

## 복합 초콜릿제품에서의 수분이동에 의한 곰팡이의 발생

김상용 · 노봉수\* · 오덕근\*\*

동양제과(주) 기술개발연구소, \*서울여자대학교 식품·미생물공학과,  
\*\*우석대학교 식품공학과

### Occurrence of Mold Growth due to Moisture Migration in a Composite Chocolate Product

Sang-Yong Kim, Bong-Soo Noh\* and Deok-Kun Oh\*\*

R&D Center, Tong Yang Confectionery Co.

\*Department of Food and Microbial Technology, Seoul Women's University

\*\*Department of Food Science and Technology, Woosuk University

#### Abstract

The occurrence of mold growth due to moisture migration in a composite chocolate product filled with marshmallow during storage was investigated. The correlation between water activities and water contents of dark chocolate coating and filling marshmallow at 25°C was well applied to Kuhn's equation. The marshmallow was found to be more hygroscopic than the chocolate. Since the moisture transferred from marshmallow to chocolate, the water activity of marshmallow decreased from 0.88 to 0.80 and that of chocolate increased from 0.22 to 0.76 at 25°C for 30 days. This water activity, 0.76, can allow mold growth. A mold was isolated on the surface of a composite chocolate product at 25°C after 3 months and then was identified as *Aspergillus repens*. Growth experiments at varied water activities with *A. repens* were performed. When the water activity in a chocolate solid medium increased from 0.73 to 0.93, the occurrence time of mold growth decreased from 62 to 15 days. These results suggested that the occurrence of mold growth was due to the increased water activity of the chocolate resulting from the moisture transfer from filling marshmallow dark to chocolate coating.

Key word: moisture migration, water activity, composite chocolate product, *Aspergillus repens*

#### 서 론

식품의 보존기간은 품질이 저하되지 않는 기간으로 식품 자체와 그 외부 환경사이의 복잡한 상호작용에 의해서 결정된다. 식품의 품질을 결정하는 요인 중에 특히 중요한 것은 수분이고 식품 내에서 수분이 이동하면 식품의 품질이 저하된다고 보고되었다<sup>(1)</sup>. 수분 이동은 젤리가 들어있는 쿠키, 피자, 파이, 초콜릿을 입힌 제품, 스낵, 캔디 등과 같은 두 가지 이상의 다른 조성의 층으로 구성된 복합 식품에서 주로 일어난다. 이러한 식품에서 수분은 한 성분에서 다른 성분으로 이동될 수 있고 그 결과 수분이 이동된 성분은 수분활성

도가 상승하고 미생물에 의하여 쉽게 오염되어 제품으로서 가치를 상실하게 된다<sup>(2)</sup>. 복합식품에서 수분이동은 수분함량의 차이보다 수분의 화학 전위차인 수분활성도의 차이에 의하여 일어난다고 보고되고 있고<sup>(3)</sup>, 수분이동의 방향은 높은 수분활성도의 부분에서 낮은 수분활성도의 부분으로 일어난다고<sup>(4)</sup>, 수분이동의 과정은 복합식품에서 각각 구성층의 수분활성도와 수분함량의 변화를 시간의 함수로 나타낼 수 있다<sup>(5)</sup>.

일반적으로 초콜릿은 0.2~0.4의 낮은 수분활성도를 지닌 좋은 수분 차단제로 알려져 있다<sup>(6)</sup>. 많은 건조제품과 반수분 제품에서 초콜릿을 입혀 상온에서 보존기간을 증가시키는데 사용한다. 그럼에도 불구하고 초콜릿을 입힌 복합식품을 장기보존할 경우에서 수분이동에 의한 곰팡이의 발생이 가끔 일어난다. 그러므로, 이 연구에서는 마시멜로(marshmallow)가 채워

Corresponding author: Sang-Yong Kim, R&D Center, Tong Yang Confectionery Co., 30-10 Munbai-dong, Yongsan-gu, Seoul 140-715, Korea

있는 복합 초콜렛 제품의 보존과정 중에 수분이동에 의한 초콜렛의 수분활성도 변화를 살펴보고, 초콜렛 표면에 곰팡이의 발생의 원인을 수분이동에 의한 수분활성도의 변화로 설명하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 복합 초콜렛 제품 제조

복합 초콜렛 제품은 내부에는 마시멜로가 채워있고 외부에는 초콜렛으로 싸여있는 것으로 공장에서는 24시간 내에 수분이 어느 정도 차단되는 플라스틱 필름으로 포장하여 상온에서 특정기간 동안 판매하고 있다. 선택된 복합 초콜렛은 플라스틱 필름으로 포장하는 대신 40  $\mu\text{m}$ 의 파라핀 종이와 그 바깥쪽에 10  $\mu\text{m}$ 의 알루미늄 호일로 포장하였다. 이 복합 초콜렛 제품은 25°C의 항온기에서 특정기간 저장한 후 시료로 사용하였다.

### 수분 활성도 측정

수분 활성도를 측정하기 위하여 특정시간에 항온기로부터 5개의 같은 반복 시료를 취하였다. 시료의 초콜렛 층과 마시멜로 층을 조심스럽게 분리하여 각각을 잘 혼합한 후 수분 활성도 측정기(AWC200, Novasina, Swiss)를 사용하여 25°C에서 수분 활성도를 측정하였다. 5개의 시료로 부터 평균 수분 활성도를 구하였다. 초콜렛 층과 마시멜로 층의 등은 흡습곡선은 진공 건조기내에 상대습도를 이미 알고 있는  $\text{CH}_3\text{COOK}$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaBr} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  등과 같은 포화 염 용액들을 넣어 결정하였다<sup>7)</sup>.

### 사용 미생물

25°C에서 3달 동안 저장된 복합초콜렛의 표면에 발생한 곰팡이를 분리하여 미국 Microcheck사에 의뢰하여 동정하였다<sup>8)</sup>. 복합초콜렛의 표면의 주요 발생균은 *Aspergillus repens*이었고 이 균을 이용하여 여러 수분 활성도에서 곰팡이 발생기간을 조사하였다.

### 배양조건

곰팡이 배양 배지로는 chocolate agar 1.5 g/L, solid dark chocolate 25 g/L, Tween 80 0.1 g/L로 구성된 초콜렛 고체 배지를 사용하였다. 이 배지에 여러 농도의 glycerol 용액을 첨가하여 여러 수분 활성도를 얻었다<sup>9)</sup>. 수분활성도를 달리하여 25°C와 35°C에서 초콜렛 고체 배지에 *A. repens*를 접종하여 곰팡이 성장이 나타날 때까지 배양하였다.

## 결과 및 고찰

### 초콜렛과 마시멜로의 수분 활성도와 수분함량의 관계

25°C에서 초콜렛과 마시멜로의 등은 흡습곡선을 살펴본 결과 Fig. 1과 같았다. 예상한 것과 같이 마시멜로가 초콜렛보다 더 높은 수분활성도와 수분함량을 나타냈으며 수분 활성도 변화에 대한 수분함량의 변화도 마시멜로의 경우가 초콜렛보다 더 민감함을 보여주고 있다. 이것은 마시멜로가 초콜렛보다 더 수분을 잘 흡수한다는 것을 의미한다. 또한, 초콜렛과 마시멜로의 등은 흡습곡선은 직선으로 나타나지 않았는데 이것은 수분 활성도와 수분함량이 직선관계가 아니기 때문이다.

그러므로, 초콜렛과 마시멜로의 수분 활성도와 수분함량의 관계를 조사하였다. 여러 가지 제안식 중 Kuhn의 식이 가장 정확하게 묘사할 수 있었기 때문에 Kuhn의 식을 사용하였다<sup>10)</sup>. Kuhn의 식은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$m = \frac{a}{\ln a_w} + b$$

여기서  $a$ 와  $b$ 는 상수이고  $m$ 은 수분 함량,  $a_w$ 는 수분 활성도를 나타낸다. Fig. 2는 Kuhn의 식에 근거하여  $1/\ln a_w$ 와  $m$ 의 관계를 나타낸 것이다. 초콜렛의 경우 기울기를 나타내는 상수  $a$ 는 -6.998, 절편을 나타내는 상수  $b$ 는 -1.863, 직선의 상관 계수  $r$ 은 0.999이었고, 마시멜로의 경우  $a$ 는 -1.596,  $b$ 는 1.742,  $r$ 은 0.995이었던

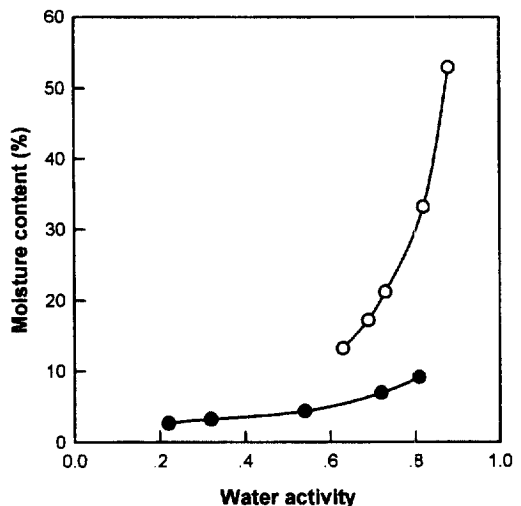


Fig. 1. Sorption isotherms for adsorption of dark chocolate and desorption of marshmallow at 25°C. ●—●: dark chocolate, ○—○: marshmallow.

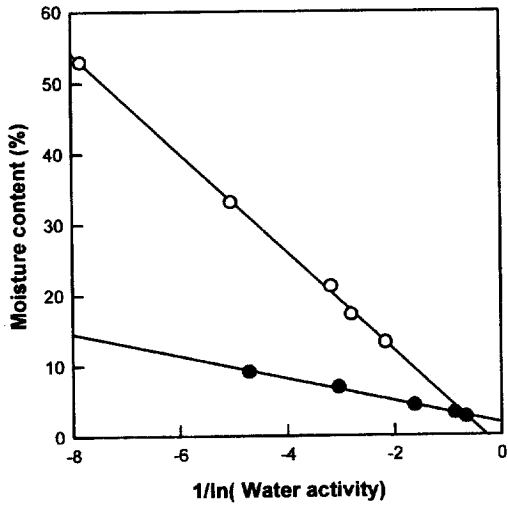


Fig. 2. Correlation between water activities and water contents of dark chocolate and marshmallow using Kuhn's equation at 25°C. ●—●: dark chocolate, ○—○: marshmallow.

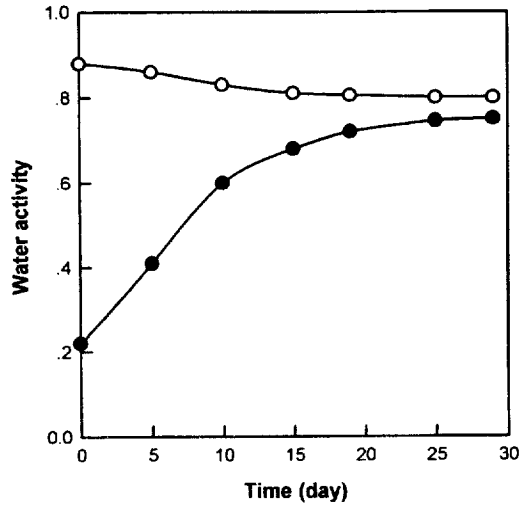


Fig. 3. Water activities of dark chocolate and marshmallow as a function of storage time at 25°C. ●—●: dark chocolate, ○—○: marshmallow.

다. 상관 계수 r로부터 초콜렛과 마시멜로의 경우  $1 / \ln a_w$ 와 m의 관계가 직선임을 알았고 Kuhn의 식이 초콜렛과 마시멜로의 수분 활성도와 수분함량의 관계를 잘 표현해주는 식이라는 것을 알았다. 그러므로 복합 초콜렛의 구성 성분인 초콜렛과 마시멜로의 수분활성도만 측정하여 그 값을 안다면 Kuhn의 식으로부터 수분 함량을 알 수 있다.

복합 초콜렛 제품에서의 수분이동

생산 24시간 내 초기에서의 초콜렛 층과 마시멜로 층의 특성은 Table 1에 나타내었다. 초기 제품의 수분 활성도와 수분함량은 초콜렛 층의 경우 낮게 나타나서 각각 0.22와 2.65%이었지만 마시멜로의 경우 높게 나타나서 각각 0.88과 52.9%이었다.

Fig. 3은 약 30일 동안 25°C 저장과정 중의 초콜렛 층과 마시멜로 층의 수분 활성도를 살펴본 것이다. 복합 초콜렛에서 시간이 경과함에 따라 수분이 내부 마시멜로에서 외부 초콜렛으로 이동하므로 내부 마시멜로의 수분 활성도는 시간에 따라 0.88에서 0.80까지

감소하였고 초콜렛의 수분 활성도는 0.22에서 0.76까지 증가하였다. 양쪽의 수분 활성도는 오랜 시간이 경과함에 따라 내건성 곰팡이가 증식할 수 있는 약 0.78과 같은 평형 값으로 수렴함을 보여주었다. 수분활성도 0.78은 *Aspergillus repens*와 같은 내건성 곰팡이가 자랄 수 있어 만약 초기에 초콜렛의 표면에 이 내건성 곰팡이가 존재하면 성장하여 오염 곰팡이로 발생될 수 있다. 이러한 실험결과는 파라핀 종이와 알루미늄 호일로 포장하여 복합 초콜렛과 주위 환경간에 수분이동이 거의 일어나지 않은 경우이다. 그러나, 공업적으로 생산된 제품은 완벽하게 수분이동을 차단할 수 없기 때문에 차이가 존재할 수 있다.

수분 활성도와 오염 곰팡이의 발생

복합초콜렛을 25°C에서 3달간 저장하여 초콜렛의 표면에서 발생한 곰팡이를 분리하여 동정한 결과 복합초콜렛의 표면에 주로 발생하는균은 *Aspergillus repens* 이었고 이 밖에도 *Aspergillus glaucus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum* 등이 존재하였다. 주 오염 균인 *A. repens*은 황색의 구형자낭을 형성하고 20% 설탕 첨가 Czapek 한천배지 상에서 급속히 자라며 황색의 색소로 덮인 균사체를 형성하였다. 온도 37°C까지는 생육하였으나 그 이상의 온도에서는 생육되지 않았다. 이 내건성 곰팡이를 이용하여 수분이동에 의한 수분활성도의 변화와 복합 초콜렛에서 곰팡

Table 1. Characteristics of the layers of a composite chocolate product at an initial time

Layer	Dark chocolate	Marshmallow
Water activity	0.22	0.88
Moisture content (%)	2.65	52.9
Total weight (g)	32.4	8.60
Dry weight (g)	31.9	6.21

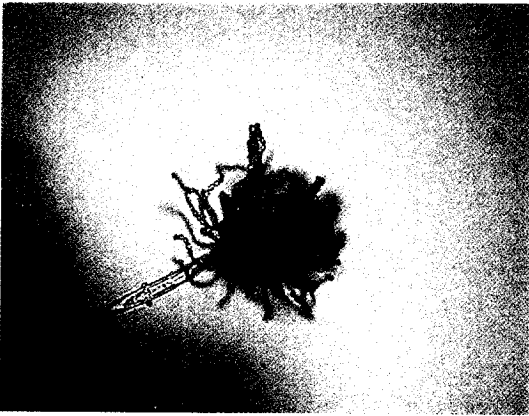


Fig. 4. Micrograph of *Aspergillus repens* (×125).

이 발생의 관계를 조사하였다.

Glycerol로 조절한 여러 수분 활성도에서 초콜렛 표면에 오염 곰팡이의 출현 시간을 조사하기 위하여 25°C와 35°C에서 초콜렛 고체 배지에 *A. repens*를 접종하여 곰팡이가 발생할 때까지 배양하였다(Fig. 5). 곰팡이의 발생은 25°C에서 수분활성도 0.73에서 162일만에 일어났고 수분활성도가 0.73에서 약 0.85로 증가하는 동안에는 곰팡이 발생 시기가 급격히 감소하였다. 그러나, 수분활성도가 약 0.85 이상에서는 곰팡이 발생 시기가 완만히 감소하여 수분활성도 0.95에서는 15일만에 곰팡이의 성장이 발생하였다. 온도를 35°C로 하여 배양할 경우 수분활성도 약 0.85 이하에서는 곰팡이의 발생 시기가 25°C보다 오래 걸렸지만 수분활성도가 약 0.85 이상에서는 곰팡이 발생 시기가 25°C보다 단축되어 수분활성도 0.94에서는 4일만에 곰팡이의 성장이 발생하였다. 이러한 결과로부터 *A. repens*는 낮은 수분활성도에서는 35°C보다 25°C에서 성장이 더 잘되고 높은 수분활성도에서는 25°C보다 35°C에서 더 잘됨을 알았다.

복합 초콜렛을 오랜 시간 저장하면 *A. repens*이 발생하는 것은 초기에 초콜렛의 낮은 수분활성도로 인하여 초콜렛과 함께 있는 곰팡이가 성장하기 못한다. 그러나 저장기간이 증가하면 초콜렛쪽으로 수분이동이 일어나 초콜렛의 수분활성도가 증가하여 곰팡이가 생육할 수 있는 특정 수분 활성도에 도달한다. 증가된 초콜렛의 수분활성도는 제품이 곰팡이에 의한 변질이 일어나는 것이 가능하게 한다. 만일 무균적으로 포장 안된다면 복합 초콜렛 제품의 유통기간은 수분이동에 의한 초콜렛 층의 수분활성도의 증가에 의하여

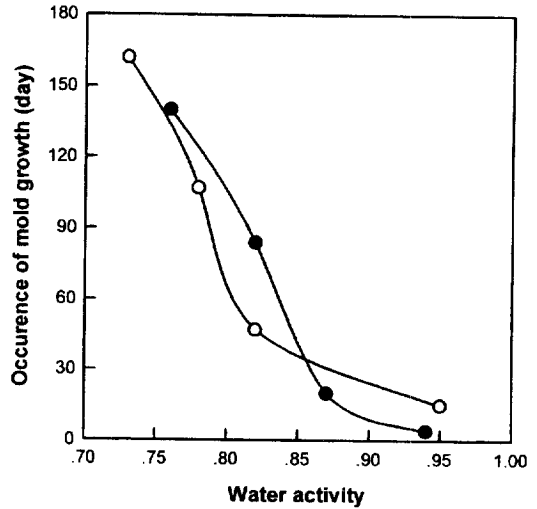


Fig. 5. Effect of water activity on occurrence of mold growth in the chocolate solid media incubated at 25°C and 35°C. ○—○: 25°C, ●—●: 35°C.

결정될 것이다.

### 요 약

마시멜로가 채워져있는 복합 초콜렛 제품에서 저장 과정 중의 곰팡이 발생에 대하여 조사하였다. 곰팡이 발생의 원인을 알기 위하여 초콜렛과 마시멜로의 수분 흡습 곡선을 살펴 본 결과 마시멜로는 초콜렛보다 흡습성이 더 크게 나타났고 수분 활성도와 수분함량의 관계는 Kuhn의 식을 잘 적용할 수 있었다. 복합 초콜렛에서는 시간이 경과함에 따라 수분이 내부 마시멜로에서 외부 초콜렛으로 이동하므로 마시멜로의 수분 활성도는 시간에 따라 0.88에서 0.80까지 감소하였고 초콜렛의 수분 활성도는 0.22에서 0.76까지 증가하였다. 수분활성도 0.76은 내건성 곰팡이가 자랄 수 있는 수분활성도이므로 장기간 저장 중에 곰팡이가 발생할 가능성이 있다. 25°C에서 3달 동안 저장된 복합초콜렛의 표면에서 곰팡이의 성장이 발생되어 동정한 결과 오염된 곰팡이는 주로 *Aspergillus repens*이었다. 여러 수분 활성도에서 복합초콜렛에 *A. repens*를 접종하여 곰팡이가 발생할 때까지 배양하였다. 25°C에서 수분활성도가 0.73에서 0.95로 증가 할 때 곰팡이 발생기간은 162일에서 15일로 감소하였다. 저장기간이 오래되어 곰팡이가 발생할 수 있는 것은 수분 이동으로 인하여 초콜렛의 수분 활성도가 증가하는 것으로 생각된다.

## 문헌

1. Feug, R.O.: Moisture transmission through fats. In *Twenty years of confectionery and chocolate progress*, Pratt, C.D, de Vadetzky, E., Langwill, K.E., McCloskey, K.E. and Schueman H.W. (Ed.), AVI Publishing Company, Inc., Westport, CT, p.25 (1970)
2. Labuza, T.P.: Water binding of humectants. In *Properties of water in foods*, Simatos D. and Multon, J.L. (Ed.), Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p.421 (1985)
3. Salwin, H. and Srawson, V.: Moisture transfer in combinations of dehydrated food. *Food Technol.*, **13**, 715 (1959)
4. Hong, Y.C., Bakshi, A.S. and Labuza, T.P.: Finite element modeling of moisture transfer during storage of mixed multicomponent dried foods. *J. Food Sci.*, **51**, 554 (1986)
5. Labuza, T.P., Mizrahi, S. and Karel, M.: Mathematical models for optimization of flexible film packaging of foods for storage. *Trans. ASAE*, **15**, 150 (1972)
6. Biquet, B. and Labuza T.P.: Evaluation of the moisture permeability characteristics of chocolate films as an edible moisture barrier. *J. Food Sci.*, **53**, 989 (1988)
7. Iglesias, H.A. and Chiriff, J.: Equilibrium moisture content of air dried beef dependence on drying temperature. *J. Food Technol.*, **11**, 565 (1976)
8. Pitt, J.T. and Hocking, A.D.: *Fungi and Food spoilage*. Academic press, Australia (1985)
9. Pitt, J.T. and Christian, J.H.B.: Water relations of xerophilic fungi isolated from prunes. *Appl. Microbiol.*, **16**, 1853 (1968)
10. Chiriff, J. Ferro, F.C. and Benmergui, E.A.: The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. IV.  $a_w$  prediction in aqueous non-electrolyte solution. *J. Food Technol.*, **15**, 59 (1980)

---

(1997년 7월 7일 접수)