



Research Article

Changes in the physicochemical properties of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) fillets during storage in a high-voltage electrostatic field-refrigeration system

고전압 정전기장 냉장시스템에 저장한 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 필렛의 이화학적 특성 변화

Jong-Woong Nam¹, Seong-Rip Oh², Hyong-Bum Koh², Seung-Hwan Won², Min-Jeong Jung¹, Ah-Ram Han¹, Byoung-Mok Kim¹, Joon-Young Jun^{1*}

남종웅¹ · 오성립² · 고희범² · 원승환² · 정민정¹ · 한아람¹ · 김병목¹ · 전준영^{1*}

¹Food Convergence Research Division, Korea Food Research Institute, Wanju 55365, Korea

²Jeju Special Self-Governing Province Ocean and Fisheries Research Institute, Jeju 63629, Korea

¹한국식품연구원 식품융합연구본부, ²제주특별자치도 해양수산연구원

Abstract The effects of a high-voltage electrostatic field-refrigeration (HVEsF) system on the freshness of olive flounder fillets were investigated by evaluating the changes in the physicochemical properties of the fillets for 7 days. After the olive flounders had been euthanized, the fillets were obtained immediately and stored under four different conditions: -1°C as a control (Con); -1°C HVEsF system set to 3,500 V (H35); -1°C HVEsF system set to 7,000 V (H70); and 4°C (R). During the whole storage period, slight decreases and increases in pH were repeatedly performed in all the groups, and bacterial growth was inhibited at -1°C. The formation of volatile base nitrogen, trimethylamine, and hypoxanthine was significantly lower in H70 than in Con for 7 days (p<0.05). The cutting strength of H70 was maintained until day 3, while that of the other groups decreased drastically as the storage period increased. Overall, a -1°C HVEsF system set to 7,000 V maintained the freshness of the fillets in the initial stages of storage.

Keywords olive flounder, fish fillet, high-voltage electrostatic field, freshness, physico-chemical property



OPEN ACCESS

Citation: Nam JW, Oh SR, Koh HB, Won SH, Jung MJ, Han AR, Kim BM, Jun JY. Changes in the physicochemical properties of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) fillets during storage in a high-voltage electrostatic field-refrigeration system. Korean J Food Preserv, 29(6), 884-894 (2022)

Received: June 21, 2022

Revised: September 21, 2022

Accepted: September 30, 2022

***Corresponding author**

Joon-Young Jun

Tel: +82-33-643-8043

E-mail: jjy791223@nate.com

Copyright © 2022 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

우리나라 양식산 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 생산량은 2021년도 기준 약 20,358 M/T이며, 제주(10,889 M/T, 53.5%)와 전남(8,483 M/T, 41.7%)이 주요 생산지역으로 전체 생산량의 약 95.2%를 차지하고 있다(KOSIS, 2022). 넙치는 특유의 탄탄한 조직감과 맛이 뛰어나 횡감용으로 소비되는 대표적인 어류로 생선회와 같이 최소 가공된 형태로 섭취할 경우 원료 본연의 풍미가 고스란히 유지된 채 영양성분의 손실을 최소화할 수 있어 건강과 식품과의 관계를 중요시하는 소비자의 요구에 잘 부합된다(Jang 등, 2011; Ko 등, 2016; Oh 등 2007;

Shim 등, 2003).

생선회의 맛과 품질은 어종, 취급 상태, 저장 온도 및 기간 등 생물학적 특성을 비롯하여 다양한 외부요인에 영향을 받으며, 일반적으로 어류는 사후 내생 효소 작용과 미생물 증식 등으로 인해 핏감으로 만들어 저장할 경우 쉽게 변질되므로, 가급적 살아있는 생선을 먹기 직전에 회로 만들어 섭취하고 있다(Oh 등, 2007; Shin 등, 2013). 최근 콜드체인시스템이 발달함에 따라 신선한 생선을 필렛 형태로 가공하여 대기업의 유통망 등을 통해 유통하고 있다. 하지만, 어종 특성에 따라 제한이 있고, 냉장 유통 시 근육 내 존재하는 다양한 효소 등의 작용으로 조직감이 물러지는 등 선도 저하가 빠르게 일어나기 때문에 품질유지 기한이 짧은 것이 한계이다(Pyeun 등, 1996; Xu 등, 2018).

냉동·냉장기술을 포함하여 핏감용 수산물과 같은 신선식품 보존을 위해서는 비가열 보존기술이 요구되며, 비가열 보존기술로는 진동자기장, 고전압 전기장, 이온화 조사, 저온 플라즈마, 광 펄스, 초고압 및 초음파 등이 있다(Park 등, 2010). 이 가운데 고전압 전기장(high voltage electronic field, HVEF) 기술은 부패 미생물 제어(Mok and Lee, 2000; Park 등, 2013) 및 유효성분 추출(Shin and Shin, 2007) 등 다양한 목적으로 활용하기 위한 연구가 진행된 바 있다. 고전압 전기장(HVEF) 기술은 고전압 정전기장(high voltage electrostatic field, HVEsF)과 고전압 방전(High voltage electrical discharge, HVED) 기술로 구분되며(Dalvi-Isfahan 등, 2016), HVEsF는 HVED에 속하는 펄스 전기장(pulsed electric field, PEF)과 달리 식품을 유도체로 활용하지 않는다. 주변 공기를 전기분해하여 오존을 발생시키며, 이것에 의해 대상 식품에 존재하는 효소가 불활성화 될 수 있고, 미생물의 경우 세포막의 투과성을 증가시켜 세포질내 유전물질이 손상되는 기작으로 살균작용을 하는 것으로 알려져 있다(Huang 등, 2020).

이와 관련하여, 본 연구에서는 HVEsF를 핏감용 수산물의 냉장저장 중 선도도 유지 목적으로 활용해 보고자 실험재료로 대표적인 핏감용 수산물인 넙치로 선정하였고, HVEsF가 탑재된 냉장시스템(HVEsF system)에 저장하면서 이화학적 특성 및 선도 관련 지표 변화에 미치는 영향을 조사하였다. 즉살된 넙치 필렛을 진공포장한 뒤 전압 세기를 달리한 -1°C HVEsF system에 저장한 두 그룹과, -1°C 및 4°C 일

반 냉장조건에 각각 저장한 그룹을 비교평가하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료 및 전처리

본 실험에 사용한 넙치는 제주지역에서 양식된 것으로 제주광어(Seogwipo, Jeju, Korea)를 통해 활어 상태로 공급받았다. 평균 전장 49.7 ± 2.2 cm, 총 무게 1.45 ± 0.15 kg에 해당하는 개체를 선별하였고, 숙련된 일식 전문가를 통해 즉살 후 비가식 부위(혈액, 내장, 두부, 껍질)를 제거하였으며, 지느러미 근육을 제외한 등·배 근육만을 4절 필렛화 하여 저장 실험에 사용하였다.

필렛화된 시료 각각은 바닥에 흡습지를 깔 상태로 즉시 nylon/polyethylene/linear low density polyethylene ($80 \mu\text{m}$) 재질로 구성된 포장지(Yusang Co., Seoul, Korea)를 사용하여 진공 포장하였고(Fig. 1(A)), 다음의 서로 다른 냉장 조건에 저장하였다. 4°C 에 저장한 것을 R구, -1°C 에 저장한 것을 대조구인 Con구로 하였고, -1°C , 3,500 V로 설정한 high voltage electrostatic field-refrigeration system(HVEsF system, KB-075F-12P, MARS Co., Tokyo, Japan, Fig. 1(B))에 저장한 것을 H35구, -1°C , 7,000 V로 설정한 HVEsF system에 저장한 것을 H70구로 하였다. 각 조건에 저장한 시료는 저장 0일, 1일, 3일, 5일과 7일 차에 수집하여 당일 분석을 진행하였다.

2.2. 일반성분 분석 및 pH 측정

넙치 필렛의 일반성분은 AOAC 방법(2005)에 따라 수분 함량은 상압가열건조법(method 950.46), 회분 함량은 직접회화법(method 923.03), 조단백질 함량은 자동화 장치를 이용한 semi-Kjeldahl 법(method 976.05), 조지방 함량은 petroleum ether를 사용한 용매침지 추출법(method 991.36)으로 각각 분석하였다.

pH 측정을 위해, 고르게 세절 한 넙치 필렛 3 g에 deionized water(DW) 27 mL를 가하였고, 10,000 rpm에서 1분간 균질(IKA T-18, IKA Works Inc., Staufen, Germany)한 다음 원심분리($7,500 \times g$, 4°C , 2 min)하여 상정액을 pH meter(CH/Seven Easy S20K, Mettler Toledo, Switzerland)로 측정하였다.

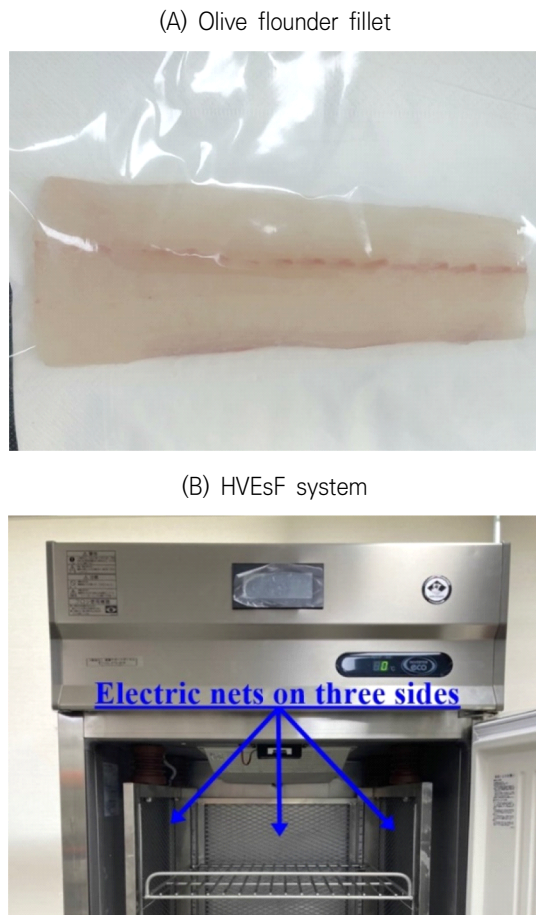


Fig. 1. The images of the fillet from olive flounder in this study and a high voltage electrostatic field-refrigeration (HVEsF) system.

2.3. 휘발성 염기질소 및 trimethylamine 분석

넙치 필렛의 휘발성 염기질소(volatile base nitrogen, VBN)와 trimethylamine(TMA) 값은 식품공전 일반시험법(MFDS, 2021b; MFDS, 2021a)에 따라 분석하였다. VBN 및 TMA 값 측정을 위한 시료 전처리는 동일한 방법으로 진행하였다. 고르게 세절한 넙치 필렛 5 g에 DW 40 mL를 가하고 1차 균질(10,000 rpm, 30 s)하였으며, 20% trichloroacetic acid 5 mL를 가한 뒤 동일한 조건으로 한 번 더 균질하였다. 균질물을 원심분리(10,000 ×g, 4°C, 15 min) 후 Advantec No.5C 여과지(Advantec Toyo Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 여과하였고, 이것을 시액으로 하였다. VBN 값은 Conway unit을 사용하는 미량확산법(MFDS, 2021b), TMA 값은 중성포르말린, toluene, 포화탄산칼슘 혼합액으로 분획처리 후 톨루엔에

용해된 질소화합물을 picric acid로 발색시켜 420 nm에서 분석하는 비색정량법(MFDS, 2021a)으로 각각 분석하였다.

2.4. 세균 균집 분석

즉살된 넙치 필렛 내 세균 균집과 진공포장하여 4°C에 보관한 필렛의 저장 중 세균 균집 변화는 16S rRNA gene sequence 분석을 기반으로 하는 차세대염기서열분석법(next generation sequencing)으로 분석하였다. 각 시료 내 DNA는 UltraClean Microbial DNA Isolation kit(Mo Bio Laboratories, CA, USA)를 사용하여 분리하였고, 염기서열분석 시설에 위탁하였다(Macrogen, Seoul, Korea). Universal F(5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3')/R(5'-GTC TCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTA CHVGGGTATCTAATCC-3') primer를 이용하여 V3/4 위치를 타겟하여 Herculase II fusion DNA polymerase (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 함께 two-step polymerase chain reaction (PCR)을 진행하여 Library를 제작하였고, 제작된 시료는 Illumina MiSeq® system(Illumine, San Diego, CA, USA)을 사용하여 DNA sequencing을 진행하였다. 인덱스(index) 서열을 이용하여 시료별로 분류하고 paired-end FASTQ 파일을 생성하였으며, Cutadapt(V 3.2) 프로그램을 사용하여 sequencing adapter 서열과 target 유전자 영역의 F/R primer 서열을 제거하였다(Martin, 2011). Paired end Read를 대상으로 Forward 서열과 Reverse 서열을 각각 250 bp와 200 bp로 자르고 expected error가 2 이상인 서열은 제외하였다. 이후, batch별 error model을 수립하여 시료별 노이즈를 제거하였다. Paired end 서열을 하나의 서열로 조립한 뒤 DADA2의 Consensus method를 사용하여 Chimera 서열을 제거하고 ASVs를 형성하였다. 각 ASVs 서열은 Reference DB(NCBI 16S Microbial DB)에 BLAST+(v2.9.0)를 수행하여 유사성이 가장 높은 균에 대한 taxonomy 정보를 할당하였다(Camacho 등, 2008).

2.5. 세균수 분석

넙치 필렛 내 세균수는 표준평판배양법(Jun 등, 2017)에 따라 분석하였다. 시료 10 g에 멸균된 0.1% peptone

buffered water(pH 7.2) 90 mL를 가하고 UV 조사하여 살균된 블랜더에서 1차적으로 고르게 갈았고, 이를 여과지가 있는 멸균백에 옮긴 뒤 stomacher(250 rpm, 3 min)에서 균질화하였다. 위와 동일한 희석수를 사용하여 균질된 여과액을 십배수로 적절하게 희석한 다음 plate count agar에 도말하였고, 35°C에서 24시간 배양 후 나타난 집락(20-200 colonies)을 계수하여 log CFU/g으로 나타내었다.

2.6. Hypoxanthine 분석

넙치 필렛 내 hypoxanthine(Hx) 함량은 HPLC-DAD (Agilent 1200; Agilent technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 분석하였다(Jun 등, 2019). 시료 내 Hx의 변화를 최소화하기 위해, 최대한 신속하고 고르게 시료를 세절하였고, 곧바로 5 g을 취한 뒤 0.6 M perchloric acid 20 mL와 혼합하였다. 혼합물을 균질(10,000 rpm, 1 min)한 뒤 5M KOH를 사용하여 pH 4 부근까지 조절하였고, 원심분리(8,000 ×g, 4°C, 20 min) 후 상정액을 얻었다. 이것을 용리액(1% triethylamine-phosphoric acid, pH 6.5)에 적절하게 희석하였고, 0.20 μm MCE syringe filter unit으로 여과 후 분석용 시액으로 사용하였다. Hx 분리를 위해, μBondapak C18 coulumn(10 μm, 3.9×300 mm; Waters Co., Milford, MA, USA)을 사용하였고, 시료 5 μL 주입 후 앞서 기술한 용리액을 사용하여 유속 1 mL/min(isocratic elution), UV 245 nm 조건으로 분석하였다. 물질 동정 및 정량을 위한 표준물질로 hypoxanthine (H9377, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA)을 사용하였고, 시료와 동일한 조건에서 분석한 뒤 표준물질의 머무름 시간 비교를 통해 시료 내 Hx를 동정하였으며, 각 표준물질 3단계 농도 혼합액(50, 100, 500 μg/L)을 사용하여 3-points 외부표준 분석법으로 정량하였다.

2.7. 절단강도 측정

넙치 필렛의 절단강도는 texture analyzer(TAXT plus; Stable Micro System, Godalming, UK)로 측정하였다. 모든 시료는 가로 4 cm×세로 4 cm×두께 1 cm 크기로 제작하여 측정 전 -1°C에서 약 3시간가량 정치시켰고, 모든 시료의 근육 결 방향을 동일한 방향으로 놓고 측정하였다.

두께 1 mm knife blade set probe(model : HDP-BS)를 사용하여 compression mode, load cell 5 kg 하중에서 속도 2.00 mm/sec, 진입깊이 20.00 mm로 설정하여 완전히 절단되도록 하였고, 강도를 N으로 나타내었다.

2.8. 통계처리

모든 실험 결과는 통계분석용 프로그램인 IBM SPSS Statistics 20(IBM, NewYork, NJ, USA)을 사용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 두 집단 간 평균값 분석은 독립표본 T 검정을 수행하여 p<0.05 수준에서 유의차 검정을 하였고, 세 집단 이상의 유의차 검정은 one-way ANOVA 방법에 따라 p<0.05 수준에서 Tukey multiple comparison test로 진행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 넙치 필렛의 일반성분

즉살한 넙치 필렛의 부위별 일반성분 결과는 Table 1과 같다. 저장실험에 사용된 등·배 근육은 수분 함량 약 76.2%, 조단백질 함량 약 20.3%, 조지질 함량 약 1.9%, 회분 함량 약 1.2%로 구성되어 있었다. 지느러미 근육은 수분 함량 약 56.4%, 회분 함량 약 0.9%, 조단백질 함량 약 13.8%, 조지질 함량 약 28.9%로 각각 나타났다. 부위 별 결과를 건조함량 기준으로 환산하여 비교해 보면, 지느러미 근육은 지질 함량 약 66.2%, 단백질 함량 약 31.7%로 나타나 지질 함량이 단백질 함량에 비해 높는데 비해, 등·배 근육은 대부분 단백질(약 85.3%)로 구성되어 있었다.

3.2. 저장 조건에 따른 pH, 휘발성 염기질소 및 trimethylamine의 변화

냉장 온도 및 HVEsF system이 넙치 필렛의 저장 중 신선도에 미치는 영향을 알아보기 위해, -1°C 대조구(Con)를 포함하여 4°C(R) 및 -1°C HVEsF system에서 전압을 달리하여 저장한 H35구(3,500 V)와 H70구(7,000 V)로 구분하여 넙치 필렛을 저장하였고, 저장 중 넙치 필렛의 pH, 휘발성 염기질소(volatil base nitrogen, VBN) 및 trimethylamine (TMA) 함량 변화를 조사하였다. 즉살 직후 얻은 넙치 필렛의 pH는 약 6.68로 나타났고, 저장 7일 동안 미미한 감소

Table 1. Proximate composition of the fillets from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) (unit: g/100 g)

Part	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Dorsal and ventral muscles	76.2±0.4	20.3±0.5 (85.3±2.0) ¹⁾	1.9±0.4 (8.0±1.7)	1.2±0.0 (5.0±0.2)
Fin muscle	56.4±1.8 ²⁾	13.8±1.3 [*] (31.7±2.9) ^{#3)}	28.9±1.2 [*] (66.2±2.7) [#]	0.9±0.1 [*] (2.0±0.2) [#]

Data expressed as the mean±SD (n=3).

¹⁾Dry basis.

²⁾*Indicates significant difference (wet basis; p<0.05 vs. dorsal and ventral muscles).

³⁾#Indicates significant difference (dry basis; p<0.05 vs. dorsal and ventral muscles).

와 증가가 반복되었다(Fig. 2(A)). 저장 1일 차 모든 그룹에서 pH(6.38-6.58)가 감소하였고, 이때 두 HVEsF system 저장구(H35 및 H70)의 pH가 Con구 및 R구에 비해 유의적으로 낮았지만(p<0.05), 이후 저장기간 동안 저장 조건에 따른 pH의 차이는 거의 없었다.

VBN은 내생효소의 작용 및 세균증식 등으로 인해 어류 근육 내 존재하는 대사와 관련된 비단백질 형태의 질소화합물, 유리아미노산 및 어류 근육단백질 등이 분해되어 생성되며, 즉살된 어류의 초기 VBN 증가에는 ATP 관련물질의 분해 과정에서 생성되는 ammonia와 amine류, trimethylamine oxide(TMAO)로부터 생성된 methylamine 유도체 등과 연관성이 높고, 후반부 증가에는 근육 단백질의 분해로 생성된 ammonia 및 amine류 등과 연관성이 높다고 알려져 있다(Huss, 1995). 일부 어종을 제외하고 근육 신선도가 떨어질수록 VBN 값은 높게 나타나 신선도판정의 지표로 사용되며, 어종에 따라 차이를 보이지만, 일반적으로 약 15 mg/100 g 이하면 신선 어육, 25 mg/100 g 수준부터 부패가 시작되는 지점으로 판단하고 있다(Min 등, 2019; Shin 등, 2003; Song 등, 2005). 본 연구에서 즉살 직후 얻은 넙치 필렛의 VBN 값은 약 12.52 mg/100 g으로 나타났다(Fig. 2(B)), H70구를 제외한 나머지 세 구는 저장기간이 경과할수록 모두 서서히 증가하여 저장 7일 차 약 14.56-16.37 mg/100g 수준에 도달하였다. 동일조건에서 전압의 세기를 다르게 설정한 H35구의 VBN 값은 저장기간 동안 꾸준히 증가한 반면, H70구는 저장 5일 차까지 초기값을 유지하였는데, 이는 HVEsF system이 -1°C 저장 중 넙치 필렛 내 VBN 생성을 억제하는데 효과를 나타내며, 일정수준 이상의 전압을 필요로 한다는 것을 알 수 있었다.

Trimethylamine(TMA)은 풍미에 부정적 영향을 미치는 물

질로 어류 내 함유되어 있는 TMAO로부터 사후 *Alteromonas* 속, *Photobacterium* 속, *Vibrio* 속 및 *Shewanella* 속 등과 같은 산소 소비성 세균 또는 환원계 내생효소의 작용 등에 의해 생성되며, 어체가 사후 미호기적 내지 혐기적 조건에 놓였을 때 더욱 빈번히 일어난다(Huss, 1995). 저장 0일 차 넙치 필렛의 TMA 값은 약 1.11 mg/100 g으로 나타났다(Fig. 2(C)). 이 값은 R구, Con구와 H35구에서 저장 3일 차까지 급격하게 증가하여 약 6.82-8.19 mg/100 g에 도달하였고, 7일 차까지 유지하였다. H70구의 TMA 값 또한 저장 기간이 경과될수록 증가하는 경향을 나타냈지만, 저장 5일 차까지 다른 세 구와 비교 시 유의적으로 낮았다(p<0.05).

VBN과 TMA 값은 어종에 따라 달라질 수 있고, 동일 어종이라도 서식(양식) 환경, 생물 상태(stress 등), 활어 처리 방법, 실험조건 등에 따라 달라질 수 있어 연구보고 간 직접적인 비교는 어렵다. Song 등(2005)은 반염건 고등어 필렛 내 TMA 값이 3-4 mg/100 g 수준일 때 초기부패로 제안하였고, Park 등(2016)은 어획산지에서 당일 전처리하여 4°C에 저장한 고등어의 경우 저장 6일 차 배 부위 TMA 값이 약 3 mg/100 g을 초과한다고 하였다. 식육은 4-6 mg/100 g 수준일 때 초기부패로 판정한다(MFDS, 2021b). 이 값들과 비교 시 H70구를 제외한 나머지 세 구의 저장 기간 동안 TMA 값 증가는 다소 높은 수준임을 알 수 있었다.

3.3. 저장 조건에 따른 세균수의 변화 및 4°C 저장 시 세균 군집 변화

노로바이러스 이외의 수산물 내 존재하는 주요 병원성 세균으로 *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Shigella* 속, *Listeria monocytogenes*,

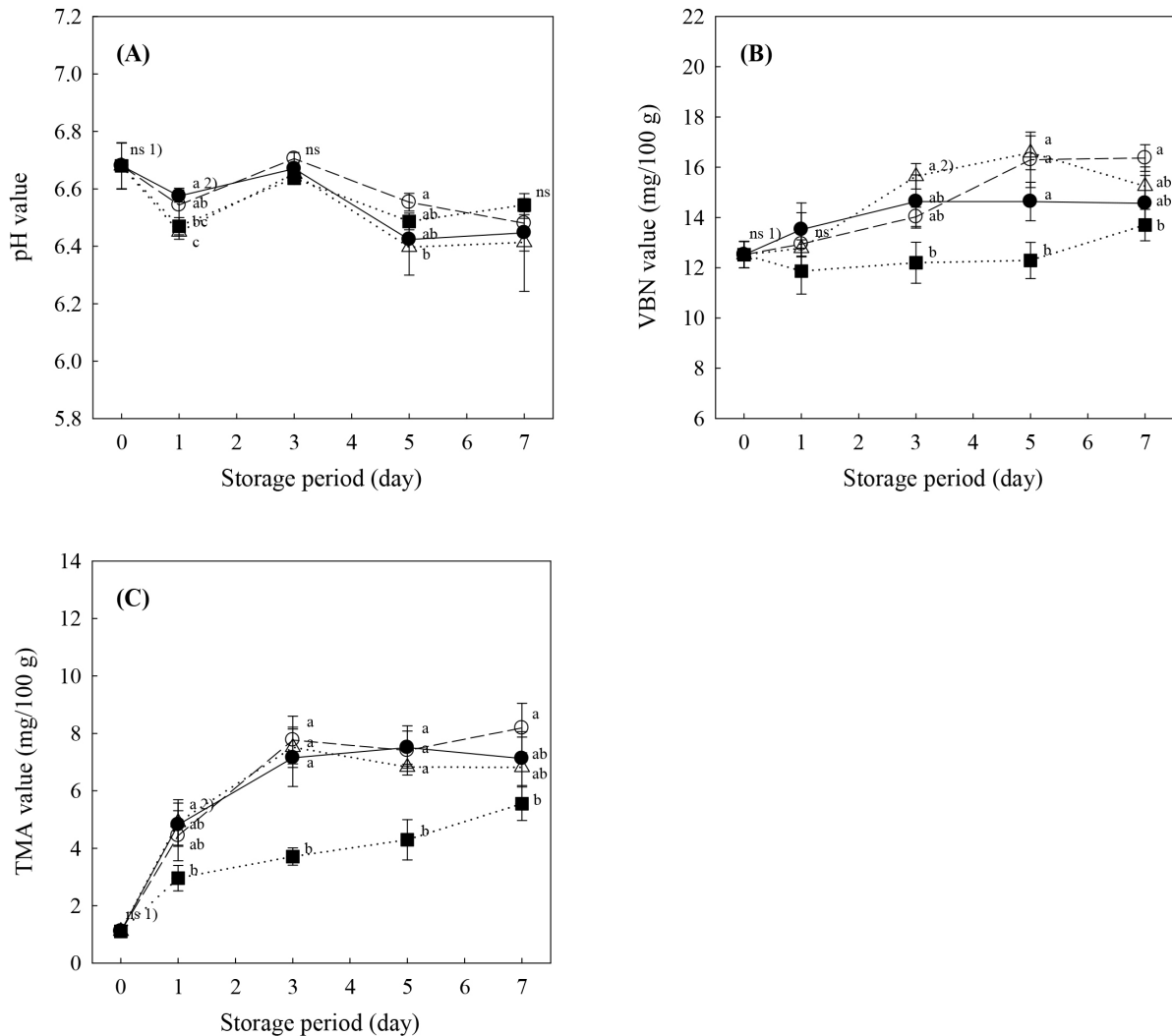


Fig. 2. Changes in pH (A), volatile base nitrogen (VBN, B) and trimethylamine (TMA, C) values of the olive flounder fillets during storage at different refrigeration conditions. Symbols indicate: ○, R group stored at 4°C; ●, con group stored at -1°C; △, H35 group stored at -1°C HVPEF system set with 3,500 V; ■, H70 group stored at -1°C HVPEF system set with 7,000 V. Data expressed as the mean±SD (n=3). ¹No significance between different groups ($p < 0.05$). ²The different small letters indicate significantly difference between different groups ($p < 0.05$).

Clostridium botulinum 등이 보고되고 있으며, 식품공정상 최종 소비자가 더 이상의 가공, 가열처리 없이 그대로 섭취하는 수산물의 경우 *Listeria monocytogenes*와 *Salmonella* 속은 음성, *Vibrio parahaemolyticus*와 *Staphylococcus aureus*는 10^2 CFU/g 이하를 만족해야 된다(Yoon 등, 2016). 이것을 유통판매를 목적으로 위생 처리하여 용기·포장에 넣은 경우 세균수 10^5 CFU/g, 대장균군 10 CFU/g 이하로 각각 규정되어 있다(Kim 등, 2005).

냉장 저장 조건에 따른 세균수의 변화는 Fig. 3과 같다. 즉살 직후 넙치 필렛의 세균수는 약 3.5 log CFU/g이었고, 저장 7일 동안 4°C에 저장한 R구를 포함하여 모든 구에서 5.0 log CFU/g보다 낮게 나타나, 앞서 기술한 유통용 수산물 기준에 부합하였다. 저장기간에 따라 -1°C에 저장한 Con구, H35구 및 H70구는 저장 7일 동안 초기 세균수를 그대로 유지하여 세균증식이 억제되었던 반면, 4°C에 저장한 R구의 세균수는 저장 5일 차 약 4.9 log CFU/g까지 증가하는 것으로 나타나 세균수 증가는 냉장 온도 의존성이

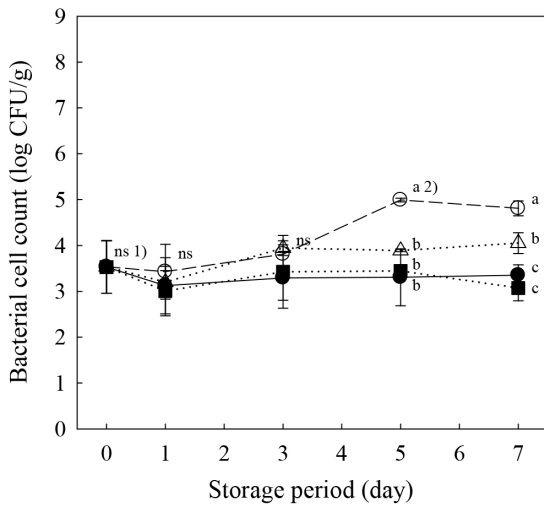


Fig. 3. Changes in bacterial cell counts in the olive flounder fillets during storage at different refrigeration conditions. Symbols indicate: ○, R group stored at 4°C; ●, con group stored at -1°C; △, H35 group stored at -1°C HVPEF system set with 3,500 V; ■, H70 group stored at -1°C HVPEF system set with 7,000 V. Data expressed as the mean±SD (n=3). ¹⁾No significance between different groups (p<0.05). ²⁾The different small letters indicate significantly difference between different groups (p<0.05).

큰 것으로 나타났다. 7일 동안 -1°C에 저장한 모든 구의 세균증식은 억제되어 HVEsF system에 대한 영향평가는 어

려왔다.

즉살된 넙치 필렛 내 존재하는 세균 군집과 진공포장하여 냉장저장 시 증식되는 세균 군집 변화를 살펴보기 위해, 앞선 세균수 결과에서 증식이 관찰된 4°C 저장시료인 R구의 9일간 세균 군집 변화 분석하여 Fig. 4로 나타내었다. 즉살된 넙치 필렛으로부터 세균 약 980종이 검출되었고, 우점 비율 0.5% 미만인 세균종을 제외한 결과 약 58종으로 나타났다. *Pseudomonas geniculata*, *Photobacterium piscicola*, *Pseudomonas chengduensis*, *Roseomonas gilardii*, *Geobacter anodireducens*, *Pediococcus pentosaceus*, *Bacteroides vulgatus* 등이 주요 세균으로 나타났고, 앞서 기술한 주요 병원성 세균은 검출되지 않았다. 4°C 저장 시 저장 6일 차까지 비율이 크게 변한 세균은 *Bacteroides vulgatus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Pseudomonas geniculata*, *Pseudomonas chenduenis*, *Photobacterium piscicola* 등이었고, 저장 9일 차 *Photobacterium piscicola*의 우점 비율이 약 99% 이상으로 나타나 넙치 필렛을 진공포장하여 냉장 보관할 경우 우점 증식할 수 있는 세균종임을 알 수 있었다. *Photobacterium piscicola*는 연근해 해수에 분포되어 있고, 어체 피부 및 내장 등에 존재하며, 2°C에도

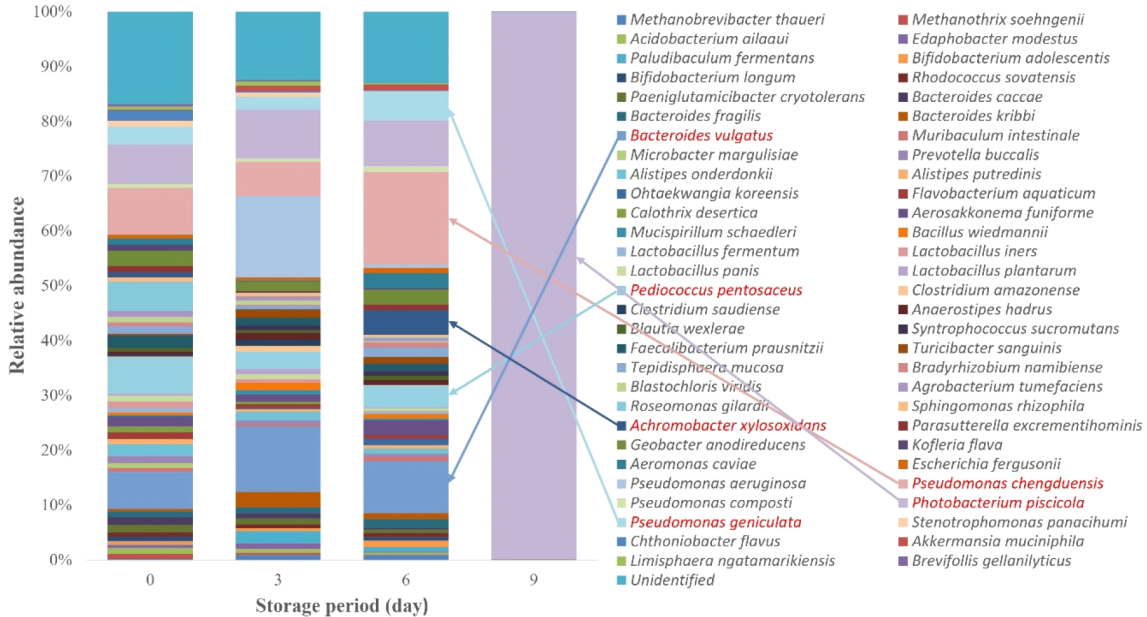


Fig. 4. Changes in bacterial community (species level) in the olive flounder fillets during storage at 4°C.

증식 가능하여 냉장 보관된 진공포장 대구 필렛에서 종종 검출된다(Figge 등, 2014).

3.4. 저장 조건에 따른 hypoxanthine의 함량 변화

Hypoxanthine(Hx)은 어류의 사후 혐기적 대사과정 중 ATP의 이화작용에서 생성되는 물질로 이취 및 쓴맛을 나타내며, 사후 어체 내 일정하게 증가하므로 신선도를 판단할 수 있는 지표로 활용되고 있다(Guo, 2021; Huss, 1995). 본 연구에서 나타난 즉살된 넙치 필렛 내 Hx 함량은 평균적으로 약 4.0 mg/100 g이었고, 모든 구에서 저장기간이 경과될수록 일정하게 증가하였다(Table 2). 증가폭에 있어 냉장 온도에 따른 차이 및 HVEsF system에 저장 시 대조구와 차이를 보였는데, 4°C에 저장한 R구의 Hx는 저장 5일 차 약 36.6 mg/100 g인데 비해, -1°C에 저장한 Con구는 동일 저장일 기준 약 26.7 mg/100 g으로 나타났다. 특히 -1°C HVEsF system에 저장한 H35구와 H70구는 전압의 세기와 관계없이 Con구와 유의적인 차이를 보이며 약 18.9-19.1 mg/100 g 수준으로 낮게 나타나(p<0.05), 넙치 필렛을 -1°C HVEsF system에 저장 시 Hx 생성이 억제되는 것을 알 수 있었다.

HVEsF는 대상하는 식품을 유도체로 활용하지 않고, 공기를 전기분해하여 생성된 오존으로 인해 효소 활성을 저해하거나, 세균 살균작용을 하는 것으로 알려져 있다(Huang 등, 2020). 비록 -1°C에 저장한 모든 구의 세균증식이 억제되어 세균증식에 관한 HVEsF의 영향평가는 어려웠지만, H70구의 경우 신선도 관련 지표인 VBN, TMA 및 Hx에서 대조구에 비해 그 생성량이 낮았고, 이러한 결과는 근육 내

존재하는 효소의 활성 저해로 인한 것으로 예상된다. 포장지의 오존 투과성과 관련하여 산소차단성이 높은 일부 film을 제외한 대부분의 식품포장용 film은 오존투과성이 있고, film 조합 및 포장지 구성에 따라 차이가 있다고 보고된 바 있다(Karaca and Smilanick, 2011). 본 연구에서는 실험 환경 제어 및 냉장 저장 중 넙치 필렛 표면의 수분 감소를 막기 위해 진공포장하여 저장하였고, 이것이 효과 상쇄에 어느 정도 영향을 미쳤을 것으로 예상된다. 향후 HVEsF system 적용을 위한 다양한 포장 소재 및 방법 검토, 일정 시간 HVEsF 처리 후 포장하여 저장하는 등 보관할 원료의 처리 환경에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

3.5. 저장 조건에 따른 절단강도의 변화

횡감용 필렛을 섭취 시 소비자가 직접적으로 느끼고 평가할 수 있는 부분은 냄새와 맛도 있지만, 외관과 씹는 순간 느끼는 조직감이 기호도에 미치는 영향은 크다. 이와 관련하여 저장 조건별 넙치 필렛의 절단강도 변화를 측정하였고, Fig. 5로 나타내었다. 절단강도는 저장기간에 따라 모든 구에서 감소하였으나, 저장 조건별로 감소폭에서 차이를 보였다. R구와 Con구는 둘 사이 유의적인 차이(p<0.05) 없이 저장 3일 차까지 급격하게 감소한 뒤 7일 차까지 유지된 반면, H35구와 H70구는 저장 7일 차까지 Con구에 비해 서서히 감소하였고, 전압의 세기가 높을수록 감소폭이 적었다. 특히 H70구의 3일 차 절단강도(약 45.1 N)는 Con구의 1일 차 절단강도(약 45.5 N)와 유사하여 HVEsF system이 저장 중 넙치 필렛의 근육강도 유지에 도움을 주는 것으로 판단되었다. 일반적으로 어류는 즉살 후 근육강

Table 2. Changes in hypoxanthine content in the olive flounder fillets during storage at different refrigeration conditions (unit: mg/100 g (wet))

Group	Storage period (day)				
	0	1	3	5	7
R (4°C)	4.0±0.5 ^{NS1)d2)}	12.2±0.6 ^{A3)c}	32.3±2.9 ^{Ab}	36.6±2.8 ^{Aab}	38.4±0.6 ^{Aa}
Con (-1°C)	3.6±0.2 ^e	11.9±0.4 ^{Ad}	20.7±0.5 ^{Bc}	26.9±1.4 ^{Bb}	29.7±0.2 ^{Ba}
H35 (-1°C)	4.2±0.6 ^d	11.6±0.3 ^{Ac}	16.9±1.0 ^{Bb}	18.9±1.7 ^{Cb}	29.8±1.2 ^{Ba}
H70 (-1°C)	4.1±0.4 ^d	9.3±0.4 ^{Bc}	16.6±0.6 ^{Bb}	19.1±2.5 ^{Cb}	28.8±0.2 ^{Ba}

Data expressed as the mean±SD (n=3).

¹⁾No significance between different groups (p<0.05).

²⁾The different small letters indicate significantly difference between different storage periods (p<0.05).

³⁾The different capital letters indicate significantly difference between different groups (p<0.05).

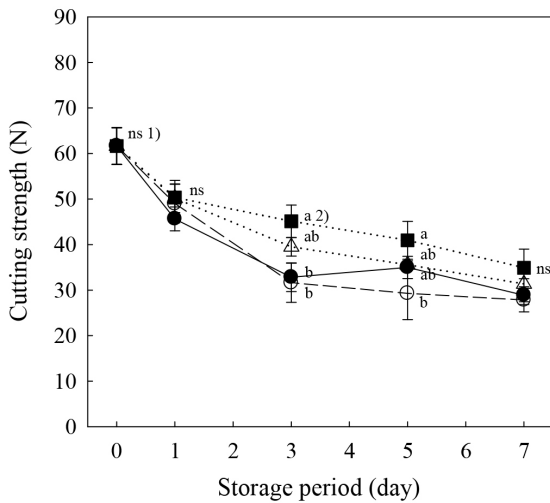


Fig. 5. Changes in cutting strength of the olive flounder filets during storage at different refrigeration conditions. Symbols indicate: ○, R group stored at 4°C; ●, con group stored at -1°C; △, H35 group stored at -1°C HVPEF system set with 3,500 V; ■, H70 group stored at -1°C HVPEF system set with 7,000 V. Data expressed as the mean±SD (n=3). ¹⁾No significance between different groups (p<0.05). ²⁾The different small letters indicate significantly difference between different groups (p<0.05).

직, 해경, 초기 자가소화단계를 거쳐 세균이 증식하게 되고, 이때부터 선도가 급격하게 감소하게 되는데, 희생 전 스트레스 유무 및 저장조건에 따라 다르지만 즉살 후 0°C에 저장한 넙치의 경우 약 24-72 h 내 해경단계에 들어가는 것으로 보고된 바 있다(Huss, 1955; Shim 등, 2003). 본 연구에서 저장 초기 절단강도가 급격하게 감소된 것은 해경단계 진입으로 인한 현상이라 판단되며, 근육 내 존재하는 내생효소인 cathepsin, calpain 및 collagenase의 작용에 의한 것으로 알려져 있다(Xu 등, 2018).

4. 요약

본 연구에서는 넙치 필렛의 신선도 유지 목적으로 HVEsF system을 활용해 보고자, 즉살된 넙치의 필렛을 HVEsF system에 7일간 저장하면서 신선도 관련 지표 및 이화학적 특성 변화에 대해 조사하였다. -1°C에 저장한 대조구(Con)를 포함하여 4°C 저장구(R), -1°C HVEsF system에서 전압을 달리하여 저장한 H35구(3,500 V) 및 H70구(7,000 V)로 구분하였다. 저장 7일 동안 넙치 필렛의 pH는 그룹 간

큰 차이 없이 미미한 감소와 증가가 반복하였고, 세균수에서는 -1°C에 저장한 모든 구의 증식이 억제되어 HVEsF system의 세균증식 억제 효과를 판단하기 어려웠다. 반면, 저장 중 VBN, TMA와 Hx 생성과 관련하여 H70구는 Con 구에 비해 저장 5일 차까지 유의적으로 낮은 값을 나타냈고 (p<0.05), 특히, 모든 그룹의 절단강도는 저장 기간이 경과할수록 감소된 반면, H70구의 절단강도는 저장 3일 차까지 저장 1일 차 값을 유지하였다. 위를 종합하면, 즉살된 넙치의 필렛을 7,000 V로 설정한 -1°C HVEsF system에 저장 시 초기 신선도 유지에 도움을 주는 것으로 판단되었다.

감사의 글

이 논문은 제주특별자치도 해양수산연구원의 지원 및 2022년도 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구(20220131, 수산식품산업 맞춤형 기술개발)로 이에 감사드립니다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Koh HB, Kim BM, Jun JY. Methodology: Oh SR, Won SH. Analysis: Nam JW, Jung MJ, Han AR. Writing - original draft: Nam JW. Writing - review & editing: Jun JY.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there is no human or animal participants.

ORCID

Jong-Woong Nam (First author)
<https://orcid.org/0000-0002-2741-6095>
 Seong-Rip Oh
<https://orcid.org/0000-0003-3647-3304>
 Hyong-Bum Koh
<https://orcid.org/0000-0003-1403-3498>

Seung-Hwan Won

<https://orcid.org/0000-0002-5977-3070>

Min-Jeong Jung

<https://orcid.org/0000-0002-6887-9459>

Ah-Ram Han

<https://orcid.org/0000-0001-7111-7095>

Byoung-Mok Kim

<https://orcid.org/0000-0001-6928-9576>

Joon-Young Jun (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0002-9559-7270>

References

- AOAC. Official Methods of Analysis, 17th ed. Official Method 950.46, 923.03, 976.05 and 991.36, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA (2005)
- Byeun JH, Lee DS, Kim DS, Heu MS. Activity screening of the proteolytic enzymes responsible for post-mortem degradation of fish tissues. *J Korean Fish Soc*, 29, 296-308 (1996)
- Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, Bealer K, Madden TL. BLAST+: Architecture and applications. *BMC Bioinform*, 10, 1-9 (2008)
- Dalvi-Isfahan M, Hamdami N, Le-Bail A, Xanthakis E. The principle of high voltage electric field and its application in food processing: A review. *Food Res Int*, 89, 48-62 (2016)
- Figge MJ, Cleenwerck I, Uijen A, Vos PD, Huys G, Robertson L. *Photobacterium piscicola* sp. nov., isolated from marine fish and spoiled packed cod. *Syst Appl Microbiol*, 37, 329-335 (2014)
- Guo C, You S, Li C, Chen T, Wang X. One-step and colorimetric detection of fish freshness indicator hypoxanthine based on the peroxidase activity of xanthine oxidase grade I ammonium sulfate suspension. *Front Microbiol*, 12, 1-8 (2021)
- Huang H, Sun W, Xiong G, Shi L, Jiao C, Wu W, Li X, Qiao Y, Liao L, Ding A, Wang L. Effects of HVEF treatment on microbial communities and physicochemical properties of catfish fillets during chilled storage. *LWT-Food Sci Technol*, 131, 109667 (2020)
- Huss HH. Quality and Quality Changes in Fresh Fish. FAO Fisheries Technical Paper-348, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy (1995)
- Jang MS, Park HY, Kim KW, Kim KD, Son MH. Comparison of free amino acids and nucleotides content in the olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed with extruded pellet. *Korean J Food Preserv*, 18, 746-754 (2011)
- Jun JY, Jung MJ, Jeong IH, Kim DS, Kim BM. Effects of a freeze-thaw-pressing muscle separation on the biochemical quality and self-stability of leg meat from red snow crab (*Chionoecetes japonicus*). *LWT-Food Sci Technol*, 99, 276-282 (2019)
- Jun JY, Jung MJ, Kim DS, Jeong IH, Kim BM. Postmortem changes in physiochemical and sensory properties of red snow crab (*Chionoecetes japonicus*) leg muscle during freeze storage. *Fish Aquat Sci*, 20, 1-7 (2017)
- Karaca H, Smilanick JL. The influence of plastic composition and ventilation area on ozone diffusion through some food packaging materials. *Postharvest Biol Technol*, 62, 85-88 (2011)
- Kim SH, Sin YM, Lee MJ, Shin PK, Kim MG, Cho JS, Lee CH, Lee YJ, Chae KR. Isolation of major foodborne pathogenic bacteria from ready-to-eat seafoods and its reduction strategy. *J Life Sci*, 15, 941-947 (2005)
- Ko MJ, Oh SW, Hong JH. Sensory drivers of sliced raw fish in Korea: Case study on flounder (*Paralichthys olivaceus*) and rockfish (*Sebastes schlegelii*). *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 45, 1192-1201 (2016)
- KOSIS. Current aquaculture status according to fish species, aquaculture method and regions, Korean Statistical Information Service. Available from: <https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=10>

- 1&tblId=DT_1EZ0008&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=K2_4&seqNo=&lang_mode=ko&language=kor&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITL E. Accessed Jun. 6, 2022.
- Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet J*, 17, 10-12 (2011)
- MFDS. General analytical method: Codes 5.2.2, Da), (7). Ministry of Food and Drug Safety. Available from: https://foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=11055. Accessed May 10, 2021a.
- MFDS. General analytical method: Codes 6.9.4.1. Ministry of Food and Drug Safety. Available from: https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=11142. Accessed May 10, 2021b.
- Min JG, Joung BC, Jung WY. Postmortem changes in spinal cord-damaged olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J Food Nutr Res*, 7, 500-505 (2019)
- Mok CK, Lee SK. Sterilization of yakju (rice wine) on a serial multiple electrode pulsed electric field treatment system. *Korean J Food Sci Technol*, 32, 356-362 (2000)
- NIFS. Fishery species database, National Fisheries Research & Development Institute. 2022. Available from: https://www.nifs.go.kr/frcenter/species/?_p=species_view&mf_tax_id=MF0008111. Accessed May 10, 2021.
- Oh SH, Jung YK, Kim SH, Kim SD. Quality characteristics of sliced raw-fish washed by different methods during storage. *Korean J Food Preserv*, 14, 571-577 (2007)
- Park HR, Yoon SJ, Park HS, Shin JK. Physiological changes of *Saccharomyces cerevisiae* by high voltage pulsed electric field treatments. *Korean J Food Sci Technol*, 45, 590-597 (2013)
- Park JY, Na SY, Lee Y. Present and future of non-thermal food processing technology. *Food Sci Ind*, 3, 2-20 (2010)
- Park SH, Kim MJ, Kim GU, Choi HD, Park SY, Kim MJ, Kim KBWR, Kim YM, Nam TJ, Hong CW, Choi JH, Jang MK, Lee JW, Ahn DH. Assessment of quality changes in mackerel *Scomber japonicus* during refrigerated storage: Development of a freshness indicator. *Korean J Fish Aquat Sci*, 49, 731-736 (2016)
- Shim KB, Lee GB, Kim TJ, Cho YJ. Improvement of sliced raw fish texture: 1. Effect of cold brine temperature on sliced raw fish texture. *J Kor Fish Soc*, 36, 69-73 (2003)
- Shin JK, Shin HH. Effect of high voltage pulsed electric fields on extraction of purple sweet potato pigment. *Korean J Food Preserv*, 14, 165-169 (2007)
- Shin SH, Sung KH, Chung CH. Physicochemical change in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) muscle by iced water pre-treatment. *Korean J Food Sci Technol*, 45, 700-707 (2013)
- Shin WC, Song JC, Choe SY, Lim MS. Effects of packaging method on quality of chilled plaice muscle. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 32, 1292-1296 (2003)
- Song HN, Lee DG, Han SW, Yoon HK, Hwang IK. Quality changes of salted and semi-dried mackerel fillets by UV treatment during refrigerated storage. *Korean J Food Cookery Sci*, 21, 662-668 (2005)
- Xu Y, Li T, Zhang C, Li X, Yi S, Li J, Sun X. Protein degradation of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) muscle after postmortem superchilled and refrigerated storage. *Int J Food Prop*, 21, S1911-S1922 (2018)
- Yoon JH, Bae YM, Oh SW, Lee SY. Current microbiological safety of sliced raw fish. *Safe Food*, 11, 3-9 (2016)