

고추냉이무(*Armoracia rusticana*)에서 추출한 Isothiocyanates (ITCs) 함유 Microcapsule의 명란젓갈 유통기한 연장 효과

권순성 · 김수진¹ · 신혜영² · 신일식^{2*}

강원대학교 생물자원과학과, ¹주대상 식품안전관리센터, ²강릉원주대학교 해양식품공학과

Effect of Microcapsule Entrapping Isothiocyanates (ITCs) Extracted from Horseradish *Armoracia rusticana* Root on Shelf-life Extension of Myeongran Jeotgal, a Korean Salted and Fermented Seafood

Soon-Sung Kwon, Su-Jin Kim¹, Hye-Young Shin² and Il-Shik Shin^{2*}

Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

¹Food Safety Center, Daesang Co. Ltd, Icheon 17384, Korea

²Department of Marine Food Science and Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Korea

The effect of entrapping isothiocyanates extracted from horseradish root by microencapsulation on the shelf life of Myeongran jeotgal was evaluated. The total viable cell count of Myeongran jeotgal reached 10^7 CFU/g (initial decomposition level) on days 43 and 45 of treatment with 1.0% and 2.0% microcapsules (4.0 mg/mL), respectively, compared with day 21 of storage at 5°C as the control treatment. The proteolytic bacterial counts of Myeongran jeotgal treated with 1.0% and 2.0% microcapsules were 2.0×10^5 and 9.5×10^4 CFU/g, respectively, with 2 and 3 log reductions compared with the control count (1.1×10^7 CFU/g) on day 33 of storage at 5°C. The total volatile basic nitrogen (TVB-N) level reached 30.0 mg% (initial decomposition level) on days 47 and 48 of treatment with 1.0% and 2.0% microcapsules, respectively, compared with day 33 of storage at 5°C as the control. Based on the sensory evaluation, the freshness of Myeongran jeotgal treated with 1.0% microcapsules was best compared with the other treatments. Based on the total viable cell count, TVB-N and sensory evaluation, the shelf life of Myeongran jeotgal treated with 1.0% microcapsules was extended by 22, 16 and 15 days, respectively, compared with the control at 5°C.

Key words: Isothiocyanates, Microcapsule, Shelf-life, Myeongran jeotgal

서론

젓갈은 우리나라 전통 발효 식품 중 하나로 어패류에 소금을 가하여 염장함으로써 부패균의 번식을 억제하고, 발효 과정 중 생성된 유리 아미노산이나 방향성 성분으로 인해 특유의 감칠맛과 풍미를 지니고 있다. 종래의 젓갈은 보존성을 높이기 위해 식염 15-20%의 고염 젓갈을 주로 제조했는데(Kim and Lee, 1991) 이는 유통기한이 긴 장점이 있는 반면에 고혈압, 뇌졸중과 심혈관 질병 등의 좋지 않은 영향을 미치는 단점이 있다. 따라서 최근에는 식염 8% 이하의 저염 젓갈을 주로 제조하고 있다. 그러나 낮은 식염 농도로 인하여 고염 젓갈에 비하여 미생

물이 잘 증식하여 유통기한이 짧아지는 단점이 있다. 이에 젓갈류의 유통기한 연장을 위하여 pH 조정(Kim and Lee, 1991), 감마선 조사(Jo et al., 2004), 송지(Cho et al., 2002)와 마늘(Jin et al., 2001)의 첨가 등 다양한 연구가 진행되고 있다.

고추냉이무(Horseradish, *Armoracia rusticana*)는 유럽 동남부가 원산지인 다년생 속근성 식물로 향신료로서의 역할뿐만 아니라 그 항균 활성도 주목을 받고 있다. 그 특유의 자극적인 향의 원인 물질은 allyl isothiocyanate (AITC)를 비롯한 isothiocyanates (ITCs)로 강한 항균 활성을 가지고 있다(Cejpek et al., 1997; Shofran et al., 1998). 고추냉이무의 세포 중에는 ITCs 배당체(sinigrin)와 분해 효소인 myrosinase가 존재

*Corresponding author: Tel: +82. 33. 640. 2346 Fax: +82. 33. 640. 2346

E-mail address: shinis@gwnu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0349>

Korean J Fish Aquat Sci 52(4), 349-357, August 2019

Received 28 June 2019; Revised 6 July 2019; Accepted 24 July 2019

저자 직위: 권순성(대학원생), 김수진(대리), 신혜영(대학원생), 신일식(교수)

하는데, 고추냉이무를 갈면 세포가 파괴되고, myrosinase에 의하여 ITCs 배당체로부터 ITCs가 유리되는 가수분해반응이 일어난다. ITCs는 휘발성 물질로 12종류의 유도체가 알려져 있으며, 그 중 allyl isothiocyanate (AITC)와 phenethyl isothiocyanate (PITC)가 고추냉이무의 주성분으로 알려져 있다 (Mazza, 1984). ITCs의 항균 작용 기구는 세포질, 세포막 peptide 및 단백질의 SH기 등에 ITCs의 thiocyanate기(-N=C=S)가 작용하는 것으로 보고되고 있다(Turgis et al., 2009).

ITCs를 식품 유통기한 연장을 위하여 적용한 사례는 cooked rice (Kim et al., 2002), ground beef (Nadarajah et al., 2005), stone fruit (Mari et al., 2008), cottage cheese (Goncalves et al., 2009), chicken breast (Shin et al., 2010) 등 다양한 연구가 있으나 ITCs는 특 쓰는 매운 향이 강해 식품에 직접 적용하게 되면 기호도에 영향을 미치고, 너무 강한 휘발성으로 효과의 지속 기간이 짧은 단점이 있다. 이와 같은 문제들을 해결하기 위한 방법의 하나로 마이크로캡슐의 제조가 있다. 마이크로캡슐화는 ITCs의 방출량을 적절하게 조절하여 것갈의 숙성에 관여하는 미생물의 증식에 큰 영향을 미치지 않을 뿐만 아니라, 매운 향과 특 쓰는 맛을 차폐하고 유통기한 연장에도 효과적으로 사용할 수 있다(Ko et al., 2008).

Gum Arabic (GA)은 *Acacia senegal*과 *Acacia seyal*의 줄기와 가지에서 추출된 당단백질로 으으로 대전된 고분자 전해질이다. GA는 저분자량의 다당류와 고분자량의 hydroxyproline이 풍부한 당단백질로 구성되어 있다. 그러므로 소수성의 단백질은 ITCs와 상호 작용하고 친수성의 다당류는 물과 상호작용할 수 있어 에멀전 상태에서 GA와 ITCs를 물과 섞일 수 있게 도와주고 ITCs가 한꺼번에 방출되는 것을 막아준다(McNamee et al., 2001). Chitosan [poly(β -1, 4-2-amino-2-deoxy-D-glucose)]은 chitin에서 유래한 천연 양이온성 다당류로, chitin과 달리 산성 수용액상에서 chitosan의 아민기들은 양성자화되며, 이로 인해 고분자 사슬 사이의 반발이 일어나며 용해한다. 즉, 산성 수용액에 대한 용해성이 우수하며 여러 가지 형태로 성형 가공성이 용이하여, 최근 chitosan을 마이크로캡슐, 마이크로비드, 멤브레인 등의 형태로 제조하여 이들을 약물 전달용 담체, 세포 및 효소고정화용 담체, 분리막(Miyazaki et al., 1981; Ouchi et al., 1989) 등의 분야에 응용하고자 하는 연구가 활발히 이루어지고 있다.

이에 본 연구에서는 GA와 chitosan을 wall material로 하여 ITCs를 함유한 마이크로캡슐을 제조하여 것갈에 적용, 유통기한 연장 효과에 대한 연구를 하였으며, 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

시료

ITCs 추출을 위하여 (주)Biocoats (Seoul, Korea)에서 구입

한 고추냉이무(Horseradish *Armoracia rusticana*) 뿌리분말을 사용하였다. 추출한 ITCs의 함량 측정을 위한 표준품 AITC (>99.0%)와 PITC (>99.0%)는 Wako (Osaka, Japan)에서 구입하였다. 마이크로캡슐 제조를 위한 GA는 Nexira (Rouen, France), chitosan은 (주)영키토인터내셔널(Gyeonggi, Korea)에서 구입하였으며, lactic acid와 tween-20은 Sigma-aldrich (도시, MO, USA) 제품을 사용하였다. 저염 명란젓갈은(주)진일만나식품(Gangwon, Korea)에서 제공받았다.

고추냉이무 뿌리로부터 ITCs의 추출

고추냉이무 뿌리 분말 700 g과 증류수 2,000 mL를 혼합한 후, ITCs 생산을 최대로 하기 위하여 40°C에서 120분간 반응시키고 120°C에서 rotary evaporator (Rotavapor R-200; BUCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)로 120분간 증류한 후 5,000 g에서 20분간 원심분리하여 ITCs 추출물을 얻었다.

고추냉이무 뿌리 추출물의 ITCs 함량 측정

추출물의 ITCs 함량은 gas chromatographic Mass Spectrophotometer (GC-MS-CTC; 7890N/5975C, Agilent, CA, USA)로 분석하였다. 추출물 4 mL를 Hexane과 1:1로 혼합하여 균질화하고 실온에서 3분간 방치한 후, 상층액의 ITCs 성분을 GC injector에 주입하였다. Column은 5% phnyl silozane capillary column (HP-5, 0.32 mm I.d×30 m, 0.25 μ m film thickness; Agilent Technologies, Inc., CA, USA)을 사용하였으며 injection port의 온도는 220°C로 유지하였다. Spilt ratio는 1:21.5이었으며 carrier gas는 helium을 사용하였다. ITCs 함량 계산을 위한 표준물질로는 AITC와 PITC를 사용하였다.

ITCs 함유 microcapsule 제조

ITCs 함유 microcapsule은 Ko et al. (2012)의 방법에 준하여 제조하였다. 즉 25% GA 수용액(w/v)을 만들어 실온에서 하룻밤 교반한 후, tween-20 (0.5%, w/w)을 포함한 GA 수용액과 ITCs를 3:1의 비율로 혼합하고 homogenizer (X-1030D, Cat Gmbh, Wesendorf, Germany)를 이용하여 11,000 rpm에서 3분간 균질화하여 GA-ITCs emulsion을 얻었다. Microcapsule과 ITCs의 수율을 높이기 위하여 microcapsule의 코팅제인 chitosan solution과 건조보조제 dextrin을 일정 농도 첨가하여 분무건조기(Buchi B-290, BUCHI, Flawil, Switzerland)로 microcapsule을 제조하였다. 분무 건조의 조건은 inlet air temperature, 200°C, outlet temperature, 100°C, pump 20%이었다. GA, chitosan과 dextrin은 모두 다당류로, microcapsule을 제조할 때 다당류의 양이 지나치게 많으면 emulsion의 점도가 높아져 분무건조기의 내부에 emulsion이 달라붙어 microcapsule의 수율이 떨어지며, wall material로 쓰인 GA는 emulsion을 안정화시켜주는 역할을 하기 때문에 분무건조 중의 ITCs 방출을 막아주게 된다. 또한 chitosan과 같은 코팅물질을 사용하면 회수율은 높아지는 반면, emulsion에 비하여 많이 쓰이게 되면 경제

적으로 비효율적이다. 이에 본 연구에서는 microcapsule의 수율과 ITCs 회수율이 가장 높았던 GA-ITCs emulsion에 chitosan solution 1%, dextrin 10%를 첨가한 ITCs 함유 microcapsule (data not shown)을 제조, 밀봉 상태로 5°C에 보관하여 실험에 사용하였다. Microcapsule의 형태는 주사전자현미경(IN-SPECT F, FEI, Netherlands)으로 관찰하였으며 전처리 과정은 ion coater (IB-3, Eiko, Japan)를 이용하여 진공도 0.1 torr 및 고전압(800-1500 V, 8 mA)하에서 5분간 순금으로 입자 표면을 코팅하였다. 입자의 크기는 microcapsule을 1-propanol에 분산시킨 후, laser light scattering 방법으로 CILAS 10649 (CILAS, Orléans, France)로 측정하였다. Microcapsule의 ITCs 함량은 organic solvents extraction 방법을 수정하여 측정하였다(Ko et al., 2012). 즉, ITCs 함유 microcapsule 0.1 g을 15 mL test tube에 넣고 증류수 4 mL, hexane 4 mL를 혼합하여 mini-shaker (MS2, IKA, China)로 3분간 진탕한 후, 상온에 방치하여 hexane 층의 ITCs 함량을 GC-MS로 분석하였다.

Microcapsule로부터 방출되는 ITCs의 함량 측정

Microcapsule로부터 방출되는 ITCs의 함량은 Arthur and Pawliszyn (1990)의 방법에 따라 SPME법으로 측정하였다. Vial (23 × 75 mm, PTFE/silicone sepra, aluminum seal)에 캡슐 0.1 g을 넣은 다음 예열 처리된 SPME fiber를 주입하여 heating block (Dry thermo bath MG 2000, EYELA Co., Tokyo, Japan)으로 가열한 후, 휘발성을 띠는 ITCs가 포집된 fiber를 GC injector에 주입하여 GC-MS로 분석하였다.

미생물 측정

식품공전(MFDS, 2019) 중 미생물 시험법에 준하여 시료 25 g을 멸균된 가위와 칼 등으로 자르고 9배 양의 멸균인산완충용액(Butterfield's phosphate buffered solution, pH 7.2)과 혼합한 후, stomacher 400 circulator (Seward Ltd., Worthing, UK)으로 230 rpm에서 1분간 균질화한 후, 균질액 11 mL에 멸균인산완충용액(PBS, pH 7.2) 99 mL를 가하여 단계적으로 연속 희석하여 각 미생물 분석의 시험용액으로 사용하였다.

일반세균수는 각 단계 시료액을 plate count agar (PCA; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 접종하고 35 ± 1°C에서 48 ± 2시간 동안 배양한 후 생성된 집락수를 계수, 시료 1 g당 colony forming unit (CFU)로 표기하였다.

대장균수는 EC medium (Difco, MI, USA)을 이용한 MPN법으로 측정하였다. 즉, 시료용액 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 mL를 각각 5개의 EC medium tube에 접종하고 44.5 ± 0.2°C의 항온수조에서 24 ± 2시간 배양한 후, 발효관에 가스가 발생한 tube를 대장균(*Escherichia coli*) 양성이라고 판정하고 최확수표에 따라 검체 100 g 중의 대장균수를 산출하였다.

단백질 분해균수의 측정은 skim milk agar (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 이용하여 측정하였다. A 배지(skim milk 11 g, distilled water 100 mL)와 B 배지(NaCl 50 g, try-

tone 5 g, yeast extract 2.5 g, glucose 1 g, distilled water 1,000 mL)를 각각 멸균한 후, 혼합하여 선택 배지를 제조하였다. 각 희석 단계의 시료 1 mL씩을 멸균 petri-dish 2장에 무균적으로 각각 분주하고, 49.5 ± 0.5°C로 유지된 선택 배지를 18-20 mL 무균적으로 분주하여 혼합, 응고시켰다. 36.0 ± 1.0°C에서 48시간 배양하여 형성된 집락수를 계수, 시료 1 g당 CFU로 표기하였다.

휘발성 염기질소(Total volatile basic nitrogen, TVB-N)

휘발성 염기질소량은 conway micro diffusion assay (Conway and Byrne, 1933)를 일부 수정하여 측정하였다. 즉, 20% trichloroacetic acid (TCA) 용액 30 mL를 시료 10 g에 가하고 mixer (SFM-700BI, Shinil Ltd., Gyeonggi, Korea)로 마쇄한 뒤 비커에 시료를 넣고 30분 방치한 후, 100 mL로 정용하였다. 이를 원심분리(4°C, 5,000 g, 10 min)한 후, 0.45 µm syringe filter (Toyoroshi kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 여과하여 상층액을 시료로 사용하였다. Conway unit 내실에는 0.01 N H₂SO₄ 용액 1 mL, 외실에 시료 희석액 1 mL 및 포화 K₂CO₃ 1 mL를 각각 넣고 37°C에서 1시간 반응시킨 다음, 내실에 brumswick (0.07% methyl red, 0.03% methylene blue) 지시약 1-2방울을 첨가하고 0.01 N NaOH로 적정하여 휘발성 염기질소량을 구하였다. 대조구는 시료 대신 20% TCA 용액을 사용하였다.

산도(Titratable acidity, TA)

산도는 AOAC (2000) 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 즉 시료 20 g을 멸균 증류수 30 mL와 혼합하여 Stomacher 400 circulator (Seward Ltd., Worthing, UK)으로 균질화한 후, 균질액 100 mL의 pH가 8.3이 될 때까지 소비된 0.1 N NaOH (Showa Chemical Industry Co., Tokyo, Japan)의 양을 lactic acid (%)로 환산하여 나타내었다.

관능 검사

명란젓갈에 대한 관능 검사는 젓갈을 선호하는 7인의 panel을 구성하여 시료의 냄새(odor), 맛(taste) 그리고 종합적인 기호도(overall acceptability)의 3가지 항목에 대하여 9점 평점법(9: 아주 좋음, 7: 좋음, 5: 보통, 3: 싫음, 1: 아주 싫음)으로 평가하였고, 이의 평균값으로 나타내었다. 종합적인 기호도의 점수가 6.00 (acceptable score) 이하로 떨어지면 관능검사를 실시하지 않았다.

통계처리

본 연구에서 모든 실험은 세 번 반복으로 행하였으며, 수치는 세 실험값의 평균값으로 나타내었다. 통계프로그램은 SPSS version 21 software (SPSS Inc., Chicago, IL., USA)에서 one-way ANOVA 중 Duncan's multiple range test를 사용하여 (Duncan, 1955) P<0.05에서 유의성을 조사하였다.

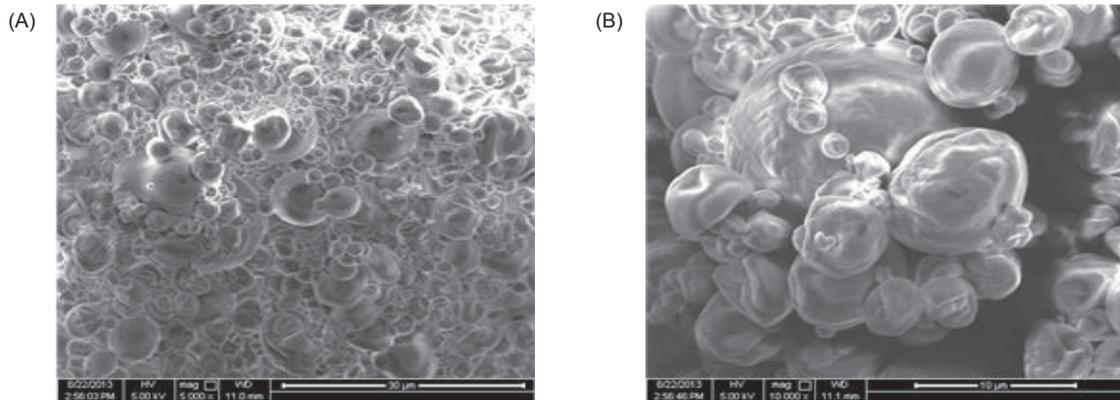


Fig. 1. Scanning electron micrograph (SEM) of ITCs-loaded gum arabi-chitosan microcapsules. (A), $\times 5,000$; (B), $\times 10,000$. ITCs, Isothiocyanates.

결과 및 고찰

고추냉이무 뿌리 추출물의 ITCs 함량

고추냉이무 뿌리 추출물의 ITCs 함량을 GC-MS로 분석(Choi et al., 2015)한 결과, AITC가 67.4%로 가장 많았고, PITC는 30.6%이었다(data not shown). 그리고 미량 성분으로 3-butenyl isothiocyanate가 0.9%이었다. AITC와 PITC의 standard curve로부터 계산한 AITC의 함량은 $471,952 \mu\text{g/mL}$, PITC의 함량은 $154,418 \mu\text{g/mL}$ 으로 총 ITCs 함량은 $626,370 \mu\text{g/mL}$ 이었다. Choi et al. (2015)은 서양산 고추냉이 뿌리로부터 같은 방법으로 추출한 AITC와 PITC의 비율이 각각 59.995%와 35.819%로 보고하였는데, 본 연구의 경우가 AITC 비율이 다소 높은 것으로 나타났다.

ITCs 함유 GA-chitosan microcapsule의 특징

주사전자현미경으로 관찰한 ITCs 함유 GA-chitosan microcapsule의 모양과 표면 구조는 Fig. 1과 같다. GA-chitosan 입자는 건조 동안 액적의 수축으로 인해 외부 표면이 움푹 들어가고 오목한 형태로 Rosenberg et al. (1990)과 Bertolini et al. (2001)의 보고와 유사한 특징을 나타내었다. Microcapsule의 입자 크기는 $0.5\text{--}40.0 \mu\text{m}$ 로 평균 직경은 $1.45 \mu\text{m}$ 이었다. Yang and Lim (1998)은 alginate로 만들어진 캡슐은 $100 \mu\text{m}$ 이상의 크기였다고 보고하였는데, 본 연구의 경우 이 보다 상당히 작은 크기로 만들어진 것을 확인할 수 있었다.

Microcapsule로부터 방출되는 ITCs의 함량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 캡슐 내 ITCs의 초기 함량은 $12,315 \pm 482 \mu\text{g/mL}$ 로 저장 30일 동안 총 $4,495 \pm 180 \mu\text{g/mL}$ 의 ITCs가 방출되어 전체의 36.5%가 방출된 것으로 나타났다. 저장 30일 동안 하루 평균 방출량은 $150 \pm 9 \mu\text{g/mL}$ 이었으며, 이는 Ko et al. (2012)의 GA-ITCs microcapsule이 저장 15일째에 약 20.0%의 AITC가 방출된 연구 결과와 유사하였다.

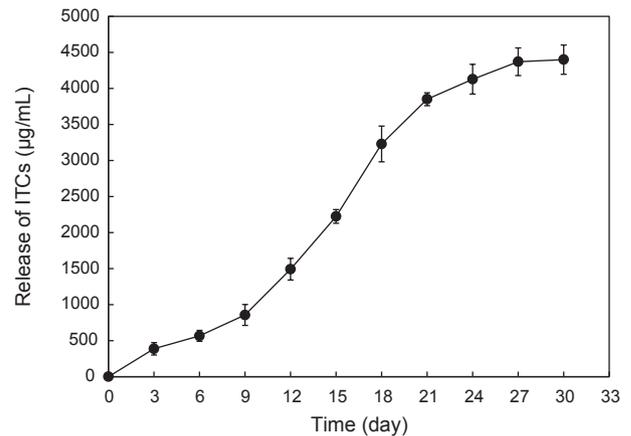


Fig. 2. Release behavior of ITCs from gum Arabic-chitosan microcapsules. ITCs, Isothiocyanates.

ITCs 함유 microcapsule 처리에 의한 일반세균의 증식 억제

ITCs (4 mg/mL) 함유 microcapsule을 짓갈 중량대비 0.13-2.00% 첨가한 명란젓갈의 일반세균수 변화는 Fig. 3과 같다. 실험 초기 일반세균수는 $1.4 \times 10^4 \text{ CFU/g}$ 이었으며, 무첨가구의 경우, 5°C 에서는 저장 21일째에 미생물학적 부패초기균수인 10^7 CFU/g 에 도달하였으며(Fig. 3A), 10°C 에서는 저장 12일째에 미생물학적 부패초기균수인 10^7 CFU/g 에 도달하였다(Fig. 3B). 반면에 ITCs (4 mg/mL) 함유 microcapsule 1.00%와 2.00% 첨가구의 경우, 5°C 에서는 각각 저장 43일째와 47일째에 10^7 CFU/g 에 도달하여 ITCs 함유 microcapsule 첨가구가 무첨가구에 비하여 22-26일의 유통기한 연장 효과($P < 0.05$)를 나타내었으며(Fig. 3A), 10°C 에서는 각각 저장 21일째와 27일째에 10^7 CFU/g 에 도달하여 무첨가구에 비하여 6-15일의 유통기한 연장 효과를 나타내었다(Fig. 3B).

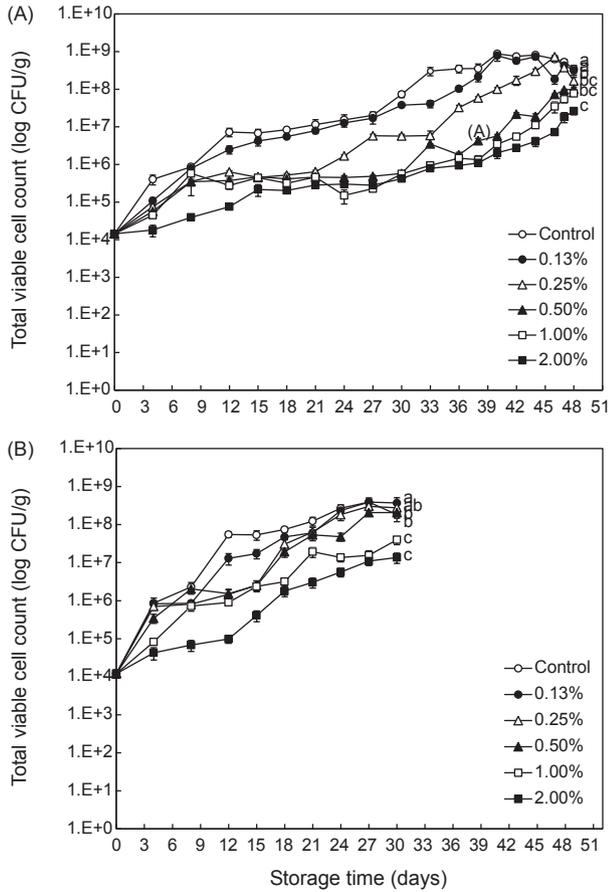


Fig. 3. Change of total viable cell count in *Myeongran jeotgal* added microcapsules entrapping ITCs (4.0 mg/mL) during storage at 5°C (A) and 10°C (B). Each point shows the mean (log CFU/g) in triplicate. Error bars show standard deviation. ITCs, Isothiocyanates.

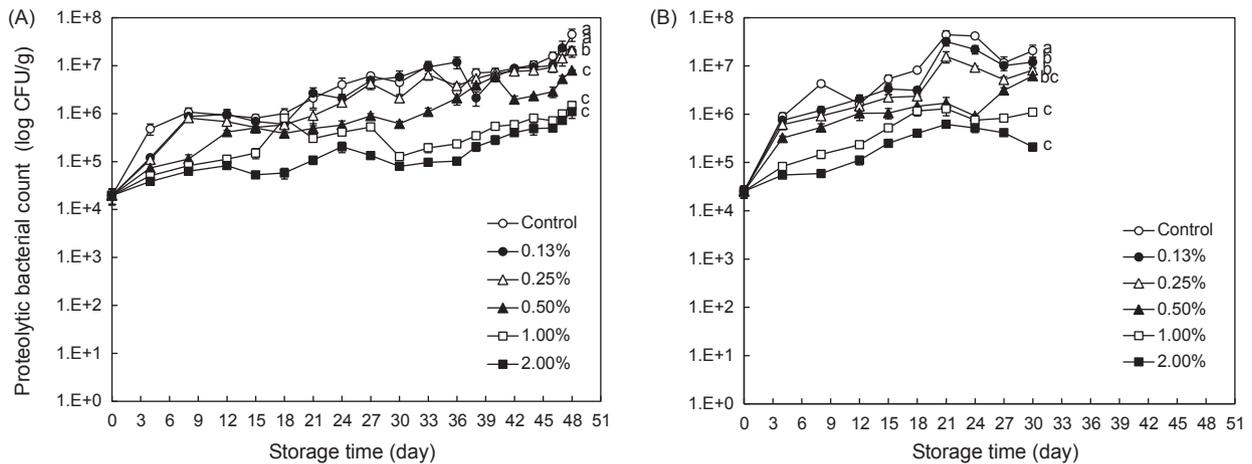


Fig. 4. Change of proteolytic bacterial count in *Myeongran jeotgal* added microcapsules entrapping ITCs (4.0 mg/mL) during storage at 5°C, and 10°C. (A), proteolytic bacterial count at 5°C; (B), proteolytic bacterial count at 10°C. Each point shows the mean (log CFU/g) in triplicate. Error bars show standard deviation. ITCs, Isothiocyanates.

Hong and Kim (2013)의 연구에 따르면 월계수, 솔잎, 녹차추출물을 오징어젓갈에 첨가하여 유통기한을 조사한 결과, 3-6일의 연장 효과를 나타내었는데 본 연구에서는 15-26일이 연장되어 이들 추출물에 비하여 ITCs의 유통기한 연장 효과가 강한 것으로 나타났다.

한편, 모든 시료구에서 대장균은 검출되지 않아(data not shown) 우리나라 식품공전(MFDS, 2019)의 허용기준(대장균 음성)을 만족하는 것으로 나타났다.

ITCs 함유 microcapsule 처리에 의한 단백질분해균의 증식 억제

ITCs (4 mg/mL) 함유 microcapsule을 젓갈 증량대비 0.13-2.00% 첨가한 명란젓갈의 단백질분해균수의 변화는 Fig. 4와 같다. 초기 단백질 분해균수는 2.1×10^4 CFU/g이었으며, 무첨가구의 경우, 5°C에서는 저장 33일째에 (Fig. 4A), 10°C에서는 저장 21일째 10^7 CFU/g을 초과하였다(Fig. 4B). 반면에 ITCs (4 mg/mL) 함유 microcapsule 1.00%와 2.00% 첨가구의 경우, 5°C에서는 저장 48일째(Fig. 4A), 10°C에서는 저장 33일째(Fig. 4B)에도 10^6 CFU/g 이하로 나타나 큰 차이($P < 0.05$)를 나타내었다.

수산식품은 변패가 진행됨에 따라 단백질 분해균에 의해 단백질은 아미노산으로, 또 다시 저분자의 무기태 질소로 분해되는데 이 무기태 질소의 함량은 제품의 신선도를 평가하는데 중요하며, 특히 휘발성 염기질소의 경우는 관능적 특성에 크게 관여한다(Cho et al., 2002). 따라서 본 연구의 ITCs 함유 microcapsule 처리에 의한 단백질 분해균의 증식 억제 효과는 명란젓갈의 유통기한 연장에 유효하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

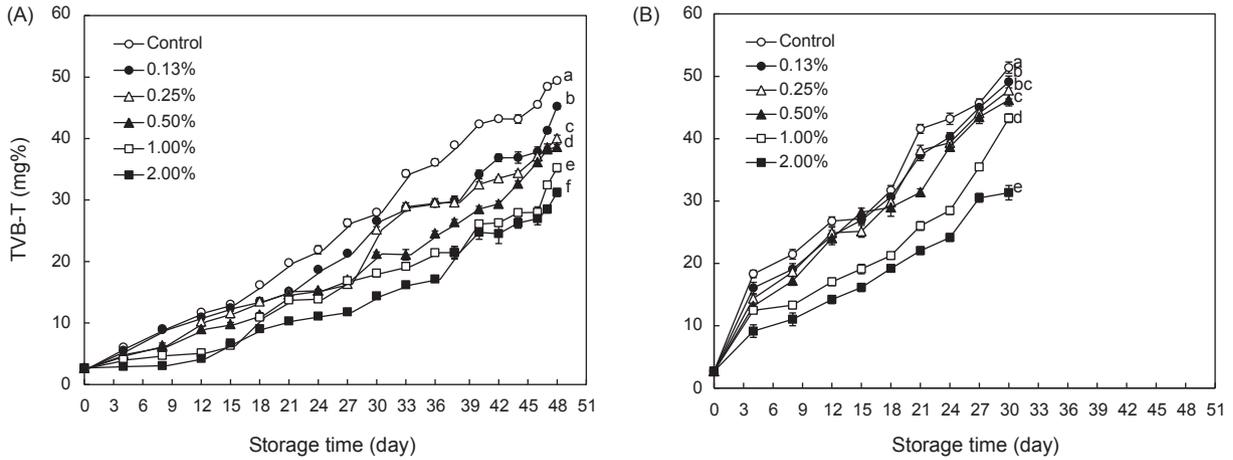


Fig. 5. Change of total volatile basic nitrogen (TVB-N) in *Myeongran jeotgal* added microcapsules entrapping ITCs (4.0 mg/mL) during storage at 5°C, and 10°C. (A), TVB-N at 5°C; (B), TVB-N at 10°C. Each point shows the mean (log CFU/g) in triplicate. ITCs, Isothiocyanates. Error bars show standard deviation.

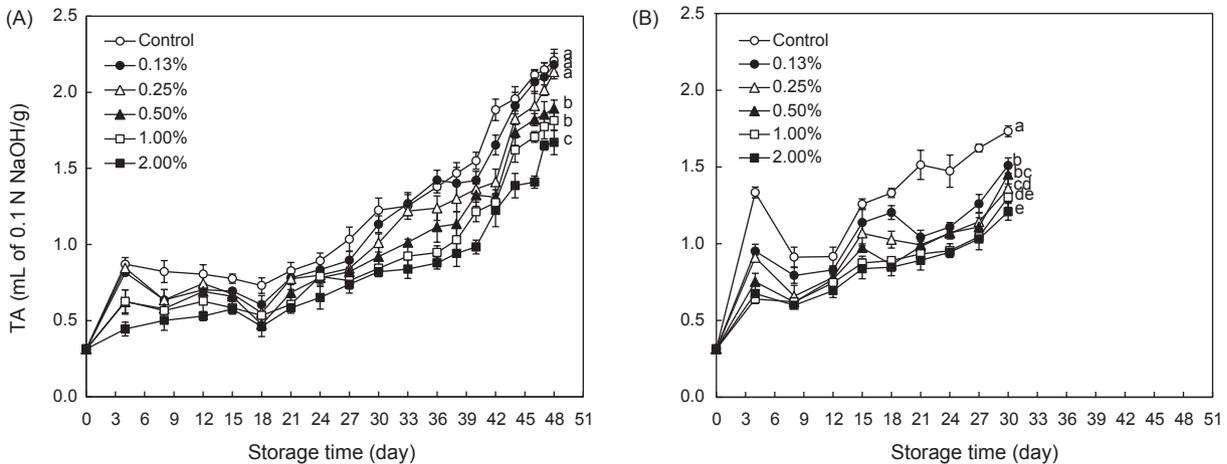


Fig. 6. Change of titratable acidity (TA) in *Myeongran jeotgal* added microcapsules entrapping ITCs (4.0 mg/mL) during storage at 5°C, and 10°C. (A), TA at 5°C; (B), TA at 10°C. Each point shows the mean (log CFU/g) in triplicate. ITCs, Isothiocyanates. Error bars show standard deviation.

ITCs 함유 microcapsule 처리에 의한 휘발성 염기질소(TVB-N) 생성 억제

ITCs 함유 microcapsule (4 mg/mL)을 젓갈 중량대비 0.13-2.00% 첨가한 명란젓갈의 TVB-N 함량 변화는 Fig. 5와 같다. 초기 TVB-N 함량은 2.7 mg%이었으며, 무첨가구의 경우, 5°C에서는 33일째(Fig. 5A), 10°C에서는 18일째 부패초기값인 30.0 mg%에 도달하였다(Fig. 5B). 반면에 ITCs 1.00%와 2.00% 첨가구의 경우, 5°C에서는 각각 47일째와 48일째(Fig. 5A), 10°C에서는 27일째 30 mg%에 도달하여(Fig. 5B) ITCs 첨가구가 무첨가구에 비하여 9-15일의 유통기한 연장 효과 (P<0.05)를 나타내었다.

TVB-N은 식품 단백질의 선도판정법으로 가장 일반적으로 사용되며 수산발효식품의 품질특성에 간접적으로 영향을 미치는 지표이다(Cobb and Venderzont, 1975). TVB-N 값은 자가소화와 미생물에 의한 유리아미노산의 분해, 핵산의 분해, 아민의 산화 등으로 인해 상승한다(Lu et al., 2009). ITCs의 첨가 농도가 낮고 저장 온도가 높을수록 VBN의 함량은 급격하게 증가하였는데(P<0.05), 이는 미생물에 의한 아미노산 및 핵산의 분해가 빨라져 TVB-N 생산량이 증가하기 때문이라고 보고된 바 있다(Cho et al., 2002).

따라서 본 연구의 ITCs 함유 microcapsule 처리에 의한 휘발성 염기질소(TVB-N) 생성 억제는 명란젓갈의 유통기한 연장에 유효하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

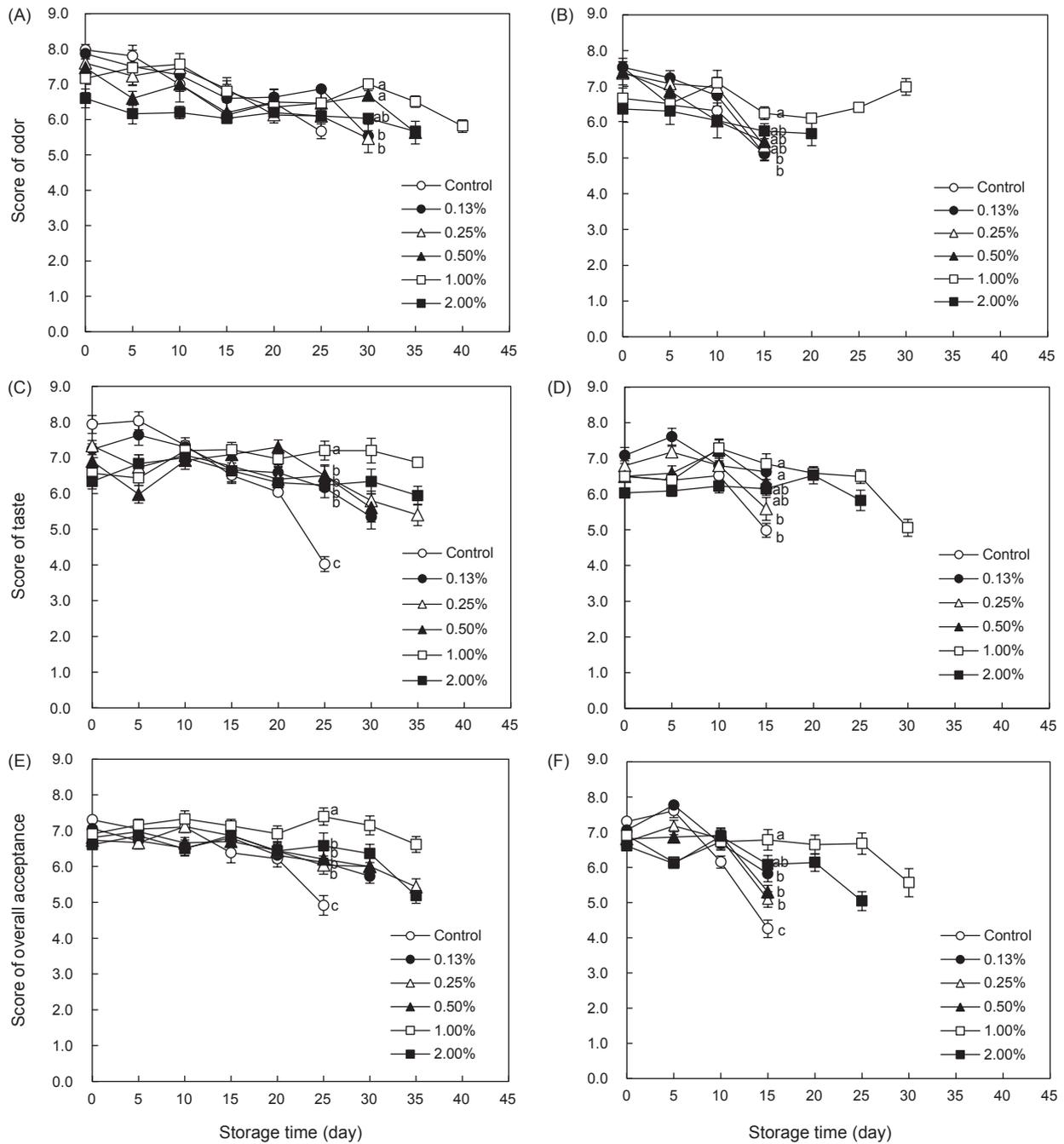


Fig. 7. Change of odor score, taste score, and overall acceptance score in *Myeongran jeotgal* added microcapsules entrapping ITCs (4.0 mg/mL) during storage at 5°C, and 10°C. (A), odor score at 5°C; (B), odor score at 10°C; (C), taste score at 5°C; (D), taste score at 10°C; (E), overall acceptance score at 5°C; (F), overall acceptance score at 10°C. ITCs, Isothiocyanates. Each point shows the mean in triplicate. Error bars show standard deviation.

ITCs 함유 microcapsule 처리에 의한 산도(Titratable acidity, TA) 증가 억제

ITCs 함유 microcapsule (4 mg/mL)을 젓갈 중량대비 0.13-2.00% 첨가한 명란젓갈의 산도 변화는 Fig. 7과 같다. 저장 30

일 후 ITCs 무첨가구의 TA 값은 5°C의 경우, 0.31에서 1.24로 (Fig. 6A), 10°C의 경우 1.73으로 급격하게 상승하였다(Fig. 6B). 반면에 ITCs 1.00%와 2.00% 첨가구의 경우, 5°C에서는 각각 0.84와 0.82로(Fig. 6A) 무첨가구에 비하여 현저하게 낮았

으며($P<0.05$), 10°C 에서는 각각 1.30과 1.31로(Fig. 6B) 역시 무첨가구에 비하여 낮게 나타났다. 산도의 상승은 젓갈의 숙성이 진행됨에 따라 젓갈에 들어 있는 각종 질소화합물이 젓산균의 활동을 왕성하게 하고 젓갈 제조 시에 첨가한 설탕, 전분, 솔비톨 등의 첨가물이 젓산균에 의하여 분해되어 산 생성량이 증가하기 때문인 것으로 보고하고 있다(Muguerza et al., 2002). 본 연구에서는 ITCs가 젓산균의 증식을 억제함으로써 무첨가구에 비하여 산도가 낮게 나타난 것으로 사료된다.

ITCs 함유 microcapsule로 처리한 명란젓갈의 관능 평가

ITCs 함유 마이크로캡슐($4,000\ \mu\text{g}/\text{mL}$)을 명란젓갈 중량 대비 0.13-2.00% 첨가한 명란젓갈의 관능 검사 결과는 Fig. 7과 같다. 관능 검사의 점수는 맛과 기호성이 증가할수록 9점에 가까운 점수로 나타나며 acceptable score는 6.00점 이상으로 하였다. 5°C 와 10°C 모두 냄새(Fig. 7A, 7B), 맛(Fig. 7C, 7D), 종합적인 기호도(Fig. 7E, 7F) 항목에서 ITCs 첨가구가 무첨가구보다 높은 점수를 얻었다. 5°C 의 종합적인 기호도에서 ITCs 무첨가구는 저장 25일째(4.90), 2.00% 첨가구는 저장 35일째(5.10) acceptable score인 6.00 이하로 떨어졌으나, 1.00% ITCs 첨가구는 저장 35일째에도 6.60 이상을 유지하여(Fig. 7E) ITCs 첨가구가 무첨가구에 비하여 10일 이상의 유통기한 연장 효과를 나타내었다($P<0.05$). 10°C 의 종합적인 기호도에서도 ITCs 무첨가구는 저장 15일째(4.20), 2.00% ITCs 첨가구는 저장 25일째(5.00) acceptable score인 6.00 이하로 떨어졌으나, 1.00% ITCs 첨가구는 저장 30일째(5.50) 6.00 이하로 떨어져(Fig. 7F) 1.00, 2.00% ITCs 첨가구가 무첨가구에 비하여 각각 15, 10일의 유통기한 연장 효과를 나타내었다($P<0.05$). 한편 ITCs 함유 microcapsule 2.00%가 첨가된 명란젓갈의 종합적 기호도가 ITCs 함유 microcapsule 1.00%가 첨가된 명란젓갈보다 낮게 나타났는데, ITCs를 천연 식품보존료로 사용하기 위해서는 ITCs 특유의 자극성 냄새가 고려되어야 한다. 즉 ITCs 함유 microcapsule 2.00% 첨가가 미생물학적 그리고 생화학적인 변화의 억제에 있어서는 1.00% 첨가구보다 효과적이었지만, 특유의 자극성 냄새 때문에 종합적 기호도에 좋지 않은 영향을 미친 것으로 사료된다. Choi et al. (2015)은 ITCs를 0.5 mL, 0.75 mL, 1.00 mL를 첨가한 polypropylene film으로 처리한 명란젓갈의 관능평가에서 종합적 기호도는 0.5 mL 첨가구가 5.29로 가장 높았고, 0.75 mL 첨가구는 5.14이었으나, 1.00 mL 첨가구는 강한 자극적 냄새 때문에 이들보다 낮은 종합적 기호도를 나타내었다고 보고한 바 있는데, 본 연구의 결과도 이와 유사한 경향을 나타내었다.

이상의 결과를 종합하면, ITCs 함유 microcapsule을 1.00% 첨가하였을 때, 명란젓갈의 유통기한은 대조구에 비하여 일반세균수 기준으로 5°C 에서 22일(Fig. 3A), TVB-N 기준으로 5°C 에서 16일(Fig. 5A), 관능 검사의 종합적인 기호도 기준

으로 5°C 에서 15일(Fig. 6E) 연장되었다. Choi et al. (2015)은 ITCs (200 mg/mL) 함유 polypropylene patch를 이용하였을 때, 명란젓갈의 유통기한을 5°C 에서 4일 연장할 수 있었다고 보고한 바 있는데, ITCs (4.0 mg/mL) 함유 microcapsule을 이용한 본 연구의 유통기한 연장 효과가 더 우수한 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로부터 ITCs 함유 microcapsule이 명란젓갈의 미생물학적, 화학적 유통기한을 연장시키기 위한 효과적인 천연보존료로 활용될 수 있음을 확인하였다.

References

- AOAC. 2000. Official method of analysis of AOAC Intl. 17th ed. Method 942.15. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, U.S.A.
- Arthur CL and Pawliszyn J. 1990. Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal Chem* 62, 2145-2148.
- Bertolini AC, Siani AC and Grosso CRF. 2001. Stability of monoterpenes encapsulated in gum Arabic by spray-drying. *J Agric Food Chem* 49, 780-785. <https://doi.org/10.1021/jf000436y>.
- Cejpek K, Urban J, Velisek J and Hrabcova H. 1997. Effect of sulphite treatment on allyl isothiocyanate in mustard paste. *Food Chem* 62, 53-57. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00181-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00181-7).
- Choi JK, Gornsawun G and Shin IS. 2015. Effect of a polypropylene (PP) Patch containing isothiocyanates (ITCs) extracted from horseradish (*Armoracia rusticana*) root on the shelf-life of low-salt *Myeong-ran Jeotgal*. *Food Sci Biotechnol* 24, 2065-2076. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0275-9>.
- Cho HR, Park UY and Chang DS. 2002. Studies on the shelf-life extension of Jeotkal, salted and fermented seafood. *Korean Food Sci Technol* 34, 652-660.
- Cobb BF and Venderzont G. 1975. Development of a chemical test for shrimp quality. *J Food Sci* 40, 121-124. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb03751.x>.
- Conway EJ and Byrne A. 1933. An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances. *Biochem J* 27, 419-429.
- Duncan DB. 1955. Multiple-range and multiple F-tests. *Biometrics* 11, 1-42. <http://dx.doi.org/10.2307/3001478>.
- Goncalves MPJC, Pires ACDS, Soares NDFF and Araujo EA. 2009. Use of allyl isothiocyanate sachet to preserve cottage cheese. *J Foodservice* 20, 275-279. <https://doi.org/10.1111/j.1748-0159.2009.00150.x>.
- Hong WJ and Kim SM. 2013. Quality characteristics, shelf-life, and bioactivities of the low salt squid *Jeot-gal* with natural plant extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42, 721-729. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.5.721>.
- Jin YH, Kwon OC, Sung NJ, Shin JH and Kang MJ. 2001. Ef-

- fect of garlic on quality of low salted anchovy. 1. Changes of general composition, titrable acidity and sensory evaluation. *Culinary Res* 7, 49-70.
- Jo C, Lee DH, Kim JH, Ahn HJ and Byun MW. 2004. Quality attributes of low salt Changran Jeotkal (aged and seasoned intestine of Alaska pollock, *Theragra chalcogramma*) developed using gamma irradiation. *Food Cont* 15, 435-440. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00118-X](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00118-X).
- Kim SM and Lee GT. 1991. The shelf-life extension of low-salted Myungran-jeot. 1. The effects of pH control on the shelf-life of low-salted Myungran-jeot. *J Kor Fish Soc* 30, 459-465.
- Kim YS, Ahn ES and Shin DH. 2002. Extension of shelf life by treatment with allyl isothiocyanate in combination with acetic acid on cooked rice. *J Food Sci* 67, 274-279. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11397.x>.
- Ko JA, Koo SY and Park HJ. 2008. Effects of alginate microcapsulation on the fibrinolytic activity of fermented soybean paste (Cheonggukjang) extract. *Food Chem* 111, 921-924. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.005>.
- Ko JA, Kim WY and Park HJ. 2012. Effects of microencapsulated Allyl isothiocyanate (AITC) on the extension of the shelf-life of kimchi. *Inter J Food Microbiol* 153, 92-98. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.021>.
- Lu F, Liu D, Ye X, Zhu J and Li X. 2009. Alginate-calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fish northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4°C. *J Sci Food Agr* 89, 848-854. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3523>.
- Mari M, Leoni O, Bernardi R, Neri F and Palmieri S. 2008. Control of brown rot on stone fruit by synthetic and glucosinolate-derived isothiocyanates. *Postharvest Biol Tec* 47, 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.06.003>.
- Mazza G. 1984. Volatiles in distillates of fresh, dehydrated and freeze dried horseradish. *Can Insti Food Sci Tech J* 17, 18-23. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(84\)72310-8](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(84)72310-8).
- McNamee BF, O'Riordan ED and O'Sullivan M. 2001. Effect of partial replacement of gum arabic with carbohydrates on its microencapsulation properties. *J Agric Food Chem* 49, 3385-3388. <https://doi.org/10.1021/jf001003y>.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2019. Korean food standards codex. Retrieved from http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_01.jsp on Jun 17, 2019.
- Miyazaki S, Yamaguchi H, Yokouchi C, Takada M and Hou W. 1981. Sustained release of indomethacin from chitosan granules in beagle dogs. *J Pharma Pharmacol* 40, 642-643. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1988.tb05325.x>.
- Muguerza E, Fista G, Ansorena D, Astiasaran I and Bloukas JG. 2002. Effect of fat level and partial replacement of pork back fat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Sci.* 61, 397-404. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00210-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00210-8).
- Nadarajah D, Han JH and Holley RA. 2005. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in packaged ground beef by allyl isothiocyanate. *Int J Food Microbiol* 99, 269-279. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.08.019>.
- Ouchi T, Bamba T and Fujimoto M. 1989. Synthesis and antitumor activity of chitosan carrying 5-fluorouracils. *Makromol Chem* 190, 1817-1825. <https://doi.org/10.1002/macp.1989.021900807>.
- Rosenberg M, Kopelman IJ and Talmon Y. 1990. Factors affecting retention in spray-drying micro-encapsulation of volatile materials. *J Agric Food Chem* 38, 1288-1294. <https://doi.org/10.1021/jf00095a030>.
- Shin J, Harte B, Ryser E and Selke S. 2010. Active packaging of fresh chicken breast, with allyl isothiocyanate (AITC) in combination with modified atmosphere packaging (MAP) to control the growth of pathogens. *J Food Sci* 75, 65-71. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01465.x>.
- Shofran BG, Purringtin ST, Bredit F and Fleming HP. 1998. Antimicrobial properties of sinigrin and its hydrolysis products. *J Food Sci* 63, 621-624. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1998.tb15798.x>.
- Turgis M, Han J, Caillet S. and Lacroix M. 2009. Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*. *Food Cont* 20, 1073-1079. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.02.001>.
- Yang JH and Lim JP. 1998. Antibacterial effect of calcium alginate microcapsule containing chitosan. *J Kor Pharm Sci* 28, 151-158.