

## 키토산 첨가에 의한 축육 소세지의 보존성개선에 관한 연구 - I

박선미 · 윤선경 · 김현진 · 안동현<sup>†</sup>

부경대학교 식품공학과

### Studies on the Improvement of Storage Property in Meat Sausage Using Chitosan - I

Sun-Mee Park, Sun-Kyoung Youn, Hyun-Jin Kim and Dong-Hyun Ahn<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

#### Abstract

The production of emulsion sausage generally contain nitrite as a curing agent for preservative effect and color as well as flavor development. This investigation describe a study on the inhibitory effect of chitosan against some spoilage bacteria and substitution effect of nitrite in sausages. Among of the chitosan, M.W. 120KDa of chitosan has shown an antimicrobial effect. When 0.2% of chitosan and half of normal nitrite content were added to sausage, effect of preservative quality was same that added to normal content of nitrite in sausages. Sausage added to 0.5% of chitosan has been a good storage property even though without nitrite. The growth of most of bacteria was inhibited 80% or more at 0.01~0.2% of chitosan. These results indicated that M.W. 120KDa of chitosan as a natural material could provide sausage protection and very reduced or substituted amount of nitrite against spoilage bacteria.

**Key words:** meat sausage, chitosan, storage property

#### 서 론

우리나라 국민의 식습관은 1900년대에 들어 서구화되기 시작하여 1950년대 이후부터 그 추세가 가속화되어왔다. 그 결과 식물성식품 위주의 식생활에서 벗어나 동물성식품의 비중이 점차 증가하기 시작했다. 동물성 단백질과 지질의 소비가 증가했고, 그 일환으로 축육 및 축육가공제품의 소비가 꾸준히 증가되어 왔다(1). 1980년대 이후 축육가공제품이 본격적으로 대중화되었고, 특히 그 중에서도 값싼 돼지고기를 원료로 한 소세지, 햄, 베이컨 등의 가공제품이 주류를 이루게 되었으며, 현재에도 다소 그 증가율은 둔화되었으나 꾸준히 소비가 증가하고 있다(2). 동물성 단백질의 주요 공급원으로서 필수아미노산의 충분한 섭취가 가능한 식육 및 식육가공제품은 식품에 있어 큰 의의를 지니고 있다. 식육가공제품에는 크게 분쇄육 제품과 비분쇄육 제품으로 나누는데, 분쇄육 제품에는 소세지가, 비분쇄육 제품에는 햄과 베이컨 등이 대표적이다. 소세지에는 유효형 소세지와 비유효형 소세지가 있으며, 유효형의 경

우 다량의 지방을 첨가하여 유효한 것이다. 소세지의 제조에 있어서는 보존제, 향산화제 그리고 발색제 등이 인공합성물의 형태로 이용되고 있는데, 이들 중에는 함량은 제한해 두었으나 인체에 극히 유해한 것도 있다. 특히 아질산염의 경우 미생물의 증식을 억제하고 독소 생성을 억제하며 염지육색을 발현하고 염으로서 작용하여 보수성과 결합성을 향상시키는 효과를 내기 때문에 대부분 일반적으로 사용하고 있다(3). 그러나 아질산염은 고기 중의 아민과 작용하여 nitrosoamine을 생성할 우려가 있는데(4,5) 이것은 강력한 독소로 인체에 유해한 성분이다.

한편, chitosan은 cellulose 다음으로 자연계에 가장 풍부한 다당류로(6) 주로 곤충과 갑각류의 체표를 이루고 있고, 미생물 등에도 널리 존재하며 chitin으로부터 탈아세틸화하여 얻어진다(7,8). Chitosan은 각종 산업 분야에서 이용성이 매우 다양하며, 그 중 식품분야와 관련된 기능으로는 고분자 물질의 흡착능, 색소 흡착능, 지질 및 cholesterol 흡착 배설능, 항균성, 항돌연변이성, 향산화성 등이 알려져 있다(9-11). 국내에서 ch-

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

itosan을 식품에 이용한 경우는 김치의 저장성 향상(12-15), 계란의 저장성 향상(16), 두부의 제조(17) 등이 있으나 축육 가공제품에 이용한 경우는 보고된 바 없다.

본 연구는 천연물인 chitosan을 첨가하여 유탐형 소세지의 안전성과 보존성을 향상시키며, 문제가 되는 인공합성첨가물인 아질산염 첨가량의 감소효과를 조사하기 위해서 이루어졌다.

## 재료 및 방법

### 재료

도살 직후의 신선한 돼지 뒷다리 부위의 적육과 등지방을 원료로 소세지를 제조하였고, chitosan은 분자량 약 12만, 탈아세틸화도 85%이상, 중금속 20 ppm이하, 비소 무검출의 주식회사 신영키토산 제품을 명신화성 주식회사에서 공급받아 사용하였다.

### 소세지의 제조

돼지 뒷다리부분의 신선한 적육을 60%, 등지방을 20% 그리고 얼음물을 20%의 비율로 되게 하여 유탐형 소세지를 제조한다. 적육 및 지방은 잘게 분쇄하여 silent cutter(ADE사제, ST11)에 넣고 소금 1.4%, 아질산염 0.01%, 설탕 0.5%, 인산염 0.3%, monosodium glutamate 0.2%, ascorbic acid 0.05%, casein 1.0%, 전분 1.0%를 첨가하고 nutmeg 0.1%, white pepper 0.3%, alsipice 0.1% 등의 향신료를 첨가하면서 얼음물 존재 하에서 일정 시간 유탐시켰다. 완성된 유탐물은 충진기에 넣고 직경 4.3cm의 polyvinyl제 case에 단단하게 충진 후 양끝을 결찰하여 봉한다. 75°C의 열탕 중에 넣어 증심온도가 65°C 이상에서 30분 이상 가열한다. 가열 후 냉수로 급냉하고 항온기에서 30°C로 저장하면서 경시적으로 시료를 채취했다.

### Chitosan의 첨가

첨가하는 chitosan은 분자량이 약 12만의 것을 사용하여 소세지에 첨가한다. Chitosan은 0.3%의 젖산의 존재 하에서 녹인 후 pH를 5.5로 환원하여 제조한 다음, 최종 농도가 0.2%, 0.35% 그리고 0.5%가 되게 첨가하였다. Chitosan을 첨가한 양만큼의 얼음물은 제외하여 최종 첨가 수분함량은 일정하게 한다.

### 생균수 측정

제조한 각각의 소세지를 30°C에 저장하면서 제조 직후부터 7일 후까지 검체를 채취한다. 생균수의 측정은

각 시료 1g을 무균적으로 취해 멸균한 phosphate buffered saline용액 9ml를 넣고 homogenize한 다음, 10배 희석법으로 희석하여 nutrient agar에 도말하여 30°C에서 24시간 배양한 후, colony수를 측정한다.

### 소세지의 부패에 관여하는 균주에 대한 생육억제의 측정

키토산을 농도별로 Muller Hinton broth배지에 첨가하여 각 시험 균주 즉, 축육소세지의 부패미생물로 알려져 있는 *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella enteridis* ATCC13076, *S. typhimurium* ATCC14028, *Listeria innocua* ATCC33090, *L. monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* FPC344, *Bacillus subtilis* KFCC-35421, *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Pseudomonas auruginosa*와 부패된 소세지에서 분리한 8균주를 접종하여 30°C에서 48시간 배양하면서 600nm에서의 흡광도를 측정하여 균의 성장 여부에 따라 생육억제율을 결정했다.

### 키토산의 항균력 측정

키토산의 항균력을 조사하기 위하여 상기의 균주들을 대상으로 paper disk방법(18)으로 항균력을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 소세지의 보존성

제조한 소세지를 30°C에서 저장하면서 생균수를 측정했다. 아질산염이나 키토산을 첨가하지 않은 것은 24시간 경과후, 생균수가 크게 증가하였으며 48시간이 지나면 거의 부패했다(Fig. 1). 키토산을 용해시키기 위해 첨가한 0.3%의 젖산과 NaOH 첨가균에 있어서도 보존성 향상효과는 거의 없었다. 그러나 0.2%의 키토산을 첨가했을 때 24시간 이후부터 약간의 보존성의 향상효과가 있었으며, 0.2%의 키토산을 첨가하고 아질산염의 첨가량을 반으로 줄였을 경우, 아질산염을 전부 첨가한 경우와 거의 동일한 보존성효과를 나타냈다. 0.35% 첨가했을 때는 어느 정도 높은 보존성의 향상효과가 나타났다(Fig. 2). 0.5%의 키토산을 첨가한 경우, 아질산염만을 넣은 정상적인 소세지와 거의 동일한 보존효과가 있었다. 일반적으로 아질산염의 경우, 부패균에 대한 강한 항균작용 뿐만 아니라 발색효과와 보수성 향상, 특이한 향의 생성 및 다른 미세한 효과도 있으므로(3) 이것을 완전히 제거하고 키토산으로 대체하는 것은 불가

Table 1. Characterization of strains from isolated an emulsion sausage

Strains	Gram's stain	Shape	Characterization of colony
ES*-1	positive	rod	white colony, spreading
ES*-2	positive	coccobacilli	white colony, complex
ES*-3	positive	rod	white small colony, round
ES*-4	positive	streptobacilli	white small colony(<1mm), round
ES*-5	positive	rod	red colony(<1mm), irregular
ES*-6	positive	rod	white large colony, round
ES*-7	positive	rod	red small colony(<1mm), round
ES*-8	positive	rod	clear white small colony, round

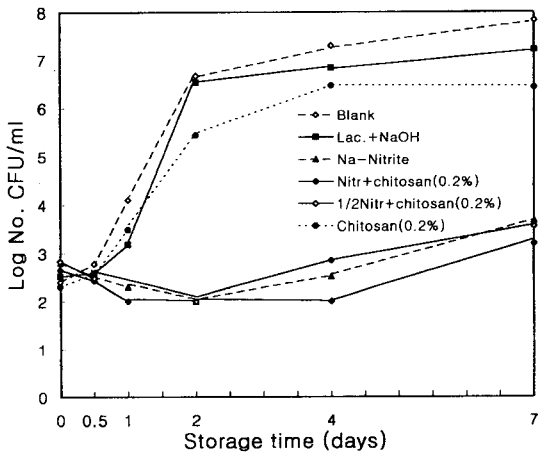


Fig. 1. Changes in the viable cell counts of sausage during storage at 30°C.

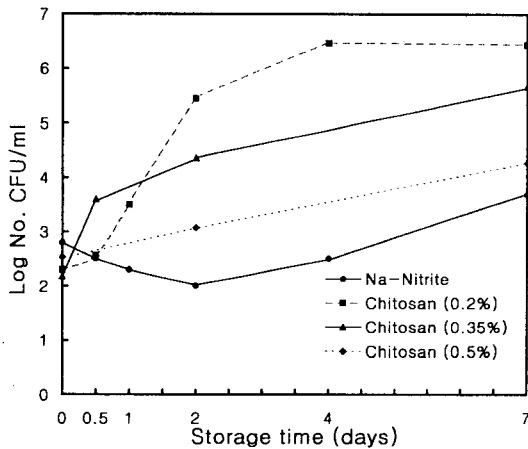


Fig. 2. Changes in the viable cell counts of sausage by added amount of chitosan during storage at 30°C.

능하다. 그러므로 사용량을 가능한 한 줄이고 효과를 유지할 수 있는 방법을 모색하는 것이 바람직하다. 키토산을 0.2% 첨가했을 때 아질산염의 첨가량을 반으로 줄여도 거의 같은 수준의 항균효과를 얻을 수 있었고, 여기에서는 나타내지 않았으나 발색의 정도 또한 동일하

게 나타났다. 이러한 결과로 미루어 분자량 약 12만의 키토산을 사용할 경우에 있어서는 첨가량을 0.2% 정도로 하고, 아질산염의 첨가량을 감소시키는 것이 가장 좋은 방법일 것으로 생각된다.

#### 소세지의 부패에 관여하는 미생물에 대한 키토산의 항균성

축육소세지의 부패에 관여한다고 알려진 균주들에 대해 키토산의 항균효과를 조사했다. 또한 부패한 소세지로 부터 8종의 균주를 분리하여 동일한 실험을 했다. 부패한 소세지에서 분리한 균주의 특징은 colony의 색깔과 형태에 차이가 있으며, 대부분 간균으로 Gram염색 결과 양성을 나타냈다(Table 1). Paper disk법으로 조사한 키토산의 항균성은 실험에 사용한 모든 균주가 0.2%의 키토산에 대해 항균효과가 있었다(Table 2). 또한 각각의 균주에 대한 생육억제효과는 *Salmonella*

Table 2. Antimicrobial activity of chitosan by paper disk method

Strains	Chitosan(0.2%)	
	5μl	10μl
<i>S. enteritidis</i>	+	+
<i>S. typhimurium</i>	+	++
<i>L. monocytogenes</i>	+	++
<i>L. innocua</i>	+	++
<i>E. coli</i>	+	+
<i>A. hydrophila</i>	+	++
<i>P. aeruginosa</i>	+	++
<i>S. aureus</i>	+	++
<i>B. subtilis</i>	+	+
ES*-1	+	++
ES*-2	+	++
ES*-3	+	+
ES*-4	+	++
ES*-5	+	++
ES*-6	+	++
ES*-7	+	++
ES*-8	+	++

\*The strains were isolated from an emulsion sausage.

+: Diameter of clear zone<1.5mm.

++: Diameter of clear zone>1.5mm.

Table 3. Inhibitory effect of chitosan against some spoilage bacteria in sausage

Strains	Concentration of chitosan											
	0.001%		0.01%		0.1%		0.2%		0.35%		0.5%	
	24hr	48hr	24hr	48hr	24hr	48hr	24hr	48hr	24hr	48hr	24hr	48hr
<i>S. enteritidis</i>	8.30	1.1	27.3	15.3	77.4	35.1	83.5	86.0	83.6	87.3	84.7	86.8
<i>S. typhimurium</i>	16.5	3.2	61.7	33.4	83.7	68.9	89.8	84.0	88.5	93.4	88.9	93.6
<i>L. monocytogenes</i>	12.6	4.2	59.9	43.2	85.4	88.1	84.4	87.7	85.1	87.9	83.0	87.6
<i>L. innocua</i>	23.3	47.5	70.5	83.4	72.8	84.9	73.7	84.4	72.9	83.9	69.6	83.1
<i>E. coli</i>	17.1	1.7	26.3	28.2	90.9	92.0	90.6	93.5	90.7	93.2	90.3	93.0
<i>A. hydrophila</i>	22.8	20.8	86.3	89.2	87.8	89.8	87.5	89.5	87.3	89.2	87.2	88.6
<i>P. aeruginosa</i>	7.2	2.7	92.7	94.1	92.1	94.5	92.5	94.9	92.3	94.5	92.6	94.5
<i>S. aureus</i>	38.7	26.5	76.8	57.8	89.3	89.7	89.0	89.6	89.2	90.1	89.1	89.7
<i>B. subtilis</i>	0.0	0.0	76.4	39.1	86.7	91.1	87.4	91.2	85.6	91.0	84.8	90.8
ES-1	54.3	46.8	82.3	83.5	80.5	81.5	81.1	82.9	83.1	83.4	82.4	82.8
ES-2	47.9	0.0	87.9	86.3	87.0	83.4	88.0	86.0	87.5	84.2	88.0	84.8
ES-3	70.7	73.9	71.3	70.8	72.3	72.9	72.0	72.7	70.5	72.6	71.0	70.5
ES-4	7.9	16.7	70.1	42.0	67.6	74.8	72.2	78.6	72.4	79.4	70.7	78.9
ES-5	31.8	27.2	73.6	80.5	70.7	77.7	70.3	77.1	71.9	77.0	73.6	79.3
ES-6	40.7	21.1	88.8	39.8	88.9	88.3	86.2	87.3	86.5	86.3	89.1	87.9
ES-7	90.6	91.1	89.6	91.2	89.3	90.7	89.2	90.6	88.5	90.3	88.3	90.2
ES-8	10.0	0.0	68.0	81.9	69.9	82.6	65.5	79.2	69.0	80.8	63.7	79.9

Inhibition rate was indicated by percentage as follow. %=[1-culture of chitosan (OD<sub>600</sub>)/control(OD<sub>600</sub>)]×100

*typhimurium*의 경우 0.35%, *Bacillus subtilis*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*의 경우 0.1%, *Bacillus subtilis*의 경우 0.01%, 분리 균주 중 ES-7은 0.001%의 농도에서 90% 이상의 억제효과를 나타냈다(Table 3). 나머지 균주에 대해서도 0.01%에서 0.2% 사이의 농도에서 80% 이상의 생육 억제 효과를 나타냈다. 이상의 결과는 소세지의 보존성 실험의 결과와 일치하였다. 결과적으로 분자량 약 12만의 키토산의 경우 축육소세지의 부패에 관여하는 대부분의 균에 대해 강한 생육억제효과가 있으며, 0.2%의 첨가량으로 대부분의 균주의 생육을 억제할 수 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 발효육에 있어서 키토산의 항균성을 연구한 Darmadji와 Izumimoto의 결과(19)와 일치하고 있다.

## 요 약

축육소세지의 경우에 있어 문제가 되는 보존료 중 아질산염의 첨가량을 줄이고, 그 효과를 대체할 수 있는 물질을 찾기 위해 이 연구를 행했다. 항균효과를 대체할 수 있는 천연물질로 키토산을 지목했고, 그 중에서도 고분자량의 키토산에 대해 연구하였다. 분자량 약 12만의 키토산을 젓산에 용해하여 pH를 5.5로 조절한 다음, 축육 소세지에 첨가했을 때 0.2% 첨가량에서 보존성 향상효과가 있었다. 아질산염을 통상 첨가량의 반으로 줄이고 0.2%의 키토산을 첨가하였을 때, 이질산

염을 통상첨가량으로 첨가한 경우와 동일한 보존성효과를 나타내었다. 키토산을 0.5% 첨가했을 경우는 아질산염을 전혀 첨가하지 않아도 충분한 보존효과를 나타냈다. 또한 키토산을 0.2% 첨가한 경우 축육 소세지의 부패에 관여한다고 알려진 대부분의 미생물에 대해 생육억제효과를 나타냈고, 80% 이상의 생육억제효과를 나타내는 키토산의 농도는 0.01%에서 0.2% 사이였다. 이러한 결과로 미루어 분자량 약 12만의 키토산은 축육 소세지의 보존성 향상에 있어 효과를 나타내며 아질산염의 첨가량을 줄일 수 있는 대체 천연물질이라고 결론지었다.

## 감사의 글

본 연구는 1997년도 동원학술진흥재단에서 지원한 연구비로 진행한 연구의 결과로 이에 감사드리며, 실험을 위해 키토산을 공급해준 명신화성 주식회사에 감사드립니다.

## 문 헌

1. The Agriculture, Fisheries & Livestock News, Korea Food Yearbook(1997)
2. The Agriculture, Fisheries & Livestock News, Korea Livestock Yearbook(1997)
3. Cassens, R. G. : Use of sodium nitrite in cured meats today. *Food Technology*, **49**, 72(1995)

4. Hernandez-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana-Nogues, M. T. and Vidal-Carou, M. C. : Biogenic amine souces in cooked cured shoulder pork. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 3097(1996)
5. Cassens, R. G. : Residual nitrite in cured meat. *Food Technology*, **51**, 53(1997)
6. Ruiz-Herrera, J. : The distribution and quantitative importance of chitin in fungi. In "Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan" Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R.(eds.), MIT Sea Grant Program, Cambridge, MA, p.11(1978)
7. Austin, P. R., Brine, C. J., Castle, J. E. and Zikakis, J. P. : Chitin: New facets of research. *Science*, **212**, 749(1981)
8. Knorr, D. : Use of chitinous polymers in food-A challenge for food research and development. *Food Technol.*, **38**, 85(1984)
9. Muzzarelli, R. A. A. : *Chitin*. Pergamon Press, Oxford, p.6(1977)
10. Deuchi, K., Knauchi, O., Shizukuishi, M. and Kobayashi, E. : Decreasing effect of chitosan on the apparent fat digestibility by rats fed on a high-fat diet. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1211(1994)
11. Sudarshan, N. R., Hoover, D. G. and Knorr, D. : Antimicrobial action of chitosan. *Food Biotech.*, **6**, 257 (1992)
12. Kim, K. O., Moon, H. A. and Jeon, D. W. : The effect of low molecular weight chitosans on the characteristics of kimchi during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 420(1995)
13. No, H. K., Park, I. K. and Kim, S. D. : Extension of shelf-life of kimchi by addition of chitosan during salting. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 932(1995)
14. Son, Y. M., Kim, K. O., Jeon, D. W. and Kyung, K. H. : The effect of low molecular weight chitosan with and without other preservatives on the characteristics of kimchi during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 888(1996)
15. Hur, E. Y., Lee, M. H. and No, H. K. : Verification of conventional kimchi preservation methods. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 807(1997)
16. Lee, S. H., No, H. K. and Jeong, Y. H. : Effect of chitosan coating on quality of egg during storage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **25**, 288(1996)
17. Chun, K. H., Kim, B. Y., Son, T. I. and Hahm, Y. T. : The extension of tofu shelf-life with water-soluble degraded chitosan as immersion solution. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 476(1997)
18. Zaika, L. L. : Spice and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, **9**, 97(1998)
19. Darmadji, P. and Izumimoto, M. : Effect of chitosan and nitrite on the properties of fermented meat. *Anim. Sci. Technol.(Jpn.)*, **65**, 639(1994)

(1998년 11월 9일 접수)