*Kor. J. Food Hygiene 6(1), 67-72(1991)*

# 어묵에 처리한 grapefruit 종자추출물의 보장효과

조성환 · 주인생 · 서일원* · 김재욱**

경상대학교 식품공학과 · (주) 아비콘 케미* · 서울대학교 식품공학과**

# Preservative Effect of Grapefruit Seed Extract on Fish Meat Product

**Sung-Hwan Cho, In-Saeng Joo, Il-Won Seo* and Ze-Wook Kim****

*Department of Food Science Technology, Gyeongsag National University jinju, 660-701, Korea*

**ABCON CHEMIE Co., Ltd, 16-2 Yoido-dong, Yungdeungpo-gu, Seoul, 150-010, Korea*

***Seoul National University, Suwon 440-744, Korea*

**ABSTRACT—This study was carried out to investigate the preservative effect of grapefruit seed extract on fish meat product.**

**The effect of GFSE has been tried on fish meat product divided into three lots; Control (no treatment), 500 ppm and 1,000 ppm of GFSE-treated samples.**

**The results were summarized as follows;**

**1. During the storage of fish meat product, chagnges of crude protein contents of GFSE-treated samples were smaller than the control.**

**2. Texture was inclined to decrease as the storage period goes, the decrease ratio of GFSE-treated samples was smaller than the control.**

**3. SDS-PAGE patterns of fish meat product treated with or without GFSE showed that Mw 30,000-32,000 of major proteins were hydrolyzed and disappeared.**

**The deterioration of fish meat product proteins occured in the storage period of 2 days in the control and 4-5 days in GFSE-treated samples.**

**Conclusivery, the excellent preservative effects of GFSE on fish meat product were shown in the rheological, chemical test and sensory evaluation.**

**Keyword□Preservative effect, grapefruit seed extract, fish meat product**

오늘날 부패성 및 병원성 미생물의 오염에 따른 부패 또는 중독현상은 의약분야에서 뿐만 아니라 축산의학, 농산물 및 수산물의 저장 등 광범위한 영역에서 당면하고 있는 문제중의 하나이다.

따라서, 각종 부패성 및 병원성 미생물에 대한 강력한 살균력과 동시에 안전성을 가진 소독제의 개발이 진행되어 오고 있으나, 현재까지 부패성 및 병원성 미생물의 증식을 억제하려는 의도하에서 사용되어지고 있는 대부분의 화학방부제는 안전한 첨가량 범위내에서는 효과가 적고 처리효과가 있는 농도 수준에서는 잔류독성이 문제되어 오고 있다. 이러한 점을 고려하여 볼 때 이상적인 소독제란 미생물의 오염방지나 방부효과가 요구되는 여러 가지 광범위한 제품이나 분야에서의 처리효과와 아울러 무독성 및 안전성이 입증될 수 있어야 하며 이러한 취지에서 천연추출물을 대상으로 연구가 진행되어 오고 있는데 그 중의 하나가 grapefruit 종자추출물(이하 GFSE)로서 이것은 강력한 살균력을

Received for pulication 25 January, 1991

Reprint request; Dr. S.H. Cho at the above address

가지고 있을 뿐만 아니라 항생효과 및 강장효과, 독물에 대한 중화효과, 백혈구의 항균력 증강 등 살균소독제로서의 구비조건을 고루 갖추고 있을 뿐만 아니라 감귤류 과일 종자로부터 추출조제한 식물성 천연살균소독제로서 독성이 없고 비금속성이며, 무색무취의 천연유기혼합물로서 사람과 동물에게 전혀 해를 끼치지 않으며, 환경오염의 원인이 되지도 않는다.

또한 GFSE는 ascorbic acid, tocopherol 등을 상당량 함유하고 있어 농수산물의 저장 중 일어날 수 있는 자동산화를 방지하여 부패성 및 병원성 미생물의 세포벽 및 세포막의 기능을 약화시키고 효소활동을 억제하고 DNA/RNA에서 비롯되는 세포증식기작을 방지하여 세균, 곰팡이 등에 살균효과를 나타내며, 곰팡이의 생육 및 독소합성에 저해효과를 가진다고 보고한 바 있으며, 수산물에 대한 항균 및 항산화 효과, 공장폐수 등의 살균 및 정화작용에 관한 연구보고가 많이 발표되어 있으나 실제로 식품보존에 관련된 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 grapefruit 종자추출물의 방부효과를 검토하기 위하여 가공식품 중 부패하기 쉬운 어묵을 선택하여 grapefruit 종자추출물을 각 농도별로 일정 기간 동안 침지, 처리한 후 일정온도에서 저장하면서 어묵의 물리, 화학적 변화를 검토한 결과를 보고하는 바 이다.

## 재료 및 방법

**Grapefruit seed extract의 조제**—브라질산 grapefruit를 구입하여 그 과육부를 제거하고 분리한 종자들을 수거하여 물로 세척한 다음 적외선등이 장치되어 있는 60-70℃의 건조실에서 30-60분 동안 drum-drying을 행하여 건조시킨 grapefruit 종자를 5℃ 이하의 온도가 유지되는 저온실에서 특정한 milling system으로 80-320 mesh 크기로 분쇄하여 조등의 방법에 따라 GFSE를 조제하고 사용목적에 알맞도록 탈이온 2차 증류수로 희석하여 일정한 농도의 GFSE용액을 만들어 본 실험의 시료용액으로 사용하였다.

**시료어묵의 처리**—본 실험에 사용한 어묵시료는 시중에 판매되고 있는 3개 회사 제품을 무작위로 채취, 구입하여 1.5×1.5×1.5 cm의 크기로 절단하여 grapefruit 종자추출물을 처리하지 않은 대조구와 GFSE을 500 ppm, 1,000 ppm 농도로 처리한 처리구용액에 1시간 동안 침지시킨 후 꺼내어 실온에서 저장하면서 본 실험의 분석용 시료로 사용하였다.

**단백질의 분리 및 전기영동**—GFSE를 처리하여 저장기간 중 단백질의 분리는 Camou 등의 방법을 사용하였다. 즉, 분쇄한 시료를 soxhlet 장치에서 ethyl ether로 24시간 동안 탈지시킨 다음 탈지시료 20g에 추출용매 (0.56 M NaCl, 17.8 mM $Na_5P_3O_{10}$ 1 mM $NaN_3$) 44 ml을 가하여 4℃에서 30초 동안 균질화시킨 후 다시 1시간 동안 교반하면서 추출하고 6,000 rpm으로 원심분리한 후 잔사를 다시 위 과정을 3번 반복한 다음 그 상등액을 모아 48시간 동안 증류수로 투석시킨 후 동결건조하여 본 실험의 전기영동용 시료로 사용하였다.

전기영동용 전개용매는 SDS-Tris-glycine buffer (Tris 0.303%, Glycine 14.4%, SDS 0.1%, pH 8.3)을 사용하였으며 Laemmli discontinuous electrophoresis 방법에 따라 2.5%의 stacking gel과 7.5%의 separating gel을 사용하였으며 gel의 길이는 12 mm의 stacking gel zone과 80 mm의 separating gel zone을 가진 지름 5 mm의 disc geld을 사용하였다.

분획한 단백질을 62.5 mm tris-HCl buffer (pH 6.8)에 protein 농도가 1-1.5 mg/ml이 되게 용해시켜 50 μl을 취한 후 10% SDS 10 μl, 2-mercaptoethanol 5 μl을 첨가하여 100℃의 수조상에서 5분간 가열한 다음 급속히 냉각하고 50% glycerin 2-3 방울과 0.1% bromo phenol blue (BPB) 용액 10 μl을 가하여 vortexing하고, 단백질 분자량 결정을 위한 standard protein도 같은 양의 sodium dodecyl sulfate (SDS), glycerol, 2-mercaptoethanol, BPB를 첨가하여 2분간 가열한 다음 전기영동 장치에서 gel당 2-4 mA의 전류에서 dye line이 bottom에 도달할 때까지 전기영동하였다.

전기영동을 마친 후 0.05% coomassie blue R-250 용액에서 1시간 동안 염색시킨 후 10% acetic acid와 10% MeOH 용액에서 24시간 동안 탈색시킨 다음 densitometer로 598 nm에서 Table 1과 같은 분석조건으로 gel을 scanning하였다.

**Texture 변화측정**—Texture 측정을 위한 Instron texturemeter의 기기분석조건을 Table 2 에 나타내었으며, 이로부터 얻어지는 force-distance curve로부터 해당면적을 planimeter로 측정하여 hard-

**Table 1. Instrument operating condition for scanning densitogram**

| | |
|---|---|
| Instrument | Chromoscan 3(Joyce-Loeble LTD., England) |
| Scan length | 80 mm |
| Aperture width | 0.05 |
| Mode | Absorbance |
| Max. Absorbance | 1.0 |
| Graphic output | Normal |
| Peak/through thresholds | Height: 5, Width : 4, Noise : 1 |

**Table 2. Conditions employed for texture profiles using the Instron texturemeter**

| | |
|---|---|
| Testing Instrument | Instrument model 1,000 |
| Samples size | 1.5×1.5×1.5 cm |
| % deformation | 75 |
| Cross head speed | 100 mm/min |
| Chart speed | 100 mm/min |
| Number of bite | 2 |
| Area compensation | 400 |
| Weight of load cell | 50 kg |

**Table 3. Proximate compositions of fish meat product(%)**

| | Moisture | Crude protein | Crude fat | Crude ash |
|---|---|---|---|---|
| Raw fish meat product | 73.2 | 14.7 | 1.1 | 13.0 |

**Table 4. Changes of crude protein of fish meat product during storage time(days) at room temperature (%)**

| GFSE conc | 1(day) | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| Control | 14.5 | 13.9 | 13.1 | 12.0 | 10.8 |
| 500 ppm | 14.6 | 14.4 | 13.0 | 12.7 | 11.8 |
| 1,000 ppm | 14.6 | 14.5 | 13.9 | 13.4 | 13.2 |

ness는 시료를 정해진 가압률까지 가압하는데 필요한 제1변형곡선의 최고점의 높이(kg)로 나타내며, britleness는 시료를 정해진 가압률까지 가압할 때 제1변형곡선의 첫번째 곡선의 최고점의 높이로(kg), cohesiveness는 제1변형곡선의 면적에 대한 제2변형곡선의 면적비로 계산하였다. 그리고 elasticity는 제2변형곡선의 개시점으로부터 최고점까지의 거리

**Table 5. Changes of texture value during storage of fish meat product treated with grapefruit seed extract**

| | Days conc. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| H | Control | 43.2 | 13.5 | 13.2 | 4.1 | 4.0 |
| | 500 | 43.5 | 29.8 | 22.5 | 13.5 | 7.5 |
| | 1,000 | 47.3 | 39.8 | 25.2 | 19.9 | 12.5 |
| E | Control | 2.25 | 2.24 | 1.98 | 1.96 | 1.96 |
| | 500 | 2.43 | 2.45 | 2.47 | 2.45 | 2.44 |
| | 1,000 | 2.37 | 2.45 | 2.58 | 2.50 | 2.48 |
| B | Control | 4.2 | 3.8 | 3.6 | 2.8 | 1.8 |
| | 500 | 5.2 | 4.5 | 4.5 | 3.7 | 3.2 |
| | 1,000 | 6.7 | 6.2 | 6.0 | 4.7 | 4.5 |
| C | Control | 0.37 | 0.26 | 0.24 | 0.21 | 0.20 |
| | 500 | 0.42 | 0.36 | 0.34 | 0.30 | 0.25 |
| | 1,000 | 0.43 | 0.39 | 0.38 | 0.35 | 0.35 |

*H: Hardness, E: Elasticity, B: Britleness, C: Cohesiveness

로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

**어묵의 일반성분 및 조단백함량 변화**—본 실험의 실험재료로 사용된 어묵의 일반조성은 Table 3과 같으며 이를 GFSE용액을 처리한 후 저장 중 조단백함량 변화는 Table 4 에 나타내었다.

저장 기간이 길어질수록 대체로 조단백함량은 감소하였으나, GFSE용액을 처리하지 않은 대조구에 비하여 GFSE용액을 500 ppm, 1,000 ppm 농도로 처리하였을 경우 조단백함량의 변화는 작았다.

한편, 이러한 결과는 grapefruit 종자추출내에 함유되어 있는 ascorbic acid의 미생물 생육억제 효과로 인하여 단백질의 가수분해를 방지하여 주므로 $NH_3$ gas의 발생을 감소시킬 수 있었던 것으로 사료된다.

**Texture 변화**—GFSE용액을 농도별로 침지, 처리한 후 5일 동안 저장 기간중 texture변화를 GFSE처리시험구인 대조구(control)와 함께 instron texturemeter를 이용하여 얻어지는 force-distance curve로부터 기계적 성질을 측정값으로 산출한 결과를

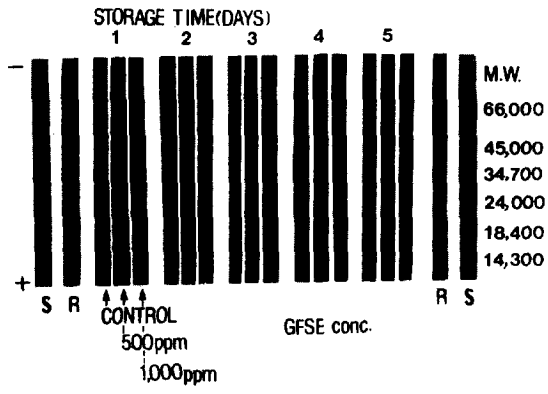


**Fig. 1 SDS-PAGE patterns of protein of fish meat products treated with during 5-day-storage**
S: Molecular weigth marker
R: Protein pattern of fresh fish meat product

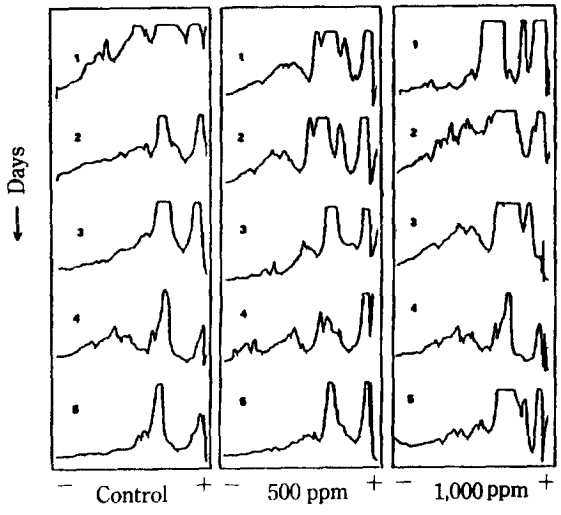


**Fig. 2. Densitogram of SDS-PAGE pattern of fish meat protein treated with or without grapefruit seed extract during 5-day-storages at room temperature**

Table 5 와 같다.

Hardness는 저장기간이 경과할수록 감소하는 경향을 나타내었으나 대조구의 경우 저장기간이 2일째부터 급속한 감소를 나타낸 반면 GFSE용액을 500, 1,000 ppm 농도로 처리한 처리구의 경우, 처리농도가 높을수록 감소율은 작았다. 한편, elasticity와 britleness는 저장기간이 경과함에 따라 대조구와 GFSE처리시험구 간에 유의성있는 차이를 볼 수 있으며, 모든 시험구에서 1일 경과시 elasticity가 크게 감소하였으며 2일 이후 커다란 변화가 없었다. GFSE처리시험구의 경우 대조구에 비하여 저장기간의 5일 동안 높은 elasticity값을 유지하였으며 1,000 ppm의 GFSE용액처리시험구 시료는 뚜렷한 elasticity값의 변동없이 견고한 조직의 조밀도를 나타내고 있었다.

아울러, britleness의 변화는 저장기간 동안 모든 시험구에 있어서 계속 감소하는 것으로 나타났으며 대조구 저장 5일 동안 급격한 감소를 보이고 있는 반면 GFSE용액처리시료는 완만한 감소변화를 나타내고 4일째 이후 변화가 둔화되어 대조구보다 2배 이상의 높은 값을 유지하였다. 또한, cohesiveness도 다른 texture 특성과 유사한 변화관계를 보였으며, 특히 2일 경과시 대조구는 급격히 감소한 반면 GFSE용액을 500, 1,000 ppm 농도로 처리한 처리구의 경우 감소율은 작았다. 따라서, 어묵제조시 처리하는 GFSE용액의 농도와 저장기간을 고려함으써 제품의 기호성이 우수한 물리적 조직감을 개선하고 품질보존 효과를 유도할 수 있을 것으로 사료된다.

**어묵단백질의 SDS-PAGE pattern 변화**—Gragpfruit 종자추출물을 각 농도별로 1시간 동안 침지, 처리한 후 저장 중 단백질의 SDS-PAGE pattern 변화를 Fig. 1에 나타내었다.

신선한 어묵 protein의 경우 분자량 30,000-32,000의 major band와 17,700, 35,000, 43,000-45,000과 60,000-78,000 등의 7개의 minor band를 나타내었으나 저장기간이 경과할수록 대조구의 경우 major band는 점차 minor band로 분리되었으며 minor band는 거의 소멸되었다. 그러나 500 ppm처리구의 경우 minor band는 점차 소멸되었으나, major band는 약간 분리되어 minor band로 변화하였다.

한편, 1,000 ppm처리구의 경우 3일이 경과할때까지 거의 변화가 없다가 4일째부터 minor band는 점차 변화하였으나 major band의 경우 거의 변화가 없었다. Grapefruit 종자추출물 처리하지 않은 대조구와 500 ppm, 1,000 ppm 농도로 처리한 처리구의 SDS-PAGE pattern을 densitogram으로 Fig. 2에 나타내었다. 대조구의 경우 분자량 17,700, 35,000, 43,000-45,000 등의 7개의 minor band는 저장기간이 경과함에 따라 소멸되거나 점차 변화하였으며, major band 역시 변화하여 minor band로 분리되었으

나, grapefruit 종자추출물을 500 ppm 농도로 처리한 경우 저장기간이 3일이 경과할때까지 major band 및 minor band의 변화는 적었으며 3일 이후 minor band는 변화하여 소멸되었으며 major band 또한 분리되어 minor band로 변화하였다. 그러나 grapefruit 종자추출물을 1,000 ppm 농도로 처리한 경우 저장기간이 경과하여도 큰 변화는 없었다.

이상의 결과에서 나타난 GFSE의 어묵에 대한 방부효과는 grapefruit 종자추출물의 함유물인 ascorbic acid의 환원작용 결과 생성된 세포독성 물질인 hydroxy radical 등에 기인할 수 있는 것으로 검토될 수 있으며, 이를 이용한 식품의 품질보존 및 부패성 미생물에 의한 변패 등을 방지할 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 1990-1991년 재단법인 율촌 장학회의 지원으로 이루어졌습니다.

## 국문요약

어묵에 grapefruit 종자추출물을 농도별로 첨지, 처리한 후 저장기간에 따른 물리, 화학적 변화를 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 저장기간 중 어묵의 조단백함량 변화는 대조구에 비하여 GFSE의 처리농도가 높을수록 더 작았다.
2. Texture는 저장기간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타내었으나 GFSE 용액처리구에서는 감소율이 낮았다.
3. 어묵 단백질의 SDS-PAGE pattern 변화는 저장기간이 경과함에 따라 분자량, 30,000-32,000의 protein은 점차 가수분해되어 소멸되는 현상을 보였으며 특히 대조구의 경우 2일 경과 후부터 급격한 분해가 이루어져 단백질 major band의 손실율이 크게 증가한 것으로 나타난 반면, GFSE처리시험구의 경우 4일 경과시에야 비로소 뚜렷한 손실반응을 보여 GFSE처리에 의하여 어묵단백질의 변패 발생 시기를 상당 기간 연장함을 확인할 수 있었다.

## 참고문헌

1. Slavik, M.E.: Effectiveness of Grapefruit seed extract in eliminating *Salmonella typhimurium* from chicken carcasses. The results of trials tested in the Agricultural Experiment Station, Univ. of Arkansas (1988).
2. Harich, J. 1980. DF-100. S. Patent, 1, 354, 818, FDA No. R-0013982 (1982).
3. Duun, G.R.: The acute oral toxicity, skin irritation and corrosivity and scute eye irritation studies of DF-100. Project No. 10623 prepared by Bioassay systems corporation (1981).
4. Carson, J.R.: DF-100 as a domestic wastewater disinfectant. Analytical data in water & wastewater operation, Armadilo environmental services, Florida, U.S.A. (1985).
5. Lee, T.E.: Efficacy report of DF-100. Conferenceof genetics & cell biology, Univ. of Malaya, Kuala Lumpur (1987).
.6. Aquiar, L.A.B.: Inhibition of Aspergillus flavus production of aflatoxin with DF-100. IX Latin American Microbiological Congress, Sao Paulo, Brazil (1983).
7. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생. : Grapefruit 종자추출물이 *Penicillium islandicum* 생육 및 독소성분 *skyrin* 생합성에 미치는 저해효과. 한국농화학회지. **33**(2), 169(1990).
8. 조성환, 서일원, 최종덕, 주인생. : 수산물에 대한 Grapefruit 종자추출물의 항균 및 항산화 효과. 한국수산회지, **23**(4), 289(1990).
9. 최종덕, 서일원, 조성환. : Grapefruit 종자추출물의 항균성에 관한 연구. 한국수산학회지. **23**(4), 297 (1990).
10. J.P. Camou, et al.: Effect of heating rate and protein concentration on gel strength and water lose of muscle protein gels. J. of Food Sci., **54**, 850 (1989).
11. Jaques Landry. et al.: Relationship between alchol-soluble proteins extracted from maize endosporum by different methods. *J. Agric. Food chem.* **31**, 1317 (1983).
12. Davis, B.J.: Disc electrophoresis II., Method and application to human serum proteins. *Acad. Sci.,*

**121**, 404 (1964).
13. Bourne, M.C.: Texture profiles of ripening pears. *J. Food. Sci.* **33** (2), 323 (1968).
14. Breene, W.M.: Application of texture profiles analysis to instrumental food texture evaluaion, *J. Texture study,* **6**, 53 (1975).
15. Kapsalis, J.G., J.E. Walker and M. Wolf.: A Physicochemical study of the mechanical properties of low and intermediate moisture food. *J. Texture study,* **1**, 464 (1970).
16. Mohesenin, N.N: Physical properties of plant and animal material Vol.1. Structure, physical characteristics and mechanical properties. Gorden and Breech. Science Pub., N.Y., U.S.A. (1970).