

수용성 키토산분해물질을 침지액으로 이용한 두부의 저장성 증대

전기환 · 김병용 · 손태일* · 함영태*

경희대학교 식품가공학과, *중앙대학교 생물공학과

The Extension of Tofu Shelf-Life with Water-Soluble Degraded Chitosan as Immersion Solution

Kie Hwan Chun, Byung Yong Kim, Tae Il Son* and Young Tae Hahm*

Department of Food Science and Technology, Kyung Hee University

*Department of Biotechnology, Chung Ang University

Abstract

For the effect of water-soluble degraded chitosan on the shelf-life of tofu, sterilized distilled water, 0.5% degraded chitosan, 0.5% fumaric acid and 0.5% lactic acid used as an tofu-immersion solutions were investigated by microbial counts, pH, and turbidity during the periods of storage at 4°C. After 2 weeks storage, total aerobic microbial counts in tap water and sterilized distilled water used as an immersion solution were 3.8×10^8 and 1.8×10^8 CFU/mL, respectively. In 0.5% fumaric acid and 0.5% lactic acid immersion solutions, the microbial counts were around 10^7 CFU/mL after 2 weeks while the microbial population in 0.5% water-soluble degraded chitosan were, however, 1.6×10^5 CFU/mL after 2 weeks and 1.7×10^7 CFU/mL after 3 weeks. The lag phase of initial contaminated microbes in 0.5% degraded chitosan solution was longer than those of other treatments. The addition of 0.5% fumaric acid and 0.5% lactic acid decreased the initial pH to pH 5.0, while those of tap water, sterilized distilled water and 0.5% degraded chitosan stabilized the immersion solution at around pH 7.2. All initial pH values were decreased during storage and then slowly increased as storage time was increased. The turbidities in all treatments were increased during storage, but the addition of 0.5% degraded chitosan showed the lowest change, compared to other treatments, showing that the water-soluble degraded chitosan has a good antimicrobial effect and has a potential use to extend the shelf-life of tofu product.

Key words: water-soluble degraded chitosan, tofu, immersion solution

서 론

대두단백질의 아미노산조성은 동물성 단백질과 유사하여 곡류 위주의 식생활에서 부족 되기 쉬운 필수 아미노산함량이 높으며⁽¹⁾, 대두의 수용성 단백질을 추출, 응고시킨 두부는 영양가와 소화율이 높고⁽²⁾, 가격이 저렴한 고단백 식품이나⁽³⁾, 비교적 pH가 높고(pH 5.8~6.2) 수분함량이 80~88%로 보존성이 극히 불량하다⁽⁴⁻⁶⁾. 이러한 두부의 저장에 관한 연구로는 침지액의 pH를 조정⁽⁷⁾하거나 두부를 유기산으로 응고시키는 방법⁽⁸⁾, 시판두부를 포장한 후 저온 살균⁽⁹⁾하거나 Ca염으로 응고시킨 두부를 microwave처리한 방법⁽¹⁰⁾이 있다.

이외에 두부 또는 침지액에 보존제를 사용하는 경우도 있는데, 송 등⁽⁶⁾은 두부와 침지액에 Sorbic acid (0.1%)와 nitrofrylacryl amide (0.001%)를 첨가하였을 때 약 100시간까지 저장이 가능하다고 하였으며, 이 등⁽⁸⁾은 응고제와 침지액을 달리하였을 때 초산이 저장성 향상에 효과적임을 보고하였고, Anna 등⁽¹¹⁾은 침지액에 초산이나 초산과 potassium sorbate를 첨가하여 4~7°C에 저장시 21일 까지 저장성이 연장된다고 보고하였다.

그러나 이러한 보고들과는 달리 현재 우리나라에서 유통되고 있는 두부는 그 저장기간이 4~10월은 24시간, 11~3월은 48시간, 냉장에서는 3일을 유통기한으로 권장⁽¹²⁾하고 있는 등 그 저장기간이 극히 짧으므로 저장기간을 연장시키는 연구가 절실히 필요한 실정이다.

근래 천연물질을 이용한 식품 신소재에 대한 관심

Corresponding author: Young Tae Hahm, Department of Biotechnology, Chung Ang University, Daeduck-myun, Ahnseung-gun, Kyunggi-do 456-756, Korea

이 높아지는 가운데 갑각류와 곤충의 표피 및 버섯, 균류의 세포벽에 존재하는 키틴의 응용 가능성이 보고되고 있으며, 이들 물질의 생리 효과에 대한 관심도 커지고 있다. 즉, Knorr 등^(13,14)은 chitin과 chitosan의 흡수성, 지방결합력, 색소흡착력을 조사하여 기능성 식품첨가물로 이용이 가능하다고 보고하였으며, 조⁽¹⁵⁾는 저분자량 chitosan을 물김치, 김치, 두부 등에 첨가한 결과 이들 제품의 수명을 어느 정도 연장시킬 수 있다고 보고하는 등 식품첨가물로서의 키틴계 유도물질의 밝은 이용전망을 보여주고 있다.

본 연구에서는 수용성 키토산 분해물질을 두부침지액에 첨가하여 4°C에 저장하면서 pH와 탁도, 미생물상의 변화를 통해 수용성 키토산 분해물질이 두부의 저장성 향상에 미치는 영향을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

두부 제조에 사용된 대두는 미국 캘리포니아산 수입대두를 사용하고, 응고제는 두유액에 대해 0.3% (w/w) CaCl₂를 사용하였으며, 모든 시약들은 Sigma (USA)에서 구입하여 사용하였다.

수용성 키토산분해물질의 제조

수용성 키토산분해물질은 키토산(Floanc C, 공화테그노스사)을 아질산분해법에 의하여 제조하였다. 키토산 25 g을 4% 초산용액에 용해시켜 10% 아질산 나트륨용액을 첨가하여 6시간 반응시킨 다음, 암모니아수로 중화시켰다. 여기에 NaBH₄ (2당량/아질산나트륨)를 첨가하여 말단기의 환원반응을 시켰다. 아질산분해법에 의하여 얻어진 키토산분해생성액은 여과과정을 거쳐 불용성물질을 제거하고, 물, 메탄올 혼합용매(물:메탄올=1:3)를 이용하여 분별침전시킨 다음, 혼합용매로 2차례에 걸쳐 세척한 후, 아세톤, 에테르의 순으로 세척, 건조하여 분말형 수용성 키토산분해물질을 얻었다. 수용성 키토산분해물질의 제조과정은 Fig. 1에서 보여주고 있다.

두부의 제조 및 저장

두부의 제조공정은 Fig. 2와 같다. 깨끗이 수세한 대두(300 g)를 12시간 실온에서 수침한 후, blender로 3분간 마쇄하였다. 충분히 마쇄된 콩을 여과포에 넣고 두유를 압출하였으며, 가수량은 원료대두의 10배로 하였다. 제조된 두유를 95°C에서 10분간 끓이고, 이 두유액에 응고제를 80°C에서 첨가하였다. 응고제를

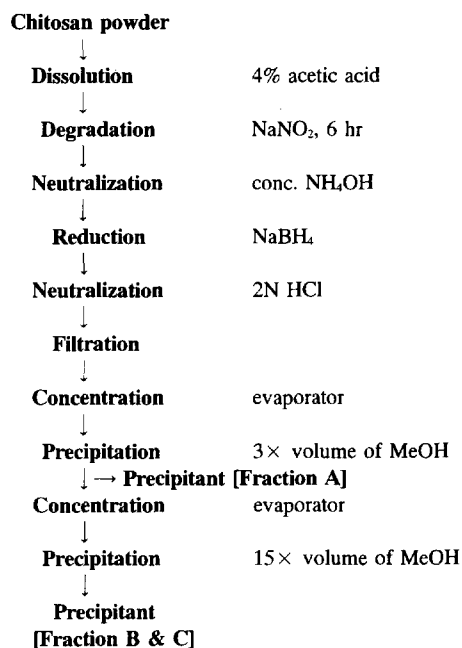


Fig. 1. The schematic drawing of the manufacture of water-soluble degraded chitosan.

첨가한 후 20분간 방치하고 나서 성형틀(12×12×20 cm)에 응고물을 옮기고 일정무게로 압착 성형한 후 6×6×3.5 cm의 크기로 절단하여 11×11×4.6 cm의 멸균용기에 넣고 tap water, 멸균 증류수, 0.5% chitosan, 0.5% fumaric acid, 0.5% lactic acid 용액으로 각각 침지한 후, aluminum foil로 씌워서 각각 4°C에서 0~28일간 저장하였다.

침지액의 미생물수 측정

침지액을 1/15 M phosphate buffer (1000 mL수용액 중에 Na₂HPO₄·12H₂O 14.3262 g, KH₂PO₄ 3.6292 g 함유)로 희석한 후 세균은 Petri film 배지 (3M Co., USA)에 1 mL를 접종하여 32°C에서 2일간 배양한 후 colony 수를 계수하였고, Yeast와 Mold는 25°C에서 5일간, E. coli는 32°C에서 2일간 배양한 후 세균과 동일한 방법으로 계수하여 나타냈다. 미생물 수는 CFU (colony forming unit)/mL의 단위로 나타내었다.

침지액의 pH 및 탁도 측정

두부 침지액의 pH는 pH-meter (M220, Corning, USA)를 이용하여 직접 측정하였으며, 탁도 측정은 침지액을 여지(Whatman No. 2)로 여과하여 여액의 흡광도를 비색계(Spectronic 20D, Milton Roy, USA)로 600 nm에서 측정하였다⁽⁴⁾.

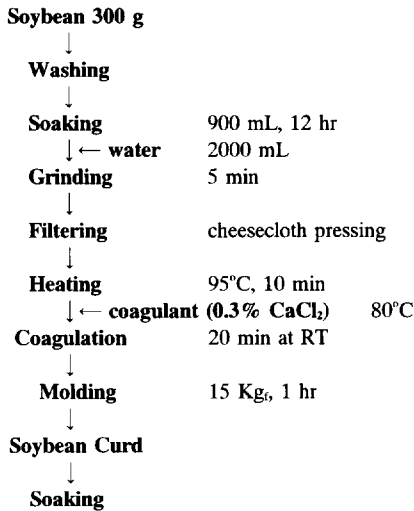


Fig. 2. The schematic drawing of the manufacture of soybean curd.

결과 및 고찰

수용성 키토산분해물질의 제조

키토산에 아질산을 첨가하면 글루코사아민잔기상의 아미노기가 탈아미노화하여 피나폴전이반응에 의해서 말단에 2,5-anhydro-D-mannose를 가지는 키토산 분해산물이 생성된다. 2,5-anhydro-D-mannose는 알데히드기를 가지기 때문에 불안정하며, 부생물이 생성되기 쉬우므로 수소화붕소나트륨에 의해서 환원반응을 행하여 알데히드기를 안정한 알코올기로 변화시킨 2,5-anhydro-D-manitol로 만들었다. 키토산 25g으로부터 분해산물의 제조는 키토산 아미노기에 대해서 아질산 0.5 몰을 사용하여 2시간으로 반응시킨 다음, 반응액은 중화, 환원한 후에 분별침전하여 수용성 키토산 분해물질 분말을 얻었다.

침지액의 미생물수 변화

두부를 4°C에서 여러 저장액별로 저장하면서 시간의 경과에 따른 균수의 변화를 Fig. 3-5에 나타내었다. 호기성 세균수(Fig. 3)의 경우 저장기간이 경과될수록 균수가 지수적으로 증가하였는데, 초기균수는 침지액의 종류에 관계없이 비슷하였으나, 수돗물과 멸균증류수에 침지시킨 것은 14일 경과시 각각 3.8×10^6 과 1.8×10^6 CFU/mL까지 세균수가 증가하여 이미 부패가 진행되었으며, 0.5% fumaric acid와 lactic acid에 침지한 경우는 10^7 CFU/mL까지 증가하여 부패가 시작되었음을 알 수 있었다. 반면, 0.5% 키토산 분해물질을 첨가한 침지액에 침지한 두부의 경우는 14일 경과시 $1.6 \times$

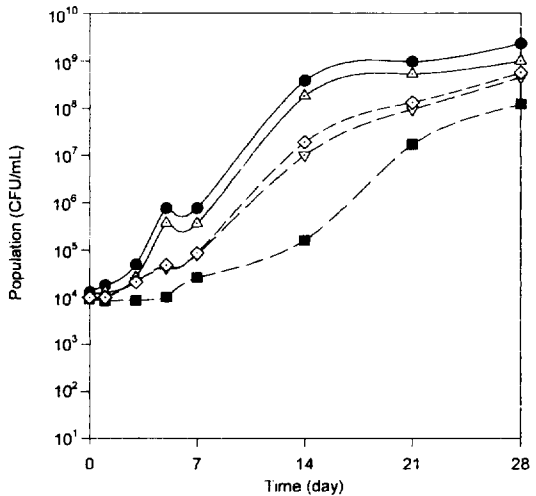


Fig. 3. Total aerobic bacteria in the immersion solutions of soybean curd during storage at 4°C. ●—●: tap water, ■—■: 0.5% chitosan solution, △—△: sterilized distilled water, ▽—▽: 0.5% fumaric acid, ◇—◇: 0.5% lactic acid.

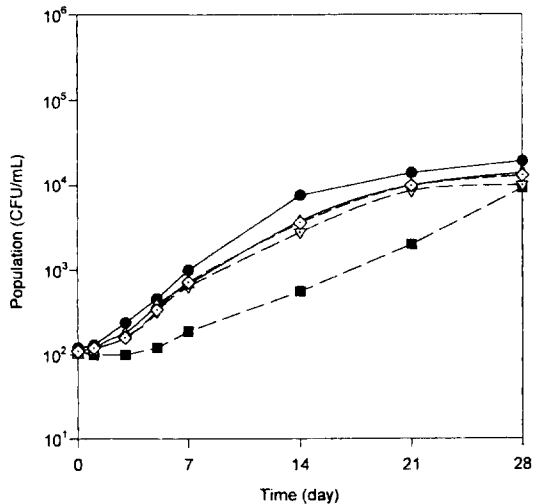


Fig. 4. Yeast and mold in the immersion solutions of soybean curd during storage at 4°C. ●—●: tap water, ■—■: 0.5% chitosan solution, △—△: sterilized distilled water, ▽—▽: 0.5% fumaric acid, ◇—◇: 0.5% lactic acid.

10^5 , 21일 경과시 1.7×10^7 CFU/mL까지 증가하여 수용성 키토산 분해물질이 두부 부패세균의 생육을 억제함을 알 수 있었다. 특히 키토산 분해물질을 함유한 침지액에서의 초기 오염 미생물의 lag phase가 상당히 길어진 것을 보여 주고 있으며, 이는 키토산 분해물질의 항균효과를 잘 보여 주고 있다.

Yeast와 mold (Fig. 4), 그리고 *E. coli* (Fig. 5)의 경

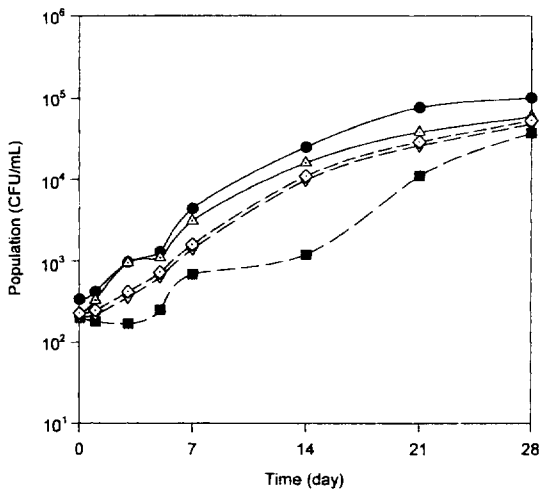


Fig. 5. *E. coli* in the immersion solutions of soybean curd during storage at 4°C. ●—●: tap water, ■—■: 0.5% chitosan solution, △—△: sterilized distilled water, ▽—▽: 0.5% fumaric acid, ◇—◇: 0.5% lactic acid.

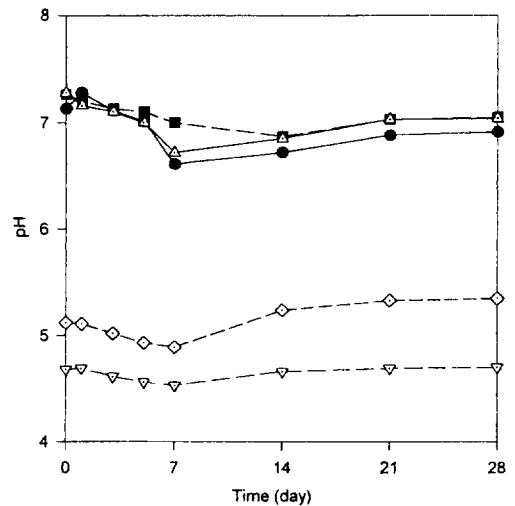


Fig. 6. pH changes in immersion solutions of soybean curd during storage at 4°C. ●—●: tap water, ■—■: 0.5% chitosan solution, △—△: sterilized distilled water, ▽—▽: 0.5% fumaric acid, ◇—◇: 0.5% lactic acid.

우도 시간이 경과됨에 따라 그 수가 증가하였으며, 0.5% chitosan 침지액의 경우가 다른 침지액의 경우보다 증가율이 적음을 알 수 있었다. 또한 멸균증류수를 사용한 경우에도 일반 수도물을 사용한 경우에서 처럼 저장성을 향상시킬 수 없는 결과는 두부 제조 공정 시 초기 미생물의 오염이 두부제품의 저장성에 미치는 영향이 매우 크다는 것을 잘 보여 주고 있다.

白川武志⁽¹⁷⁾는 점질물을 생성하는 두부부패의 주된 원인균이 호기성의 Gram 음성 구균인 *Acinetobacter* 속이라고 보고하였으며, 송 등⁽⁶⁾은 시중에서 판매되고 있는 두부를 여러 온도에서 저장하였을 때 30°C에서는 12시간, 20°C에서는 30시간을 전후해서 부패가 시작되며, 총균수는 10⁷개에 달한다고 보고하였고, 이 등⁽¹⁶⁾은 두부를 여러 온도에서 저장한 결과 37°C에서는 약 12시간, 20°C에서는 18시간, 5°C에서는 120시간이 경과하였을 때 총균수가 10⁷개에 달하여 부패가 진행된다고 보고한 바 있다.

침지액의 pH 변화

두부를 4°C에서 여러 저장액별로 저장하면서 시간의 경과에 따른 pH의 변화를 Fig. 6에 나타내었다. Tap water와 멸균증류수에 침지한 두부의 pH는 초기에는 감소하다가 7일 이후부터 서서히 증가하는 경향을 보였으며, 0.5% chitosan 침지액의 경우는 약 14일까지 서서히 감소하다가 그 이후 약간 증가하였고, 그 변화정도가 적었다. 반면, 0.5% fumaric acid와 lactic

acid는 초기 pH가 4.68, 5.12로 상당히 낮았으며, 저장 중 pH변화도 매우 적었다. 두부의 침지액의 pH가 감소하다 증가하는 것은 부패로 생성되는 저분자량의 peptide와 amino acid, amine 등 양성 전해질에 의한 완충작용 때문⁽⁶⁾이라고 사료되며, 송 등⁽⁶⁾은 시판 두부를 30°C에서 저장하였을 때 18~24시간까지는 pH가 감소하나 30시간 이후는 증가하였다고 하였으며, Pontecorvo 등⁽⁷⁾은 lemon juice를 이용하여 제조한 두부를 37°C에서 저장시 1일에는 침지액의 pH가 감소하나 그 이후에는 완만히 증가하였던 것과 비슷한 경향을 보였다. 이 등⁽¹⁶⁾은 두부를 여러 저장온도에서 저장하면서 pH변화를 측정된 결과 5°C저장시 5일까지는 pH가 계속 감소한다고 보고하였다.

침지액의 탁도 변화

두부를 저장하는 동안에는 세균의 성장⁽⁶⁾과 부패에 따른 점질물⁽¹⁷⁾의 생성에 의해 침지액의 탁도가 증가하는 경향을 보인다. 침지액의 탁도는 저장기간이 증가할수록 서서히 증가하는 경향을 보였으며, 세균수와 비교하여 보면 세균수가 10⁷ CFU/mL 이상이 되면 탁도가 0.2를 넘어서는 것을 볼 수 있다(Fig. 7). Tap water와 멸균증류수에 침지한 경우 14일 저장시 0.2를 넘어섰으며, 0.5% chitosan 침지액의 경우는 14일까지는 0.196이었다가 21일 경과시 0.214에 달했다. 그리고, 0.5% fumaric acid와 lactic acid의 경우도 14일까지는 0.2를 넘지 않았다. 총균수가 가장 많이 증가한 tap

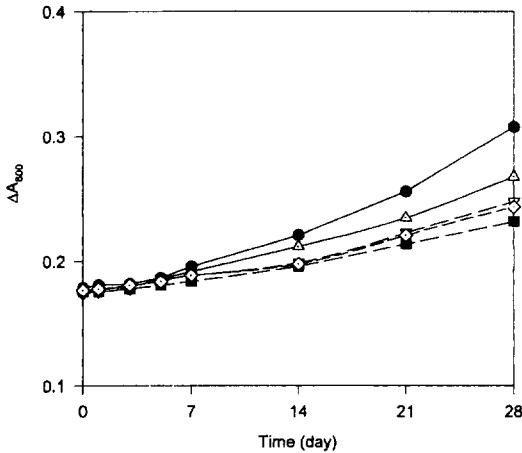


Fig. 7. Turbidity changes in immersion solutions of soybean curd during storage at 4°C. ●—●: tap water, ■—■: 0.5% chitosan solution, △—△: sterilized distilled water, ▽—▽: 0.5% fumaric acid, ◇—◇: 0.5% lactic acid.

water가 0.308로서 세균수의 증가와 탁도의 증가가 같은 경향을 나타냄을 알 수 있었다. 이 등⁽⁸⁾은 응고제를 달리 해 제조한 두부를 여러 침지액에 침지시켜 30°C에서 저장한 결과 저장기간이 경과할수록 흡광도도 증가하였으며, 총균수가 10⁷개 이상으로 증가할 때 흡광도가 0.2 이상으로 증가하였다고 보고한 것과 같은 결과를 보였다.

요 약

두부의 저장성에 미치는 수용성 키토산 분해물질의 영향을 알아 보기 위해 두부침지액으로 일반 시중 두부공장에서 사용하는 수돗물, 멸균증류수, 0.5% 키토산 분해물질, 0.5% fumaric acid, 0.5% lactic acid를 사용하여 4°C에서 냉장저장하면서 pH와 탁도, 그리고 미생물상의 변화를 관찰하였다. 수용성 키토산 분해물질을 첨가한 침지액의 경우 총균수가 21일 저장시 10⁷ CFU/mL에 달해 다른 침지액에 비해 7일에서 14일의 저장기간 연장을 관찰할 수 있었다. 특히 초기 오염 미생물의 lag phase가 다른 군에 비해 상당히 길어진 것을 관찰할 수 있었다. Yeast와 mold, 그리고 *E. coli*의 경우도 시간이 경과됨에 따라 증가하였으며, 0.5% 키토산 분해물질 첨가 침지액의 경우가 다른 침지액의 경우보다 증가율이 적음을 알 수 있었다. 이는 수용성 키토산 분해물질의 항균효과를 잘 보여주고 있다. 초기 pH는 0.5% fumaric acid와 lactic acid의 경우 pH 4.68과 pH 5.12로 상당히 낮았으며, 수돗물과 멸균증류수, 0.5% 키토산 분해물질 첨가 침지액에서

는 pH 7.2로 비슷하였고, 저장 초기에 약간 감소하다가 서서히 증가하는 경향을 보였다. 탁도의 변화는 미생물상의 변화와 연관시켜 두부가 부패된 것으로 간주되는 총균수 10⁷ CFU/mL 이상에서 0.2를 초과해 탁도가 두부부패정도를 파악하는 한 척도가 될 수 있다고 판단된다. 상기 결과로부터 항균성을 가지는 수용성 키토산 분해물질을 첨가한 두부 침지액의 개발은 두부의 저장성 향상에 크게 기여할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 농림수산기술개발사업 및 보건 의료기술사업에 의하여 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드리며, 미생물 검색을 위한 Petri-film을 지원하여 준 3M사와 원고작성을 도와 준 조동욱군에게 감사드립니다.

문 헌

1. 이경원 : 국민 영양과 대두의 수입정책. 식품과학, 15, 40 (1982)
2. Miller, C.D., Denning, H. and Bauer, A.: Relation of nutrients in commercially prepared soybean curd. *Food Res.*, 17, 261 (1952)
3. Albert, J.C.: Economic aspects; Protein-rich food from oil seeds. *Food Technol.*, 9, 929 (1965)
4. Doston, C.R., Frank, H.A and Cavaletto, C.G.: Indirect methods as criteria of spoilage in Tofu (soybean curd). *J. Food Sci.*, 42, 273 (1977)
5. Rehberger, T.G., Wilson, L.A. and Glatz, B.A.: Microbiological quality of commercial Tofu. *J. Food Sci.*, 47, 177 (1984)
6. 송석훈, 장건형 : 두부에 관한 연구(제 2보), 두부의 shelf-life 연장에 관한 연구, 육군기술연구보고, 3, 5 (1964)
7. Pontecorvo, A.J. and Bourne, M.C.: Simple methods for extending the shelf life of soy curd (tofu) in tropical areas. *J. Food Sci.*, 43, 969 (1978)
8. 이갑상, 김동환, 백승화, 전승호 : 두부의 저장에 미치는 응고제와 침지액의 효과. 한국식품과학회지, 22(2), 116 (1990)
9. Champagne, C.P., Aurouze, B. and Goulet, G.: Inhibition of undesirable gas production in tofu. *J. Food Sci.*, 56(6), 1600 (1991)
10. Wu, M.T. and Salunkhe, D.K.: Extending shelf-life of fresh soybean curds by in-package microwave treatments. *J. Food Sci.*, 42, 1448 (1977)
11. Miskovsky, A. and Stone, M.B.: Effects of chemical preservatives on storage and nutrient composition of Soybean curd. *J. Food Sci.*, 52, 1535 (1987)
12. 신동화, 김문숙, 배경숙, 고영희 : 두부 부패에 관여하는 주요 미생물 동정. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 24, 29 (1992)
13. Knorr, D.: Functional properties of chitin and chitosan.

- J. Food Sci.*, **47**, 593 (1982)
14. Knorr, D.: Use of chitinous polymers in food. *Food Technol.*, **38**, 85 (1984)
15. 조학래 : 저분자 chitosan의 항균성 및 식품보존효과에 관한 연구. 부산수산대학 식품공학과 박사논문 (1989)
16. 이명환, 이해원 : 두부의 물성 및 보존에 관한 연구. 서
울여자대학 논문집, **13**, 437 (1984)
17. 白川武志 : 豆腐の粘性變敗について. 日本食品工業學會誌, **32**, 1 (1985)
-
- (1996년 12월 16일 접수)