

식해 소재로서 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 크기의 최적화 및 이를 활용한 식해의 품질 특성

강상인 · 최유리¹ · 박선영¹ · 박시형¹ · 박지훈¹ · 조혜정¹ · 허민수^{2,3} · 김진수^{1,3*}

신라대학교 수산물종합연구센터, ¹경상국립대학교 해양식품공학과/해양산업연구소, ²경상국립대학교 식품영양학과, ³경상국립대학교 수산식품 산업화 기술지원센터

Optimization of Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* Size as a Raw Material for *Sikhae* and Quality Characteristics of *Sikhae* with Suitable Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* Weight

Sang In Kang, Yu Ri Choe¹, Sun Young Park¹, Si Hyeong Park¹, Ji Hoon Park¹, Hye Jeong Cho¹, Min Soo Heu^{2,3} and Jin-Soo Kim^{1,3*}

Seafood Research Center, Silla University, Busan 49277, Republic of Korea

¹Department of Seafood Science and Technology/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Republic of Korea

²Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea

³Research Center for Industrial Development of Seafood, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Republic of Korea

This study was conducted to optimize the size of olive flounder *Paralichthys olivaceus* (OF) as a material of *sikhae* and to investigate the quality characteristics. The results on the protease activity of OF meat, protein and ash contents of the bone, and yields and hardness of fish bone during fermentation time suggest that the suitable fish weight for *sikhae* was less than 250 g. The proximate compositions of the OF *sikhae* fermented under optimum condition (fermentation for 9 days at 15°C), were 73.0% moisture, 12.0% crude protein, 1.3% crude fat and 2.4% ash. The salinity, titration acidity and amino acid nitrogen contents per 100 g *sikhae* were 1.7 g, 2.46 g, and 311.3 mg, respectively. The lactic acid bacteria concentration in the *sikhae* were 8.84 log CFU/g, which were higher than those (5.78–6.62 log CFU/g) of 5 kind of commercial flounder *sikhae*. The functional properties, such as ACE inhibitory activity (69.0%), antioxidative activity (69.3%), α -glucosidase inhibitory activity (22.7%), xanthine oxidase inhibitory activity (88.2%), and nitrite scavenging activity (96.4%) of the *sikhae* were superior to those of 5 kind of commercial flounder *sikhae*.

Keywords: Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, Oliver flounder *sikhae*, *Sikhae*, Salt-fermented seafood

서 론

넙치(olive flounder *Paralichthys olivaceus*)는 콜라겐과 지질이 적절한 함량으로 함유되어 있어 핏감으로서 육조직감이 좋을 뿐만 아니라 맛도 담백하다(Choe et al., 2022; Park et al., 2022). 또한 넙치는 오메가-3 지방산의 조성비가 높고, 섭취 후 항산화성, 항고혈압성 등의 기능을 가진 펩타이드(peptide)의 생성 등으로 건강 기능도 기대되는 수산물이어서(Ko et al.,

2013; 2016), 국내 소비자들이 핏감으로 아주 선호하고 있는 어종 중의 하나이다. 이로 인하여 넙치는 자연산만으로는 수요에 턱없이 부족하여 대부분이 양식산으로 대체되고 있다(MOF, 2022). 그러나, 넙치는 종종 공급과 수요가 일치하지 않아 가격이 등락을 거듭하여 양식산업계에 계획적 경영에 큰 어려움을 주고 있고, 이의 해결이 절실하다. 이와 같은 넙치의 공급과 수요의 불일치는 여러 가지 요인이 있다. 이 중 가격의 상승 요인은 적조, 환파, 이상 고온 현상 등으로 어류의 대량 폐사에 의

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 772. 9146 Fax: +82. 55. 772. 9149

E-mail address: jinsukim@gnu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0606>

Korean J Fish Aquat Sci 56(5), 606-614, October 2023

Received 14 September 2023; Revised 11 October 2023; Accepted 20 October 2023

저자 직위: 강상인(선임연구원), 최유리(대학원생), 박선영(대학원생), 박시형(대학원생), 박지훈(대학원생), 조혜정(대학원생), 허민수(교수), 김진수(교수)

한 공급 물량의 부족 현상에 의하여 발생한다. 가격 하락 요인은 상품성 제품 이외에 일정 중량 이하, 기형어 등과 같은 저상품성 넙치의 다량 유통에 의한 공급 과다, 연어와 같은 신세대 선호 대체 어종의 등장, 스쿠티카충 감염 등과 같은 돌발 원인에 의하여도 발생한다(Park et al., 2022). 이와 같이 넙치의 공급 과다에 의한 가격 하락은 이의 유통 대상 넙치를 저장성이 있는 가공품의 소재로 사용하는 경우 해소 가능하다. 한편, 식해는 지방에 따라 약간씩 차이가 있으나 일반적으로 세절 가자미, 도다리, 전어, 조기, 명태, 갈치, 쥐치, 도루묵, 멸치, 빨간 횡대, 우럭, 오징어, 고동, 백합 등 과 같이 일반적으로 젓갈의 원료가 되는 어패류를 염지한 후 여기에 10% 정도의 식염을 가하고, 조밥, 엿기름, 고춧가루, 무 등의 부재료를 혼합하여 발효시켜 제조한다(Choe et al., 2023). 이러한 일면에서 넙치의 공급 물량 조절에 의한 가격 안정화를 위한 일련의 연구 및 산업화는 연육(surimi) 및 어묵(Shin et al., 2011), CJ에서 수출에 성공한 넙치 스테이크(steak), 넙치가 함유된 미역국 등이 있다. 또한, 식해 제조에 관한 연구로는 오징어 식해(Kim et al., 1994a, 1994b, 1994c; Choi et al., 2001; Lee et al., 2005), 가자미 식해(Lee et al., 1983; Souane et al., 1987; Jung et al., 1992), 명태 식해(Cha et al., 2004), 복어 식해, 우럭 식해, 멸치 식해(Lee and Choe, 1974), 골뱅이 식해, 백합 식해(Koo et al., 2009), 멧게 식해(Kim et al., 2013) 등이 있다. 하지만, 저 중량의 저상품성 넙치를 활용한 식해와 같은 수산발효식품으로의 이용에 관한 연구는 전무하다.

본 연구에서는 저 중량 저 상품성의 넙치를 활용한 식해의 제조에 의하여 넙치 가격의 안정화를 위한 일련의 연구로 식해 소재로서 넙치의 적정 크기를 살펴보고, 이의 크기 넙치를 활용한 식해의 제조 및 이의 품질 특성을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

넙치 식해의 제조를 위한 주재료인 제주산 넙치(olive flounder *P. olivaceus*)는 제주특별자치도 제주시 소재 제정수산에서 양식한 것을 부산광역시 남구 소재 서광수산으로부터 구입하여 사용하였다. 이때 사용한 넙치의 중량은 250 g 미만(전장 26–28 cm 범위, 체중 220–250 g 범위, 이하 TS로 칭함), 250–400 g 범위(전장 28–31 cm 범위, 이하 DS로 칭함) 및 400 g 이상(전장 30–34 cm 범위, 체중 400–500 g 범위, 이하 S로 칭함)과 같이 3종으로 구분하여 구입하였는데, 뼈의 연화 정도용 실험의 경우 이 3종의 넙치를 모두, 기타 시제 식해의 제조에는 TS만을 사용하였다.

그리고, 넙치 식해의 제조용 부재료인 쌀(Namchang Co. Ltd., Namwon, Korea)은 경상남도 통영시 소재 M마트로부터, 메조(Mirang Co. Ltd., Seoul, Korea), 맥아(Namyangfood Co. Ltd., Busan, Korea), 고춧가루(Jeondamwon Farming Association,

Sunchang, Korea), 다진마늘 (CJ Cheiljedang Co. Ltd., Seoul, Korea), 다진생강(Newfood Co. Ltd., Changnyeong, Korea), 밀가루(CJ Cheiljedang Co. Ltd.), 설탕(CJ Cheiljedang Co. Ltd.), 소금(Hanju Co. Ltd., Ulsan, Korea) 및 무 등은 경상남도 통영시 소재 대형소비마트로부터 구입하여 사용하였다.

넙치 식해의 제조 및 시판 식해 구입

식해의 주원료인 넙치는 식해 소재로서 적정한 크기 구멍 실험의 경우 어체 크기가 가장 작은 넙치인 TS를 사용하였다. 넙치 식해의 제조를 위한 전처리하는 두부, 지느러미, 내장 및 비늘을 제거하고 물로 세척 및 탈수 후 폭 2.5 cm 간격으로 다이스(dice) 처리한 다음 여기에 식염을 2% (w/w)가 되게 가하여 30분 동안 염지처리하여 제조하였다.

넙치 식해는 염지처리한 넙치 무게에 대하여 메조밥[쌀과 메조를 1:1 (w:w)로 혼합하여 제조한 된밥] 50% (w/w), 고춧가루 30% (w/w), 맥아가루 10% (w/w), 밀가루 3% (w/w), 다진마늘 15% (w/w), 다진 생강 5% (w/w), 물 50% (v/w), 무채[무 무게의 5% (w/w)에 해당하는 소금에 30분 동안 절인 다음 손으로 짜서 물기를 제거한 것] 40% (w/w), 설탕 1% (w/w)가 되도록 각각 가한 다음 잘 혼합하여, 플라스틱병(직경×높이, 14×18 cm, 용량 2 L)에 넣어 밀봉한 후 15°C로 조정된 인큐베이터(LTI-400E; Sunileyla Co., Seongnam, Korea)에서 일정 기간 발효시켜 제조하였다.

효소활성의 측정

조효소액은 넙치 근육 마쇄물 2 g에 탈이온수 10배량(v/w) (20 mL)을 가해 균질화한 후 원심분리(1,597 g, 30분) 및 여과하여 조제하였다. 이들 조효소액은 천연 기질[hemoglobin (pH 3) 및 casein (pH 6)]과 합성 기질[N α -benzoyl-arginine-*p*-nitroanilide (BAPNA), N-succinyl-alanylalanyl-*p*-nitroanilide (SAAPFNA), L-leucine-*p*-nitroanilide (LeuPNA) 및 L-arginine-*p*-nitroanilide (ArgPNA)]에 대한 단백질 분해 효소활성 측정을 위한 시료로 사용하였다.

조효소액의 단백질 분해 효소 활성은 산성 단백질 분해 효소의 경우 1% (w/v) hemoglobin을, 약산성 및 알칼리성 단백질 분해 효소의 경우 2% (w/v) casein을 각각 기질로 사용하였고, 완충 용액은 0.1 M glycine-HCl (pH 3), 0.1 M sodium phosphate (pH 6)를 사용하여 Anson (1938)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 조효소액 0.5 mL에 1 mL의 각 pH 별 완충 용액 및 0.5 mL의 기질 용액을 반응 혼합액으로 하여, 40°C에서 1시간 동안 진탕 항온수조(SWD-10; JEIO TECH, Daejeon, Korea)에서 반응시켰다. 이어서 2 mL의 5% (w/v) trichloroacetic acid (TCA) 용액을 가해 반응을 정지시키고, 원심분리(1,597 g, 15분)한 후, 상층액의 흡광도(280 nm)를 측정하였다. 효소활성 단위(U/mg)는 1 mg의 효소가 1시간 동안 변화시키는 흡광도 0.1 digit을 1 U/mg으로 나타내었다.

어류뼈의 수율 및 경도

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

일반성분 함량 및 염도

일반성분은 AOAC (2005)법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semimicro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법 및 회분은 건식회화법으로 각각 측정하였다.

염도는 넙치 식해를 검체로 하여 식품공전(MFDS, 2022)에서 언급한 회화법으로 실시하였다. 염도는 검체 적정량(식염 약 1 g을 함유하고 있는 시료량)을 수욕 상에서 증발 건조한 후 회화로(J-FM 2; Jisico Co., Seoul, Korea)에서 회화시켜 이를 물에 녹이고 정용(물을 이용하여 500 mL)한 다음 여액 10 mL에 크롬산칼륨(K_2CrO_4) 용액 2-3방울을 가하고 0.02 N 질산은($AgNO_3$) 용액으로 적정하여 산출하였다.

염도=

$$\frac{0.02 \text{ N 질산은 적정 소비량(mL)} \times 0.02 \text{ N 질산은 역가} \times 5.85}{\text{검체 채취량(g)}}$$

pH, 적정 산도 및 아미노산 질소

pH, 적정산도 및 아미노산 질소 함량의 측정을 위한 전처리 시료는 넙치 식해 5 g에 탈이온수 20 mL를 가하고 균질화한 다음 50 mL로 정용하고, 여과하여 제조하였다.

pH는 전처리 시료를 이용하여 pH meter (Metrohm 691; Metrohm, Herisau, Switzerland)로 측정하였고, 적정 산도는 Vanderzant and Splittstoesser (1992)의 방법에 따라 시료액 25 mL에 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.4가 될 때까지 적정한 다음 그 소비량(mL)을 젯산으로 환산(환산계수 0.009)하여 나타내었다.

아미노산 질소 함량은 Beddows et al. (1979)이 언급한 Formol법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 적정산도 측정이 종료된 시료에 중성 포르말린 용액 20 mL를 가하고, 여기에 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.4가 될 때까지 적정한 다음 그 소비량(mL)으로 계산하여 나타내었다.

헌터 적색도

헌터 적색도는 식해를 food mixer (FM-700W; Hanil Electrics Co., Seoul, Korea)로 5분간 마쇄한 것을 헌터 직시색차계(ZE 2000; Nippon Denshoku Industries Co., Tokyo, Japan)

의 paste상 용기에 담아 적색도를 측정하였다. 이때 헌터 직시 색차계의 표준 백판은 L값이 96.85, a값이 -0.43 및 b값이 0.64 이었다.

젯산균 농도

젯산균 농도의 계측을 위한 전처리 시료는 Lee and Oh (2002)가 언급한 방법에 따라 식해 20 g을 무균적으로 취하여 180 mL의 멸균 생리 식염수(0.85% NaCl)를 넣고 90초간 균질화한 후 10진 희석법으로 희석하여 제조하였다.

젯산균 농도는 전처리한 시료를 De Man Rogosa Sharpe (MRS) agar (Difco Co. Ltd., Sparks, NV, USA)에 1 mL 접종하고 이를 배양(37°C에서 48-72시간)하여 형성된 집락을 계수하여 나타내었다.

기능적 특성

식해의 기능적 특성은 angiotensin-I converting enzyme (ACE) 저해 활성, 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical 소거 활성, α -glucosidase 저해 활성, xanthine oxidase 저해 활성 및 아질산염 소거 활성에 대하여 살펴보았다.

ACE 저해 활성 측정용 전처리 시료는 식해 100 g을 저온실(4°C)에서 균질화한 것을 검체로 하여, 여기에 6배(v/w)의 메탄올을 가하고 6시간 동안 교반하여 추출 및 여과한 후 회전식 진공증발기(Eyela N-1000; Rikakika Co., Tokyo, Japan)로 농축시킨 다음 농축물에 대하여 10배(v/w)의 물로 용해 및 여과하여 제조하였다. ACE 저해 활성은 전처리 시료에 정제 ACE를 가하여 Horiuchi et al. (1982)의 방법에 따라 Zorbax 300SB C₈ column (4.6 × 150 mm; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)이 장착된 HPLC (high performance liquid chromatography; LC-10AVP; Shimadzu Co. Ltd., Tokyo, Japan)로 측정하였다. 즉, ACE 저해 활성을 측정하기 위한 pre-incubation은 전처리 시료 15 μ L에 정제 60 mU angiotensin converting enzyme from rabbit lung (ACE; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 50 μ L를 가한 후 preincubation (37°C, 5분)시켜 제조하였다. 이어서 전처리 시료에 붕산 완충액(pH 8.3, 400 mM NaCl 함유)에 용해한 5 mM hippuryl-histidyl-leucine 용액 125 μ L를 가하고, 여기에 다시 반응(37°C, 30분)시킨 후 10% (v/v) trifluoroacetic acid (TFA) 20 μ L를 가하여 반응을 정지시켜 제조하였다. 이때 대조구는 전처리 시료 대신에 증류수 15 μ L를 사용하여 동일한 방법으로 조제하여 사용하였다. 이어서 반응 용액 20 μ L를 HPLC에 주입한 다음 detector를 UV 280 nm로, mobile phase를 DDW/0.1% TFA, 70% CH₃CN/0.1% TFA)로, 유속(flow rate)을 1 mL/min으로, 칼럼과 시료 온도를 모두 20±2°C로 하여 분석하였다.

2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical 소거 활성은 Blois (1958)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, ACE 저해 활성 측정용 전처리 시료 0.3 mL에 4×10^{-5} M DPPH 용액 2.7 mL를 가하고 교반한 후 30분간 반응시킨 다음 516 nm에서

흡광도를 측정하고, 이를 토대로 계산하여 나타내었다.

α -Glucosidase 저해 활성은 Watanabe et al. (1997)의 방법으로 측정하였다. 이때 효소는 효모로부터 얻어진 α -glucosidase [0.2% (w/v) bovine serum albumin과 0.02% (w/v) NaNO_3 함유 100 mM phosphate buffer (pH 7.0)를 이용하여 0.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 조제]를, 기질은 *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside [100 mM phosphate buffer (pH 7.0)를 이용하여 5 mM로 조제]를, 그리고, α -glucosidase 저해 활성 측정용 전처리 시료는 ACE 저해 활성 측정용 전처리 시료 100 μL 를 dimethyl sulfoxide (DMSO) 900 μL 에 녹여 조제한 것을 각각 사용하였다. α -Glucosidase 저해 활성은 기질 첨가 전 흡광도[전처리 시료 용액(대조구의 경우 DMSO) 10 μL 와 효소 용액 50 μL 을 차례로 첨가하고 혼합한 다음, 5분 동안 실온에서 반응시킨 후에 405 nm에서 측정]와 기질 첨가 후 흡광도(이전에 혼합한 혼합물에 기질 용액 50 μL 를 첨가한 다음 5분 동안 실온에서 반응시킨 후에 405 nm에서 측정)를 각각 측정한 후에 기질 첨가 전후의 변화된 흡광도의 차이로부터 산출하였고, 각 실험은 3회 반복 수행하였으며, 이들의 평균치로 나타내었다.

Xanthine oxidase 저해 활성은 Stirpe and Corte (1969)의 방법에 따라 측정하였다. Xanthine oxidase 저해 활성의 측정을 위하여 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 0.4 mL에 xanthine oxidase (0.2 unit/mL) 0.2 mL와 ACE 저해 활성 측정용 전처리 시료 0.2 mL (대조구에는 시료액 대신 증류수를 0.2 mL)를 가하고, 37°C에서 5분간 반응시킨 다음 20% (w/v) TCA 1 mL를 가하여 반응을 종료시켰다. 이어서 반응물을 원심분리(20,000 g, 10분) 및 여과하여 여액에 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하고, 이를 토대로 계산하여 나타내었다.

아질산염 소거 활성은 Gray and Dugan (1975)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 즉, ACE 저해 활성 측정용 전처리 시료 0.5 mL [대조구의 경우 시료 대신에 증류수를 0.5 mL 첨가]에 1 mM NaNO_2 용액 1 mL를 가하고 혼합한 다음, 1 N HCl로 pH 1.2로 보정한 후 반응(37°C, 1시간)시켰다. 이어서 반응액 1 mL를 취하여 2% (v/v) acetic acid 용액 5 mL와 Griess 시약[30% (v/v) acetic acid으로 각각 조제한 1% (v/v) sulfanilic acid와 1% (v/v) naphthylamine을 1:1 (v/v)의 비율로 혼합하여 제조] 0.4 mL를 가한 다음 혼합하고 25°C에서 15분간 방치한 후 spectrophotometer (UV-VIS 1700; Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였고, 이를 토대로 계산하여 나타내었다.

통계처리

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

결과 및 고찰

근육 유래 조효소의 분포 특성

생선 횡감으로 상품성이 떨어지는 비규격 넙치(500 g 이하)를 대상으로 식해 가공원료로서의 이용 가능성을 검토하기 위하여, 식해 가공 원료의 주요 가공 영향 요인인 자가소화 효소의 분포 및 특성에 대하여 살펴보았다.

넙치 무게별 자가소화 효소 용액의 천연 기질 및 합성 기질에 대한 활성 분포는 Fig. 1과 같다. 넙치 무게별 자가소화 효소의 천연 기질별(Hb 및 casein), pH별(3 및 6)에 따른 활성은 천연 기질의 종류와 pH에 관계없이 TS와 DS가 모두 0.28–0.38 U/mg 범위, 그리고 S가 0.34–0.48 U/mg 범위의 활성으로, 1.0 U/mg 이하의 아주 미미한 수준을 보였다. 따라서 넙치의 자가소화효소의 천연 기질별(Hb 및 casein), pH별(3 및 6)에 따른 활성의 차이는 넙치 무게 간(TS, DS 및 S), 기질 종류 간 및 pH 간에 관계없이 모두 의미가 없는 것으로 판단되었다. 일반적으로 수산물의 근육 중 단백질 자가소화 효소는 Hb (pH 3)의 경우 aspartic proteinase인 cathepsin D 유사 enzyme이, Hb 및 casein (pH 6)의 경우 동물 세포 중의 lysosome에 존재하는 cysteine proteinase가 분포하고 있는 것으로 추정되고 있다 (Heu and Ahn, 1999).

넙치 무게별 자가소화 효소의 합성 기질별 활성은 cysteine proteinase인 cathepsin B 및 L과 그리고 serine proteinase인 trypsin like enzyme이 분해 활성을 나타내는 기질로서 BAPNA, cysteine proteinase인 cathepsin G, 그리고 serine proteinase인 chymotrypsin like enzyme이 분해활성을 나타내는 기질로서 SAAPFNA, exopeptidase인 aminopeptidase와 dipeptidyl peptidase인 cathepsin H이 분해 활성을 나타내는 기질로서 LeuPNA 및 ArgPNA를 각각 사용하여 이들의 효소 활성에 대하여 검토하였다.

넙치 무게별 자가소화 효소의 합성 기질별 활성은 어체의 무게에 관계없이 LeuPNA가 10.36–12.60 U/mg 범위로 가장 강하게 나타났고, 다음으로는 ArgPNA (5.08–5.29 U/mg)으로 나타났다. 따라서 근육 중에는 aminopeptidase와 cathepsin H 유사 효소가 다량 분포하고 있는 것으로 추정되었으며, SAAPFNA (2.54–3.08 U/mg)와 BAPNA (0.14–0.15 U/mg)에 대한 분해 활성은 미약하여 cathepsin G와 cathepsin B 및 L 유사 효소의 분포는 미미한 것으로 판단되었다.

이상의 결과로부터 500 g 미만의 중량을 가진 넙치 근육에 분포하는 자가소화 효소는 중량에 따른 차이가 인지되지 않았고 ($P>0.05$), 이들을 이용하여 제조한 식해의 경우 넙치 근육에 분포하는 단백질을 endoprotease가 1차적으로 분해하고, 이어서 생성된 peptide를 exopeptidase가 2차적으로 분해하여 식해의 맛에 중요한 역할을 하는 저분자량의 peptide나 유리아미노산을 다량 생산할 것으로 판단되었다.

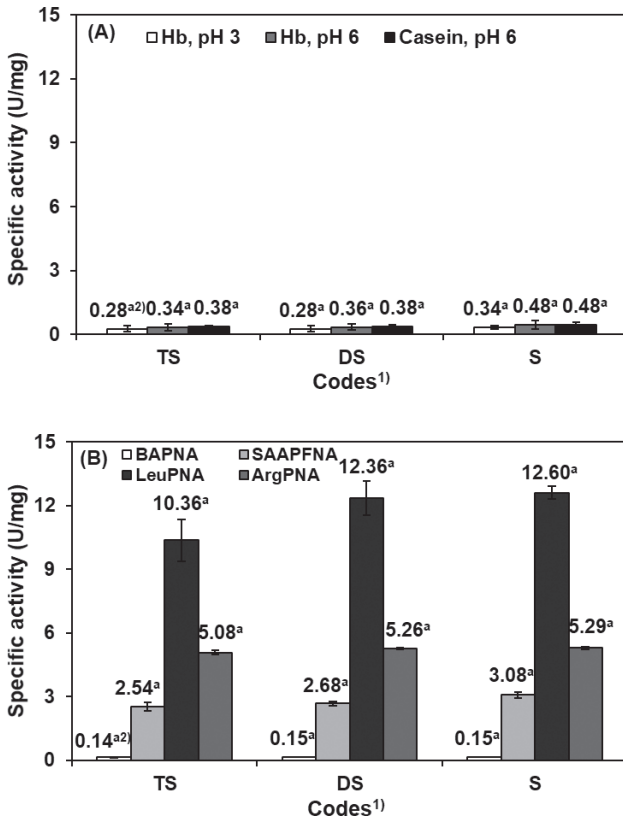


Fig. 1. Proteolytic activity (A) and amidolytic activity (B) of crude extracts from the muscle by size of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. ¹⁾TS, Less than 250 g; DS, More than 250-less than 400 g; S, More than 400-less than 500 g. ²⁾Different letters on the bar in the same item column indicate a significant difference at P<0.05.

중골의 단백질 및 회분 함량

어류뼈는 어체 크기가 클수록, 즉 중량이 무거울수록 콜라겐의 함량이 적고, 칼슘아파타이트(calcium apatite)의 함량이 많다(Kim and Kang, 2021). 이로 인하여 뼈의 이질감은 칼슘아파타이트의 함량이 많을수록 유산균이 분비하는 유기산에 의하여 가용화되지 않고 남아 있는 함량이 많아 느끼기 쉽다. 이러한 일면에서 넙치 중량에 따른 어류뼈 100 g 당 콜라겐 함량을 추정하여 살펴볼 목적으로 조단백질 함량을, 그리고 회분 함량을 살펴본 결과는 Fig. 2와 같다. 넙치의 어체 중량에 따른 단백질 함량은 TS가 10.3 g으로 가장 높았고, 다음으로 DS (8.7 g)이었으며, S가 7.3 g으로 가장 낮아, 어체의 중량이 가벼울수록 단백질 함량, 즉 콜라겐 함량이 높을 것으로 추정되었다.

이와는 달리 넙치의 어체 중량에 따른 어류뼈 100 g 당의 회분 함량은 TS가 12.6 g으로 가장 적었고, 다음으로 DS가 13.0 g이었으며, S가 14.6 g으로 가장 높아, 어체의 중량이 무거울수록 회분 함량이 많을 것으로 추정되었다. 이와 같이 어체 중량에 따른 어류뼈의 조단백질과 회분 함량의 결과로 미루어 보아 어체

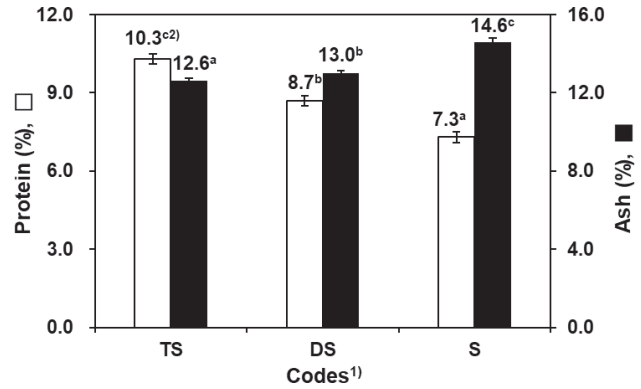


Fig. 2. Protein and ash contents of bone in olive flounder *Paralichthys olivaceus* by size. ¹⁾TS, Less than 250 g; DS, More than 250-less than 400 g; S, More than 400-less than 500 g. ²⁾Different letters on the bar in the same item column indicate a significant difference at P<0.05.

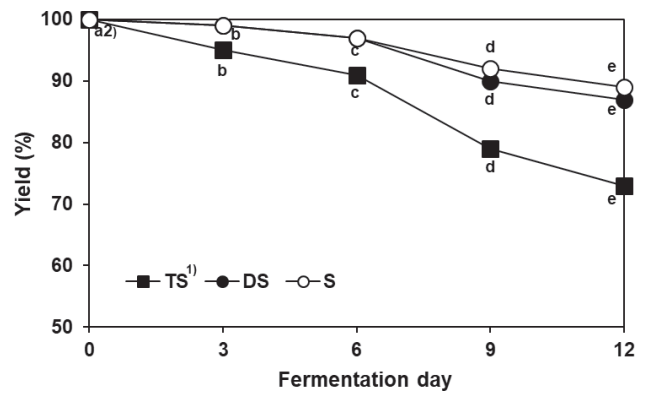


Fig. 3. Change in yields of bones separated from olive flounder *Paralichthys olivaceus sikhae* with different size during fermentation. ¹⁾TS, Less than 250 g; DS, More than 250-less than 400 g; S, More than 400-less than 500 g. ²⁾Different letters on the data in the same sizes indicate a significant difference at P<0.05.

중량이 무거울수록 어류뼈의 경도는 강하리라 추정되었다. 따라서 어류뼈의 경도를 고려한 식해 소재로서는 넙치 중량이 가벼울수록 적절하리라 추정되었다.

발효 중 넙치 식해 뼈의 수율 및 경도 변화

일반적으로 식해는 발효(12일) 중 뼈가 유연화되어 뼈채 식용한다. 이러한 일면에서 최적 발효 식해에 함유되어져 있는 뼈의 유연화 정도를 검토할 목적으로 원료 넙치의 중량을 달리한 식해 3종의 발효 중 뼈(발효 직전에 넙치로부터 분리한 다음 식해 제조를 위한 믹스에 첨가)의 수율 변화를 살펴본 결과는 Fig. 3과 같다. 발효 중 넙치 식해 3종으로부터 분리한 넙치 뼈의 수율은 어체 중량에 관계없이 모두 저하하는 경향을 나타내었고, 그

변화 정도는 TS 식해, DS 식해 및 S 식해의 순으로 어체 중량이 가벼울수록 컸다.

넙치 중량을 달리한 넙치 식해 3종의 발효 중 뼈의 경도 변화를 보았다. 넙치 식해 3종으로부터 분리한 뼈는 S 식해 및 DS 식해의 경우 발효 기간에 관계없이 부드러워지지 않았으며, TS 식해로부터 분리한 뼈는 발효 6일째까지는 부드러워지지 않았으나, 발효 9일째부터는 부드러워져 이질감을 느낄 수 없을 것으로 판단되었다(데이터 미제시). 또한, 넙치 식해 3종의 발효 중 뼈를 관능적으로 살펴보는 경우 발효 직전에는 뼈의 중심에 빈공간이 없었으나, 발효 기간이 경과할수록 빈공간이 노출되었고, TS 식해로부터 분리한 뼈의 경우 중심이 빈공간으로 이루어져 있음이 관찰되었다(데이터 미제시).

이상의 발효 중 넙치 식해의 뼈의 수율과 경도의 결과로 미루어 보아 뼈를 분리하지 않고 제품화하기 위한 넙치의 중량은 250 g 미만(TS)이어야 할 것으로 판단되었다.

발효 중 넙치 식해의 화학적 성분 및 젖산균 농도의 변화

이후 발효(12일 간) 중 넙치 식해의 화학적 성분(pH, 적정산도 및 아미노산 질소) 및 젖산균 농도 변화를 측정하기 위하여 사용한 넙치의 중량은 9일 이후에 뼈의 연화가 확인한 TS로 하였다.

넙치로 식해의 pH 및 적정 산도의 변화는 Fig. 4와 같다. 발효 중 식해의 pH와 적정 산도는 담금 직후의 경우 각각 5.76 및 0.58 g/100 g이었고, 3일째(각각 5.15 및 1.25 g/100 g)부터 급격히 감소하여 9일째에 각각 4.56 및 2.46 g/100 g, 12일째에 각각 4.30 및 2.91 g/100 g에 도달하여, 발효 중 계속적으로 산성화 및 증가하는 경향을 나타내었고, 두 항목 간에는 역상관 관계를 나타내었다. 이와 같은 결과는 발효 중 넙치 식해가 젖산균에 의하여 생성된 유기산의 영향이라 판단되었다(Kim et al., 2013). 한편, Cha et al. (2004)은 20°C에서 발효 중 명태 식해의 pH와 적정 산도는 각각 16일째 이후부터 3.86 부근 및 18일째 3.3 g/100 g 부근이었다고 보고한 바 있고, Lee et al. (1983)은 20°C에서 발효 중 가자미 식해의 pH 및 적정산도는 7일째부터 각각 4.5-4.6 범위 및 발효 21일째 2.3 g/100 g이었다고 보고한 바 있다. 이와 같이 Cha et al. (2004)과 Lee et al. (1983)의 식해의 pH 및 적정 산도에 대한 보고와 본 연구에서 식해의 이들 성분에 대한 결과와는 다소 차이가 있었는데, 이는 주원료인 수산물과 여러 가지 부원료의 종류 및 배합비, 그리고, 발효 조건 등에서 차이가 있었기 때문이라 판단되었다. 한편, Kim et al. (2013)은 명게 식해의 개발 및 특성 연구에서 일반적으로 신맛을 즐기는 소비자들의 경우 pH 4.5 부근의 제품을 선호하고, 그렇지 않은 소비자들의 경우 pH 4.6 부근의 제품을 선호하는 것으로 보고한 바가 있다. 이와 같은 발효 중 넙치 식해의 pH와 적정 산도의 결과, 그리고 Kim et al. (2013)의 보고로 미루어 보아 넙치 식해의 적정 발효 일수는 9일로 판단되었다. 발효(12일) 중 넙치 식해의 아미노산 질소 함량 변화는 Fig. 5와 같다. 넙치 식해 100 g 당의 아미노산 질소 함량은 담금 직후 87 mg이

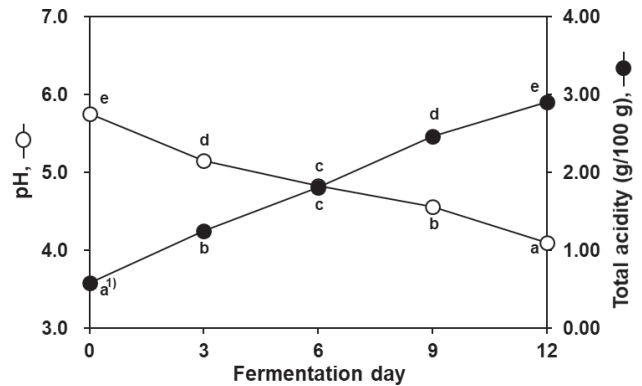


Fig. 4. Changes in pH and total acidity content of olive flounder *Paralichthys olivaceus sikhae* with TS szie during fermentation. †Different letters on the data in the same items indicate a significant difference at P<0.05. TS, Less than 250 g.

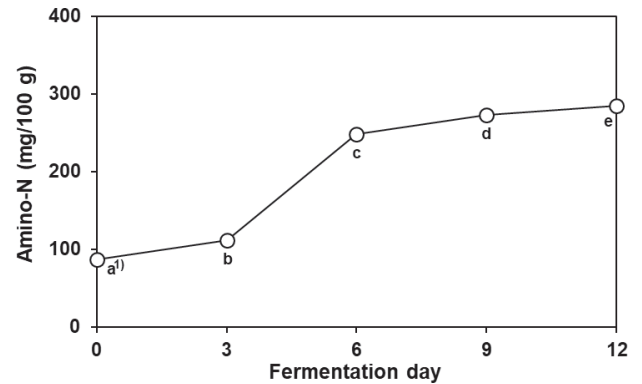


Fig. 5. Changes in amino acid nitrogen (amino acid-N) content of olive flounder *Paralichthys olivaceus sikhae* with TS szie during fermentation. †The different letters on the data indicate a significant differences at P<0.05. TS, Less than 250 g.

있고, 이후 발효 중 유의적으로 증가하였는데(P<0.05), 3일째에 112 mg으로 약간, 6일째에 248 mg, 9일째에 273 mg으로 급격히, 12일째에 285 mg으로 미미하게 증가하였다. 한편, 식해의 아미노산 질소 함량은 Cha et al. (2004)의 경우 20°C에서 16일간 발효시킨 명태 식해 100 g의 경우 260 mg이었다고 보고한 바 있고, Jung et al. (1992)은 최적 발효기에 가자미 식해 100 g의 경우 233-290 mg 범위가었다고 보고한 바 있으며, Kim et al. (1994c)은 최적 발효기에 오징어 식해 100 g의 경우 300 mg이었다고 보고한 바 있어, 본 실험의 결과와 유사한 함량이었다.

발효(12일) 중 넙치 식해의 젖산균 농도 변화는 Fig. 6과 같다. 발효 중 넙치 식해의 젖산균 농도는 담금 직후에 4.70 log CFU/g이었고, 3일째에 6.01 log CFU/g, 6일째에 7.12 log CFU/g, 9일째에 8.84 log CFU/g, 12일째에 8.96 log CFU/g로 발효가 진행되면서 직선적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 한편, Kim

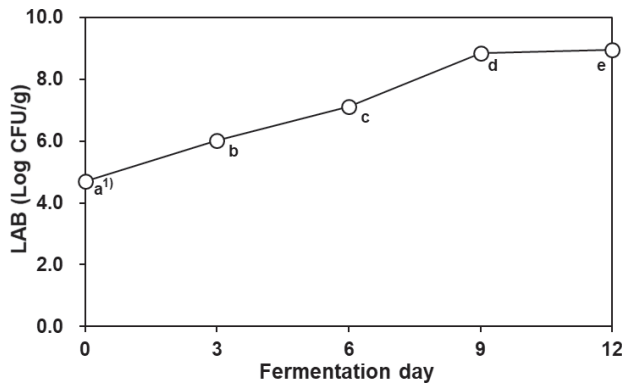


Fig. 6. Changes in lactic acid bacteria (LAB) concentration of olive flounder *Paralichthys olivaceus sikhae* with TS size during fermentation. ¹The different letters on the data indicate a significant differences at $P < 0.05$. TS, Less than 250 g.

et al. (1994b)은 20°C에서 10일간 발효시킨 오징어 식해의 젖산균 농도는 7.5 log CFU/g이었다고 보고하여 본 실험의 15°C에서 9일간 발효시킨 넙치 식해에 비하여 낮았다. 이와 같은 결과는 실험에 사용한 맥아의 종류, 식염과 같은 부원료의 배합비, 발효 조건 등에 의한 영향이라 판단되었다. 그리고, Souane et al. (1987)은 가자미 식해의 발효에 관여하는 미생물에 관한 연구에서 젖산균은 주로 *Lactobacillus* spp.와 *Streptococcaceae* spp.이었다고 보고한 바 있다.

이상의 넙치 크기에 따른 어류뼈의 단백질 함량 및 회분 함량, 발효 중 넙치 식해 뼈의 수율, 경도 및 화학적 성분 변화 등의 결과로 미루어 보아 15°C에서 넙치 식해의 제조를 위한 적정 발효 기간은 9일로 판단되었다.

최적 조건으로 발효한 넙치 식해의 식품 특성

최적 조건에서 발효(15°C에서 9일)한 넙치 식해의 식품 특성은 일반 특성(일반성분, 염도 및 Hunter 적색도)과 건강 기능 특성(ACE 저해 활성, DPPH radical 소거 활성, α -Glucosidase 저해 활성, xanthine oxidase 저해 활성, 아질산염 소거 활성)에 대하여 살펴보았다.

넙치 식해의 일반 특성(일반성분, 염도, 아미노산 질소 및 Hunter 적색도)을 살펴보고, 이를 대조구(시판 가자미 식해 5종)의 이들 성분(Kang et al., 2023a)과 비교하여 나타난 결과는 Table 1과 같다. 대조구 100 g 당의 일반성분 함량은 수분 69.6 g (68.9–70.4 g 범위), 조단백질 12.3 g (7.5–16.0 g 범위), 조지방 4.1 g (3.4–4.9 g 범위) 및 회분 5.8 g (5.1–6.8 g 범위)이었다. 넙치 식해 100 g 당의 일반성분 함량은 수분 73.0 g, 조단백질 12.0 g, 조지방 1.3 g 및 회분 2.4 g으로, 시판 가자미 식해 5종의 일반성분 함량에 비하여 수분의 경우 높았고, 조단백질의 경우 이들의 범위에 있었으며, 조지방과 회분의 경우 낮아 차이가 있었다. 이와 같은 결과는 원료어의 종류, 크기, 어획 시기, 어획 장소 및

양식 사료 등과 같은 차이 이외에도 부원료의 종류, 배합비 등의 차이 때문이라 판단되었다. 한편, Choi et al. (2001)은 오징어 식해 5종을 재래식 방법으로 재현한 결과 식해 100 g 당 수분 함량은 68.0–71.9 g 범위, 조단백질 함량 및 조지방 함량은 각각 9.7–11.3 g 범위 및 1.7–2.8 g 범위, 회분 함량은 3.1–4.2 g 범위 이었다고 보고한 바 있다. 식해 100 g 당의 염도는 넙치 식해가 1.7 g으로 밥과 함께 부담없이 먹을 수 있는 정도의 염미를 나타내었고, 이는 시판 가자미 식해 5종의 3.0–4.6 g 범위보다 낮았다. 한편, Kim et al. (1994c)은 오징어 식해를 제조하여 염도를 조사한 결과 발효 기간에 관계없이 3.2–3.6% 범위를 유지하였다고 보고한 바 있다. 따라서 현대인이 잔가시, 비린내 및 고염미에 의하여 수산물에 대한 거부감을 나타낸다고 볼 때, 넙치 식해는 시판 제품과 기타 연구자들의 제품에 비하여도 낮아 현대인이 거부감을 느끼는 잔가시와 염도 면에서 의미가 있다고 판단되었다. 식해 100 g 당의 아미노산 질소 함량은 넙치 식해가 311.3 mg으로, 시판 가자미 식해 5종의 187.7 mg (82.1–283.9 mg 범위)보다 높았다. 따라서, 식해의 짠맛, 신맛(pH 및 적정산도) (Fig. 4) (Kang et al., 2023a) 및 아미노산 질소 함량(Fig. 5)으로 미루어 보아 시제 넙치 식해는 시판 가자미 식해에 비하여 싱거우면서 펩타이드나 유리아미노산에 의한 맛은 강하리라 추정되었으나 신맛의 경우 차이가 없으리라 판단되었다. 넙치 식해의 Hunter 적색도(a value)는 27.8로, 시판 가자미 식해 5종의 적색도인 21.7 (18.3–27.6 범위)에 비하여 높아 빨간색이 짙을 것으로 판단되었다.

넙치 식해의 건강 기능 특성 5종[ACE 저해 활성, DPPH radical 소거 활성, α -Glucosidase 저해 활성, xanthine oxidase 저해 활성, 아질산염 소거 활성]을 살펴보고, 이를 Kang et al. (2023b) 이 시판 식해의 건강기능특성을 분석한 결과 중 시판 가자미 식

Table 1. Proximate composition, salinity, amino acid-nitrogen (amino acid-N) and Hunter a value of olive flounder *Paralichthys olivaceus sikhae* fermented in optimum condition and commercial flounder *sikhae*

| Component | Sikhae | | | |
|---------------------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| | Olive flounder | Commercial (flounder) ¹ | | |
| | | Range | Mean | |
| Proximate composition (g/100 g) | Moisture | 73.0±0.2 ^{b2} | 68.9-70.4 | 69.6±0.7 ^a |
| | Crude protein | 12.0±0.1 ^a | 7.5-16.0 | 12.3±3.9 ^a |
| | Crude lipid | 1.3±0.2 ^a | 3.4-4.9 | 4.1±0.5 ^b |
| | Ash | 2.4±0.0 ^a | 5.1-6.8 | 5.8±0.6 ^b |
| Salinity (g/100 g) | 1.7±0.1 ^a | 3.0-4.6 | 3.8±0.6 ^b | |
| Amino acid-N (g/100 g) | 311.3±12.6 ^a | 82.1-283.9 | 187.7±85.2 ^a | |
| Hunter a value | 27.8±0.3 ^b | 18.3-27.6 | 21.7±3.8 ^a | |

¹The data were quoted from Kang et al. (2023a). ²Different letters on the data in the same items indicate a significant difference at $P < 0.05$.

해 5종의 이들 성분을 대조구로 하여 비교하여 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 대조구로 사용한 시판 가자미 식해 5종의 건강 기능 특성은 ACE 저해 활성의 경우 35.8% (29.3–38.7% 범위), DPPH radical 소거 활성의 경우 61.8% (58.6–63.6% 범위), α -glucosidase 저해 활성의 경우 0.8% (0–4.0% 범위), xanthine oxidase 저해 활성의 경우 67.9% (56.4–78.8% 범위) 및 아질산염 소거 활성의 경우 60.5% (50.5–82.6% 범위)이었다.

넙치 식해의 건강 기능 특성은 ACE 저해 활성의 경우 69.0%, DPPH radical 소거 활성의 경우 69.3%, α -glucosidase 저해 활성의 경우 22.7%, xanthine oxidase 저해 활성의 경우 88.2%, 아질산염 소거 활성의 경우 96.4%를 나타내었다. 따라서, 넙치 식해는 검토한 건강 기능 특성 중 ACE 저해 활성, DPPH radical 소거 활성, xanthine oxidase 저해 활성 및 아질산염 소거 활성의 경우 기대되었고, α -glucosidase 저해 활성의 경우 기대하기 어려울것으로 판단되었다. 한편, 넙치 식해의 건강 기능 특성은 대조구의 건강 기능 특성에 비하여 건강 기능 특성 5종과 같은 검토한 결과 건강 기능 특성의 종류에 관계없이 모두 높았다.

한편, Cha et al. (2002)은 명태 식해의 기능 특성은 원료어의 분해에 의하여 생성되는 peptide와 제조 시 첨가하는 고춧가루, 마늘, 생강 등의 성분에 의한 영향이라고 보고한 바 있으며, Kim et al. (2014)은 시판 조미 명게 3종의 건강 기능 특성에 관한 연구에서 ACE 저해 활성의 경우 21.2–25.8%, α -glucosidase 저해 활성의 경우 활성을 나타내지 않았음, xanthine oxidase 저해 활성의 경우 52.9–56.7%로 보고한 바 있다.

이상의 결과로 미루어 보아 성장이 더딘 중량 250 g 미만의 양식산 넙치를 전처리하고, 염지한 다음 여기에 부원료를 첨가

한 후 15°C에서 9일간 발효시키는 경우 ACE 저해 활성, DPPH radical 소거 활성, xanthine oxidase 저해 활성 및 아질산염 소거 활성이 인정되는 넙치 식해를 제조할 수 있을 것으로 판단되었다.

References

Anson ML. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J Gen Physiol* 22, 79-89. <https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79>.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official method 950.46, 923.03, 976.05 and 991.36. In: *Official Methods of Analysis of AOAC international*, 18th ed. AOAC, Washington D.C., U.S.A.

Beddows CG, Ardeshir AG and Daud WJB. 1979. Biochemical changes occurring during the manufacture of Budu. *J Sci Food Agric* 30, 1097-1103. <https://doi.org/10.1002/jfsa.2740301113>.

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by use a stable free radical. *Nature* 26, 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>.

Cha YJ, Kim SJ, Jeong EJ, Kim H, Cho WJ and Yoo MY. 2004. Studies on taste compounds in Alaska pollock sikhae during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33, 1515-1521. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2004.33.9.1515>.

Cha YJ, Lee CE, Jeong EK, Kim H and Lee JS. 2002. Physiological functionalities of traditional Alaska pollack sikhae. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31, 559-565. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2002.31.4.559>.

Choe YR, Lee CY, Park JH, Lee JS, Heu MS and Kim JS. 2022. Nutritional characteristics of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, red sea bream *Pagrus major* and salmon distributed in Korea as commonly consumed sliced raw fish. *Korean J Fish Aquat Sci* 55, 777-790. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0777>.

Choe YR, An YH, Heu MS and Kim JS. 2023. Nutritional characteristics of commercial sik-hae. *Korean J Fish Aquat Sci* 56, 151-161. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0151>.

Choi C, Lee HD and Choi HJ. 2001. A study on quality characteristics and establishment of fermentation process for traditional Kyungsangdo squid sikhae. *Korean J Dietary Culture* 16, 118-127.

Gray JI and Dugan JLR. 1975. Inhibition of N-nitrosoamine formation in model food system. *J Food Sci* 40, 981-985. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb02248.x>.

Heu MS and Ahn SH. 1999. Development and fractionation of proteolytic enzymes from an inedible seafood product distribution and fractionation of proteolytic enzymes. *Kor J Fish Aquat Sci* 32, 458-465.

Horiuchi M, Fujimura KI, Terashima T and Iso T. 1982. Method for determination of angiotensin converting enzyme activity in blood and tissue by high-performance liquid chromatog-

Table 2. Comparison on the functional properties [angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity, DPPH radical scavenging activity α -glucosidase inhibitory activity, xanthine oxidase inhibitory activity, and sodium nitrite scavenging] of olive flounder *Paralichthys olivaceus sikhae* fermented in optimum condition and commercial flounder *sikhae*

| Functional component | Sikhaes (%) | | |
|---|------------------------|---|------------------------|
| | Olive flounder | Commercial (flounder) ¹ Range | Mean |
| ACE inhibitory activity | 69.0±0.8 ^{b2} | 29.3-38.7 | 35.8±4.1 ^a |
| DPPH radical scavenging activity | 69.3±1.6 ^b | 58.6-63.6 | 61.8±2.2 ^a |
| α -Glucosidase inhibitory activity | 22.7±0.5 ^b | 0-4.0 | 0.8±1.8 ^a |
| Xanthine oxidase inhibitory activity | 88.2±1.0 ^b | 56.4-78.8 | 67.9±8.3 ^a |
| Sodium nitrite scavenging activity | 96.4±1.3 ^b | 50.5-82.6 | 60.5±13.1 ^a |

¹The date were quoted from Kang et al. (2023b). ²Different letters on the data in the same items indicate a significant difference at P<0.05. DPPH, 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl.

- raphy. J Chromatogr 233, 123-130. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(00\)81738-7](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(00)81738-7).
- Jung HS, Lee SH and Woo KL. 1992. Effect of salting levels on the changes of taste constituents of domestic fermented flounder *sikhae* of Hamkyeng-do. Korea J Food Sci Technol 24, 59-64.
- Kang SI, Choe YR, Park SY, Park SH and Kim JS. 2023a. Sensory characteristics of commercial *Sik-haes*. Korean J Fish Aquat Sci 56, 494-504. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0494>.
- Kang SI, Choe YR, Park SY, Park SH, Oh SH and Kim JS. 2023b. Health-promoting functional properties of commercial *Sik-haes*. Korean J Fish Aquat Sci 56, 596-605. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0596>.
- Kim JH, Kim MJ, Lee JD, Kim KH, Kim HJ, Heu MS and Kim JS. 2013. Development and characterization of sea squirt *Halocynthia roretzi* sikhae. Korean J Fish Aquat Sci 46, 27-36. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2013.0027>.
- Kim JS and Kang SI. 2021. Fisheries Processing for Hands-on Workers. Soohaksa Co., Seoul, Korea, 311-380.
- Kim PH, Kim MJ, Kim JH, Lee JS, Kim KH, Kim HJ, Jeon YJ, Heu MS and Kim JS. 2014. Nutritional and physiologically active characterizations of the sea squirt *Halocynthia roretzi* sikhae and the seasoned sea squirt. Korean J Fish Aquat Sci 47, 1-11. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0001>.
- Kim SM, Bank OD and Lee KT. 1994a. The development of squid (*Todarodes pacificus*) sik-hae in Kang-nung district. 4. The effect of red pepper and grain contents on the properties of squid *sik-hae*. Bull Korean Fish Soc 27, 366-372.
- Kim SM, Cho YJ and Lee KT. 1994b. The development of squid (*Todarodes pacificus*) sik-hae in Kang-nung district. 2. The effect of fermentation temperatures and periods on chemical and microbial changes and the partial purification of protease. Bull Korean Fish Soc 27, 223-231.
- Kim SM, Jeong IH and Cho YJ. 1994c. The development of squid (*Todarodes pacificus*) sik-hae in Kang-nung district. 1. The effect of fermentation temperatures and periods in Kang-nung district. Bull Korean Fish Soc 27, 215-222.
- Ko JY, Kang NL, Lee JH, Kim JS, Kim WS, Park SJ, Kim YT and Jeon YJ. 2016. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from an enzymatic hydrolysate of flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) muscle as a potent anti-hypertensive agent. Process Biochem 51, 535-541. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.01.009>.
- Ko JY, Lee JH, Samarakoon K, Kim JS and Jeon YJ. 2013. Purification and determination of two novel antioxidant peptides from flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) using digestive proteases. Food Chem Toxicol 52, 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.10.058>.
- Koo JG, Yoo JH, Park KS and Kim SY. 2009. Biochemical and microbiological changes of hard clam shikhae during fermentation. Korean J Fish Aquat Sci 42, 569-573. <https://doi.org/10.5657/kfas.2009.42.6.569>.
- Lee CH, Cho TS, Lim MH, Kang JW and Yang HC. 1983. Studies on the sik-hae fermentation made by flat-fish. Kor J Appl Microbiol Bioeng 11, 53-58.
- Lee HJ and Oh SD. 2002. Properties changes of Korea turnip dongchimi inoculated with *Leuconostoc citreum* IH22 during fermentation. Korea J Food Nutr 15, 70-76.
- Lee JG and Choe WK. 1974. Studies on variation of microflora during the fermentation of anchovy, *Engraulis japonica*. Bull Korean Fish Soc 7, 105-114.
- Lee YK, Park BH, N HK and Kim SD. 2005. Effect of chitosan-ascorbate and calcium lactate on the fermentation and quality characteristics of squid *sikhae*. J East Asian Soc Dietary Life 15, 598-605.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2022. Korean Food Code. Chapter 8. General Analytical Method. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_02.jsp?idx=263 on May 6, 2023.
- MOF (Ministry of Oceans and Fisheries). 2022. Major Statistics of Oceans and Fisheries. Retrieved from <https://www.fips.go.kr/p/S020304/> on Feb 28, 2022.
- Park JH, Lee CY, Choe YR, Lee JS, Heu MS and Kim JS. 2022. Collagen and texture properties of commonly consumed fish species in Korea as sliced raw fishes. Korean J Fish Aquat Sci 55, 397-407. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0397>.
- Park YH, Chang DS and Kim SB. 1995. Processing and Utilization of Seafood. Hyungseoul Publishing Co., Daegu, Korea, 76-151.
- Shin JH, Park KH, Lee JS, Kim HJ, Lee DH, Heu MS, Jeon YJ and Kim JS. 2011. Optimization of processing of surimi gel from unmarketable cultured bastard halibut *Paralichthys olivaceus* using RSM. Korean J Fish Aquat Sci 44, 435-442. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2011.0435>.
- Souane M, Kim YB and Lee CH. 1987. Microbial characterization of gajami sik-hae fermentation. Kor J Appl Microbiol Bioeng 15, 150-157.
- Strip F and Corte ED. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. J Biol Chem 244, 3855-3863.
- Vanderzant C and Splittstoesser DF. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd ed., American Public Health Association, Washington D.C., U.S.A., 150-154.
- Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H and Niki R. 1997. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). Biosci Biotechnol Biochem 61, 177-178. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.177>.