

## 최소가공 처리에 의한 양상추의 갈변 및 미생물 증식억제 효과

차환수 · 김순임<sup>†</sup> · 김병삼 · 김상희 · 박선주 · 조한선<sup>1</sup> · 최해연<sup>2</sup>

한국식품개발연구원, <sup>1</sup>(주)싱싱원, <sup>2</sup>한국식품의약품안전청

### Effect of inhibition on Browning and Microbial Growth of Minimally Processed Lettuce

Hwan-Soo Cha, Soon-Im Kim<sup>†</sup>, Byeong-Sam Kim and Sang-Hee Kim,

Seon-Ju Park, Han-Sun Cho<sup>1</sup> and Hye-Yeon Choi<sup>2</sup>

Korean Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

<sup>1</sup>Sing Sing Won Co., LTD. Kwangju-city 464-894, Korea

<sup>2</sup>Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

#### Abstract

This study was carried out to improve quality of minimally processed lettuce with various treatments. The treatments for preventing enzymatic browning were using different chemical immersion solutions and controlling microbial growth were using chlorine, electrolyzed water, and organic acid. The solution with ascorbic acid 1% and citric acid 1% showed a positive effect on antibrowning of minimally processed lettuce. In the inhibition of microorganisms growth, 200 ppm NaClO solution was more effective than fermented pollen solution and Na-dichloroisocyanurate solution. In electrolyzed water system, no-diaphragm system showed inhibitory effect of microorganisms growth. Also, total microorganisms count of minimally processed lettuce with ascorbic acid and citric acid solution was lower by about 4 log cycle after 4 days storage at 10 °C.

Key words : minimally processed lettuce, enzymatic browning, microbial growth, electrolyzed water,

## 서 론

건강에 대한 관심이 증가하면서 소비자들의 신선식품에 대한 요구가 증가하고 있다. 미국이나 유럽등지에서는 신선도와 편의성을 동시에 추구하려는 소비자의 욕구를 충족시켜줄 수 있는 최소가공 채소류의 소비가 급격하게 증가하고 있다(1-3). 우리나라에서도 맛벌이 여성이 증가함에 따라 조리시간을 단축시키고 조리시간 대신 여가시간을 활용하려는 well-being 산업에 힘입어 빠르고, 편리함과 동시에 건강식품과 부합되는 최소가공 채소류의 소비가 증가하고 있다(4).

최소가공이란 신선한 상태의 제품특성을 크게 변화시키지 않으면서 고유 기능성을 증가시킬 수 있도록 가공하는 것으로 제품에 따라 그 공정이 다르다(5, 6). 농산물의 경우 일반적으로 세척, 절단, 혼합, 포장 단계가 이에 해당한다. 그러나 이러한 공정을 거치는 최소가공 채소류의 경우 소비자들

은 제품을 구입 후 바로 사용할 수 있는 장점이 있는 반면 절단 등 최소가공으로 인해 세포의 호흡속도가 빨라져 절단면의 산화적 갈변과 미생물오염이 일어날 수 있는 문제점을 가지고 있다(7).

본 연구에서는 crispness와 yellow-green색 때문에 샐러드로 많이 이용되고 있는 양상추를 최소가공하여 살펴보았다. 양상추의 경우 절단 후 효소적 갈변에 매우 민감하여 바람직하지 못한 색깔, 냄새를 가져와 기호성을 떨어뜨린다. 이러한 갈변을 억제시키는 방법으로 Monica 등은(8) citric acid, calcium chloride 그리고 garlic extract를 혼합한 침지수가 갈변을 억제한다고 보고하였다. Fayad 등은(9) 갈변을 조절할 수 있는 물질로 아황산염, citric acid와 malic acid 등의 산미료, 킬레이트제, 환원제 등의 많은 화학물질이 사용될 수 있다고 보고하였다. Son 등은(10) oxalic acid와 ascorbic acid 혼합처리가 사과 갈변을 방지한다고 하였다.

또한 최소가공 채소류는 육류와 어패류와는 달리 특별한 열처리를 하지 않고 주로 생식으로 섭취하기 때문에 미생물학적 안전성에 있어 식중독 발병의 원인으로 문제시되고 있

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : postdoc@hanmail.net, Phone : 82-31-780-9148, Fax : 82-31-780-9144

다. 식중독 원인균의 증식억제 및 제거방법으로 염소수, citric acid, acetic acid, lactic acid와 같은 화학적방법과 전기 분해수 등이 활용되고 있다(11, 12).

따라서 본 연구에서는 갈변억제제 및 미생물억제제를 사용하여 최소가공한 양상추의 갈변억제 및 미생물증식억제효과를 살펴보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료의 구입 및 처리

양상추는 실험 당일 (주) 싱싱원으로부터 신선한 상태의 원료를 제공받아 사용하였다. 양상추의 불가식부위인 겉잎을 돌려가며 4장을 제거한 뒤 남은 잎을 knife로 절단(가로 5 cm, 세로 5 cm) 하였다. 절단한 양상추를 처리수 1 L당 100 g 분량으로 1분간 침지 후 15초간 원심탈수하였다. 처리한 시료는 사각 PET 용기에 담은 후 10℃에 저장하면서 사용하였다.

### 갈변 및 미생물 성장 억제 방법

갈변억제방법은 문헌고찰과 예비실험을 통하여 선정하였다. 갈변억제제로는 ascorbic acid(이하 AA) 1%+citric acid(이하 CA) 1%, AA 0.3%+CA 0.3%+CaCl<sub>2</sub> 0.1%, EDTA 칼슘염(ethylenediamine-tetraacetic acid calcium disodium salt dihydrate) 0.5%, 그리고 NaCl 1% 등을 이용하였다. 또한 미생물 성장 억제방법으로 fermented pollen solution(0.1%), NaClO(200 ppm), Na-dichloroisocyanurate(0.05 %) 등의 염소수 처리제와 격막(pH 2.35, ORP 1,182 mV) 및 무격막(pH 9.05 ORP 522 mV) 전기 분해수를 사용하였다.

### 갈변억제제에 의한 색도 측정

갈변억제제 처리직후 및 저장기간 동안 일어나는 갈변의 정도는 색차계(CR-200, Minolta Co., Japan)를 사용하여 L, a 및 b 값을 측정하였으며 사용한 표준 색판은 백색판(Y=94.3, x=0.3129, y=0.3200)이었다.

### 갈변억제제에 의한 PPO 활성 측정

PPO 추출 및 활성 측정은 Monica 등(8)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 처리한 양상추 10 g을 무작위로 채취하여 50 g/L의 polyvinylpyrrolidone이 함유된 50 mM 인산완충용액(pH 7.0) 20 mL를 첨가하여 homogenizer로 균질화 하였다. 균질화 한 액을 2차례 거즈로 여과하고 10,000 rpm으로 30분간 원심분리하여 상등액을 조효소액으로 하였다.

PPP 활성은 상기의 조효소액 0.1 mL에 완충액으로 조제 한 20 mM L-DOPA 기질 용액 2.9 mL를 가한 다음 400 nm

에서 2분간 반응시켰다. PPO 활성은 1분과 2분 사이의 0.001의 흡광도 변화량을 1 unit로 표시하였다.

### 총균수 측정

미생물 총균수 측정은 시료에 9배수의 멸균생리식염수를 가한 후 1분간 stomacher로 균질화한다. 다음 10-fold 희석법으로 단계별로 희석하여 1 mL씩 pour plating한 후 35 ℃에서 48시간 배양한 후 형성된 집락을 계수하여 log colony forming unit로 표시하였다. 배지는 PCA (plate count agar, Difco Lab.)를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 색도변화

양상추를 EDTA 0.5%, AA 1%+CA 1%, AA 0.3%+CA 0.3%+CaCl<sub>2</sub> 0.1% 그리고 NaCl 1%의 처리수에 침지한 후 10 ℃에서 5일간 저장하면서 색도변화를 살펴보았다(Table 1).

Table 1. Changes of colour on minimally processed lettuce with antibrowning agents during storage at 10 ℃

Colour value	Treatment	Storage time(day)		
		0	3	5
L	Control	54.07±0.99 <sup>de</sup>	46.63±0.52 <sup>c</sup>	42.91±0.74 <sup>c</sup>
	EDTA-Ca <sup>1)</sup>	58.00±0.76 <sup>c</sup>	48.76±2.75 <sup>b</sup>	44.39±0.98 <sup>b</sup>
	AA+CA	67.01±1.22 <sup>a</sup>	53.16±1.07 <sup>a</sup>	50.88±1.50 <sup>a</sup>
	AA+CA+CaCl <sub>2</sub>	63.50±0.70 <sup>b</sup>	47.87±1.48 <sup>bc</sup>	44.76±1.33 <sup>b</sup>
	NaCl	59.74±2.69 <sup>c</sup>	46.78±1.09 <sup>c</sup>	43.74±0.84 <sup>c</sup>
a	Control	-4.78±0.43 <sup>d</sup>	-0.99±0.40 <sup>b</sup>	0.21±0.06 <sup>b</sup>
	EDTA-Ca	-7.40±0.71 <sup>c</sup>	-0.75±0.38 <sup>b</sup>	0.77±0.06 <sup>b</sup>
	AA+CA	-9.82±0.42 <sup>a</sup>	-4.57±0.75 <sup>a</sup>	-0.63±0.36 <sup>a</sup>
	AA+CA+CaCl <sub>2</sub>	-8.22±0.22 <sup>b</sup>	-0.29±0.11 <sup>b</sup>	2.33±0.66 <sup>d</sup>
	NaCl	-3.76±1.00 <sup>e</sup>	0.98±0.87 <sup>c</sup>	1.54±0.59 <sup>e</sup>
b	Control	16.03±0.73 <sup>d</sup>	19.61±1.71 <sup>c</sup>	19.87±0.88 <sup>c</sup>
	EDTA-Ca	22.03±1.51 <sup>a</sup>	24.05±0.36 <sup>a</sup>	25.77±1.27 <sup>a</sup>
	AA+CA	21.00±1.50 <sup>b</sup>	23.37±1.12 <sup>a</sup>	24.81±0.85 <sup>a</sup>
	AA+CA+CaCl <sub>2</sub>	18.74±0.54 <sup>c</sup>	21.49±1.39 <sup>b</sup>	21.52±0.91 <sup>b</sup>
	NaCl	19.81±2.11 <sup>c</sup>	23.39±0.48 <sup>a</sup>	20.60±0.65 <sup>bc</sup>

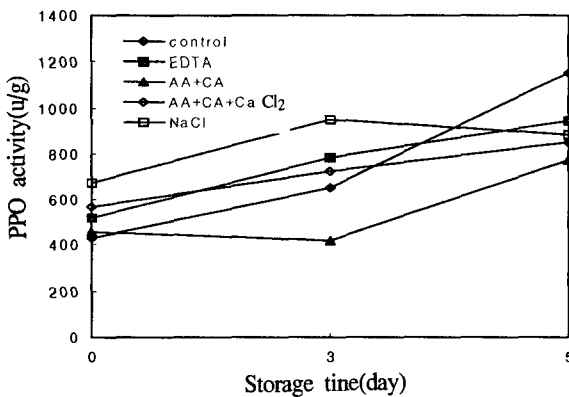
\* Means with the same letter are not significantly different at p<0.05

<sup>1)</sup> EDTA-Ca ; ethylenediaminetetraacetic acid calcium disodium salt dihydrate 0.5%, AA+CA ; ascorbic acid(AA) 1%+citric acid(CA) 1%, AA 0.3%+CA 0.3%+CaCl<sub>2</sub> 0.1%, NaCl 1%

대조구에 비해 모든 처리구는 초기에 L 값이 높게 나타났다. 그 중 AA+CA 처리구가 5% 수준에서 유의적으로 가장 높게 나타났다. 초기에 높은 L값을 보인 AA+CA 처리구는 저장 5일째까지 저장기간이 경과함에 따라 처리구 중 유의적으로 가장 높은 값을 유지하였다. 이것은 초기에 citric acid와 같은 유기산이 효소활성을 억제하여 갈변을 억제하는 것으로 생각된다. 반면 알칼리성인 NaCl 처리구는 대조구와 유사한 경향을 보였다. 이는 pH 2.0~2.8의 acetic acid로 침지한 양상추 줄기가 갈변이 억제되었다는 Castaner 등의(13) 결과와 일치하였다. 이는 양상추의 조직을 통한 산의 확산에 의하여 PPO의 활성을 저해하는 것으로 생각된다. L 값은 AA+CA>AA+CA+CaCl<sub>2</sub>>EDTA>NaCl>대조구 순으로 나타났다. a 값 또한 대조구에 비해 AA+CA 처리군이 초기부터 유의적으로 가장 낮았다. Castaner 등은(13) 최소 처리된 양상추의 효소적 갈변은 a 값으로 더 잘 나타낸다고 하였다. b 값은 EDTA와 AA+CA 처리군이 유의적으로 대조구에 비해 높게 나타났다. 따라서 양상추의 갈변 억제는 AA+CA 처리군이 효과적임을 알 수 있었다.

**PPO 활성**

갈변억제제에 의한 양상추의 PPO 활성은 Fig. 1에서 보는 것처럼 저장기간이 경과함에 따라 증가하였다. 대조구의 경우 430 unit에서 5일째에는 1150 unit로 PPO 활성이 3배가량 증가하였다. AA+CA 처리군은 초기 460 unit, 3일째 420 unit로 나타나 3일까지는 PPO 활성이 증가하지 않았으나 저장 5일 후에는 760 unit로 다소 증가하였으나 대조구에 비하여 갈변을 일으키는 PPO 활성을 억제하는 결과를 보였다. 그 다음은 AA+CA+CaCl<sub>2</sub> 처리군이 PPO 활성을 억제하였다.



**Fig. 1.** Polyphenol oxidase activity of minimally processed lettuce with antibrowning agents during storage at 10°C.

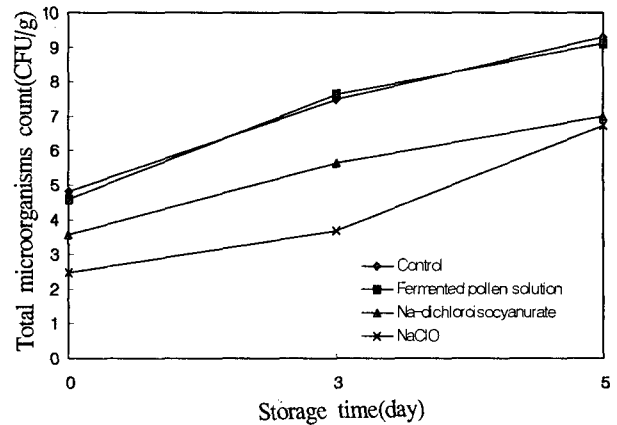
EDTA-Ca ; ethylenediaminetetraacetic acid calcium disodium salt dihydrate 0.5%, AA+CA ; ascorbic acid(AA) 1%+citric acid(CA) 1%, AA 0.3%+CA 0.3%+CaCl<sub>2</sub> 0.1%, NaCl 1%.

Monica 등(8)은 양상추의 경우 PPO 활성은 citric acid와

CaCl<sub>2</sub> 혼합처리에 의해 억제된다고 하였는데 본 연구에서도 유사한 결과를 보였다. 이는 CaCl<sub>2</sub>가 세포벽의 pectic acid와 의 가교결합으로 인해 세포벽을 단단하게 유지하여 조직연화를 방지하여 산화적 갈변을 억제할 뿐 아니라 citric acid가 PPO 활성을 저해하여 갈변을 억제하는 것으로 생각된다. 박 등도(14) 깻마늘의 경우 citric acid 처리가, 콩나물의 경우 ascorbic acid와 citric acid 처리가 각각 PPO 활성을 억제하여 갈변이 방지되었다고 보고하였다. Martines 등은(15) citric acid에 의하여 pH가 낮아지고 PPO 활성 부위에 있는 구리가 킬레이트 됨으로써 PPO 활성이 저해되기 때문이라고 하였다. PPO 활성은 또한 색도에서 볼 수 있는 것처럼 갈변이 진행됨에 따라 a 값이 증가하여 PPO 활성과 색차에 의한 a 값은 서로 상관성을 보였다.

**미생물 증식 억제효과**

수확 후 유통단계에서 일반미생물과 병원성 미생물 및 부패미생물에 의한 오염이 일어나며 일반적으로 채소류에서 검출되는 총균수는 10<sup>4</sup>~10<sup>7</sup> CFU/g 수준으로 알려져 있다. 본 연구에서는 이들 미생물의 생육을 억제하기 위해 염소수와 전기분해수에 양상추를 침지 한 후 미생물억제효과를 검토하였다. 그 결과 염소수 처리에 의한 총균수는 Fig. 2와 같이 염소수와 차아염소산나트륨으로 처리하였을 때 증식을 억제하는 결과를 보였다. 처리 직 후 대조구의 경우 4 log cycle에 비해 차아염소산나트륨은 2 log cycle로 나타나 초기에 미생물의 증식을 2 log cycle 억제시켰다. 저장 3일째까지 차아염소산나트륨 처리군은 3 log cycle로 미생물학적으로 안정한 수준을 유지해 강력하게 미생물의 증식을 억제하는 것으로 나타났다. 하지만 저장 5일째에는 6 log cycle로 나타나 부패가 시작되는 것으로 나타났다.



**Fig. 2.** Survival of microorganisms of minimally processed lettuce with chlorine solution during storage at 10°C.

Fermented pollen solution 0.1 %, Na-dichloroisocyanurate 0.05 %, NaClO 200 ppm

이로써 차염소산나트륨 처리가 초기 미생물의 증식을 억제하여 저장 3일까지는 미생물 증식억제에 효과가 있는 것으로 생각된다. 김 등은(16) 차염소산나트륨으로 처리한 셀러리의 경우 대조구에 비해 총균수를 1/20 수준으로 감소시켰다고 하였다. 이는 염소 처리시 조직이 강한 셀러리의 경우보다 양상추는 조직이 약해 처리제의 침투력이 크기 때문에 미생물저해 효과를 보인 것으로 생각된다.

전해산화수에 의한 미생물 증식 억제효과를 관찰한 결과 Fig. 3과 같이 무격막 처리에 의해 2 log cycle 감소되었고, 격막 처리에 의해서는 1 log cycle 감소되었다. 일반적으로 미생물 증식은 pH가 낮을수록 약하지만 전해산화수의 경우 격막 처리수에 침지한 결과 초기의 미생물증식은 억제하였지만 저장하는 동안 양상추의 조직이 연화되어 조직손상이 먼저 일어나 미생물의 증식이 더 많이 일어난 것으로 생각된다

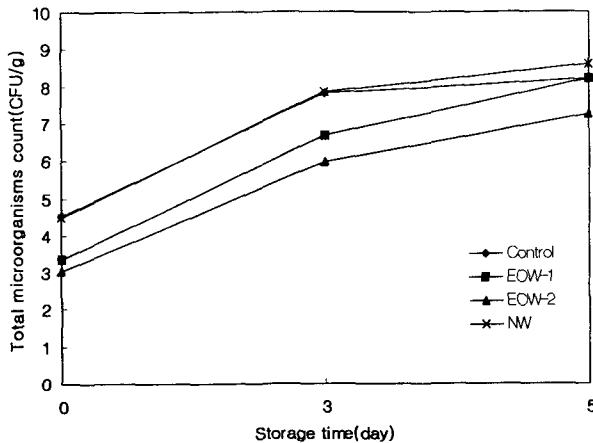


Fig. 3. Survival of microorganisms on minimally processed lettuce with electrolyzed water during storage at 10°C.

EOW-1 : electrolyzed oxidizing water produced by diaphragm type (pH 2.35 ORP 1,182 mV), EOW-2 : electrolyzed oxidizing water produced by no-diaphragm type (pH 9.05 ORP 522 mV), NW : neutral water, ORP : oxidation-reduction potential

또한 갈변방지에 가장 효과적인 ascorbic acid와 citric acid (AA+CA) 혼합 처리에 의한 미생물 생육 저해효과를 살펴보았다(Fig. 4). 채소류의 경우 약산과 높은 습도는 미생물이 증식하기에 좋은 조건이 될 수 있다. 따라서 갈변 방지에 효과를 보인 유기산 처리가 미생물 증식에 미치는 영향을 살펴보았다. 대조구는 초기에 3 log cycle 수준에서 2일 후에 6 log cycle을 보인 반면 ascorbic acid와 citric acid (pH 2.08) 처리제에 침지한 양상추의 경우 저장 2일째까지 미생물 증식이 완전히 억제되었다. 저장 4일째에 대조구는 7 log cycle 수준이었지만 처리구는 3 log cycle 수준이었다. 최소가공한 양상추는 갈변이 방지될 뿐만 아니라 미생물의 성장도 4 log cycle 감소시켜 미생물 억제에도 효과를 보였다.

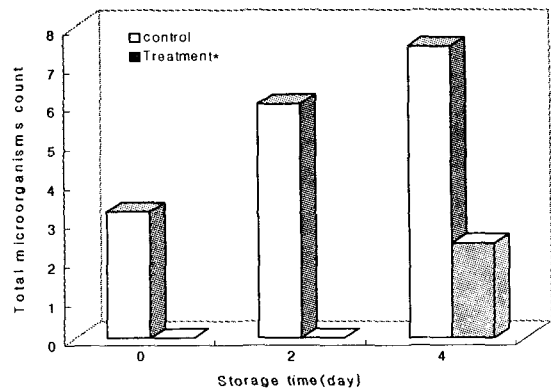


Fig. 4. Survival of microorganisms on minimally processed lettuce with organic acid during storage at 10°C.

\* Treatment ; ascorbic acid 1%+citric acid 1%(pH 2.08)

이상의 결과로 양상추의 품질에 있어 가장 문제가 되는 갈변억제와 미생물 증식을 억제하기 위한 최소가공 처리는 ascorbic acid와 citric acid로 처리하는 것이 가장 바람직하다고 생각된다.

### 요 약

갈변과 미생물 증식으로 인해 저하되는 양상추의 품질을 향상시키기 위해 양상추를 최소처리하여 이들 품질저하요인을 제어하고자 하였다. 갈변억제방법으로는 다양한 침지수에 따른 화학적인 방법을 사용하였고, 미생물 증식억제방법으로는 염소처리법과 전기분해수 그리고 유기산 처리에 의한 방법을 사용하였다. 그 결과 양상추의 갈변은 색도에 있어서 ascorbic acid 1%와 citric acid 1% 혼합침지수로 처리하였을 때 초기 L 값이 5% 수준에서 유의적으로 가장 높았고, a 값은 5% 수준에서 유의적으로 가장 낮게 나타나 갈변억제효과를 보였다. 갈변의 지표라 할 수 있는 PPO 활성에 있어서도 ascorbic acid 1%와 citric acid 1% 혼합침지수로 처리하였을 때 양상추의 PPO 활성이 대조구에 비해 1.5배 감소되었다. 미생물증식은 염소처리의 경우 차염소산 나트륨을 200 ppm 농도로 처리한 침지수가 3 log cycle 감소시켰고, 전기분해수의 경우 무격막 처리수가 미생물 증식을 2 log cycle 억제하여 미생물 증식억제에 효과적임을 알 수 있었다. 또한 갈변억제에 효과적인 ascorbic acid와 citric acid 처리수로 침지하였을 때 저장 2일째까지는 미생물 증식이 없었으나 저장 4일째 대조구는 7 log cycle 인데 비해 처리구는 3 log cycle 로 나타나 강력하게 미생물 증식을 억제하는 것임을 알 수 있었다. 이상의 연구결과로 볼 때 양상추의 갈변과 미생물 증식에 있어서 ascorbic acid와 citric acid로 최소 가공하는 것이 가장 바람직하다고 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 2003년도 농림부 농림기술개발사업의 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Peter, R., Wim, V., Frank, D. and Johan, D. (2004) Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits. *Food Quality and Preference*, 15, 259-270
- Gardial, S.F., Clemons, D.S., Woodruff, R.B., Schumann, D.W. and Burns, M.J. (1994) Comparing consumer's recall of prepurchase and postpurchase product evaluation experiences. *J. Consumer Research*, 20, 548-560
- Marshall, J.J., Duxbury, L. and Heslop, L.A. (1995) Coping with household stress in the 1990s : who uses convenience foods and do they help? *Advances in Consumer Research*, 22, 729-734
- Ahvenainen, R. (1996) New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*. 7, 179-186
- Salunkhe, D.K., Bolin, H.R. and Reddy, N.R. (1991) Minimal processing. Storage, processing, and nutritional quality of fruit and vegetables ; Vol. 2 : processed fruit and vegetables. Boca Raton CRC Press, New York, p.128-153
- Shewfelt, R.L. (1990) Quality of fruit and vegetables. *Food Technology*. 44, 99-106
- Wiley, R.C. (1994) Minimally processed refrigerated fruits and vegetables, Chapman & Hall, Inc., New York, 1-14
- Mónica, I., Liliana, A., Erica, S., Edgar, U. and Valerio, B. (2003) Effect of immersion solutions on shelf-life of minimally processed lettuce. *Lebensm.-Wiss. u-Technol.*, 36, 591-599
- Fayad, N., Marchal, L., Billaud, C. and Nicolas, J. (1997) Comparison of  $\beta$ -cyclodextrin effect on polyphenol oxidation catalyzed by purified polyphenol oxidase from different sources. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2442-2446
- Son, S.M., Moon, K.D. and Lee, C.Y. (2001) Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry*. 73, 23-30
- Ita, P.S. and Hutkins, S.W. (1991) Intracellular pH survival of *Listeria monocytogenes* Scott and effect in tryptic soy broth containing acetic acid, lactic, citric and hydrochloric acids. *J. Food Prot.*, 54, 15-19
- Noriaki, T., Noriko, T., Tatsuya, F. and Toshiya, D. (2000) The use of electrolyzed solutions for the cleaning and disinfecting of dialyzers. *Artificial Organs*, 24, 921-928
- Castaner, M., Gil, M. I., Artes, F. and Tomas-Barberan, F. A. (1996) Inhibition of browning of harvested head lettuce. *J. Food Science*, 61, 314-316
- Park, W.P., Cho, S.H. and Lee, D.S. (1998) Screening of Antibrowning Agents for Minimally Processed Vegetables. *Korean. J. Food Sci. Tech.*, 30, 278-282
- Martinez, M.V. and Whitaker, J.R. (1995) The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 195-200
- Kim, M.H., Jeong, J.W. and Cho, Y.J. (2004) Cleaning and storage effect of electrolyzed water manufactured by various electrolytic diaphragm. *Korean J. Food Preservation*, 11, 160-169

(접수 2004년 8월 16일, 채택 2004년 9월 3일)