

## 발효빵에 첨가한 Carboxymethyl Chitosan이 품질에 미치는 영향

이경혜 · 이영춘\*

동남보건전문대학 식품가공과, \*중앙대학교 식품공학과

### Effect of Carboxymethyl Chitosan on Quality of Fermented Pan Bread

Kyoung-Hae Lee and Young-Chun Lee\*

Department of Food Technology, Dong Nam Health College

\*Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University

#### Abstract

Carboxymethyl chitosan (CMC) was added to pan bread, prepared by the straight-dough method, and its effects on shelf-life, retrogradation, antimicrobial activity, water activity, and sensory quality of pan bread were evaluated. The results of differential scanning calorimetry (DSC) and thermoconstanter analysis for retrogradation indicated that shelf-life of pan bread was significantly extended by addition of CMC. Growth of microorganisms, including bakery molds (*Aspergillus*, *Penicillium*, etc.) was significantly inhibited by adding CMC to pan bread. Sensory color, off-flavor and overall acceptability of pan bread were stable during storage. However, sensory texture of control was significantly different from that of sample with added CMC.

Key words: carboxymethyl chitosan, DSC, sensory quality, fermented pan bread

#### 서 론

키토산은 분자량이 약 10만이상인 중합체로 천연다당계열의 고분자인 키틴을 진한 수산화나트륨 용액으로 탈아세틸화<sup>(1)</sup>하여 얻어진 2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glucosamine의 반응성이 높은 amino기를 갖기 때문에 각종 유도체를 용이하게 만들 수 있어 식품산업분야, 의약품 및 화장품 등에 이르기까지 광범위하게 응용할 수 있는 신소재로 주목받고 있다. 특히, 새우, 게와 같은 갑각류 가공 폐기물의 전세계 생산량은 연간 약 4만톤 가량<sup>(2)</sup>이며 키틴은 물, 유기용매에는 녹지 않으며, 키틴을 탈아세틸화한 키토산은 물이나 알콜에는 용해되지 않지만 ascorbic acid, formic acid와 같은 유기산 용액이나 묽은 염산과 같은 무기산에 용해되어 고점성의 용액이 되므로 식품첨가물로 사용하기에는 여러가지 어려움이 있다. 식품에 적용하기 위한 안전성에 관한 연구로 Lanes와 Bough<sup>(3)</sup>는 키토산의 안전

성의 경우 실험동물에 대하여 5%의 첨가수준에서는 신체적으로 유해한 증상은 없었다고 보고한 바 있다. 그 외에도 저분자량 키토산을 물김치 등에 첨가한 결과 제품의 저장수명을 연장할 수 있다고 조<sup>(4)</sup>는 보고하였으며, Knorr<sup>(5)</sup>는 키틴과 키토산의 흡수성 등을 조사한 결과 기능성 식품첨가물로 이용이 가능하다고 보고한 바 있다. 또한 색소, 이물질 등을 흡착하는 성질<sup>(6)</sup>, hypocholesterolemic factor로 작용하여 고혈압을 치유하는 효과<sup>(7-11)</sup>, 세포의 활성을 증진시켜주고 질병에 대한 저항력 및 면역성을 향상시키는 면역부활효과<sup>(12)</sup>, 장내에서 *Bifidobacteria*의 증식을 향상시키는 효과<sup>(13)</sup>, 항균작용<sup>(14)</sup>, 난소화성<sup>(15)</sup>, 제산작용<sup>(16-18)</sup> 등 다양한 생리적 특성이 밝혀진바 있어 기능성 식품에 이용 가능성이 클 것으로 생각된다.

이와같이 키토산은 여러가지 생리적인 특성을 갖는 기능성 중합체로 본 연구에서는 식품첨가물로 응용성을 높이기 위하여 수용성이고 제품의 점성에 영향을 미치지 않으며, 맛과 냄새의 변화를 주지않는 키토산계의 유도물질로 carboxymethyl chitosan (CMC)을 제조하여 이를 제빵에 적용하므로써 제품의 품질수명을

Corresponding author: Kyoung-Hae Lee, Department of Food Technology, Dong Nam Health College, 695-1 Jungjodong, Jangan-gu, Suwon, Kyonggi-do 440-714, Korea

연장시키는데 미치는 영향요인 중 노화도, 항균성 및 관능적인 특성 등을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 균주

CMC의 항균특성을 알아보기 위하여 세균류는 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Enterococcus faecalis*를 사용하였으며, 곰팡이는 *Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*, 효모는 *Sacchomyces cerevisiae*를 균주로 사용하였으며, 이들 균주는 유전자은행(KCTC)과 한국중균협회부설 미생물보존센터(KCCM)로부터 구입하였다.

### CMC의 제조

CMC의 제조에 사용한 키토산은 계로부터 추출한 것으로 10 g을 4°C에서 0.2%의 dodecyl sulfate sodium salt (DSSS)를 포함하는 60%의 수산화나트륨용액에 분산시켜 약 1시간동안 반응시킨 후 -20°C로 냉

동한 다음 2-propyl alcohol을 첨가하여 실온에서 분쇄하고, monochloroacetic acid로 중화시킨 후 생성물을 여과하고 에탄올로 세척하였다. 여기에 증류수를 가하여 원심분리한 후 불용성물질을 제거하고 아세톤을 서서히 가하여 교반하면서 crude 상태의 물질을 얻었다. 이것을 증류수로 용해시켜 투석한 후 냉동건조, 분쇄하여 CMC를 얻어 공시재료로 사용하였다(Fig. 1). CMC의 수율은 원료물질 키토산의 무게에 대한 CMC의 회수량으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

### 항균력 측정

항균력 측정은 CMC가 0, 0.1, 0.5%로 첨가하여 세균은 nutrient broth, 곰팡이는 malt extract, 효모는 YPD 배지에서 세균은 37°C, 곰팡이는 25°C, 효모는 30°C의 온도에서 48시간동안 진탕배양하였다. 배양액을 200 µL씩 3 mL의 각각의 배지에 가하여 4°C에서 5,000 rpm으로 5분간 원심분리한 상등액을 0.85%의 생리식염수로 3회 수세하여 650~700 nm에서 흡광도(O.D.)를 측정하였다. 또한 총균수는 O.D. 측정시와 같은 조건의 배지에서 배양한 후 측정하였다.

### 빵의 제조

원료밀가루는 강력분(대한제분)을 사용하였고, 대조구는 강력분에 대하여 설탕 4%, 탈지분유(서울우유) 4%, 압착효모 4%, 물 60%, 식염 2%, 쇼트닝 4%, yeast food 1% 이하가 되도록 배합 반죽하여 직접반죽법에 따라 식빵을 제조하였다. 처리구는 CMC 0.1%, 0.5%를 원료로 사용되는 물에 녹여서 대조구의 배합에 첨가하였다.

### Differential Scanning Calorimetry (DSC)

발효빵의 일종인 식빵의 노화에 CMC가 미치는 영향을 조사하기 위하여 DSC(Dupont Co., 910DS, USA)를 사용하여 노화특성을 살펴보았다. 제빵직 후 4°C에서 일정시간 저장한 후 시료를 일정량의 증류수와 혼합하고 15 µL의 시료를 hermetic aluminum pan에 넣고 sample encapsulating press (Dupont Co., USA)를 이용하여 밀봉하였으며, reference pan에는 시료와 동량의 증류수를 가하여 사용하였다. 이때 시료는 10°C/min의 속도로 25°C에서 150°C까지 가열하였으며, 감도는 16 µV/cm 또는 32 µV/cm로 하였고 endothermic peak의 면적은 planimeter로 측정하였다. DSC 측정전의 시료는 25°C에서 1시간 방치한 후 사용하였으며 각 시료당 4회 반복측정하였다.

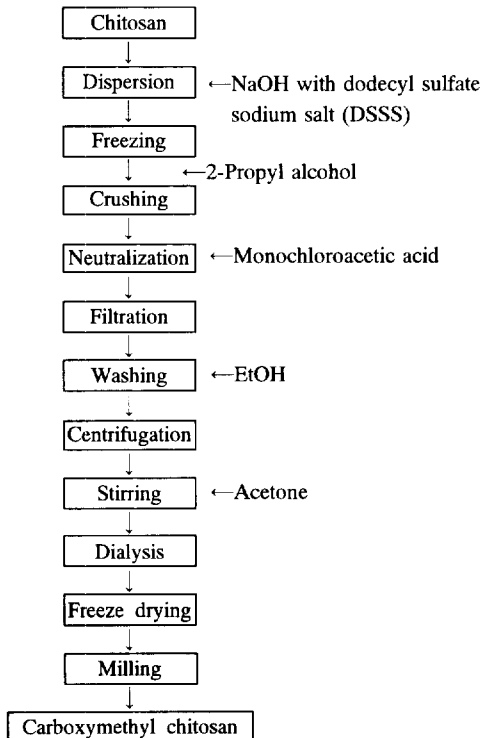


Fig. 1. Schematic diagram for the production of carboxymethyl chitosan (CMC)

**수분활성도(A<sub>w</sub>)의 측정**

수분활성도의 측정은 정 등<sup>(19)</sup>의 방법을 사용하여 식빵을 일정기간 저장하면서 알루미늄용기(직경 45 mm, 길이 55 mm)에 넣어 25°C의 항온하에서 thermoconstanter TH200 (Novasina Co., Swiss)를 사용하여 측정하였으며, filter는 알콜용 evalc-1을 사용하였다.

**관능검사**

압착효모를 팽창제로 사용하여 직접반죽법에 따라 제조한 식빵을 대조구로 하고 여기에 CMC를 첨가한 처리구의 관능적 품질평가방법을 위하여 20명의 훈련된 패널요원들을 동원하여 평점법으로 실시하였으며, 관능검사의 통계분석은 분산분석법<sup>(20)</sup>을 이용하여 유의성의 유무를 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**CMC의 제조 수율**

중량법으로 계산한 CMC의 수율은 5회 측정한 결과 평균 약 75%이었다(Table 1).

**CMC의 항균효과**

CMC의 항균활성을 알아보기 위하여 KCCM 및 KCTC로부터 구입한 *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus nigricans*,

**Table 1. The yield of CMC used for the experiment**

Trials	Percent yield
1	76.15
2	74.37
3	75.67
4	73.78
5	75.29

**Table 2. Growth inhibition demonstrated by CMC on various microorganisms**

Microorganism	Degree of inhibition(%)	
	0.1% CMC	0.5% CMC
<i>Escherichia Coli</i>	33.60	35.00
<i>Salmonella typhimurium</i>	12.08	14.06
<i>Staphylococcus aureus</i>	51.07	53.35
<i>Enterococcus faecalis</i>	32.90	56.56
<i>Penicillium notatum</i>	26.63	55.03
<i>Penicillium chrysogenum</i>	26.65	54.79
<i>Aspergillus niger</i>	40.00	80.71
<i>Rhizopus nigricans</i>	35.57	62.95
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	19.20	26.70

*Aspergillus niger*, *Sacchromyces cerevisiae*를 대상 미생물로 선정하여 nutrient broth, malt extract, YPD배지에 0, 0.1, 0.5%씩 첨가하여 항균력을 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 이때 억제율은 (C-F<sub>1</sub>)/C (C:비첨가구의 흡광도, F:첨가구의 흡광도)로 나타내었다.

빵에서 문제가 되는 곰팡이류인 *Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus nigricans*에 대한 억제효과는 CMC의 첨가량이 증가됨에 따라 현저한 저해효과를 나타냈으며, *E. coli*의 경우 CMC를 첨가한 경우 억제율은 33% 이상으로 나타났으나, CMC 0.1%로 처리한 C-I과 CMC 0.5%로 처리한 C-II에서는 CMC의 증가에 따른 뚜렷한 차이는 없었으며, *Sacchromyces cerevisiae*에 대한 억제효과는 C-I이 19.2%, C-II는 26.9%를 보였다. 이는 김과 조<sup>(21)</sup>의 연구결과와 일치한다는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과로 CMC의 미생물에 대한 억제효과는 미생물에 따라 다르다는 것을 알 수 있었으며, 또한 CMC가 효모에 대하여 억제효과를 나타내므로 *Sacchromyces cerevisiae*를 팽창제로 사용한 발효빵보다는 무발효빵에 첨가하여 제품의 품질수명을 연장시키는데 적용할 수 있을 것으로 평가되었다.

**DSC에 의한 노화도 측정**

식빵을 4°C로 고정된 항온실에서 일정기간동안 저장하면서 DSC로 측정된 노화특성은 Table 3과 같으며, 이때 노화정도는 endothermic peak의 면적을 측정하여 상대적인 노화도를 비교하였다. 저장기간에 따라 enthalphy는 증가함을 보였는데, 이는 Nakazawa 등<sup>(22)</sup>과 현 등<sup>(23)</sup>의 연구결과와 일치함을 보였다. To가 낮은 온도쪽으로 이동하는 것은 호화된 무정형의 전분입자가 수소결합 등을 통하여 결정형으로 되돌아가기 때문이라고 생각된다. 또한 저장기간에 따라 enthalphy는

**Table 3. DSC properties of pan bread containing 0.1 and 0.5% different CMC after 10 and 20 days storage at 4°C**

Treatment	After 10 days storage				After 20 days storage			
	T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	Δ H (cal/g)	T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	Δ H (cal/g)
C-0 <sup>1)</sup>	41.01	47.62	63.00	0.2142	39.00	48.60	60.00	0.2934
C-I <sup>2)</sup>	41.22	47.80	58.00	0.1935	41.18	47.51	61.50	0.2536
C-II <sup>3)</sup>	41.98	47.62	57.60	0.1656	41.17	47.49	61.00	0.2150

<sup>1)</sup>Control.

<sup>2)</sup>Pan bread with 0.1% CMC (carboxymethyl chitosan).

<sup>3)</sup>Pan bread with 0.5% CMC (carboxymethyl chitosan).

T<sub>o</sub>: Onset temperature.

T<sub>p</sub>: Peak temperature.

T<sub>c</sub>: Conclusion temperature.

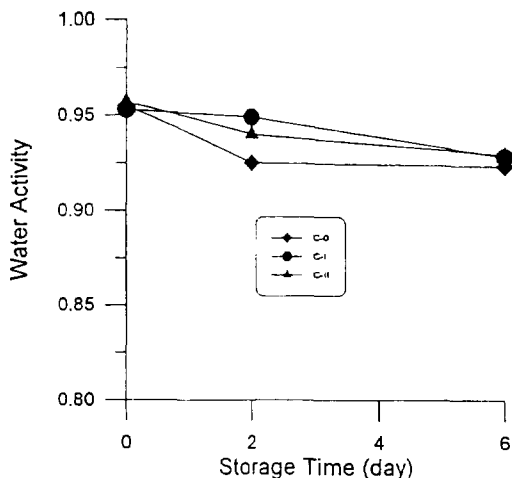


Fig. 2. Changes in water activity of pan bread during 6days at room temperature.

증가하였으나 그 증가폭은 대조구의 경우 처리구에 비하여 높았으며, CMC의 첨가량이 증가함에 따라 저장기간에 따른 enthalpy의 증가폭이 낮게 나타났다. 그러므로 CMC를 0.1%, 0.5%로 첨가한 처리구 C-I, C-II 처리구는 노화가 대조구에 비하여 지연되었음을 알 수 있었다.

**수분활성도의 변화**

직접반죽법에 따라 제조한 식빵을 실온에서 6일간 저장하면서 thermostanster TH200을 사용하여 수분활성도를 측정 한 결과는 Fig. 2와 같다. 저장기간 2일 동안 수분활성도는 대조구와 처리구 C-I, C-II에서 저하하였으나, 그 감소폭은 대조구가 처리구에 비하여 크게 나타났으며, 처리구의 경우 그 저하정도는 미약하게 나타났다. 그러나, 저장 6일째에 처리구 C-I, C-II의 경우도 수분활성도의 감소폭은 거의 비슷할 정도로 나타났으며 대조구의 경우는 저장 2일째와 거의 큰 변화가 없었다. 이상의 결과로 보아 CMC를 식빵에 첨가하면 저장초기에 수분활성도의 변화를 억제할 수 있으나, 저장기간이 길어지면서 그 효과가 감소함을 알 수 있었다.

**관능적 품질평가**

팽창제로 압착효모를 사용하여 직접반죽법에 따라 제조한 식빵의 CMC첨가효과를 알아보기 위하여 대조구와 처리구를 실온에서 일주일간 저장하면서 20명의 훈련된 패널요원을 동원하여 평점법에 따라 관능검사를 실시한 결과는 Table 4~5와 같다. 조직감은 저장 4일째부터 대조구와 CMC를 0.5%첨가한 C-II처리

Table 4. Changes in sensory flavor and off-flavor of pan bread during 6 days of storage at room temperature

Storage time (days)	Flavor			Off flavor		
	C-0	C-I	C-II	C-0	C-I	C-II
0	5.20 <sup>a</sup>	4.95 <sup>a</sup>	5.45 <sup>a</sup>	3.30 <sup>d</sup>	3.45 <sup>d</sup>	3.25 <sup>d</sup>
1	4.55 <sup>a</sup>	4.55 <sup>a</sup>	4.90 <sup>a</sup>	4.15 <sup>d</sup>	4.00 <sup>d</sup>	4.00 <sup>d</sup>
3	4.40 <sup>a</sup>	4.50 <sup>a</sup>	4.80 <sup>a</sup>	4.40 <sup>d</sup>	4.25 <sup>d</sup>	4.10 <sup>d</sup>
6	3.50 <sup>a</sup>	3.50 <sup>a</sup>	3.80 <sup>a</sup>	4.75 <sup>d</sup>	4.80 <sup>d</sup>	4.60 <sup>d</sup>

C-0: Control.  
 C-I: Pan bread with 0.1% CMC (carboxymethyl chitosan).  
 C-II: Pan bread with 0.5% CMC (carboxymethyl chitosan).  
 Note: The same superscripts are not significantly different from each other at 5% level.

Table 5. Changes in sensory texture and overall acceptance of pan bread during 6 days of storage at room temperature

Storage time (days)	Texture			Overall acceptance		
	C-0	C-I	C-II	C-0	C-I	C-II
0	6.20 <sup>a</sup>	5.75 <sup>a</sup>	5.80 <sup>a</sup>	5.70 <sup>d</sup>	5.40 <sup>d</sup>	5.50 <sup>d</sup>
1	6.65 <sup>a</sup>	6.60 <sup>a</sup>	6.30 <sup>a</sup>	5.10 <sup>d</sup>	4.90 <sup>d</sup>	5.15 <sup>d</sup>
3	7.55 <sup>a</sup>	7.10 <sup>ab</sup>	6.65 <sup>b</sup>	5.10 <sup>d</sup>	4.70 <sup>d</sup>	5.00 <sup>d</sup>
6	8.00 <sup>a</sup>	7.65 <sup>ab</sup>	7.20 <sup>b</sup>	3.70 <sup>d</sup>	3.80 <sup>d</sup>	4.15 <sup>d</sup>

C-0: Control.  
 C-I: Pan bread with 0.1% CMC (carboxymethyl chitosan).  
 C-II: Pan bread with 0.5% CMC (carboxymethyl chitosan).  
 Note: The same superscripts are not significantly different from each other at 5% level.

구간에 5%의 수준에서 유의적인 차이를 나타냈고, 대조구와 CMC를 0.1%첨가한 C-I처리구, C-I처리구와 C-II처리구 사이에서는 유의적인 차이가 없었다. 관능검사를 실시한 전기간에 걸쳐 조직감은 대조구와 C-II처리구간에는 5%의 수준에서 유의적인 차이를 보였으나, 향 이취, 전체적인 기호도에서는 저장기간 동안 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

**요 약**

식빵을 직접반죽법에 따라 제조하면서 원료의 혼합공정에 carboxymethyl chitosan (CMC)를 처리하여 제품의 품질수명을 연장시키는데 미치는 영향요인 중 노화도, 항균성 및 관능적 특성, 수분활성도를 조사한 결과는 다음과 같았다. CMC로 처리한 처리구 C-I과 C-II는 대조구 C-0에 비하여 노화가 지연되었으며, 특히 빵의 저장 중 부패의 원인이되는 *Aspergillus*, *Penicillium* 등과 같은 곰팡이의 생육을 억제시켰다. 또한 평점법에 따라 관능검사를 실시한 결과 향, 이취, 전체적인 기호도는 저장기간동안 유의적인 차이를 나타내

지 않았으나, 조직감은 C-0와 C-II 처리구 간에는 5% 수준에서 유의적인 차이를 보였다.

## 문헌

1. Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R.: Deacetylation of chitin. In "Proceedings 1st international conference on chitin/chitosan." MIT Sea Grant Program, Cambridge, Mass (1978)
2. Allan, G.C., Fox, J.R. and Kary, N.: A critical evaluation of the potential sources of chitin and chitosan. In *Proceedings of the 1st international conference on chitin/chitosan*, Muzzarelli, R.A.A. and Pariser, E.R. (Ed.), MIT Sea Grant Program, Cambridge, Mass (1978)
3. Landes, D.R. and Bough, W.A.: Effects of chitosan - a coagulating agent for food processing wastes - in the diet of rats on growth and liver and blood consumption. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **15**, 555 (1976)
4. 조학래 : 저 분자량 키토산의 미생물에 대한 항균력 및 식품보장기능. 부산수산대학교 박사학위논문 (1983)
5. Knorr, D.: Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.*, **47**, 593 (1982)
6. Watkins, T.R. and Knorr, D.: *In vivo* dye-binding of chitin and its effect on gerbil growth and gut function. *Nutr. Pept. Int.*, **27**, 189 (1983)
7. Sugano, T., Fujikawa, Y., Hiratsuji and Y. Hasegawa.: Hypocholesterolemic effects of chitosan in cholesterol-fed rats. *Nutr. Pept. Int.*, **18**, 531 (1978)
8. Sugano, M., Fujiakwa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K. and Funkuda, N.: A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 787 (1980)
9. Kobayashi, T., Otsuka, S. and Yugari, Y.: Effect of chitosan on serum and liver-fed rats. *Nutr. Rept. Int.*, **19**, 327 (1979)
10. Tenningas, C.D., Bridges, S.R., Wood, P.J. and Anderson, J.W.: A comparison of the lipid-lowering and intestinal morphological effects of cholestyramines, chitosan and oat gum in rats. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.*, **189**, 13 (1988)
11. Maezaki, Y., Tsuji, Y., Nakagawa, Y., Kawai, M., Akimoto, T., Tsugita, W., Takekawa, A. Terada, T. and Hara, T.M.: Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1439 (1993)
12. Suzuki, Y., Okawa, Y., Hashimoto, K. and Suzuki, M.: Chitin and chitosan. In *Proceedings of the 2nd international conference on chitin/chitosan*, Hirano, S. Tokura, S. and Tokura, T. (Ed.), The Japanese Society of Chitin and Chitosan, Tottori Univ., Tottori, p.210 (1982)
13. Austin, P.R., Brine, C.J., Castle, J.E. and Zikakis, J.P.: Chitin: New facets of research. *Science*, **212**, 749 (1981)
14. 内田泰: 키티노, 키티사노의 抗菌性, フドケシカル, 1988-2, 22 (1988)
15. Prosky, L., Asp, N.G., Furda, I., DeVries, J.W., Schweizer, T.F. and Harland, B.: Determination of total dietary fiber in foods and food products; Collaboratory Study, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **68**, 677 (1988)
16. 菅野, 道廣: 食品への 應用., 키티노, 키티사노의 開發と 應用, 工業技術會, 76 (1987)
17. 次田 陸志: 키티노質의 新機能と 食品への 有效利用, 別冊 フドケミカル-I, p.100, 食品化學新聞社, 東京 (1987)
18. 菅澤 文雄: 食品産業への 키티노, 키티사노 利用開發의 現狀と 今後の 展望. *ジャパンプドサイエンス*, 1991-1, 26 (1991)
19. 정승현, 장규섭, 박영덕 : 모형식품의 수분활성도 예측, 한국식품과학회지, **25**, 94 (1993)
20. 이영춘, 김광옥 : 식품의 관능검사, 학연사, 서울, p.255 (1989)
21. 김기은, 조문구 : 천연자원에서 추출한 키티탄량과 키티산의 항균활성. 한국산업미생물학회지, **22**, 643 (1994)
22. Nakazawa, F., Noguchi, S., Takahashi, J. and Takada, M.: Gelatinization and retrogradation of rice starch studied by differential scanning calorimetry. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 201 (1984)
23. 현창기, 박관화, 김영배, 윤인화 : 쌀전분의 differential scanning calorimetry. 한국식품과학회지, **20**, 331 (1988)

(1996년 10월 2일 접수)