

산 · 학 · 연 논문

소시지의 저장 중 propolis 에탄올 추출물의 첨가효과

오인석 · 오동환 · 조영숙\* · 강갑석\*\* · 손미에\*\*\* · 서권일\*†

순천대학교 동물자원과학과, \*순천대학교 식품영양학과,  
\*\*부산정보대학 레저산업계열, \*\*\*한국전통발효식품연구소

Effects of Ethanol Extract of Propolis (EEP) on the Storage of Sausage

In-Suk Oh, Dong-Hwan Oh, Young-Sook Cho\*, Kap-Suk Kang\*\*,  
Mi-Yae Shon\*\*\* and Kwon-Il Seo\*†

Dept. of Animal Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

\*\*Group Dept. of Leisure Industry, Pusan Information and Technology College, Busan 616-737, Korea

\*\*\*Korea Fermented Food Research Institute, Sanchung 660-960, Korea

서 론

식육 및 육제품은 동물성 단백질의 중요한 공급원으로 서 국민 건강향상에 매우 중요하지만 저장기간이 경과함에 따라 산화, 부패되고 미생물이 발육하기 때문에 이를 억제 혹은 방지하기 위하여 다수의 식품 보존제를 사용하고 있다. 육제품에 첨가되는 식품 보존제는 주로 인공합성 보존료로 그 사용량은 식품위생법으로 엄격히 제한하고 있으며, 현재 허용되고 있는 인공 보존료로는 erythorbic acid, potassium sorbate 등 13개 품목이 있다(1-3).

그러나 인공보존료를 첨가한 육제품은 인체에 해로울 수 있다는 소비자들의 인식 때문에 육제품 이용에 큰 저해요인이 되고 있어, 업계에서는 최근 이러한 소비자들의 인식을 제고하여 인공 보존료를 대체할 수 있는 천연 보존료를 사용하려는 움직임이 일고 있다. 식품의 천연 보존료에 관한 연구로는 tocopherol, carnosine, rosemary 등 많은 연구가 계속되고 있는데, 최근에는 봉교에서 얻어지는 propolis을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있다(4-6). Propolis는 고대로부터 벌을 치는 사람들에게서 그 약리효과가 구전되어 알려지성 비염, 천식 및 피부염 등의 치료에 민간요법으로 사용되어 오고있으며(7,8), 이러한 propolis의 효과는 식물의 분비물에 존재하는 항균물질 때문이라고 알려져 있다(9).

현재까지 국내 · 외에서 보고된 propolis에 대한 연구로는 항균활성(10,11) 및 항산화 효과(12,13)에 대한 보고와 propolis가 육제품 보존효과로서 지질산화 방지작용이 기

존의 보존제로 쓰여지는 potassium sorbate보다 우수하다는 보고(14)가 있을 뿐 아직까지 국내에서는 식육 및 육제품에 대한 propolis의 항균 및 항산화 효과나 생리활성에 대한 연구는 매우 미흡한 수준이다.

따라서 본 연구에서는 propolis 에탄올 추출물(EEP)의 항균활성, 항산화 효과 및 발암성 물질로 알려진 nitrosamine을 생성하는데 관여하는 아질산염의 소거효과를 입증한 이전의 결과(15)를 바탕으로 이를 소시지 제조시 첨가한 후 그 효과에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

EEP(Ethanol Extract of Propolis)의 조제

실험에 사용한 propolis는 순천지역에서 채취하였고, EEP는 propolis 50 g에 80% ethanol을 500 ml(w/v) 가한 후 환류 냉각장치를 이용하여 2시간 동안 추출한 다음 여과하여 조제하였다(16).

Sausage의 제조

소시지의 제조는 먼저 생후 1년 된 돼지 복부의 최장근을 아질산염 150ppm, 소금 3%, 설탕 1.5%로 5일간 염지한 다음 염지육에 돼지 지방과 potassium sorbate을 각각 10, 1.5%(w/v) 첨가하고 마쇄하여 유회육을 조제하였다. 조제된 유회육에 EEP를 각각 1%, 3% 및 5%(w/w)로 첨가한 후 상법에 의해 소시지를 제조한 다음 실험에 사용하였다.

†Corresponding author. E-mail: seoki@sunchon.ac.kr  
Phone: 061-750-3655. Fax: 061-750-3655

### pH 측정

저장기간별 소시지의 pH측정은 시료 10 g에 증류수 100 mL을 첨가한 후 homogenizer(8,000 rpm, 2 min)로 균질화한 다음 pH meter(Orion 520A, USA)로 측정하였다.

### 총균수 및 대장균 군수의 측정

총균수는 단계별로 희석한 소시지 시료를 PCA(plate counter agar) 배지에 도달한 후 32°C에서 48시간 동안 배양한 다음 생성된 colony를 계수하여 측정하였고, 대장균 군수는 대장균 선택배지인 VRBA(violet red bile agar) 배지를 사용하여 총균수와 동일한 방법으로 측정하였다.

### 휘발성 염기태 질소(VBN) 함량의 측정

소시지의 휘발성 염기태 질소 함량은 高板의 방법(17)에 따라 측정하였다. 즉 소시지 10 g의 세절편을 mess flask에 넣고 증류수 90 mL를 가하여 14,000 rpm에서 5분간 균질화한 후 여과하였다. 이 여액 1 mL를 conway unit의 외실에 넣고, 0.01 N BrO<sub>3</sub> 1 mL와 지시약(0.066% methyl red+0.066% bromocresol green)을 2~3방울 내실에 넣은 다음 뚜껑을 닫았다. 외실에는 포화 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 mL를 주입한 후 밀폐하고, 용기를 수평으로 회전하여 외실의 소시지 시료와 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>가 잘 섞이게 한 다음, 이것을 incubator에 넣고 37°C에서 120분간 정치한 후 뚜껑을 열고 내실의 0.01 N BrO<sub>3</sub>를 0.02 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 적정하였다.

### TBA가의 측정

저장 기간별 소시지의 TBA가의 측정은 Witte 등의 방법(18,19)에 따라 시료 20 g에 20% trichloroacetic acid(in 2 M phosphoric acid) 50 mL를 첨가하여 14,000 rpm으로 2분간 균질화 한 후 증류수로 100 mL로 정용한 다음 여과하였다. 이 여액 5 mL와 5 mM 2-thiobarbituric acid 용액 5 mL를 시험관에 넣어 혼든 후 암소에서 15시간 방치한 다음 530 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식과 같이 계산하였다.

$$TBARS (MA \text{ mg/kg}) = A_{530} \times 5.2$$

### 아질산염 소거능 측정

농도별 EEP를 첨가한 소시지의 아질산염 소거능의 측정(20)은 저장기간별 소시지 시료 2.5 g에 증류수 25 mL를 넣고 함께 균질화한 후 70°C 증류수를 가하여 150 mL로 정용 하였다. 80°C 이상 water bath에서 2시간 동안 교반한 후 식혀 다시 250 mL로 정용한 다음 여과하였고, 각 소시지 시료 여과액에 0.278 mL sulfanylamide 용액을 넣고 혼합하고 5분 후 0.278 mL NED 용액을 넣어 다시 혼합하여 15분 후에 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 아질산염

소거능의 계산식은 아래와 같다.

$$\text{Nitrite (ppm)} (\mu\text{g/g sample}) = \text{표준곡선 값} \times 20$$

## 결과 및 고찰

### pH 변화

저장기간 중 소시지의 pH의 변화는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 시간이 경과함에 따라 서서히 증가하는 경향이 있었지만, EEP 첨가 소시지가 무첨가 소시지 보다 증가 속도가 낮게 나타났으며 특히 EEP 5%를 첨가한 소시지의 pH가 가장 천천히 증가하였다.

한 등(2)은 실험에서 EEP가 pH 상승 억제효과가 있다고 보고한 바 있고, 송 등(21)은 EEP의 첨가량이 증가할수록 pH의 변화를 억제하는 효과가 크다고 보고하였는데, 본 실험에서도 EEP 첨가시 pH의 증가가 농도 의존적으로 억제되는 경향을 나타내었으며, 그 이유는 EEP가 직접적으로 소시지 미생물의 증식을 억제하기 때문인 것으로 생각된다.

### 총균수 및 대장균 군수의 변화

Fig. 2와 3은 소시지의 생균수 및 대장균 군수를 측정된 결과로 저장기간이 지남에 따라 증가하였는데, EEP를 첨가한 소시지가 무첨가 소시지에서 보다 적었고, 첨가농도가 높을수록 높은 항균활성을 나타내었다.

이는 박 등(22)의 실험에서 propolis 추출물이 그람 양성균과 곰팡이류에 대해 높은 항균활성이 있다고 보고한 내용과 일치하는 결과이며, EEP의 첨가는 소시지의 생균수 및 대장균의 생육에 직접적으로 영향을 미친다고 생각되었다.

### 휘발성 염기태 질소 함량의 변화

EEP를 농도별로 첨가하여 저장하면서 소시지의 휘발

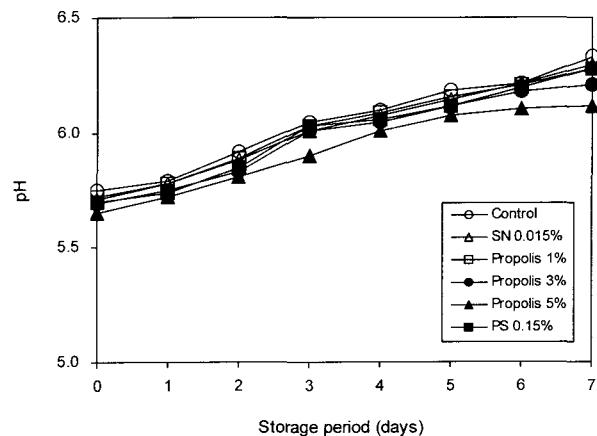


Fig. 1. Changes of pH in sausages added ethanol extract of propolis (EEP) during the storage at 20°C for 7 days. SN: Sodium nitrite, PS: Potassium sorbate.

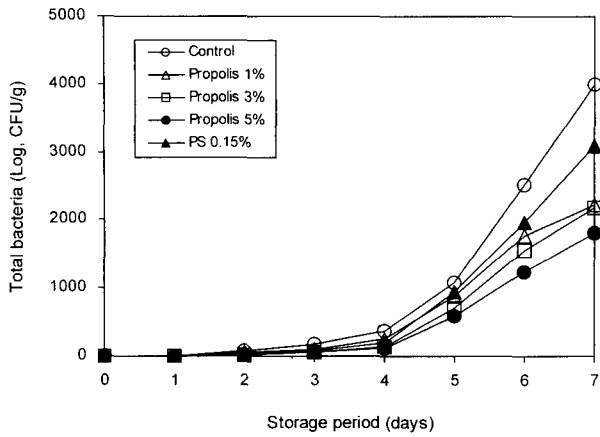


Fig. 2. Changes in total bacteria of sausages added EEP during the storage at 20°C for 7 days.

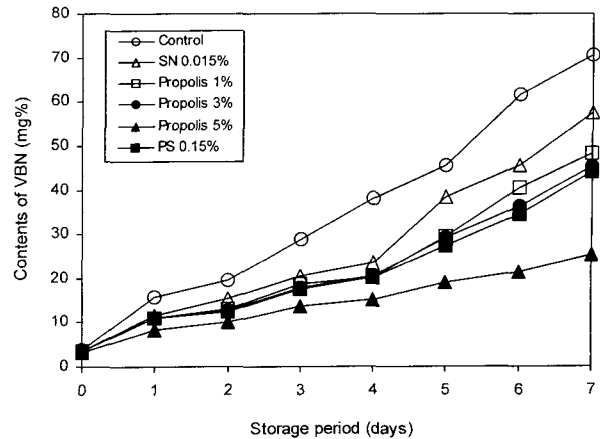


Fig. 4. Changes in VBN content of sausages added EEP during the storage at 20°C for 7 days.

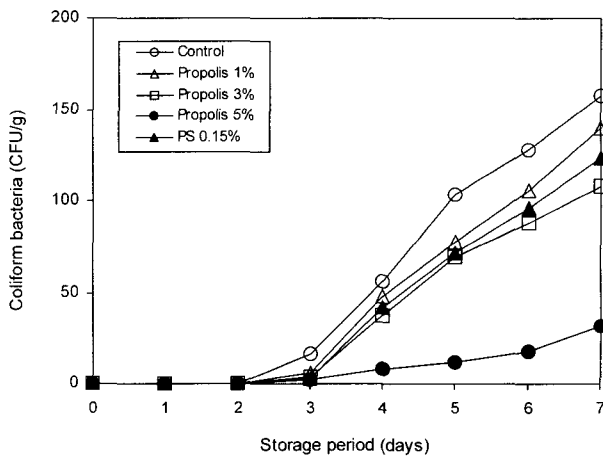


Fig. 3. Changes in coliform bacteria of sausages added EEP during the storage at 20°C for 7 days.

성 염기태 질소 함량의 변화를 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 소시지 제조 직후 control, EEP 1%, 3%, 5% 및 potassium sorbate 0.15% 처리구별 휘발성 염기태 질소 함량은 각각 3.55, 3.49, 3.47, 3.33, 3.48 mg%이었으나 저장 기간이 경과함에 따라서 저장 7일째에는 57.25, 48.21, 45.32, 25.18, 43.89 mg%로 증가하였다. 처리구간 휘발성 염기태 질소의 증가는 EEP 첨가구에서 비교적 적었으며 특히 5% 첨가구에서 3.33~25.18 mg%로 가장 적었다. 이와 같은 결과는 EEP가 nitrite이나 sorbate보다 항단백 분해효과가 우수한 때문인 것으로 볼 수 있다.

식품공전(1)에 명시된 휘발성 염기태 질소 함량의 최대 제한치는 30 mg%이며, 원료육 및 가공 포장육의 경우는 20 mg% 이하로 제한하고 있다. 高板은 휘발성 염기태 질소 함량으로 신선도를 판정할 때 5~10 mg%이면 신선한 상태, 30~40 mg%이면 초기 부패단계라고 하였으며, 18 mg%이면 외관 및 냄새로 볼 때 부패가 인정된다고 보고하였다(16).

한과 박(2)은 EEP를 0.4% 첨가한 소시지의 경우, 저장 1주에 29.47 mg%를 나타내고 1주가 경과되기 전에 산패취를 발생시키며, 저장기간이 오래일수록 휘발성 염기태 질소 함량 증가한다고 보고하였다. 본 실험에서도 모든 시험구에서 휘발성 염기태 질소 함량이 저장기간이 지남에 따라 증가하였지만 EEP 첨가 시료 값의 증가속도는 대조구에 비해 상당히 지연되는 결과를 보였다.

TBA가 변화

TBA는 육의 관능시험과 밀접한 상관관계가 있는 것으로 알려져 있는데 그 원리는 육 및 육제품 중의 지방이 산패되면 malonaldehyde가 생성되어 산패취를 발생하기 때문에 육 및 육제품의 신선도를 판정하는 기준으로 이용하고 있다(23-25).

Fig. 5는 시료를 저장온도 20°C에서 보존하면서 TBA의 변화를 측정된 것으로 TBA는 저장기간이 지남에 따라 계속 증가하였으나, EEP를 첨가한 소시지들은 대조

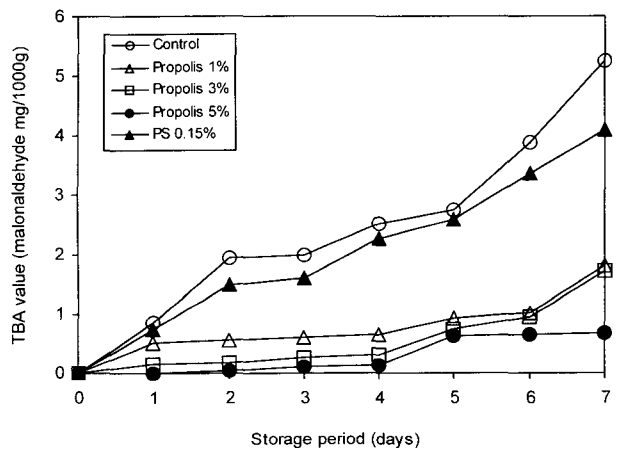


Fig. 5. Changes in TBA value of sausages added EEP during the storage at 20°C for 7 days.

Table 1. Changes in nitrite value of sausages with propolis during the storage at 20°C for 7 days (unit: µg/g)

Samples	Storage period (days)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
Control	18.17	26.60	24.36	22.71	17.93	16.71	15.51	14.65
Propolis 1%	18.35	24.93	17.36	14.23	13.61	9.96	8.94	7.43
Propolis 3%	16.60	23.53	16.65	10.77	9.74	8.53	8.49	6.27
Propolis 5%	16.52	21.52	17.83	8.63	6.61	5.81	5.73	4.29
PS 0.15%	18.99	25.36	17.03	15.79	15.23	14.43	13.16	12.25

군 소시지에 비하여 농도 의존적으로 TBA가 억제됨을 보여주었다. 또한, EEP를 첨가한 소시지는 저장기간 동안 모두 2를 넘지 않았고, 특히 EEP 5%첨가 소시지는 1을 넘지 않은 것으로 보아 상당한 항산화 효과가 있는 것으로 나타났다.

#### 아질산염 소거능

EEP첨가 소시지의 저장 중 아질산염의 변화는 Table 1에서 보는 바와 같이 잔존 아질산염은 저장기간이 경과함에 따라 감소하는 경향이었는데 저장 0일째 아질산염만을 첨가한 소시지에서는 18.17 ppm, 아질산염에 EEP를 각각 1%, 3% 및 5% 첨가한 소시지에서는 각각 18.35, 16.60 및 16.52 ppm이었고, 아질산염과 potassium sorbate 0.15%를 첨가한 소시지에서는 18.99 ppm에서 저장 7일째는 14.65, 7.43, 6.27, 4.29, 12.25 ppm으로 감소하였으며, 특히 EEP 첨가시 농도 의존적으로 감소하는 경향이였다.

#### 요 약

Propolis 에탄올 추출물(EEP)의 천연 보존제로서의 가능성을 확인하기 위하여 80% 에탄올로 추출하여 제조한 propolis추출물을 소시지에 농도별로 첨가한 후 20°C에서 7일 동안 저장하면서 그 효과에 대하여 조사하였다. EEP가 농도별로 첨가된 소시지의 pH는 저장 기간이 지남에 따라 대조군에 비하여 서서히 증가하는 경향이였으며, 생균수 및 대장균 군수는 저장시간이 지남에 따라 농도 의존적으로 낮게 나타나 항균활성이 있음을 나타내었다. 육제품의 선도 판단의 지표가 되는 TBA가 및 VBN 함량도 역시 EEP 첨가 농도에 비례적으로 감소하여 propolis가 식품의 천연 보존제로서의 가능성이 있음을 강하게 시사하였다. 또한 EEP의 아질산염 소거능은 저장기간이 지남에 따라 첨가 농도에 비례하여 감소하는 경향이었는데, 특히 EEP 5% 첨가 소시지가 가장 효과가 우수한 것으로 나타났다.

#### 참 고 문 헌

1. 한국식품공업협회. 1999. 식품공전. p 197-205, 742-748.

- Han SK, Park HK. 1995. A study on the preservation of meat products by natural propolis: Effect of EEP protein change of meat products. *Korean J Anim Sci* 38(6): 605-612.
- Moon JD, Park GB, Kim JS, Park TS, Lee JI, Shin TS, Song DJ. 1996. Effect of seed oils, water and carrageenan on textural property of low-fat sausage during cold storage. *Korean J Food Sci Ani Resour* 16(2): 127-133.
- Park HY, Oh HW, Park DS, Chang YD. 1995. Antimicrobial activities of honeybee propolis extracts in Korea. *Korean J Apiculture* 10(1): 53-56.
- Lim DK, Choi U, Shin DH, Jeong YS. 1994. Antioxidative effect of propolis extract on palm oil and lard. *Korean J Food Sci Technol* 26(5): 622-626.
- Park GB, Seong PN, Song DJ, Kim JS, Park TS, Lee JI, Kim JH. 1998. Effect of  $\alpha$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocopherol on fatty acids composition of hamburger patties during frozen storage. *Korean J Food Sci Ani Resour* 18(1): 1-8.
- Harborne JB. 1982. *Introduction to ecological biochemistry*. Academic Press, London.
- Swain T. 1977. Secondary compounds as protective agents. *Annual Review of Plant Physiology* 28: 479-501.
- Schneidewind EM, Kala H, Linzer B, Metzner J. 1975. Zur Kenntnis der Inhaltsstoffe von Propolis. *Pharmazie* 30: 803-809.
- Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa T. 1994. Effects of propolis on dental caries rats. *Honeybee Science* 15(1): 1-6.
- Takano Y, Mochida S. 1982. Propolis, Its chemical constituents and biological activities. *Honeybee Science* 3(4): 145-152.
- Cavallini L, Bindoli A, Siliprandi N. 1978. Comparative evaluation of antiperoxidative action of flavonoids. *Pharmacology Research Communication* 10: 133-136.
- Takahama U, Youngman RJ, Elstner EF. 1984. Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by photosensitized reaction. *Photobiochem and Photobiophysics* 7: 175-181.
- Han SK, Park HK. 1996. Effect of ethanol extracted propolis (EEP) on fat oxidation of meat Products. *Korean J Anim Sci* 38(1): 94-100.
- Seo KI, Oh IS, Oh DH, Choi SH, Shon MY, Moon JS. 2000. Quality characteristics and functional properties of ethanol extract of propolis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29(6): 969-972.
- Park YK, Michel H, Masaharu I, Contado JL. 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arq Biol Technol* 40(1): 97-106.
- 高板和久. 1975. 肉製品の新鮮有と測定. *食品工業* 18: 105-112.
- Witte VC, Krause GF, Olson FC. 1970. A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J Food Sci* 35: 582-588.
- Simmhuber RO, Yu TC. 1958. Characterization of the red

- pigment in the 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity. *Food Res* 23: 626-632.
20. Seo KI, Lee SW, Yang KH. 1999. Antimicrobial and anti-oxidative activities of *Croni fructus* extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6(1): 99-103.
  21. Song DJ, Jeong TC, Moon JD, Kim YG, Shin TS, Lee JI, Park TS, Park GB. 1997. Influence of ethanol extracted propolis on lipids oxidation with modified pH of ground pork. *Korean J Food Sci Ani Resour* 17(2): 131-139.
  22. Park WM, Choi WH, Yoo IJ, Jeon KH, Chung DH. 1998. Characteristics of fermented sausages with Korean native spices. *Korean J Food Sci Ani Resour* 18(1): 81-87.
  23. Swain T. 1977. Secondary compounds as protective agents. *Annual Review of Plant Physiology* 28: 479-501.
  24. Kim WJ, Park HK. 1998. Studies on methods of production for high quality propolis: Studies on collection equipment for high quality propolis. *Korean J Agriculture* 13(2): 93-100.
  25. Tarladgis BG, Betty MW, Margaret TY. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancidity foods. *Amer Oil Chem Soc* 37: 44-52.