

감마선 조사에 따른 참치 자숙액의 위생화 및 기능성 변화 연구

변명우*

Effect of Gamma Irradiation on the Microbial Safety and Biological Activities of Tuna Cooking Juices

Myung-Woo Byun*

접수: 2012년 8월 9일 / 게재승인: 2012년 8월 24일
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: In this study, the effect of gamma irradiation on the microbial contamination and biological activities of tuna cooking juices was investigated. Tuna cooking juice was by-produced during the canning processing, and had various functional components. But, it was shown that the tuna cooking juice was seriously contaminated. Gamma irradiation effectively reduced the microbial population in tuna cooking juice. Also, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, tyrosinase inhibitory activity, and ACE inhibitory activity of tuna cooking juices were all increased as a result of gamma irradiation. These results suggest that wasted tuna cooking juices can be used as a functional component in the food and cosmetic industries if the irradiation technology were applied.

Keywords: tuna cooking juice, gamma irradiation microbial contamination, biological activities

1. 서론

삼면이 바다로 둘러싸인 우리나라는 예로부터 다양한 수산물들이 다량으로 소비되어 왔다. 이 중에서 참치 (*Thunnus thynnus*)는 고단백 식품으로 영양적으로 우수할 뿐 아니라

혈중 콜레스테롤 농도를 낮추어 동맥 경화를 예방하며, 항암 작용이 있다고 알려져 있다 [1,2].

최근에는 교통체증과 맞벌이 부부의 증가와 같은 사회적 변화로 인해 간편성을 부여한 수산가공품이 주류를 이루고 있다 [3]. 톳, 미역, 참치, 고등어, 굴, 오징어, 문어 및 멸치 등과 같은 수산물의 통조림 및 건제품 가공과정에서는 부산물로서 다량의 자숙액이 발생되며, 이들 자숙액의 대부분은 폐기물로 처리되거나 일부는 저가의 조미료 재료나 식품 중간 소재로 이용되고 있다 [4]. 자숙액에는 수산 원료에 포함된 탄수화물, 단백질, 비타민, 미네랄, 효소, 생리활성 물질이 추출되어 함유되어 있다. 이러한 폐액은 생물학적 산소 요구량의 증대와 같은 해양 환경에 중요한 영향을 미칠 수 있어 자숙액의 회수 및 이용은 폐기 자원의 이용이라는 측면 뿐만 아니라 환경 보호의 측면에서도 매우 필요하다 [5]. 현재 자숙액에 함유되어 있는 유리아미노산, 유기산, 일부 핵산 관련물질 등과 같은 용출성 영양성분들을 기능성 물질의 새로운 자원으로 재이용하려는 많은 연구가 시도되었다 [6]. 그러나, 다량으로 얻어지는 자숙액은 상온에서 개방된 상태로 아무런 처리 없이 보관되기 때문에 미생물의 오염 위험이 높고, 또한 자숙액 내의 높은 영양성분 때문에 미생물이 쉽게 성장하게 된다.

최근 식품 위생화의 새로운 방법으로 대두되고 있는 방사선 조사는 식품의 영양적인 측면과 관능적 특성의 변화 없이 병원성 미생물과 부패 미생물을 제거하는 가장 좋은 방법으로 알려져 있다 [7,8]. 또한, 식품 원래의 품질을 유지하면서 여러 가지 긍정적인 효과가 보고되어 있으며, 천연 추출물에 감마선 조사를 적용하여 첨가제 등으로 사용하기에 적합하도록 색상을 개선하며 본래 가지고 있던 생리활성을 유지한다는 연구결과가 보고되었다 [7,9].

우송대학교 외식조리영양학부
Department of Culinary Nutrition, Woosong University, Daejeon 300-718, Republic of Korea
Tel: +82-42-630-9864, Fax: +82-42-630-9389
e-mail: mwbyun21@hanmail.net

따라서 본 연구에서는 참치 자숙액을 식품 및 공중보건 소재로 이용하기 위하여 자숙액의 위생화 및 기능성 증진을 위한 감마선 조사의 이용 가능성을 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료 및 감마선 조사

본 연구에서 사용한 참치 자숙액은 동원 F&B (Changwon, Republic of Korea)에서 제공받았다. 시료 내의 유용성분을 효율적으로 추출하기 위해 에탄올을 70%로 제조하여 시료와 70% 에탄올을 1:10 비율로 혼합한 후 얻어진 추출물을 감압증류를 통해 10배 농축한 후 사용하였다.

감마선 조사는 한국원자력연구원 방사선과학연구소 (Jeongeup, Republic of Korea) 내 선원 11.1 PBq, ⁶⁰Co 감마선 조사시설 (point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd, Ottawa, Canada)을 이용하였다. 시료는 50 mL의 conical tube에 넣어 방사선 조사를 하였으며, 실온에서 시간당 10 kGy의 선량율로 0, 1, 3, 5, 및 10 kGy의 흡수 선량을 얻도록 하였다. 흡수선량의 확인은 alanine dosimeter (5 mm, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구 (International Atomic Energy Agency)의 규격에 준용하여 표준화 한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 ± 2% 이내였다.

2.2. 오염 미생물군 측정

참치 자숙액 시료 1 mL에 멸균된 식염수 (0.85%, NaCl) 9 mL을 첨가하여 Bag mixer (Model 400, Interscience, France)를 사용하여 120초 동안 혼합한 후 10진 희석법으로 희석한 희석액을 total plate count agar (PCA, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA)를 사용하여 도말하였다. 미생물의 증식은 37°C에서 2일간 배양한 후 계수하였다. 각 미생물군 측정은 3반복으로 실시하였다.

2.3. DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Kim *et al.* [10]의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 1 mL에 0.2 mM 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) 1 mL을 넣고 교반한 후 30분 동안 실온에 정치한 다음 반응 용액을 분광광도계 (UV-1601PC spectrophotometer, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 517 nm에서 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음의 계산식에 의하여 계산되었다.

$$\text{전자공여능 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

2.4. Tyrosinase 저해 활성 측정

Tyrosinase 활성저해 측정 방법은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 dopachrome을 비색법을 이용하여 측정하였다 [11]. Sigma사에서 구입한 mushroom tyrosinase (100 unit/mL)을 0.2 mL, 기질로서 DOPA 0.4 mL, 0.1 M potassium phosphate

buffer (pH 6.8) 0.2 mL의 혼합액에 시료 0.2 mL을 첨가한 후 37°C에서 15분간 반응시켜 475 nm에서 측정하고 dopachrome의 변화를 저해능으로 환산하였다. Tyrosinase 저해능 환산식은 다음과 같다.

$$\text{저해능 (\%)} = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

A: 시료 자체의 흡광도.

B: 시료 대신 70% ethanol을 첨가한 흡광도.

C: 효소액 대신 증류수를 첨가한 흡광도.

2.5. 고혈압 저해 효과 측정

감마선 조사에 의한 자숙액 에탄올 추출물의 항고혈압 활성은 ACE 저해활성을 통해 알아보았다. ACE (Angiotensin I Converting Enzyme) 저해활성은 Cushman과 Cheung [12]의 방법으로 다음과 같이 실시하였다. Hippury-L-Histidyl-L-Leusine (HHL) 25 mg을 0.1 M sodium borate buffer (pH 8.3)에 용해하여 제조한 기질 30 μL에 시료 10 μL를 가하여 37°C에서 10분간 반응하였다. 그 다음 시료 대조군에 1 N HCl 50 μL 첨가하여 반응을 종료시키고 시료 처리군에는 효소 Angiotensin Converting Enzyme (0.5 unit/mL, Sigma Chemical Co.) 10 μL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응한 다음 1 N HCl 50 μL 첨가하여 반응을 종료하였다. 그 후 모든 처리 군에 ethyl acetate 300 μL를 첨가한 다음 원심분리기를 이용하여 원심분리를 한 후 상층액 250 μL를 취해서 70°C에서 1시간 동안 방치하였다. 그 다음 증류수 300 μL를 첨가하여 교반 후 분광광도계 (UV 1600 PC, Shimadzu)를 이용하여 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. ACE 저해활성 환산식은 다음과 같다.

$$\text{ACE 저해 활성} = \left[1 - \frac{(S-S.C)}{(B-B.C)}\right] \times 100$$

S: 시료의 흡광도.

S.C.: 시료 대조군의 흡광도.

B: 공시험의 흡광도.

B.C: 공시험 대조군의 흡광도.

2.6. 통계 분석

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은 SPSS software (version 10, 0)에서 프로그래밍된 general linear model procedure을 수행하고 유의적인 차이가 보일 때 평균값 간의 차이를 Duncan의 multiple range test법을 사용하여 평가하였다 ($p < 0.05$).

3. 결과 및 고찰

3.1. 참치 자숙액의 감마선 조사에 따른 총균수 변화

참치 자숙액 내의 오염 미생물의 분포도를 알아보기 위하여

참치 자숙액을 37°C에서 저장하면서 감마선 조사한 후 미생물의 생존수를 계수하였다. 참치 자숙액에서는 약 3.12 Log CFU (colony forming unit)/g의 호기성 미생물이 검출되었다 (Table 1). 또한, 감마선 조사에 의해 참치 자숙액의 미생물 수가 감소하였음을 확인할 수 있었다. 감마선에 의해 미생물의 세포 내 DNA의 공유결합이 절단되어 purine이나 pyrimidine 염기가 소실되어 치명적인 돌연변이가 일어나거나 DNA 사슬이 절단되는데, 수복이 되지 못하면 사멸하게 된다 [13]. 5 kGy의 감마선을 조사하였을 때 참치 자숙액에서는 2.20 log CFU/g의 미생물이 검출됨을 확인하였다. 10 kGy에서 완전 멸균됨을 확인하였다. 본 연구 결과 수산 자숙액을 식품 및 공중 보건 산업에 이용함에 있어 자숙액 내에 있는 오염 미생물을 살균시키는 방법으로써 감마선 조사의 효과를 확인하였다. 툷 및 문어 자숙액에 관한 이전의 연구결과에서, 툷 자숙액에서는 5 kGy의 선량에서 약 5 log CFU/g 값이 감소하였으나, 참치 자숙액에서는 같은 선량에서 1 log CFU/g 값만이 감소하였다. 따라서 자숙액 별로 미생물들의 감마선 저항성이 큰 차이를 보였으며, 참치 자숙액에서는 툷 자숙액보다 높은 선량의 감마선 조사가 필요하다고 생각된다. 툷 및 문어 자숙액과는 달리 참치 자숙액은 다량의 지방이 함유되어 있기 때문에, 서로 다른 미생물 군집을 가지고 있다. 본 연구에서 사용된 참치 자숙액에서 확인된 미생물들 중에서 몇 개의 콜로니를 동정한 결과 *Bacillus* 속의 미생물과 높은 유사성이 확인이 되었다. 일반적으로 *Bacillus* 속 미생물들은 다른 미생물보다 높은 방사선 저항성을 갖는 것으로 보고되어 있다 [7]. 따라서 참치 자숙액은 살균을 위하여 툷 자숙액보다 높은 감마선 조사가 필요한 것이라고 사료된다.

Table 1. Total viable cell counts of gamma-irradiated tuna cooking juices

Irradiation dose (kGy)	CFU in Tuna cooking juices
0	3.12 ± 0.03 ^a
1	2.97 ± 0.08 ^b
2	2.84 ± 0.06 ^c
3	2.47 ± 0.02 ^d
4	2.35 ± 0.07 ^e
5	2.2 ± 0.07 ^f
10	-

^aValues with different letters within the same column differ significantly ($p < 0.05$).

3.2. 항산화 활성 평가

참치 자숙액 70% 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. 측정 결과 참치 자숙액 에탄올 추출물의 전자공여능은 68.80%로 나타났다. 또한, 참치 자숙액의 전자공여능은 감마선 조사에 의해 조사선량이 증가함에 따라 증가하여 10 kGy의 감마선 조사 결과 참치 자숙액의 전자공여능은 77.33%로 증가함을 알 수 있었다.

Kim 등 [15]에 따르면 감마선 조사에 의해 비파 (*Eriobotrya japonica*) 메탄올 추출물의 환원력이 증가하는 경향을 보였다고 보고하였고, Sohn 등 [16]은 민들레 (*Dandelion*) 추출

물에 감마선을 조사하였을 시 환원력이 증가한다고 보고하였다. 참치 자숙액의 대표적인 기능성 성분으로 단백질과 특히 단백질로부터 얻어진 펩타이드가 알려져 있다 [1,2]. 최근 Choi 등 [1]의 연구에서 참치 단백질로부터 얻어지는 펩타이드 추출 수율이 방사선조사에 따라 증가한다는 것이 보고되었다. 이러한 참치 자숙액에서 방사선 조사에 따른 단백질의 펩타이드 가수분해에 따라 항산화 활성이 증가된 것으로 사료된다.

본 연구 결과 참치 자숙액 에탄올 추출물은 높은 항산화 활성을 가진다고 생각되었으며, 이들은 감마선 조사에 의해 활성이 증가하는 것을 확인하여 감마선 조사한 참치 자숙액 에탄올 추출물은 항산화성을 나타내는 기능성 소재로서 이용 가능성이 있다고 생각되었다.

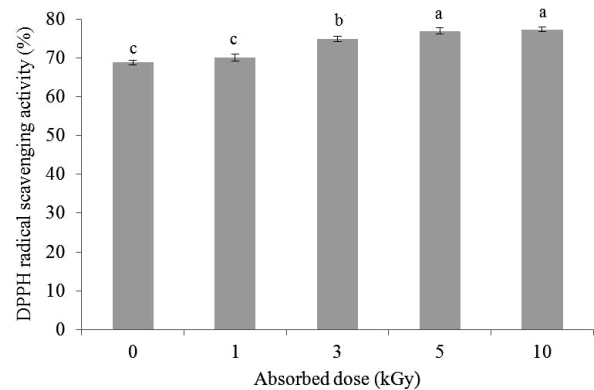


Fig. 1. The DPPH radical scavenging activity of gamma-irradiated tuna cooking juices at different doses.

3.3. Tyrosinase 저해 활성 평가

Tyrosinase는 피부 기저층에 있는 melanocyte의 melanosome에서 tyrosine 혹은 dopa를 기질로 하여 피부의 색소 성분인 melanin을 생합성 하는데 있어서 key enzyme으로 작용하는 효소이다 [17]. 자숙액 내에 존재하는 tyrosinase 저해 활성 물질은 melanocyte cell의 tyrosinase 효소 활성을 저해하여 melanin 합성을 저해하고, 결과적으로 melanin 합성을 막는다. 참치 수산 자숙액 에탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 측정된 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 참치 자숙액 에탄올

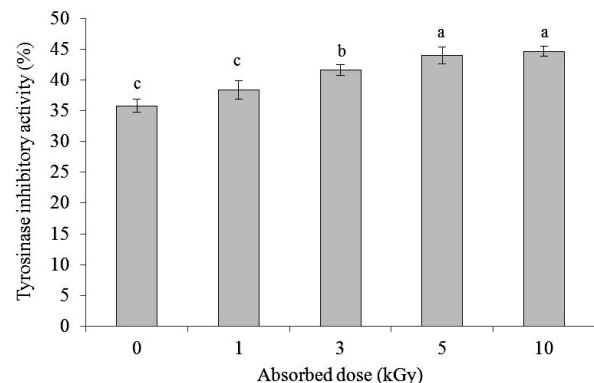


Fig. 2. Tyrosinase inhibition activity of the 70% ethanol extract from gamma-irradiated tuna cooking juices at different doses.

추출물의 tyrosinase 저해 활성은 35.82%로 나타났으며, 이는 감마선 조사에 의해 조사선량이 증가함에 따라 증가함을 확인 하였고, 10 kGy의 감마선 조사 결과 참치 자숙액의 tyrosinase 저해능은 44.62%로 증가하였다. Choi 등 [1]은 참치 유래 펩타이드가 높은 tyrosinase 저해능과 고혈압 저해 효과를 갖고있다고 보고하였다. 따라서 항산화 활성의 증가 처럼 방사선 조사에 의한 단백질 추출 수율의 증가에 따라 tyrosinase 저해활성이 증가한 것으로 사료된다.

3.4. 고혈압 저해 효과 측정

ACE는 포유동물에서 혈관 내에서 혈류의 흐름과 염류의 균형을 제어하는 중요한 역할을 한다. 모세혈관 주변에 있는 입자형 세포인 granular가 renin을 혈액 속에 분비하고 renin은 angiotensinogen을 angiotensin으로 바꾸어준다. 이 angiotensin I은 ACE에 의해 angiotensin II로 바뀌며 이것이 부신피질을 자극하여 aldosteron을 분비하게 하고, bradykinin의 분해를 일으켜 결과적으로 혈압의 증가가 일어난다 [19,20]. 자숙액 내에 존재하는 ACE 저해 물질은 ACE의 활성 부위에 결합함으로써 angiotensin I과 경쟁적으로 반응하여 angiotensin II의 감소를 일으켜 혈압강하 효과를 나타낸다. 또한 bradykinin의 분해를 차단하여 prostaglandin 등의 혈관 확장 물질의 합성을 촉진하게 된다. 참치 자숙액 에탄올 추출물의 ACE 저해능 측정 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 참치 자숙액의 ACE 저해능은 73.97%로 나타나 높은 ACE 저해능을 나타내었고, 이들은 감마선 조사에 의해 조사선량이 증가함에 따라 증가하는 것을 알 수 있었다. 본 연구 결과 감마선 조사는 참치 자숙액 에탄올 추출물의 ACE 저해능을 증가시켜 고혈압을 예방하는 기능성 식품으로서의 이용이 가능하리라고 생각된다.

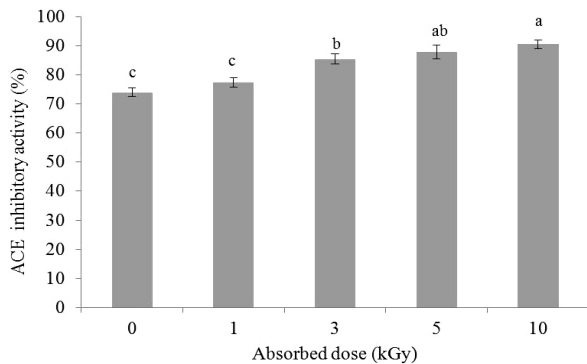


Fig. 3. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition activity of the 70% ethanol extract from gamma-irradiated seafood cooking juices at different doses.

4. 결론

본 연구에서는 참치 가공 공정 중에 부산물로 얻어지고 있는 참치 자숙액의 활용을 위한 감마선 조사 영향을 연구하였다. 감마선 조사에 의하여 참치 자숙액에 존재하는 미생물학적 위험성은 제거가 되었으며, 참치 자숙액의 방사선 조사 결과

항산화 활성, 미백 효과 및 고혈압 저해능이 증가되는 것을 확인하였다. 본 연구 결과 감마선 조사한 참치 자숙액 에탄올 추출물은 식품 및 공중보건 산물의 기능성 소재로서 활용 가능성이 있다고 사료된다.

References

- Choi, J., J. H. Kim, and J. W. Lee (2011) Physiological properties of tuna cooking drips hydrolysate prepared with gamma irradiation. *Process Biochem.* 46: 1875-1878.
- Je, J. Y., Z. J. Qian, H. G. Byun, and S. K. Kim (2007) Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzyme hydrolysis. *Process Biochem.* 42: 840-846.
- Kim, H. J., J. Choi, H. S. Lee, J. H. Kim, M. W. Byun, B. S. Chun, D. H. Ahn, H. S. Yook, and J. W. Lee (2007) Improvement of physiological activity of the ethanol extract from boiled-water of *Enteroctopus dofleini* by gamma irradiation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 1612-1616.
- Jung, H. S. (2007) Antioxidant effect of histidine containing low molecular weight peptide isolated from skipjack boiled extract. *Korean J. Food Cookery Sci.* 23: 221-226.
- Ebitani, K. T. O. and K. Takahashi (1992) Development of Taurine Collection Technology from Sardine Cooking Wastes. pp. 81-90. In: K. Takahashi, National Conference Materials for Fisheries Utilization and Processing. Central Fisheries Institute, Tokyo, Japan.
- Kim, W. J., T. J. Bae, J. D. Choi, and M. H. Ahn (1994) A study exploiting raw material of seasoning by using fish and shells. 1. On composition of seasoning material in cooking by-product. *Bull. Korean Fish Soc.* 27: 259-264.
- Thayer, D. W. (1990) Food irradiation: Benefits and concerns. *J. Food Quality* 13: 147-169.
- Byun, M. W. (1997) Application and aspect of irradiation technology in food industry. *Food Sci. Ind.* 30: 89-100.
- Jo, C., J. H. Son, and M. W. Byun (2003) Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extracts. *Radiat. Phys. Chem.* 66: 179-184.
- Kim, Y. J., H. J. Kim, J. Choi, J. H. Kim, B. S. Chun, D. H. Ahn, J. H. Kwon, Y. J. Kim, M. W. Byun, and J. W. Lee (2008) Effect of electron beam irradiation on the physiological activities of cooking drips from *Enteroctopus dofleini*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 1190-1195.
- Flurkey, W. H. (1991) Identification of tyrosinase in mushrooms by isoelectric focusing. *J. Food Sci.* 55: 93-95.
- Cushman, D. W. and H. S. Cheung (1971) Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20: 1637-1647.
- Hong, W. J. (1990) Sanitary sterilization of dried fishes and mixed condiments. *Korean J. Soc. Food Sci.* 6: 97-104.
- Choi, J., H. J. Kim, J. H. Kim, B. S. Chun, D. H. Ahn, G. H. Kim, and J. W. Lee (2010) Changes in colour and antioxidant activities of *Hizikia fusiformis* cooking drips by gamma irradiation. *LWT - Food Science and Technology* 43: 1074-1078.
- Kim, H. J., C. Jo, T. H. Kim, D. S. Kim, M. Y. Park, and M. W. Byun (2006) Biological evaluation of the methanolic extract of *Eriobotrya japonica* and its irradiation effect. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 684-690.
- Sohn, S. H., C. Jo, M. J. Oh, C. B. Sohn, and M. W. Byun (2006)

- Studies on the changes of biological activity and physicochemical characteristics of gamma irradiated dandelion extracts. *Food Eng. Pro.* 10: 40-47.
17. Yang, B., M. Zhao, and Y. Jiang (2008) Optimization of tyrosinase inhibition activity of ultrasonic-extracted polysaccharides from longan fruit pericarp. *Food Chem.* 110: 294-300.
 18. Byun, M. W., C. Jo, T. W. Jeon, and C. H. Hong (2004) Effects of gamma irradiation on color characteristics and biological activities of extracts of *Lonicera japonica* (Japanese honeysuckle) with methanol and acetone. *LWT - Food Sci. Technol.* 37: 29-33.
 19. Erdos, E. G. and R. A. Skidgel (1987) The angiotensin I-converting enzyme. *Lab. Invest.* 56: 345-348.
 20. Messerli, F. H. (1999) Combination in the treatment of hypertension: ACE inhibitors and calcium antagonists. *Am. J. Hypertens.* 12: 86-90.