.3~2.6배, CL 첨가군보다 2.8~3.6배가 높았다. 숙성 12일째의 CA 첨가군의 amylase 활성도는 대조군의 1.2~1.4배, CL군의 1.5~1.9배가 높았다. 함량이 가장 높게 나타난 숙성 12일째의 아미노태 질소의 함량은 CA군이 대조군에 비하여 1.4~1.7배, CL군에 비하여 1.9~3.5배의 높았다. 전기영동 결과, 생 오징어에서는 116.9~119.0 kDa과 59.3 kDa 및 96.5 kDa의 단백질이 뚜렷하였다. 그러나 10°C에서 12일간 숙성시킨 식해에서는 116.9~119.0 kDa 단백질이 소실되는 반면 14 kDa 이하의 단백질이 새롭게 나타나는 경향을 보였다. 또 이러한 경향은 CL에 비하여 CA가 현저하였으며, protease 활성도와 아미노태 질소의 함량 변화와 비슷한 경

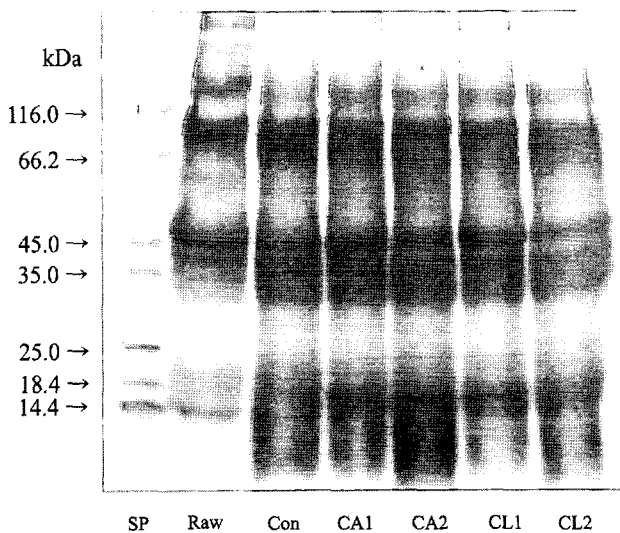


Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of protein extracted from squid sikhae fermented for 12 days at 10°C.

Abbreviations: sp; standard proteins, raw; raw squid.

Table 5. Sensory evaluation of squid sikhae added with chitosan-ascorbate and calcium lactate fermented at 10°C for 12 days

Attributes <sup>1)</sup>	Control	CA1 <sup>2)</sup>	CA2 <sup>3)</sup>	CL1 <sup>4)</sup>	CL2 <sup>5)</sup>
Sour taste	8.21±0.46 <sup>a</sup>	5.95±0.32 <sup>c</sup>	5.32±0.28 <sup>d</sup>	7.16±0.42 <sup>b</sup>	6.39±0.31 <sup>c</sup>
Fishy taste	3.41±0.28 <sup>a</sup>	3.36±0.23 <sup>a</sup>	3.13±0.28 <sup>a</sup>	3.42±0.21 <sup>a</sup>	3.24±0.22 <sup>a</sup>
Softness	8.13±1.01 <sup>a</sup>	5.12±0.46 <sup>b</sup>	3.52±0.47 <sup>c</sup>	7.68±0.57 <sup>a</sup>	6.27±0.76 <sup>b</sup>
Overall acceptability	4.03±0.48 <sup>d</sup>	6.24±0.57 <sup>b</sup>	7.69±0.82 <sup>a</sup>	4.91±0.38 <sup>bc</sup>	5.35±0.65 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Sensory scores were evaluated from none at all or dislike extremely(1 point) to very strong or like extremely(9 points).

<sup>2-5)</sup> See Table 1.

<sup>6)</sup> Values are mean±standard deviations of 50 panels, different superscripts within a row(a~d) indicates significant difference at  $p<0.05$ .

향을 나타내었다. 관능검사 결과, 신맛의 강도와 연화 정도는 대조군>CL1>CL2>CA1> CA2로 CA2가 가장 낮아 pH와 산도의 결과와 일치하였고 종합적인 기호도는 CA2가 가장 높았다. 이상의 결과 CA(1%)는 식해의 숙성에 관여하는 protease의 활성을 높이고 아미노태 질소의 생성을 높일 뿐만 아니라 보존성 증진 및 관능적 기호도를 향상시켜 그 활용성이 높은 것으로 판단되었다.

### 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 대구가톨릭대학교 해양바이오 산업연구센터의 지원에 의한 것입니다.

### 문헌

- Cha YJ, Kim SJ, Jeong EJ, Kim H, Cho WJ, Yoo MY (2004) Studies on taste compounds in alaska pollack sikhae during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1515-1521.
- Cha YJ, Lee CE, Jeong EK, Kim H, Lee JS (2002) Physiological functionalities of traditional Alaska Pollack sikhae. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 559-565.
- Choi C, Koo TH, Kim S, Choi HJ, Seung TS (2002a) A study on quality characteristics of traditional Kyungsangdo Myungtae sikhae. *Korean J Dietary Culture* 17: 267-274.
- Choi C, Koo TH, Zhang YB, Choi HJ, Woo HS, Son GM (2002b) Functional and volatile flavor components in Myungtae sikhae. *Korean J Food Culture* 17: 535-542.
- Choi C, Lee HD, Choi HJ (2001a) A study on quality characteristics and establishment of fermentation process for traditional Kyungsando squid sikhae. *Korean J Dietary Culture* 16: 118-127.
- Choi C, Lee HD, Choi HJ, Son JH, Kim S, Son GM, Cha WS (2001b) Functional and volatile flavor components in traditional Kyungsando squid sikhae. *Korean J Food Sci Technol* 33: 345-352.
- Gornall AG, Bradawill CJ, David MM (1949) Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 177: 751-755.
- Jung BO, Jung SJ, Lee YM, Kim JJ, Suh SB, Lee GW (2001) Antimicrobial activity and antioxidative activity of water soluble chitosan. *J Chitin Chitosan* 6: 12-17.
- Jung HS, Lee SH, Woo KL (1992) Effect of salting levels on the changes of taste constituents of domestic fermented flour sikhae of Hamkyengdo. *Korean J Food Sci Technol* 24: 59-64.
- Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Shizukuishi M, Kobayashi E (1995) Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect ascorbate. *Biosci Biotech Biochem* 59: 786-790.
- Kim SD, Kim MH, Kim MK, Kim ID (1997) Neutralization and buffer effect of crab shell powder in kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 569-574.
- Kim SM, Bank OD, Lee KT (1994) The development of squid sik-hae in the Kang-nung district. *Bull Korean Fish Soc* 27: 357-365.
- Kim SM, Jeong IH, Cho YJ (1994a) The development of squid Sik-hae in Kang-Nung district (The effects of fermentation temperatures and periods on the properties of squid sikhae). *Bull Korean Fish Soc* 27: 215-222.
- Kim SM, Jeong IH, Cho YJ (1994b) The development of squid Sik-hae in Kang-Nung district(The effects of fermentation temperatures and periods on chemical and microbial changes, and the partial purification of protease). *Bull Korean Fish Soc* 27: 223-231.
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 751-756.
- Lee GK, Kim YM, Min YC (1988) The production of calcium lactate by *Lactobacillus sporogenes*. II. Production of calcium lactate. *Korean J Food Nutr* 1: 102-107.
- Lee NH, Oh SW, Kim YM (1996) Biochemical changes in muscle protein of squid sikhae during fermentation effects of temperature and moisture content. *Korean J Food Sci Technol* 28: 292-297.
- Lee SW (1986) Study of Ehjang(Korean fermented aquatic products). *Korean J Dietary Culture* 1: 371-382.
- Lee YK, Lee MY, Kim SD (2003) Effect of calcium lactate prepared from black snail on dough fermentation, quality and shelf-life of bread. *J East Asian Soc Dietary Life* 13: 136-144.
- Lee YK, Park BH, Kim SD (2005) Quality characteristics of squid sikhae by preparing method and fermentation conditions. *J East Asian Soc Dietary Life* 14: 405-412.
- Lim YI, Yoo JY (1999) Characteristics of fungal protease produced by *Mucor racemosus* from Korean traditional Meju. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 27: 466-470.
- Meilgaard M, Civille GV, Carr BT (1987) Sensory evaluation techniques. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA. p

- 39-112.
- Moussa S, Kim YB, Lee CH (1987) Microbial characterization of Gajami sikhae fermentation. *Kor J Appl Microbiol Bioeng* 15: 150-157.
- Park SH, Lee JH (2005) The correlation of physico-chemical characteristics of kimchi with sourness and overall acceptability. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 103-109.
- Pattison T, Von Holy A (2001) Effect of selected natural antimicrobials on baker's yeast activity. *Letters in Applied Microbiol* 33: 211-215.
- Riccardo A, Muzzaarelli A, Tanfani F, Emanuelli M (1984) Chelating derivatives of chitosan obtained by reaction with ascorbic acids. *Carbohydrate Polymers* 4: 137-151.
- Shin SM (2004) A study on preparing method and fermenting condition of myungtae sikhae Korean fermented fishery food. *J East Asian Soc Dietary Life* 14: 608-617.
- Shu HK (1987) A study on the regional characteristics of Korean chotkal. The ways of preservation of chotkal. *Korean J Dietary Culture* 2: 149-161.
- The Korean Society of Food Science and Nutrition (2000) Handbook of experiments in food science and nutrition (Food Science). Hyoil Press, Seoul. p 198-200.
- Tsujikawa T, Kanauchi O, Andoh A, Saotome T, Sasaki M, Fujivama Y, Bamba T (2003) Supplement of chitosan and ascorbic acid mixture for Crohn's disease. A pilot study. *Nutrition* 19: 137-139.
- Zoldners J, Kiseleva T, Kaiminsh I (2005) Influence of ascorbic acid on the stability of chitosan solutions. *Carbohydrate Polymers* 60: 215-218.
- (2005년 8월 17일 접수, 2005년 10월 7일 채택)