

전어의 보존중 겨자의 처리 효과

서권일 · 강갑석* · 이용수** · 정용진 · 김용택 · 심기환***

동국전문대학 전통발효식품과

*부산전문대학 식품가공과

**대선주조 주식회사

***경상대학교 식품공학과

Effects of Mustard Seed (*Brassica juncea*) on the Preservation of Gizzard-shad Slice

Kwon-Il Seo, Kap-Suk Kang*, Yong-Soo Lee**, Yong-Jin Jung,
Yong-Teak Kim and Ki-Hwan Shim***

Dept. of Traditional Fermented Food, Tong Kuk Junior College, Kyungpook 718-850, Korea

*Dept. of Food Processing, Pusan Junior College, Pusan 616-092, Korea

**Dae Sun Distilling Co. Ltd., Pusan 607-125, Korea

***Dept. of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju 660-092, Korea

ABSTRACT

Effects of mustard seed (*Brassica juncea*) on the preservation of raw gizzard-shad slice were investigated, morphological change of *Vibrio parahaemolyticus* treated with water-extract of mustard seed was examined, the results are as following. The pH of raw gizzard-shad slice soaked in water with mustard seed slightly increased during preservation, and the pH was in inverse proportion to the added amount of mustard seed. The number of bacteria and *Vibrio* of raw gizzard-shad slice treated with mustard seed were lower than control, and the higher the mustard seed concentration, the lower the number of bacteria and *Vibrio*. The TMA-N content of raw gizzard-shad slice gradually increased during preservation, and the TMA-N was in inverse proportion to the added amount of mustard seed. Scanning electron microscopy of *Vibrio parahaemolyticus* treated with water extract of mustard seed showed that surface membrane was destroyed with expended ellipsoidal shape.

Key words: Gizzard-shad, Mustard seed, Food preservative effect.

† To whom all correspondence should be addressed

I. 서 론

겨자를 비롯한 향신료 및 그 정유성분이 정균 혹은 살균작용을 갖고 있다는 것은 오래전부터 알려져 왔으나 향신료의 항미생물작용에 대하여 화학적으로 연구된 것은 19세기 후반부터이고, 본격적으로 조사된 것은 20세기에 들어와서이다. 그 후 많은 연구자들이 향신료 정유성분의 항균성에 대하여 연구하였는데, Okazaki 등^{1,6)}은 생약적 관점에서 향신료의 항균성에 대하여 일련의 연구를 하여 clove oil이 정균효과를 갖고 있는 것을 확인하였으며, Katayama 등^{7, 8)}은 수종 향신료 정유성분의 항균성 및 화학구조와 항균성과의 관계에 대하여도 보고하였고, 심 등⁹⁾은 겨자의 증류성분 중의 항균성 물질을 분리 및 동정하였으며, 서 등¹⁰⁾은 겨자 가수분해물의 생성이 증가함에 따라 항균력이 증가한다고 보고하였다. 또한, Katayama 등⁷⁾은 어육햄, 소시지에 향신료를 처리한 결과 보존성을 향상시키며, Beuchat¹¹⁾는 향신료가 장염 비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*)의 성장을 억제한다고 보고하였고, 上田 등¹²⁾은 내열성 아포형성균 내의 A형 *Botulinum* 균(*Clostridium botulinum* 190과 B1G4주)에 대한 향신료와 정유성분의 발육저해 작용을 연구한 결과 향신료의 첨가에 의해 식육제품 등에서 문제가 되는 *Botulinum* 균을 억제하고, Adnan 등¹³⁾은 향신료의 정유성분이 *Clostridium botulinum* 67B의 성장을 억제하며, 홍 등¹⁴⁾과 서 등¹⁵⁾은 김치발효시 겨자유를 첨가하면 젖산균의 성장을 억제하여 적숙기에 이르는 시간이 지연된다고 보고하였다.

이와 같이 천연항균물질에 대한 연구가 오래 전부터 진행되어 왔으나 구체적이고 실제적인 응용분야에 대하여는 아직도 연구가 부족한 실정이고, 겨자의 항균성 및 식품보존효과에 대한 연구는 매우 미약하여 겨자의 항균력 유무와 항균물질로 알려진 isothiocyanate류의 분석에 불과하며, 우리나라에서 생산된 겨자의 항균성에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 우리나라의 전남 여천군 돌산지방에서 다량 생산되고 있는 겨자의 항균효과를 규명

하여 식품의 향신료와 양념뿐만 아니라 천연항균제로의 이용 가능성을 모색하고자 앞의 연구결과^{9, 10, 15)}를 기초로하여 전어회에 겨자를 처리하여 보존중 그 효과를 조사하고, 겨자처리에 따른 *Vibrio parahaemolyticus*의 형태변화를 현미경으로 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

겨자(mustard, *Brassica juncea*)는 전남 여천군 돌산지방에서 5월에 수확한 것을 구입하여 곱게 마쇄하고 37°C에서 24시간 가수분해하여 항균력을 최대로 증진시킨 후¹⁰⁾ 그 추출물을 사용하였으며, 전어는(평균체장:15cm, 평균체중:35g) 삼천포 활어 시장에서 살아있는 것을 구입하여 같은 크기로 회를 떠서 *Vibrio parahaemolyticus*를 접종한 멸균수에 담그었다. 이를 37°C에서 24시간 가수분해된 겨자 물 추출물을 농도별(0, 0.1, 0.3, 0.5 및 1%)로 첨가된 멸균수에 담근 후 꺼내어 20±1°C에서 3일간 보존하면서 pH, 생균수, *Vibrio* 균수 및 trimethyl amine (TMA) 질소의 함량을 측정하였다.

2. 균수 측정

적당한 단계로 희석한 시료를 각각의 최적배지에 15ml 정도를 부어 균한 petri dish에 도말한 후 각 균주의 최적온도에서 24시간 배양하여 균수를 측정하였으며, 각 희석액에 대해 3개의 평판을 만들어 사용하였다.

3. Trimethyl amine 질소의 정량

TMA 질소의 정량은 山形이 개량한 미량확산법¹⁶⁾에 의하였다. TMA 질소정량 시료는 혼합마쇄한 어육 0.3g을 정평하여 50ml 메스플라스크에 취하고 충분히 교반한 후 4% 삼염화초산(20ml × 2)을 가하여 1~2분간 균질화한 후 30분간 방치하여 Whatman No. 41 여지로 여과한 액으로 하였다. Conway unit 내실에 N/150 HCl 1ml를 가하고, 위와 같은 방법으로 처리된 시료액 1ml를 취하여 외실에 주입하였다. 여기에 formaldehyde 1ml를 주입하고 잘 혼합하여 3분간 방치시킨 후 포화 K₂CO₃ 1ml를 신

속히 외실에 주입시켜 37℃ 배양기에서 90분간 정치하였다. 확산이 끝난 후 N/70 Ba(OH)₂ 미량 수평 뷰렛을 사용하여 내실의 N/150 HCl을 적정하였다.

4. 미생물의 형태변화 조사

겨자 물추출물의 처리에 따른 비브리오균의 형태 변화를 조사하기 위하여 전자현미경으로 관찰하였다. 즉, *Vibrio parahaemolyticus*를 배지에서 48시간 배양한 다음 배양균주 일부에 겨자 물추출물을 배지 ml당 100 μ l 첨가하여 3시간 방치하였다. 이를 원심 분리하고 균체를 분리하여 0.05M phosphate buffer로 희석한 후 0.45 μ m membrane filter에 균체를 고정하였다. 이를 5% glutaldehyde 용액에 하룻밤 담구어 멸균수로 세척한 뒤 30~100%의 에탄올에 차례로 담구어 탈수하였다. 이를 isoamylacetate에 약 30분간 담구어 건조시킨 후 전자현미경 촬영 시료를 조제하여 관찰하였다.

III. 결과 및 고찰

1. pH의 변화

겨자가 첨가된 물에 담근 전어회의 부패 억제 정도를 조사하기 위하여 일정한 크기로 자른 전어회를 겨자가 농도별로 첨가된 물에 담근 후 전어회가 부패함에 따라 생성되는 산의 함량을 pH로 측정 한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 겨자를 0, 0.1, 0.3, 0.5 및 1%의 농도로 첨가시킨 물에 담근 전어의 pH는 6.81, 6.71, 6.68, 6.61 및 6.55이었으나 보존기간이 지남에 따라 미량으로 점차 증가하여 72시간째에는 0.1, 0.3, 0.5 및 1%의 농도로 겨자를 첨가시킨 물에 담근 전어에서 pH는 7.01, 6.98, 6.93, 6.90 및 6.82로 나타났으며, 겨자의 첨가농도가 높을수록 낮게 나타났다.

보존기간에 따라 전어의 pH가 증가하는 것은 부패에 따른 TMA와 DMA 등 생성에 의한 것으로^{17, 18)}, 안 등¹⁷⁾은 10℃ 및 20℃에서 전어를 보존할 때 보존기간이 지남에 따라 pH가 점차 증가하였으며 20℃보다 10℃때 증가폭이 완만하게 증가하였다고 보고하였는데, 본 결과에서 겨자의 처리에 따라 대조구에 비하여 pH가 낮게 나타나는 것은 겨자중의

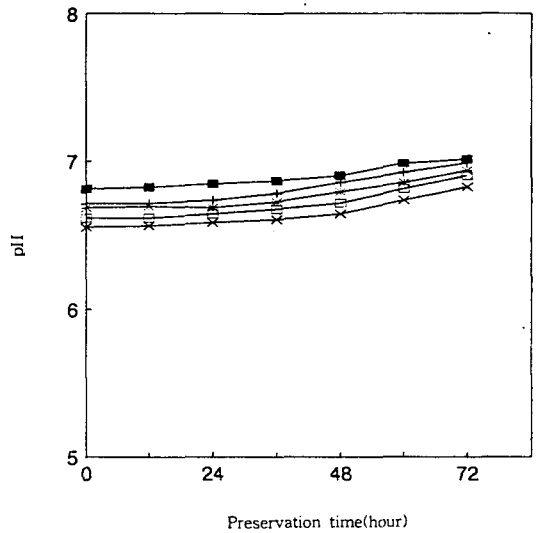


Fig. 1. Changes in pH of raw gizzard-shad slice treated with mustard seed extracts during preservation at 20±1℃.
 ■ : 0%, + : 0.1%, * : 0.3%, □ : 0.5%, x : 1.0%

항균물질에 의하여 전어 부패미생물의 생육을 억제함에 따라 TMA와 DMA 등의 생성을 감소시키기 때문이라고 생각된다.

2. 생균수 및 *Vibrio* 균수의 변화

겨자가 전어회 중의 생균수 및 *Vibrio* 균수에 대한 생육저해효과가 있는지를 조사하기 위하여 겨자가 농도별로 첨가된 물에 담근 전어의 보존기간에 따른 생균수 및 *Vibrio* 균수를 측정 한 결과는 Fig. 2와 3에서 보는 바와 같다.

겨자 무처리구에 담근 전어의 생균수는 처음에 3.8 × 10³ CFU/ml이었으나 보존기간이 지남에 따라 점차 증가하여 보존 60시간째에는 7.2 × 10⁷ CFU/ml가 되었으나, 보존 72시간째에는 1.0 × 10⁷ CFU/ml로 조금 감소하였다. 또한 겨자를 첨가시킨 물에 담근 전어의 생균수는 겨자 무첨가구에 담근 전어에 비하여 감소하여 보존 60시간때에 겨자의 농도가 0.1, 0.3, 0.5 및 1.0%인 물에 담근 전어는 1.0 × 10⁷, 6.5 × 10⁶, 1.0 × 10⁶ 및 6.8 × 10⁵

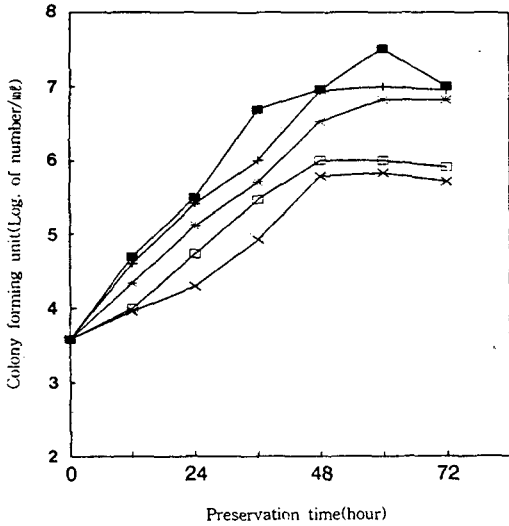


Fig. 2. Effect of mustard seed extracts concentration on the viable colony count during preservation time of raw gizzard-shad slice at 20±1°C.
Refer to the footnote in Fig. 1.

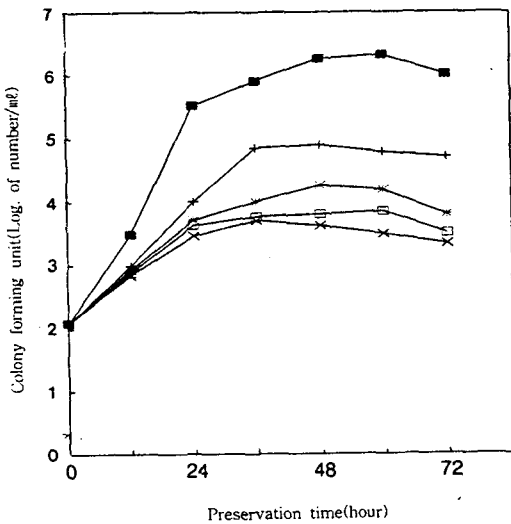


Fig. 3. Effect of mustard seed extracts concentration on the growth of *Vibrio* during preservation time of raw gizzard-shad slice at 20±1°C.
Refer to the footnote in Fig. 1.

CFU/ml로 나타났으며, 겨자 첨가농도가 높을수록 감소하는 폭이 크게 나타났다(Fig. 2).

겨자를 첨가하지 않은 물에 담근 전어의 보존기간에 따른 *Vibrio* 균수는 처음에 1.2×10^2 CFU/ml이었으나 60시간까지는 보존 기간이 지남에 따라 점차 증가하다가 보존 72시간째에는 1.0×10^6 CFU/ml로 60시간째 보다는 약간 감소하였다. 또한 겨자를 첨가시킨 물에 담근 전어의 *Vibrio* 균수는 겨자의 농도가 0.1, 0.3, 0.5 및 1%인 물에 담근 전어에서 보존기간에 따라 증가하여 48시간째에는 7.9×10^4 , 1.8×10^4 , 6.3×10^3 및 4.1×10^3 CFU/ml로 점차 증가하였으나 보존 60시간 이후부터는 감소하는 경향이었고, 겨자의 농도가 높은 물에 담근 전어일수록 대조구에 비하여 *Vibrio* 균의 증가폭이 적었다(Fig. 3).

Tokuoka 등¹⁹⁾과 Hasegawa 등²⁰⁾은 TSBS 배지에서 allyl isothiocyanate가 *Vibrio parahaemolyticus*의 성장을 크게 저해하였으며, 그 함량이 높을수록 더욱 크게 저해하였다고 보고하였는데, 본 결과에서도 겨자첨가에 따른 생균수 및 *Vibrio* 균수의 감소는 겨자중의 allyl isothiocyanate를 비롯한 기타 항균물질의 영향 때문이라고 생각된다^{9, 10)}.

3. Trimethyl amine 질소함량의 변화

겨자가 첨가된 물에 담근 전어회의 부패역제 정도를 조사하기 위하여 일정한 크기로 자른 전어회를 겨자가 농도별로 첨가된 물에 담근 후 20°C에서 보존하면서 전어회가 부패될 때 생성되는 trimethyl amine 질소의 함량을 측정한 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 0, 0.1, 0.3, 0.5 및 1%의 농도로 겨자 첨가된 물에 담근 전어의 TMA 질소함량이 처음에는 0mg%이었으나, 보존기간이 지남에 따라 점차 증가하여 12시간째에는 0.45, 0.43, 0.39, 0.31 및 0.25mg%가 되었고, 24시간째에는 7.1, 6.83, 6.5, 5.82 및 0.42mg%로 1%의 농도로 겨자가 첨가된 물에 담근 전어를 제외하고는 급격하게 증가되었으며, 보존기간이 지남에 따라 계속적으로 증가하여 72시간째에는 16.71, 15.35, 13.53, 12.53 및 12.33mg%가 되었다. 이와 같이 겨자를 첨가한 물에 담근 전어에서 TMA 질소함량은 대조구에 비하여

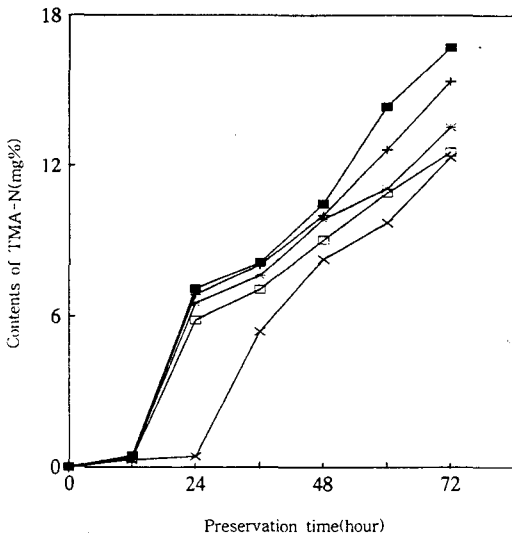


Fig. 4. Changes in TMA-N contents of raw gizzard-shad slice treated with mustard seed extracts during preservation at $20 \pm ^\circ\text{C}$. Refer to the footnote in Fig. 1.

증가폭이 적었으며 겨자첨가 농도가 높을수록 TMA 질소함량은 적었으며, 1% 농도의 겨자 첨가구는 대조구에 비하여 초기유도기간을 12시간이나 연장시켰다.

안 등¹⁷⁾은 전어의 저장기간에 따른 TMA 질소의 함량은 10°C 에서 저장할 때 미량이었던 것이 점차 증가하여 5일 후에는 약 $12\text{mg}\%$ 가 되었고, 25°C 에서는 5일 후에 $20\text{mg}\%$ 까지 증가하였다고 보고하였는데, 본 결과에서 겨자첨가에 따른 TMA 질소함량의 감소는 겨자 중의 항균물질이 전어의 부패미생물의 생육을 억제하여 TMA 질소의 생성을 감소시키기 때문이라고 생각된다.

4. 겨자 물추출물에 의한 비브리오균의 형태 변화

겨자 물추출물이 비브리오균의 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 *Vibrio parahaemolyticus*에 대하여 겨자 추출물을 배지 ml당 $100\mu\text{l}$ 로 처리한 것과 처리하지 않은 대조구를 전자현미경 촬영시료를 조제하여 관찰한 결과 *Vibrio parahaemolyticus*는 대조구에 비하여 겨자 물추출물을 처리하였을 때 균체가

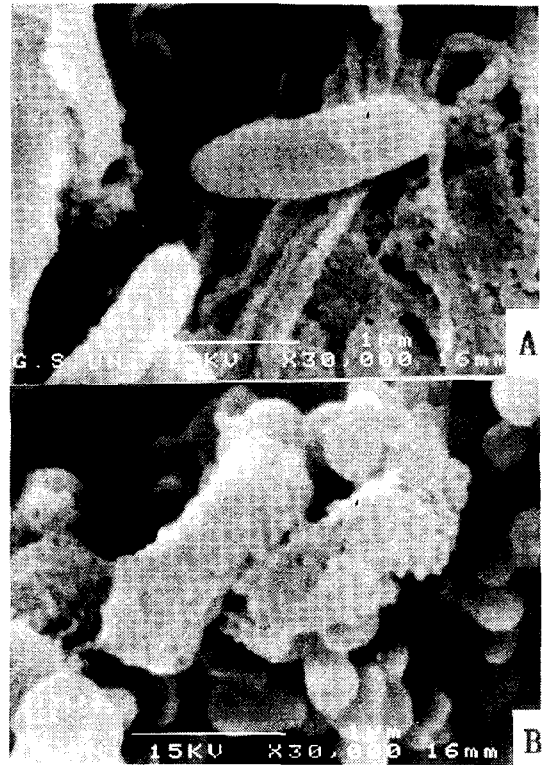


Fig. 5. Scanning electron micrographs of *Vibrio parahaemolyticus*.
A : control.
B : treated with water extract of mustard seed ($100\mu\text{l}/\text{ml}$).

팽윤되고, 표층구조가 허물어지는 것을 보여주었다 (Fig. 5).

조 등²¹⁾은 *E. coli* 및 *Staphylococcus aureus* 등에 grapefruit seed extract (GFSE) 용액을 처리한 후 처리하지 않은 대조구와 함께 전자현미경 촬영시료를 조제하여 촬영한 결과 대조구와 비교하여 GFSE 용액을 처리한 균체에서 세포막 기능이 파괴되어 세포내용물이 균체 외부로 유출되어 균체의 생육이 억제되는 현상을 나타내었다고 보고하였는데, 본 결과의 이와 같은 현상들은 조 등²¹⁾의 연구보고와 비교하여 볼 때 겨자 물추출물에 의한 미생물의 세포벽 및 세포막의 기능이 파괴되어 용균이나 균체성분의 노출로 인한 결과라고 생각된다.

IV. 요약

겨자의 항균성 및 식품보존제로의 이용 가능성을 조사하기 위하여 겨자의 처리에 따른 전어회의 보존 효과를 조사하고, *Vibrio parahaemolyticus*의 형태변화를 현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

겨자를 농도별로 첨가시킨 물에 담긴 전어의 pH는 보존기간이 지남에 따라 미량 증가하였으며, 겨자 첨가농도가 높을수록 낮게 나타났고, 생균수 및 *Vibrio* 균수는 겨자 무첨가구에 담긴 전어에서보다 겨자 첨가구에 담긴 전어에서 감소하였으며, 겨자 첨가농도가 높을수록 감소하는 폭이 크게 나타났고, TMA 질소 함량은 보존기간이 지남에 따라 점차 증가하였으며, 겨자 첨가농도가 높을수록 감소하는 경향이었다.

겨자 물추출물로 처리한 *Vibrio parahaemolyticus*를 전자현미경으로 관찰한 결과 균체가 팽윤되고, 표층구조가 허물어져 심한 형태학적 변화를 나타내었다.

V. 감사의 글

본 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

VI. 참고문헌

- Okazaki, K., Katoo, H. and Matsui, K. : Relation between bactericidal and insecticidal activities, 藥學雜誌, 71:495, 1951.
- Okazaki, K. and Oschima, S. : Antibacterial activity of higher plants. XIX. Antibacterial activity of crude drugs on *E. coli* and *B. dysenteriae*, 藥學雜誌, 71:1335, 1951.
- Okazaki, K. and Oschima, S. : Antibacterial activity of higher plants. XX. Antibacterial effect of essential oils. (I). clove oil and eugenol, 藥學雜誌, 72:558, 1952.
- Okazaki, K. and Oschima, S. : Antibacterial activity of higher plants. XXII. Antibacterial effect of essential oils. III. Fungistatic effect of clove oil and eugenol, 藥學雜誌, 72:564, 1952.
- Okazaki, K. and Oschima, S. : Antibacterial activity of higher plants. XXIV. Antibacterial effect of essential oils, 藥學雜誌, 73(5):344, 1953.
- Okazaki, K. and Kogawara Y. : Antibacterial activity of higher plants. XV. Antibacterial activity of crude drugs, 藥學雜誌, 71(5):481, 1951.
- Katayama, T. and Nagai, I. : Chemical significance of the volatile components of spices in the food preservative viewpoint-IV. structure and antibacterial activity of terpenes, 日本水産學會誌, 26:29, 1960.
- Katayama, T. : Chemical significance of the volatile 8 components of spices in the food preservative viewpoint I. On the volatile component of *Xanthoxylum piperitum*, 日本水産學會誌, 24:511, 1958.
- 심기환, 서권일, 강갑석, 문주석, 김홍출 : 겨자 증류성분중의 항균성 물질, 한국영양식량 학회지, 24(6):948, 1995.
- 서권일, 박석규, 박정로, 김홍출, 최진상, 심기환 : 겨자 가수분해물의 항균성 변화, 한국 영양식량학회지, 25(1):129, 1996.
- Beuchat, L. R. : Sensitivity of *V. parahaemolyticus* to spices and organic acids, J. Food Sci., 41:899, 1976.
- 上田山下, 中島桑原. : 香辛料及び香料の抗微生物作用, 日本食品工業學會誌, 29:111, 1982.
- Adnan, A. I. and Pierson, M. D. : Inhibition of termination, outgrowth, and vegetative growth of *Clostridium botulinum* 67B by Spice Oils, Food Prot., 53(9):755, 1990.
- 홍완수, 윤현 : 열처리 및 겨자유의 첨가가 김치 발효에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 21(3)

- :331, 1989.
15. 서권일, 정용진, 심기환 : 김치 발효중 겨자의 첨가효과, 농산물저장유통학회지, 3(1):인쇄중, 1996.
 16. 山形誠 : 水産生物化学 食品学实验书, 恒生社厚生会版, 東京都, 186, 1974.
 17. 안철우, 최수안, 박영호 : 적색육 어류의 저장 및 가공중의 amine류의 변화, 한국수산학회지, 12(4):245, 1979.
 18. 박영호 등: 적색육 어류의 저장 및 가공중의 amine류의 변화, 한국수산학회지, 14(1):7, 1981.
 19. Tokuoka, K., Mori, R. and Isshiki, K. : カラシ抽出物による製剤酵母の生育抑制, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 39(1):68, 1992.
 20. Hasegawa, N., Hoshino, A. and Iwashita, K. : Japanese Taste, Food Poisoning, and Prevention(*V. parahaemolyticus* and Wasabi), Report of The Skylark Food Science Institute, 2:51, 1993.
 21. 조성환, 서일원, 이근희 : 천연항균제처리에 의한 과채류의 선도유지 및 병해방지에 관한 연구, 한국농화학회지, 36(4):265, 1993.