pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 5, pp. 363~370 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.5.363

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

Carvacrol과 thymol을 병행처리한 키토산 코팅이 냉장저장 시 흰다리 새우의 미생물 및 품질 특성에 미치는 효과

고봉수 · 박미정[1] · 곽승해[1] · 오세욱[1]*
남양유업㈜ 중앙연구소, [1]국민대학교 자연과학대학 식품영양학과

The Effect of Chitosan Coating Combined with Carvacrol and Thymol on Microbial and Quality Characteristics of *Litopenaeus vannamei* during Cold Storage

Bong Soo Ko, Mi-Jung Park[1], Seung-Hae Gwak[1], and Se-Wook Oh[1]*
Research and Development Center, Namyang Dairy Products Corporation, Sejong, Korea
[1]Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul, Korea
(Received September 20, 2017/Revised September 24, 2017/Accepted September 27, 2017)

ABSTRACT - In this study, we stored frozen shrimp (*Litopenaeus vannamei*) at 4°C during 12 days and investigated the effect of chitosan coating with natural preservatives (0.05% carvacrol, 0.05% thymol) on the growth of microorganism (mesophilic bacteria, psychrophilic bacteria, *Pseudomonas* spp., H_2S producing bacteria) and physiological characteristics (total volatile basic nitrogen and pH) and sensory evaluation (appearance, odor and general acceptance). Chitosan coating with natural antimicrobial compounds (0.05% carvacrol and 0.05% thymol) had inhibited the growth of all the target microorganism and showed the significant antimicrobial activity ($p < 0.05$) to mesophilic bacteria, psychrophilic bacteria and H_2S producing bacteria until 12 day (the last day of this study). These treated groups had showed the significant difference ($p < 0.05$) in total volatile basic nitrogen and all the sensory characteristics but not in pH. Therefore, chitosan coating combined with natural antimicrobial compounds (0.05% carvacrol and 0.05% thymol) showed the effective antimicrobial activity on major spoilage microorganism on shrimp and could be used to elongate the shelf life of refrigerated shrimp.

Key words : Antimicrobial Activity, Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Carvacrol, Thymol, Chitosan Coating

새우는 기호성이 뛰어나고 키토산이 풍부하게 함유되어 영양적으로 우수하며, 콜레스테롤 저하, 항암 작용, 면역 증가, 충치 예방 및 골다공증 예방 등의 생리활성 효과를 가진다[1]. 또, 단백질과 칼슘, 비타민이 풍부하여 요리 재료로 많이 사용되거나 젓갈의 원료로 사용되는 고급 수산 자원이다[2]. 하지만, 새우에는 미생물이 질소원으로 사용할 수 있는 non-protein nitrogenous compounds가 다량 존재하며 수분 활성도도 높아 미생물에 의한 부패가 빠르게 진행된다[3]. 또한 가공과정 중 발생하는 미생물 오염은 부패를 촉진하여 새우의 유통기간을 단축시킨다[4].

미생물의 성장은 대부분 수산물이나 수산물 제품들의 주요 부패 원인이다[5]. 미생물의 성장으로 불쾌하고 바람직하지 않은 맛과 향의 amine, sulfides, alcohol 및 aldehyde 등이 증가되어 사람이 섭취하기에 부적합한 상태가 된다[4]. 미생물의 성장은 온도가 낮아짐에 따라 대부분 억제되는 경향이 있는 반면에, *Pseudomonas* spp.와 *Shewanella* spp.과 같은 그람 음성의 저온균은 냉장 상태에서도 성장하여 부패를 발생시킨다[6].

Potassium sorbate나 sodium benzoate[7], mixed phosphates[8] 등의 다양한 합성 보존제가 수산물에서 미생물의 성장을 억제하고 저장 중 품질을 유지하기 위하여 사용된다. 유통기한 연장에 효율적인 합성 보존제는 잠재적인 독성 및 발암성 등의 안전에 대한 문제로 소비자에게 기피되고 있으며 이에 대한 대안으로 천연 보존제에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다[9]. 현재 많은 관심을 받고 있는 천연 향균제중 thymol과 carvacrol은 각각 백리향과 오레가

*Correspondence to: Se-Wook Oh, Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul 02707, Korea
Tel: 82-2-910-5778, Fax: 82-2-910-5249
E-mail: swoh@kookmin.ac.kr

노의 주성분이며, 정유에서 추출한 페놀 화합물로서 많은 연구가 보고되었다[10]. Dorman과 Deans은 백리향과 오레가노의 정유성분이 *E. coli* 대해 항균효과가 있다고 보고하였으며[11], Singh 이외에도 몇몇 학자들은 thymol과 carvacrol이 *Listeria monocytogenes*의 성장 억제에 효과가 있다고 보고하였다[12]. Thymol과 carvacrol은 세포질막을 파괴하고 세포막의 투과성을 증가시키며, membrane potential을 탈분극시켜 미생물을 사멸시키는 방식으로 항균력을 나타낸다고 하였다[13].

분무와 침지 같은 방법의 항균제의 직접적인 적용은 활성 물질이 중화되거나 증발할 수 있으며 또한 부피가 큰 식품에서는 골고루 퍼지지 않는 단점이 있다[3]. 최근에는 항균 활성을 가지는 물질을 이용하여 식품을 코팅하는 많은 연구가 진행되고 있다[4]. 식용 코팅 기술은 항균제가 표면에 접촉하는 시간을 늘려 항균효과를 높이는 장점이 있다[3]. 식용 코팅제로 많이 사용되는 chitosan[β-(1,4)-2-amino-2-deoxy-d-glucopyranose]은 새우나 게의 껍질에 존재하는 키틴을 가수분해하여 얻어진 탄수화물로서, 생분해성, 무독성, 생체 적합성뿐만 아니라 항균력 및 항산화력을 가진다[8]. 몇몇 연구에서 chitosan 식용 코팅은 과일에서 저장능력을 향상시키며[14], 바나나[15], 사과나 배[16]에서 갈변 현상을 막는다고 보고되었다. 또한 chitosan 식용 코팅은 대구나 청어와 같은 수산물에서 지질 산화 및 수분 손실을 감소시킨다는 보고도 있다[17].

본 연구에서는 천연항균제인 thymol과 carvacrol을 chitosan coating에 첨가하여 항균력을 증진하여 새우의 유통기간을 연장하고자 하였다. 처리된 새우를 4°C에서 12일 동안 저장하며 미생물(중온균, 저온균, *Pseudomonas* spp., H_2S producing bacteria)의 성장 패턴을 분석하였으며 또한 이화학적, 관능적 품질 변화를 분석하여 유통기간 연장 가능성을 타진하고자 하였다.

Materials and Methods

실험재료

흰다리 새우(*Litopenaeus vannamei*)는 서울에 위치한 노량진 수산시장에서 냉동 상태로 구입하여 사용하였다. 새우는 구입 후 얼음과 함께 스티로폼 박스에 넣어 실험실로 이동하였고 새우의 무게와 길이는 각각 26.23 ± 2.17 g과 16.78 ± 0.64 cm이었다. 실온에서 약 2시간 해동하였고 30초 동안 흐르는 물에 씻고 30분 동안 실온에서 말린 후 실험에 사용하였다. 키토산(medium molecular weight, degree of deacetylation 75%-85%), carvacrol (98%), thymol (99.5%)과 아세트산은 Sigma Aldrich co. (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다.

키토산 코팅액 제조와 carvacrol 및 thymol의 병행처리

키토산 15 g을 아세트산 용액(1.5% w/w) 1000 mL에 넣고 60°C에서 3시간 동안 교반한 후 25 mL의 glycerol을 첨가하여 키토산 코팅액을 제조하였다. Carvacrol과 thymol은 에탄올(95% v/v)에 녹여서 5%의 carvacrol 용액과 thymol 용액을 만든 후 제조한 키토산 코팅액과 혼합하여, carvacrol과 thymol이 각각 첨가된 키토산 코팅액(0.05% w/w)을 만들었다. 새우는 준비된 코팅액에 1분 동안 담가, 코팅을 하지 않은 대조구(Control), 키토산 코팅 처리구(Chi), 키토산 코팅과 carvacrol 병행 처리구(Chi-Car), 키토산 코팅과 thymol 병행 처리구(Chi-Thy)를 준비하였다. 코팅되지 않은 새우와 코팅된 새우는 모두 클린벤치 안에서 30분 동안 말린 후 멸균백에 넣어 4°C에 12일간 보관하며 실험에 사용하였다.

미생물 분석

머리와 꼬리를 제거한 새우 10 g에 식염수(0.85% v/v) 90 mL를 첨가한 후 stomacher 400 circulator (Seward, MO, USA)로 2분간 균질화 하여 시험용액으로 사용하였다. 시험용액으로 10배 단계 희석액을 만들고 한천평판배지에 도말하였다. 중온균과 저온균은 plate count agar (PCA, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)에 도말하여 각각 37°C에서 24시간, 7°C에서 7일간 배양시킨 후 형성된 콜로니를 계수하였다. *Pseudomonas* spp.는 cetrimide fusidine cephaloridine agar (CFC, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)에 도말하였고, H_2S 생성균은 iron agar (IA, Conda, SA, Madrid, Spain)에 도말하였다. *Pseudomonas* spp.와 H_2S 생성균은 20°C에서 4일간 배양한 후 형성된 콜로니를 계수하였다. 계수한 콜로니 수는 log CFU/g으로 나타내었다. 미생물 분석은 저장 기간 중 0, 1, 3, 6, 9 와 12일째에 실시하였다.

이화학적 분석

총 휘발성 염기질소 화합물(TVB-N)은 Conway 미량 확산법을 사용하여 측정하였다. 머리와 꼬리를 제거한 10 g의 새우에 6% TCA 용액 50 mL를 첨가하고 2분간 균질화 시켰다. 균질화된 시험 용액은 2 mL tube에 1.5 mL씩 소분 후 4°C에서 10분간 9000 rpm으로 원심분리한 후 상층액 1 mL를 취하였다. Conway의 내실에는 1 mL의 0.01 N 황산 용액을 넣고, 외실 한 쪽에는 포화된 K_2CO_3 용액 1 mL를 넣었으며, 외실의 다른 한 쪽에는 전처리된 시험용액 1 mL를 넣었다. 외실의 용액을 섞은 후 37°C에서 30분간 반응시키고, 내실에 brunswik 지시약을 넣은 후 0.01 N 수산화나트륨 용액을 사용하여 적정 하였다. 적정값은 샘플 100 g당 존재하는 TVB-N의 mg으로 나타내었다. pH는 머리와 꼬리를 제거한 5 g의 새우에 10 mL의 증류수를 넣어 1분간 균질화한 후 pH meter를 사용하여 측정하였다.

관능적 특성

새우의 품질 변화에 대한 관능적인 특성은 평점법(scoring test)으로 평가하였다. 관능 평가에 대한 교육을 받은 5명의 검사 패널을 선정하여 충분한 지식과 평가기준을 숙지시킨 후 평가하도록 하였다. 5명의 패널은 머리와 꼬리가 제거되지 않은 새우의 외관, 냄새 및 전반적 수용도에 대한 점수를 측정하였다. 9점 척도(9점 매우 좋다, 1점 매우 나쁘다)를 사용하였으며 허용 한계에 대한 점수는 4점으로 하였다.

통계처리

결과분석을 위해 SPSS (ver. 23.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA)를 사용하여 분산분석을 수행하였다. Duncan의 다중 범위 테스트를 적용하여 처리구 간의 평균 차이를 비교하였고, $p < 0.05$일 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다. 모든 실험구에 대해 분석은 3회 반복으로 실시하였다.

Results and Discussion

천연항균제(carvacrol, thymol)를 병행 처리한 키토산 코팅의 항균효과

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 중온균수의 변화를 Table 1에 나타내었다. 중온균은 모든 처리구에서 초기 농도가 1.33 log CFU/g이었고 냉장 저장 1일째 1.0 log CFU/g까지 감소되었으나, 6일째부터 계속 증가하기 시작하였다. 저장기간 중 가장 마지막 날인 12일째에, Control, Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy의 중온균수는 각각 5.25, 3.59, 3.29, 1.97 log CFU/g로 모든 처리구가 대조구에 비해 유의적으로($p < 0.05$) 낮은 중온균 수를 나타내어 항균효과가 있음을 알 수 있었다. 그러나 12일째에도 모든 실험구의 총균수는 수용가능한 수준[18]인 7 log CFU/g을 초과하지는 않았다. 6일째부터 처리구 간에 유의적 차이가 발생하였으며, Chi-Thy, Chi-Car, Chi의 순서대로 강한 항균효과를 보였다.

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 저온균수의 변화를 Table 2에 나타내었다. 저온균은 모든 처리구에서 초기 농도가 2.38 log CFU/g이었고 냉장 저장 1일째부터 처리구 간 유의적 차이($p < 0.05$)가 나타났다. 저장기간 중 가장 마지막 날인 12일째에, Control, Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy의 저온 균수는 각각 8.28, 7.47, 7.03, 6.76 log CFU/g로 모든 처리구가 대조구에 비해 유의적 항균효과($p < 0.05$)를 보였으며 특히 Chi-Thy는 Chi에 비해 유의적 차이($p <$

Table 1. Inhibitory effect of chitosan coating and antimicrobial agent on mesophilic bacteria in shrimp stored at 4°C for 12 days

Treatment	Total viable count (log CFU/g) [1)]					
	0 day	1 day	3 day	6 day	9 day	12 day
Control	1.33 ± 0.58^{A}	1.00 ± 0.00^{A}	1.00 ± 0.00^{A}	4.07 ± 0.21^{A}	5.17 ± 0.43^{A}	5.25 ± 1.03^{A}
Chi[2)]	1.33 ± 0.58^{A}	1.00 ± 0.00^{A}	1.00 ± 0.00^{A}	2.65 ± 0.49^{AB}	3.47 ± 1.13^{AB}	3.59 ± 0.01^{B}
Chi-Car[3)]	1.33 ± 0.58^{A}	1.00 ± 0.00^{A}	1.00 ± 0.00^{A}	2.00 ± 0.00^{B}	1.90 ± 1.55^{B}	3.29 ± 0.55^{B}
Chi-Thy[4)]	1.33 ± 0.58^{A}	1.00 ± 0.00^{A}	1.00 ± 0.00^{A}	1.65 ± 0.92^{B}	1.49 ± 0.85^{B}	1.97 ± 0.95^{B}

[A-B]Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among storage times for each treatment.
[1)]Means ± standard deviation obtained in three experiments (n = 3)
[2)]Chitosan coating
[3)]Chitosan coating + Carvacrol
[4)]Chitosan coating + Thymol

Table 2. Inhibitory effect of chitosan coating and antimicrobial agent on psychrophilic bacteria in shrimp stored at 4°C for 12 days

Treatment	Total viable count (log CFU/g) [1)]					
	0 day	1 day	3 day	6 day	9 day	12 day
Control	2.38 ± 0.43^{A}	3.07 ± 0.52^{A}	3.73 ± 0.26^{A}	6.68 ± 0.14^{A}	7.87 ± 0.12^{A}	8.28 ± 0.36^{A}
Chi[2)]	2.38 ± 0.43^{A}	2.15 ± 0.21^{B}	2.20 ± 0.17^{B}	4.67 ± 0.18^{B}	5.85 ± 0.71^{B}	7.47 ± 0.38^{B}
Chi-Car[3)]	2.38 ± 0.43^{A}	2.45 ± 0.21^{AB}	2.10 ± 0.17^{B}	4.40 ± 0.49^{B}	5.71 ± 0.63^{B}	7.03 ± 0.12^{BC}
Chi-Thy[4)]	2.38 ± 0.43^{A}	2.72 ± 0.03^{AB}	1.92 ± 1.30^{B}	4.07 ± 1.40^{B}	5.66 ± 0.62^{B}	6.76 ± 0.30^{C}

[A-C]Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among storage times for each treatment.
[1)]Means ± standard deviation obtained in three experiments (n = 3)
[2)]Chitosan coating
[3)]Chitosan coating + Carvacrol
[4)]Chitosan coating + Thymol

Table 3. Inhibitory effect of chitosan coating and antimicrobial agent on *Pseudomonas* spp. in shrimp stored at 4°C for 12 days

Treatment	Total viable count (log CFU/g) [1)]					
	0 day	1 day	3 day	6 day	9 day	12 day
Control	2.66 ± 0.33^{A}	3.09 ± 0.19^{A}	4.26 ± 0.45^{A}	6.74 ± 0.35^{A}	7.63 ± 0.26^{A}	8.30 ± 0.29^{A}
Chi[2)]	2.66 ± 0.33^{A}	1.74 ± 1.04^{A}	2.23 ± 0.40^{B}	5.11 ± 0.70^{B}	6.91 ± 0.63^{AB}	8.14 ± 0.01^{A}
Chi-Car[3)]	2.66 ± 0.33^{A}	1.65 ± 0.92^{A}	1.85 ± 1.20^{B}	5.32 ± 0.35^{B}	6.68 ± 0.30^{B}	8.16 ± 0.34^{A}
Chi-Thy[4)]	2.66 ± 0.33^{A}	2.00 ± 0.00^{A}	1.50 ± 0.71^{B}	4.82 ± 0.40^{B}	5.73 ± 0.40^{C}	8.07 ± 0.13^{A}

[A-C]Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among storage times for each treatment.
[1)]Means ± standard deviation obtained in three experiments (n = 3)
[2)]Chitosan coating
[3)]Chitosan coating + Carvacrol
[4)]Chitosan coating + Thymol

Table 4. Inhibitory effect of chitosan coating and antimicrobial agent on H_2S producing bacteria in shrimp stored at 4°C for 12 days

Treatment	Total viable count (log CFU/g) [1)]					
	0 day	1 day	3 day	6 day	9 day	12 day
Control	1.00 ± 0.00^{A}	2.66 ± 0.26^{A}	3.27 ± 0.05^{A}	5.18 ± 0.20^{A}	7.84 ± 0.03^{A}	8.35 ± 0.28^{A}
Chi[2)]	1.00 ± 0.00^{A}	2.24 ± 0.34^{A}	1.53 ± 0.92^{B}	3.79 ± 0.29^{BC}	5.32 ± 0.09^{B}	7.08 ± 0.18^{B}
Chi-Car[3)]	1.00 ± 0.00^{A}	1.33 ± 0.58^{A}	1.33 ± 0.58^{B}	4.52 ± 0.37^{AB}	5.31 ± 0.23^{B}	7.25 ± 0.67^{B}
Chi-Thy[4)]	1.00 ± 0.00^{A}	1.95 ± 1.35^{A}	1.33 ± 0.58^{B}	3.04 ± 0.37^{C}	5.27 ± 0.44^{B}	7.23 ± 0.41^{B}

[A-C]Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among storage times for each treatment.
[1)]Means ± standard deviation obtained in three experiments (n = 3)
[2)]Chitosan coating
[3)]Chitosan coating + Carvacrol
[4)]Chitosan coating + Thymol

0.05)를 보였다. 초반에 Chi에서 저온균이 감소한 경향을 보였으나, 3일 이후부터 Chi보다 Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy에서 저온균이 효과적으로 억제되는 것을 확인할 수 있으며, 12일에는 Chi-Thy에서 가장 효과적으로 저온균이 억제되었다. Chi-Car 및 Chi-Thy에서 중온균과 저온균에 대해 항균 효과를 보인 것은 즉석섭취 새우에서 carvacrol과 thymol의 원료인 백리향, 오레가노 정유를 키토산 코팅과 병행처리 하였을 때 항균 효과를 보인 것과 일치하였고[19)], 송어 필레를 clove 정유와 키토산 코팅과 병행처리 하였을 때 항균 효과를 보인 것과도 일치하였다[20)].

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 내냉성 세균인 *Pseudomonas* spp. 수의 변화를 Table 3에 나타내었다. *Pseudomonas* spp.은 모든 처리구에서 초기 농도가 2.66 log CFU/g이었고 냉장 저장 시 대조구와 달리 모든 처리구에서 감소하였다. 저장기간 중 6일째에, Control, Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy의 *Pseudomonas* spp.수는 각각 6.74, 5.11, 5.32, 4.82 log CFU/g로 모든 처리구가 대조구에 비해 유의적 항균효과($p < 0.05$)를 보였고 특히 9일째에는 Chi-Car과 Chi-Thy에서 Chi에 비해 유의적 차이($p < 0.05$)를 보여, 키토산과 천연 항균제의 병행처리가 효과적으로 *Pseudomonas* spp.의 성장을 억제하는 것을 확인하였다. *Pseudomonas* spp.의 경우, 조리된 닭에 대해서는 키토산과 Thyme oil 의 병행처리의 항균효과가 낮았다고 보고되었지만[21)], 본 연구에서는 carvacrol이나 thymol과 키토산의 병행처리가 *Pseudomonas* spp.에 대해 유의적인 항균효과를 보였다. 이는 경우 우육과[22)] 참돔에서[23)], carvacrol과 thymol이 주성분인 오레가노 오일이 유의적인 항균효과를 보인 결과와 일치하였다.

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 H_2S 생성균 수의 변화를 Table 4에 나타내었다. H_2S 생성균은 모든 처리구에서 초기 농도가 1.00 log CFU/g이었고 냉장 저장 3일째부터 처리구 간 유의적 차이($p < 0.05$)가 나타났다. 저장기간 중 가장 마지막 날인 12일째에, Control, Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy의 H_2S 생성균은 각각 8.35, 7.08, 7.25, 7.23 log CFU/g로 모든 처리구가 대조구에 비해 유의적 항균효과($p < 0.05$)를 보였다. 하지만 Chi-Car과 Chi-Thy가 Chi에 비해 효과적인 항균효과를 보이지는 않았다. 본 실험에서 밀봉포장된 대조구의 H_2S 생성균은 12일째에 8 log CFU/g까지 증가하였고 이는 진공포장된 어육에서 미생물의 성장은 주로 H_2S 생성균에 의한 것이라는 보고[24)]와도 일치했다.

Table 5. Changes in TVB-N values on control shrimp and coated shrimp with chitosan and antimicrobial agent during ice storage for 12 days at 4°C

Treatment	TVB-N value (mg %)[1)]					
	0 day	1 day	3 day	6 day	9 day	12 day
Control	15.68 ± 1.62[A]	17.55 ± 1.99[A]	23.87 ± 2.11[A]	35.11 ± 0.99[A]	47.98 ± 7.73[A]	90.57 ± 1.29[A]
Chi[2)]	15.68 ± 1.62[A]	16.62 ± 3.53[A]	25.28 ± 6.95[A]	34.40 ± 4.21[A]	42.83 ± 5.62[AB]	61.55 ± 9.35[B]
Chi-Car[3)]	15.68 ± 1.62[A]	16.15 ± 0.00[A]	24.57 ± 0.99[A]	28.08 ± 1.40[AB]	35.81 ± 2.98[BC]	51.96 ± 1.62[B]
Chi-Thy[4)]	15.68 ± 1.62[A]	24.11 ± 0.81[A]	22.47 ± 4.96[A]	23.87 ± 2.98[B]	25.98 ± 1.99[C]	44.23 ± 3.97[B]

[A-C]Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among storage times for each treatment.
[1)]Means ± standard deviation obtained in three experiments (n = 3)
[2)]Chitosan coating
[3)]Chitosan coating + Carvacrol
[4)]Chitosan coating + Thymol

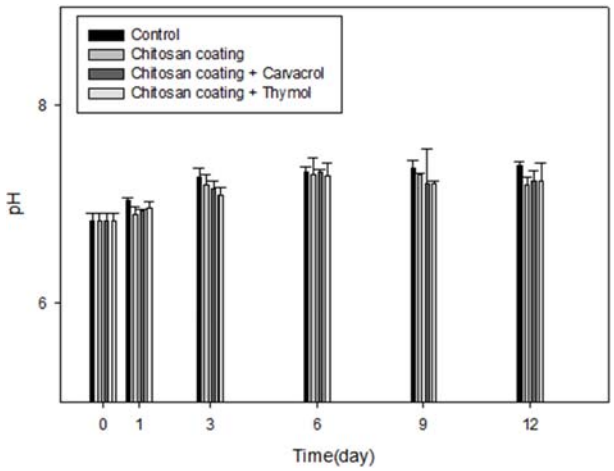

Fig. 1. Changes in pH on control shrimp and coated shrimp with chitosan and antimicrobial agent during ice storage for 12 days at 4°C.

이화학적 분석

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 TVB-N의 변화를 Table 5에 나타내었다. TVB-N은 5-10 mg% 일 때 매우 신선함을 의미하며, 15-25 mg%은 보통, 30-40 mg% 일 때 초기 부패, 50 mg% 이상이면 심한 부패가 진행됨을 의미한다. 따라서 처리 전 새우의 상태는 보통 수준이며, 처리 후 3일까지는 모든 처리구가 보통 수준을 유지하였다. 저장기간 중 가장 마지막 날인 12일째에, Control, Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy의 TVB-N은 각각 90.57, 61.55, 51.96, 44.23 mg%로 모든 처리구가 대조구에 비해 유의적 차이($p < 0.05$)를 보였다. 6일 이후 TVB-N이 증가하며, Control과 Chi가 가장 먼저 초기 부패 단계에 들어섰고, Chi-Car는 9일째에 초기부패를 나타내지만, Chi-Thy는 9일까지 보통 단계를 유지하였다. TVB-N은 암모니아와 아민으로 구성된 화합물로 근육조직의 부패를 나타내는 척도로 광범위하게 사용되고 있고[25)] 이의 증가는 부패 세균과 내생 효소의 활동과 관계 있다고 알려져 있다[26)]. 본 실험에서 Chi-Car과 Chi-Thy의 TVB-N이 낮은 이유는 carvacrol 및 thymol이 세균 증식을 억제하였거나 세균의 non-protein nitrogenous compounds의 oxidative deamination 능력을 감소시킨 것으로 보인다[25)].

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 pH의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. pH는 저장 기간이 경과함에 따라 모든 처리구에서 완만하게 증가하였고, 처리구 간에는 큰 차이가 없었으나 대조구의 pH가 전반적으로 높았다.

관능적 특성

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 외관의 변화를 Table 6에 나타내었다. 평점은 초기 점수를 9점으로 정하였고 냉장 저장 6일째부터 처리구 간 유의적 차이($p < 0.05$)가 나타났다. 저장기간 중 가장 마지막 날인 12일째에, Control, Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy의 외관 평점은 각각 4.80, 6.00, 6.40, 6.60점으로 모든 처리구가 대조구에 비해 유의적 차이($p < 0.05$)를 보였다. 6일째부터 Chi에서 Chi-Car 및 Chi-Thy에 비해 평점이 낮아졌고 9일째부터는 Chi-Car가 Chi-Thy보다 평점이 낮아졌다.

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 이취의 변화를 Table 7에 나타내었다. 평점은 초기 점수를 9점으로 정하였고 냉장 저장 3일째부터 처리구 간 유의적 차이($p < 0.05$)가 나타났다. 저장기간 중 가장 마지막 날인 12일째에, Control, Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy의 이취 평점은 각각 2.40, 4.00, 4.80, 5.20점으로 모든 처리구가 대조구에 비해 유의적 차이($p < 0.05$)를 보였다. 평점은 6일째부터 Chi-Thy Chi-Car, Chi의 순으로 높았다.

새우를 키토산 단독 코팅하거나 천연항균제(carvacrol, thymol)를 키토산 코팅과 병행 처리하였을 때 전반적 선호도의 변화를 Table 8에 나타내었다. 평점은 초기 점수를 9점으로 정하였고 냉장 저장 3일째부터 처리구 간 유의적

Table 6. Changes in appearance on control shrimp and coated shrimp with chitosan and antimicrobial agent during ice storage for 12 days at 4°C

Treatment	Score (1-9 scale) [1)]					
	0 day	1 day	3 day	6 day	9 day	12 day
Control	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.80 ± 0.45^{A}	7.00 ± 0.71^{A}	5.60 ± 0.89^{A}	4.80 ± 1.10^{A}
Chi[2)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.80 ± 0.45^{A}	7.80 ± 0.84^{AB}	6.60 ± 1.14^{AB}	6.00 ± 0.71^{B}
Chi-Car[3)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.80 ± 0.45^{A}	8.40 ± 0.55^{B}	7.40 ± 0.55^{B}	6.40 ± 0.55^{B}
Chi-Thy[4)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.40 ± 0.55^{B}	7.60 ± 0.55^{B}	6.60 ± 0.55^{B}

[A-B]Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among storage times for each treatment.
[1)]Means ± standard deviation obtained in three experiments (n = 3)
[2)]Chitosan coating
[3)]Chitosan coating + Carvacrol
[4)]Chitosan coating + Thymol

Table 7. Changes in odor on control shrimp and coated shrimp with chitosan and antimicrobial agent during ice storage for 12 days at 4°C

Treatment	Score (1-9 scale) [1)]					
	0 day	1 day	3 day	6 day	9 day	12 day
Control	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	6.80 ± 0.84^{A}	5.60 ± 0.55^{A}	4.60 ± 0.89^{A}	2.40 ± 0.89^{A}
Chi[2)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	7.80 ± 0.84^{B}	6.40 ± 0.89^{AB}	5.20 ± 0.84^{AB}	4.00 ± 1.00^{B}
Chi-Car[3)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.40 ± 0.55^{B}	6.80 ± 0.84^{B}	6.20 ± 0.84^{B}	4.80 ± 0.84^{B}
Chi-Thy[4)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.40 ± 0.55^{B}	7.20 ± 0.84^{B}	6.40 ± 1.14^{B}	5.20 ± 0.84^{B}

[A-B]Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among storage times for each treatment.
[1)]Means ± standard deviation obtained in three experiments (n = 3)
[2)]Chitosan coating
[3)]Chitosan coating + Carvacrol
[4)]Chitosan coating + Thymol

Table 8. Changes in overall acceptability on control shrimp and coated shrimp with chitosan and antimicrobial agent during ice storage for 12 days at 4°C

Treatment	Score (1-9 scale) [1)]					
	0 day	1 day	3 day	6 day	9 day	12 day
Control	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.40 ± 0.55^{A}	5.80 ± 0.45^{A}	4.60 ± 1.14^{A}	2.80 ± 0.45^{A}
Chi[2)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.60 ± 0.55^{B}	6.40 ± 0.89^{AB}	5.20 ± 0.84^{AB}	4.00 ± 0.71^{B}
Chi-Car[3)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.60 ± 0.55^{B}	6.80 ± 0.84^{B}	6.20 ± 0.84^{B}	5.00 ± 1.00^{B}
Chi-Thy[4)]	9.00 ± 0.00^{A}	9.00 ± 0.00^{A}	8.60 ± 0.55^{B}	7.20 ± 0.84^{B}	6.40 ± 1.14^{B}	5.40 ± 0.55^{B}

[A-B]Different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among storage times for each treatment.
[1)]Means ± standard deviation obtained in three experiments (n = 3)
[2)]Chitosan coating
[3)]Chitosan coating + Carvacrol
[4)]Chitosan coating + Thymol

차이($p < 0.05$)가 나타났다. 저장기간 중 가장 마지막 날인 12일째에 Control, Chi, Chi-Car 및 Chi-Thy의 전반적 선호도 평점은 각각 2.80, 4.00, 5.00, 5.40점으로 모든 처리구가 대조구에 비해 유의적 차이($p < 0.05$)를 보였다. 평점은 6일째부터 Chi-Thy Chi-Car, Chi의 순으로 높았다.

국문요약

본 실험에서는 냉동 새우(*Litopenaeus vannamei*)를 4°C에서 12일동안 저온 저장하며, 키토산 코팅과 천연보존제의 병행처리(0.05% carvacrol, 0.05% thymol)가 미생물(중온균, 저온균, *Pseudomonas* spp., H_2S 생성균)의 성장과 새우의 이화학적 특징(총 휘발성 질소화합물, pH) 및 관능적 품질(외관, 냄새, 전반적 수용도)에 미치는 영향을 살펴보았다. 키토산 코팅과 carvacrol 병행 처리, 키토산 코팅과 thymol 병행 처리는 모든 대상 미생물의 성장을 억제하였고 특히 중온균, 저온균, H_2S 생성균의 경우 실험의 마지막 날인 12일째까지 유의적인 항균효과($p < 0.05$)

를 보였다. 이 처리구들은 총 휘발성 질소화합물과 관능적 특성(외관, 냄새, 전반적 수용도)에서도 12일째까지 유의적인 차이($p < 0.05$)를 보였으나 pH에서는 유의적 차이가 없었다. 따라서 키토산 코팅과 carvacrol 병행 처리, 키토산 코팅과 thymol 병행 처리는 새우의 주요 부패 미생물의 성장을 효과적으로 억제하는 것으로 보이며 냉장 새우의 유통기간 연장에 활용할 수 있을 것으로 보여진다.

Acknowledgements

"이 논문은 2017년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(미산성 차아염소수산 효과 측정)".

References

1. Cho, H.S., Kim, K.H.: Quality characteristics of tofu added with shrimp powder. *J. East Asian Soc. Diet. Life,* **19**, 743-748 (2009).
2. Kim, J.S.: Food components characteristics and utilization of shrimp processing byproducts. *Agric. Life Sci.*, **8**, 66-75 (2001).
3. Khazaei, N., Mohsen, E., Zahra, E.D.: Application of active edible coatings made from basil seed gum and thymol for quality maintenance of shrimp during cold storage. *J. Sci. Food Agric.*, **97**, 1837-1845 (2017).
4. Guo, M., Jin, T.Z., Scullen, O.J., Sommers, C.H.: Effects of antimicrobial coatings and cryogenic freezing on survival and growth of Listeria innocua on frozen ready-to-eat shrimp during thawing. *J. Food Sci.*, **78**, 1195-1200 (2013).
5. Gram, L., Dalgaard, P.: Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Curr. Opin. Biotechnol.,* **13**, 262-266 (2002).
6. Gram, L., Hans, H.H.: Fresh and processed fish and shellfish. *In Microbiological Safety and Quality of Food*. Aspen Publishers, New York, USA, pp. 472-506 (2000).
7. Choi, S.H., Chin, K.B.: Evaluation of sodium lactate as a replacement for conventional chemical preservatives in comminuted sausages inoculated with *Listeria monocytogenes*. *Meat Sci.*, **65**, 531-537 (2003).
8. Rattanasatheirn, N., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kijroongrojana, K.: Properties, translucence, and microstructure of Pacific white shrimp treated with mixed phosphates as affected by freshness and deveining. *J. Food Sci.*, **73**, (2008).
9. Huang, J., Chen, Q., Qiu, M., Li, S.: Chitosan-based edible coatings for quality preservation of postharvest whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *J. Food Sci.*, **77**, (2012).
10. Castillo, S., Pérez-Alfonso, C.O., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D.: The essential oils thymol and carvacrol applied in the packing lines avoid lemon spoilage and maintain quality during storage. *Food Control.*, **35**, 132-136 (2014).
11. Dorman, H.J.D., Deans, S.G.: Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, **88**, 308-316 (2000).
12. Singh, A., Singh, R.K., Bhunia, A.K., Singh, N.: Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *LWT-Food Sci. Technol.*, **36**, 787-794. (2003).
13. Xu, J., Zhou, F., Ji, B.P., Pei, R.S., Xu, N.: The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against Escherichia coli. *Lett. Appl. Microbiol.*, **47**, 174-179 (2008).
14. Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R., Boulet, M.: Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *J. Food Sci.*, **56**, 1618-1620 (1991).
15. Banks, N.H.: Some effects of TAL Pro-long coating on ripening bananas. *J. Exp. Bot.*, **35**, 127-137 (1984).
16. Davies, D.H., Elson, C.M., Hayes, E.R.: N, O-carboxymethyl chitosan, a new water soluble chitin derivative. Chitin and Chitosan. *In Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Applications*. Elsevier, London, UK. pp. 467-72 (1989).
17. Jeon, Y.J., Kamil, J.Y., Shahidi, F.: Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5167-5178 (2002).
18. López-Caballero, M.E., Martínez-Alvarez, O., Gómez-Guillén, M.D.C., Montero, P.: Quality of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with melanosis-inhibiting formulations during chilled storage. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **42**, 1029-1038 (2007).
19. Carrión-Granda, X., Fernández-Pan, I., Jaime, I., Rovira, J., Maté, J.I.: Improvement of the microbiological quality of ready-to-eat peeled shrimps (*Penaeus vannamei*) by the use of chitosan coatings. *Int. J. Food Microbiol.*, **232**, 144-149 (2016).
20. Albertos, I., Rico, D., Diez, A.M., González-Arnáiz, L., García-Casas, M.J., Jaime, I.: Effect of edible chitosan/clove oil films and high-pressure processing on the microbiological shelf life of trout fillets. *J. Sci. Food Agric.*, **95**, 2858-2865 (2015).
21. Giatrakou, V., Ntzimani, A., Savvaidis, I.N.: Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product. *Food Microbiol.*, **27**, 132-136 (2010).
22. Emiroğlu, Z.K., Yemiş, G.P., Coşkun, B.K., Candoğan, K.: Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Sci.*, **86**, 283-288 (2010).
23. Vatavali, K., Karakosta, L., Nathanailides, C., Georgantelis, D., Kontominas, M.G.: Combined effect of chitosan and oregano essential oil dip on the microbiological, chemical, and sensory attributes of red porgy (*Pagrus pagrus*) stored in ice. *Food Bioproc. Tech.*, **6**, 3510-3521 (2013).
24. Jørgensen, B.R., Gibson, D.M., Huss, H.H.: Microbiological quality and shelf life prediction of chilled fish. *Int. J. Food Microbiol.*, **6**, 295-307 (1988).
25. Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., Chi, Y.: Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chem.*, **115**, 66-70 (2009).
26. Kyrana, V.R., Lougovois, V.P., Valsamis, D.S.: Assessment of

shelf-life of maricultured gilthead sea bream (Sparus aurata) stored in ice. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **32**, 339-347 (1997).
27. López-Caballero, M.E., Martínez-Alvarez, O., Gómez-Guillén, M.D.C., Montero, P.: Quality of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with melanosis-inhibiting formulations during chilled storage. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **42**, 1029-1038 (2007).