

수용성 키토산 분해물질을 응고제로 이용한 두부의 저장성 증대

전기환 · 김병용[†] · 함영태*

경희대학교 식품가공학과

*중앙대학교 생물공학과

Extension of Tofu Shelf-Life with Water Soluble Degraded Chitosan as a Coagulant

Kie-Hwan Chun, Byung-Yong Kim[†] and Young-Tae Hahm*

Dept. of Food Science and Technology, Kyunghee University, Kyunggi 449-701, Korea

*Dept. of Biotechnology, Chungang University, Kyunggi 456-756, Korea

Abstract

CaCl₂ and water-soluble degraded chitosan mixtures were used as coagulants for extending the shelf-life of tofu. Microbial counts, pH, and turbidity in tofu-immersion solution were analyzed during the periods of storage at 4°C and physico-chemical properties of tofu were determined by rheological properties, color and yield. There was no significant difference in moisture content and yield between tofu made with and without chitosan. Failure stress and stress relaxation values were reduced when chitosan was added to CaCl₂, but there was no significant change among contents of chitosan added to tofu. The pH values were decreased at the beginning and then slowly increased after 14 days storage. The changes in turbidity were increased during storage, but the change in 2.0g degraded chitosan mixture with 7.0g CaCl₂ coagulant(2.0 : 7.0 ratio) was lower than others and initial turbidity was lower as much as chitosan added to coagulant. These data showed that the water-soluble degraded chitosan had a good anti-microbial effect and increases the shelf life of tofu.

Key words: chitosan, tofu, coagulant, shelf-life

서론

필수 아미노산함량이 높은 수용성 대두단백질(1)을 추출, 응고시킨 두부는 영양가와 소화율이 높고 가격이 저렴한 고단백 식품이나(2,3), 높은 수분함량으로 인해 보존성이 매우 한정적이다(4-6). 이러한 두부의 저장성 증대에 관한 연구로는 두부를 유기산으로 응고시키거나(7), 시판두부를 포장한 후 저온 살균하거나(8) Ca염으로 응고시킨 두부를 microwave로 처리한 방법(9) 등이 있다. 이 외에 두부 또는 침지액에 보존제를 사용하는 경우도 있는데, 침지액의 pH를 조정하거나(10), 두부와 침지액에 sorbic acid와 nitrofryl acrylamide를 첨가하거나(6), 초산을 침지액에 첨가하거나(8), 침지액에 키토산 분해물질을 첨가하여(11) 저장성의 연장을 보고하였다. 그러나 이러한 보고들과는 달리 현재 국내에서 유통되고 있는 두부는 실온에서 1~2일, 냉장에서

는 3일로 그 저장기간이 극히 짧으므로 저장기간을 연장시키는 연구가 절실히 필요한 실정이다.

수산 폐기물인 케나 새우와 같은 갑각류 껍질의 cuticle 층으로부터 채취, 분리한 chitin을 deacetylation시켜 제조한 키토산이 농업분야에 주로 사용되어 오다가 근래에 와서 고품질의 키토산 또는 그 유도물질들이 개발되기 시작하면서 의약품분야, 식품분야, 화장품분야 등에 그 응용의 범위가 확대되기 시작하였다(12-14). 특히 식품분야에서는 anticholesterol 및 fat binding 성질, 항균작용, 보습성 및 유화안정성, 식이섬유가 갖는 생리적 기능성 등을 고부가 제품개발에 응용하려는 연구가 시도되고 있다(12). Knorr(15,16)은 chitin과 키토산의 흡수성, 지방결합력, 색소 흡착력을 조사하여 기능성 식품첨가물로 이용이 가능하다고 보고하였으며, Cho(17)는 저분자량 키토산을 물김치, 김치, 두부 등에 첨가한 결과 이들 제품의 수명을 어느 정도 연장시킬 수 있다

[†]To whom all correspondence should be addressed

고 보고하는 등 식품첨가물로서의 키티계 유도물질의 밝은 이용전망을 보여주고 있다.

본 연구에서는 수용성 키티산 분해물질을 두부응고제에 첨가하여 4°C에 저장하면서 pH와 탁도, 미생물상의 변화 및 물성학적인 측정을 통해 응고제로서의 수용성 키티산 분해물질이 두부의 조직변화 및 저장성 향상에 미치는 영향을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

두부 제조에 사용된 대두는 미국 캘리포니아산 수입 대두를 사용하였으며, 응고제는 두유액에 대해 CaCl₂/키티산 분해물 0.3%(w/w)를 사용하였다. 키티산 분해물질은 아질산 분해법(11)에 의하여 제조한 것을 사용하여 응고제로서 이용하였다.

두부의 제조 및 저장

두부의 제조공정은 Fig. 1과 같다. 대두 300g을 12시간 수침한 후, blender로 3분간 마쇄하였다. 충분히 마쇄된 콩의 두유를 압출하였으며, 가수량은 원료대두의 10배로 하였다. 제조된 두유를 95°C에서 10분간 끓이고 끓인 두유액에 9g의 응고제를 80°C에서 첨가하였다. 응고제는 키티산을 두부에 직접 첨가하였을 때의 항균효과를 알아보기 위해 CaCl₂와 키티산의 여러 비율로(9g : 0g, 8.5g : 0.5g, 8.0g : 1.0g, 7.5g : 1.5g, 7.0g : 2.0g) 혼

합한 혼합 응고제 9g을 사용하였다. 응고제를 첨가한 후 20분간 방치하고 나서 성형틀(12×12×20cm)에 응고물을 옮기고 압착 성형한 후 일정크기(6×6×3.5cm)로 절단하여 11×11×4.6cm의 멸균용기에 넣고 멸균 증류수용액으로 침지한 후 aluminum foil로 씌워서 각각 4°C에서 0~28일간 저장하였다.

두부의 파손강도 및 응력완화의 측정

혼합 응고제의 농도에 따라 제조한 두부의 파손강도를 구하기 위해 Rheometer(Sun Co., CR-200D, Japan)을 사용하였다. 일정한 크기로 만든 두부(2×2×2cm)를 10kgf load cell에 부착시키고 200mm/min의 압축속도를 이용하여 0.4의 변형율로 압축하여 두부의 파손강도를 측정하였다. Recorder의 chart speed는 300mm/min이며 모든 측정은 실온에서 행하였다. 응력완화현상도 위와 같은 조건에서 0.2의 변형율을 이용하여 chart speed 300mm/min 속도로 30분간 실온에서 측정하였다.

두부내 수분함량, yield 및 색도 측정

제조한 두부내의 수분함량은 일정하게 자른 두부를 건조기(Dae Sung Scientific Co.)에 넣고 100°C에서 24시간 동안 건조시킨 후 수분함량의 변화를 측정하고 수율은 처음 대두의 무게에 대한 생성두부의 무게로서 계산하였다. 두부시료의 L, a, b 값을 측정하여 계산된 색도차는 색도계(Minolta CR300, Japan)를 이용하여 실온에서 측정하였다.

침지액의 생균수, pH, 탁도측정

호기성 총 생균수의 측정을 위하여 침지액을 1/15M phosphate buffer(pH 7.0)로 희석한 후, 총 세균 측정용 petri film 배지(3M Co., USA)에 1ml를 접종하여 32°C에서 2일간 배양한 후 colony 수를 측정하였다. Yeast와 mold는 yeast & mold 측정용 petri film 배지(3M Co., USA)를 사용하여 25°C에서 5일간, *E. coli*는 *E. coli* 측정용 petri film 배지에서 32°C로 2일간 배양한 후 세균과 동일한 방법으로 계수하여 나타냈다. 배양 방법은 제조회사의 배양방법에 따라 배양하였으며, 미생물수는 CFU(colony forming unit)/ml의 단위로 나타냈다.

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

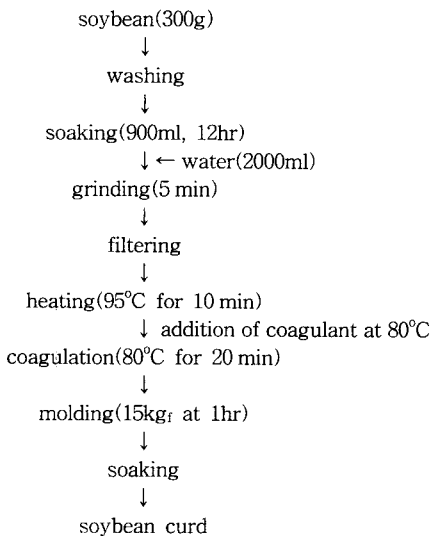


Fig. 1. Procedure for the manufacturing of soybean curd (tofu).

결과 및 고찰

두부의 파손강도 및 응력완화 측정

염화칼슘과 키토산 분해물을 여러 비율로 혼합하여 얻은 응고제로 만든 두부의 파손강도와 응력완화 값은 Table 1에 나타냈다. 키토산 분해물을 섞지 않고 염화칼슘만을 사용하여 만든 두부는 가장 높은 파손강도 (7.05kgf) 값을 나타냈고 키토산 분해물을 응고제로 일부 첨가하였을 경우 5.7~5.98kgf 범위의 파손강도 값을 나타냈다. 이는 키토산 분해물을 응고제와 섞어 제조한 두부를 4°C에서 저장하였을 경우에 침지액의 균수, pH나 탁도와 같은 화학적 변화와는 달리, 키토산 분해물을 응고제로 일부 첨가시 두부조직의 강도는 약간 감소하는 경향을 보여주나 키토산 분해물의 첨가량에 따라서는 그 변화는 크지 않음을 알 수 있었다. 내부조직의 점탄성 값의 변화 지표로 사용되어지는 초기응력(E_0)과 잔존 평형응력(E_e) 값의 경우 Table 1에 나타난 바와 같이, 염화칼슘만을 사용한 두부가 모두 높은 값을 보여 주었으며(17.36 kPa, 199.56 kPa), 첨가한 키토산 분해물의 농도를 0.5에서 1.0g 증가시 초기응력과 잔존 평형응력이 급격히 감소하다가 일정한 값의 범위를 유지함을 보여 주었다(14.21 kPa, 163.39 kPa). 따라서 키토산 분해물을 응고제의 일부로 사용할 경우 두부는 약간의 조직연화현상을 나타내지만 그 변화는 첨가량에 관계없이 거의 일정함을 알 수 있었다.

두부의 수분함량, 수율 및 색도 변화

염화칼슘과 키토산 분해물을 여러 비율로 혼합하여 얻은 응고제로 만든 두부의 수분함량, 수율 및 색도의 차이는 Table 2에 나타내었다. 염화칼슘만으로 만든 두부와 키토산 분해물과 염화칼슘을 혼합하여 만든 두부의 경우, 수분함량은 82.02%에서 82.90%의 범위를 나타내었고 수율은 140%에서 150%의 범위를 나타내었다.

Table 1. Failure stress and stress relaxation properties of tofu made of different ratio of chitosan and $CaCl_2$ coagulant mixture

Coagulant(g) CaCl ₂ : Chitosan	Failure stress (kgf)	Stress relaxation property		
		E_0	E_e	T_{rel}
9 : 0	7.05	17.36	199.56	11.5
8.5 : 0.5	5.70	16.60	190.85	11.5
8.0 : 1.0	5.70	14.21	163.39	11.5
7.5 : 1.5	5.98	14.21	163.39	11.5
7.0 : 2.0	5.70	14.45	166.22	11.5

E_0 : Instantaneous compressive modulus(kPa)
 E_e : Equilibrium compressive modulus(kPa)

Table 2. Water content(%), yield(%) and color difference of tofu made of different ratio of chitosan and $CaCl_2$ coagulant mixture

Coagulant(g) CaCl ₂ : Chitosan	Water content	Yield	Color diff.(ΔE)
9 : 0	82.32	141	21.14
8.5 : 0.5	82.54	144	21.94
8.0 : 1.0	82.90	150	23.27
7.5 : 1.5	82.85	144	22.74
7.0 : 2.0	82.03	140	21.35

으며 색도 차이는 21.14에서 23.27의 범위를 나타내어 두부의 성형, 수율이나 색도 차이에 키토산 분해물 농도간의 통계적인 유의차는 나타내지 않았다.

침지액의 생균수 변화

두부를 4°C에서 저장하면서, 시간의 경과에 따른 생균수의 변화를 Fig. 2~4에 나타내었다. 호기성 총균수(Fig. 2)의 경우 저장기간이 경과될수록 균수가 지수적으로 증가하였는데, $CaCl_2$ 8g에 키토산 분해물 1g 이상을 첨가시 무첨가군과 비교하여 세균의 성장 유도기가 현저히 증가된 것이 관찰되었고, 저장에 따른 세균의 증가율은 감소하였다. 키토산 무첨가군과 0.5g 첨가군에서는 7일간 저장시 10^7 CFU/ml까지 균수가 증가하여 부패가 진행되었으나, 1.0g 이상의 첨가군에서는 14일 이상의 저장시 10^7 CFU/ml까지 증가하여 부패하기 시작하였다. 특히 초기 오염 균수의 측정에서 키토산

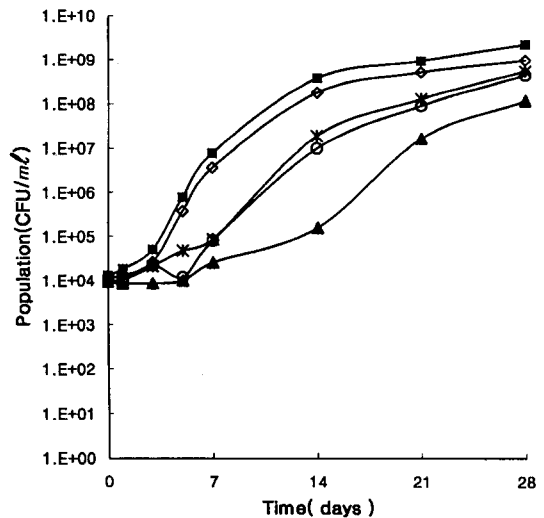


Fig. 2. Changes in aerobic bacteria of the various coagulants of soybean curd during storage at 4°C.
 —■— 9:0(CaCl₂:chitosan), —◇— 8.5:0.5
 —▲— 8.0:1.0, —○— 7.5:1.5, —*— 7.0:2.0

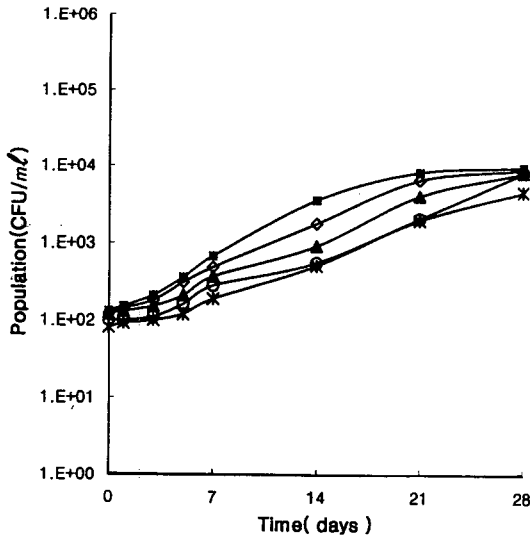


Fig. 3. Changes in yeast and mold of the various coagulants of soybean curd storage at 4°C.
 —■— 9:0(CaCl₂:chitosan), —◇— 8.5:0.5
 —▲— 8.0:1.0, —○— 7.5:1.5, —*— 7.0:2.0

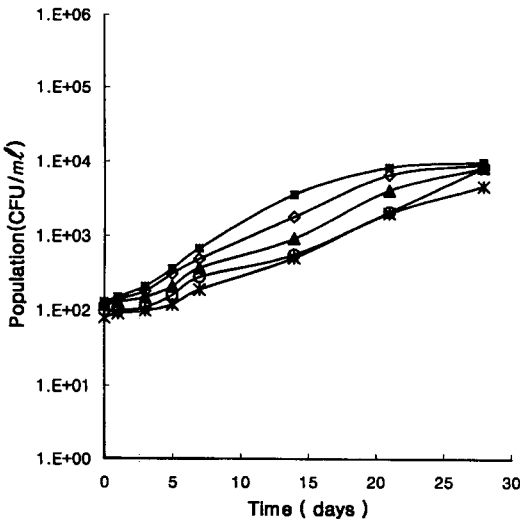


Fig. 4. Changes in *E. coli* of the various coagulants of soybean curd storage at 4°C.
 —■— 9:0(CaCl₂:chitosan), —◇— 8.5:0.5
 —▲— 8.0:1.0, —○— 7.5:1.5, —*— 7.0:2.0

분해물의 첨가량이 대조구에 비해 적게 나타나는 것은 시료를 배지에 접종시, 키토산 분해물질이 같이 접종되어 균의 성장 억제 또는 항균효과가 보이는 것으로 사료된다. Yeast와 mold(Fig. 3)의 변화도 두부에 첨가하는 키토산의 양이 많아짐에 따라 초기 균수가 1.3×10^2 CFU/ml에서 8.0×10 CFU/ml로 균 성장의 억제 효과

가 확인되었고, 저장기간이 증가함에 따른 균수의 증가 속도도 무첨가군에 비교하여 감소된 것이 관찰되었다. *E. coli*(Fig. 4)의 경우도 같은 경향을 보였는데, 키토산 1g 첨가군까지는 초기 10^2 CFU/ml에서 14일 경과시 10^4 CFU/ml까지 증가하였으나, 키토산 1.5g과 2g 첨가군은 10^2 CFU/ml에서 14일 경과시 10^3 CFU/ml까지 증가하여 키토산에 의한 강한 항균효과를 확인할 수 있었다. 白川(18)는 점질물을 생성하는 두부 변패의 주된 원인균이 호기성의 gram 음성 구균인 *Acinetobacter*속이라고 보고하였으며, Song과 Chang(6)은 시중에서 판매되고 있는 두부를 여러 온도에서 저장하였을 때 30°C에서는 12시간, 20°C에서는 30시간을 전후해서 부패가 시작되며, 총 균수는 10^7 개에 달한다고 보고하였고, Lee와 Lee(19)는 두부를 여러 온도에서 저장한 결과 37°C에서는 약 12시간, 20°C에서는 18시간, 5°C에서는 120시간이 경과하였을 때 총 균수가 10^7 개에 달하여 부패가 진행된다고 보고한 바 있다. 일반적으로 두부에서 일반 생균수가 g당 10^5 이하를 일본에서는 기준으로 하고 있으나, 국내에서는 뚜렷한 기준이 없는 실정이다. 다만 30°C에서 저장시 하루가 지나면 10^4 에서 10^7 으로 생균수가 증가되는 것이 알려져 있을 뿐이다(12). 따라서 수용성 키토산 분해물질을 응고제로 사용한 본 연구 실험의 결과는 키토산의 항균효과가 두부의 저장성 향상에 큰 영향을 미치고 것으로 관찰되었다.

침지액의 pH 및 탁도 변화

두부를 4°C에서 여러 조건별로 저장하면서 시간의 경과에 따른 pH의 변화를 Fig. 5에 나타냈다. 키토산 무첨가군의 초기 pH는 7.1이나 키토산 분해물질 첨가군에서는 조금 높은 pH를 나타내어, 2g 첨가시 pH 7.16이 측정되었다. 저장기간 14일까지 pH는 서서히 감소하다가 그 이후 증가하는 경향을 보였으며, pH의 변화 정도는 키토산 분해물 첨가군이 무첨가군에 비하여 적게 나타났다. 두부 침지액의 pH가 감소하다 증가하는 것은 부패로 생성되는 저분자량의 peptide와 amino acid, amine 등 양성 전해질에 의한 완충작용 때문이라고 사료되며(8), Song과 Chang(6)은 시판 두부를 30°C에서 저장하였을 때 18~24시간까지는 pH가 감소하나 30시간 이후는 증가하였다고 하였으며, Pontecorvo와 Bourne(7)은 lemon juice를 이용하여 제조한 두부를 37°C에서 저장시 1일에는 침지액의 pH가 감소하나 그 이후에는 완만히 증가하였던 것과 비슷한 경향을 보였다. Lee와 Lee(19)는 두부를 여러 저장온도에서 저장하면서 pH 변화를 측정된 결과 5°C에서 저장시 5일까지는 pH가 계속 감소한다고 보고하였다.

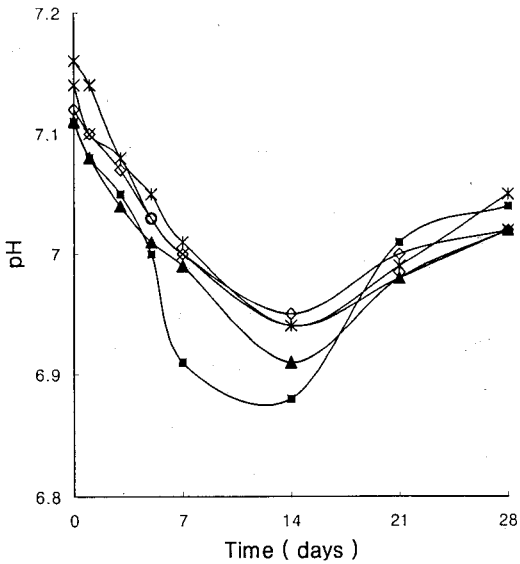


Fig. 5. Changes in pH of the coagulants of soybean curd during storage at 4°C.

—■— 9:0(CaCl₂:chitosan), —◇— 8.5:0.5
—▲— 8.0:1.0, —×— 7.5:1.5, —*— 7.0:2.0

두부를 저장하는 동안에는 세균의 성장(4)과 부패에 따른 점질물(18)의 생성에 의해 침지액의 탁도가 증가하는 경향을 보인다. Fig. 6에서 볼 수 있듯이 탁도는 저장기간이 증가할수록 서서히 증가하는 경향을 보였다. 키토산 분해물 무첨가군은 14일 경과시 0.216까지 증가하였으며, 1.5g까지 키토산 분해물을 첨가한 군에

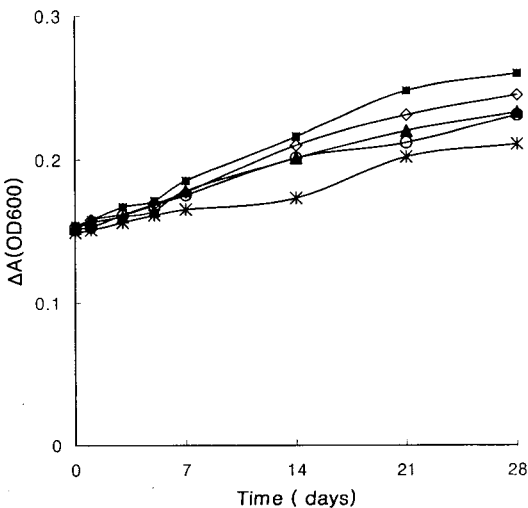


Fig. 6. Changes in turbidity of the coagulants of soybean curd during storage at 4°C.

—■— 9:0(CaCl₂:chitosan), —◇— 8.5:0.5
—▲— 8.0:1.0, —○— 7.5:1.5, —*— 7.0:2.0

서는 14일 경과시 0.201로서 0.2를 넘어섰으나, 2g 첨가군은 21일 경과시 0.202에 도달하였다. 이상의 결과를 부패의 기준이 되는 균수의 변화와 연관시켜 보면 무첨가군의 경우 균수가 10⁷CFU/ml를 넘어서는 14일 경과시 탁도 0.2를 넘어섰고, 2g 첨가군은 21일 경과시 균수가 1.0×10⁷CFU/ml에 이르면서 탁도가 0.202에 이르렀다. 이는 Lee 등(8)이 응고제를 달리해 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 경향을 보였다.

요 약

단백질 응집효과가 있는 키토산 분해물질의 항균성을 이용하여 두부의 저장성을 향상시키고자, 일반적인 두부 응고제 CaCl₂와 키토산 분해물질을 일정비율로 혼합한 혼합 응고제를 사용하여 두부를 제조하였다. 제조한 두부의 일반적인 특성을 분석해 본 결과, 일반 응고제인 CaCl₂로만 제조한 두부와 키토산 분해물질을 혼합한 혼합응고제에 의해 제조한 두부에서는 수율과 수분함량의 차이를 볼 수 없었다. 또한 파손강도와 응력완화값과 같은 물성학적인 특성에서는 키토산을 첨가한 경우 약간의 감소함을 보였으나, 그 함량에 있어서는 유의차가 없었다. 이러한 제조 두부를 멸균증류수에 침지시켜 4°C에 저장하면서 미생물, pH 및 탁도의 변화를 관찰한 결과, 대조군에 비하여 키토산 분해물질 첨가군에서는 세균의 성장유도기를 크게 연장시켜 세균증식에 따른 부패를 지연시켰으며, 또한 세균 증식율도 감소하였다. 침지액의 pH 변화는 초기에 감소하다 14일 경과 후에는 다시 증가하는 경향을 모든 처리군에서 볼 수 있었으나, 키토산 분해물 첨가군에서는 그 감소의 폭이 무첨가군과 비교하여 적었다. 또한, 탁도의 변화는 시간이 경과함에 따라 서서히 증가하는 경향을 보였으며, 두부가 부패된 것으로 간주되는 총균수 10⁷ CFU/ml에서 0.2의 탁도를 보여 탁도의 측정이 두부 부패정도를 파악하는 한 척도가 될 수 있음을 확인하였다. 또한, 키토산을 응고제의 일부로 두부에 직접 첨가 시 초기 오염균 지연 등의 항균 효과가 높은 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 키토산 분해물질을 두부 응고제로 사용하여 두부제품의 저장성 증대효과를 얻을 수 있음을 보여 주고 있다.

감사의 글

본 논문은 1996년 농특과제에 의하여 수행되었으며,

그 결과의 일부로서 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. Lee, K. W. : Nutrition and imported policy of soybean. *Food Science and Industry*, **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. Song, S. H. and Chang, K. H. : Studies on soybean curd(Part II). *Report of Military Technical Center*, **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. Lee, K. S., Kim, D. H., Baek, S. H. and Choun, S. H. : Effects of coagulants and soaking solutions of tofu (soybean curd) on extending its shelf-life. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **22**, 116(1990)
9. Champagene, C. P., Aurouze, B. and Goulet, G. : Inhibition of undesirable gas production in Tofu. *J. Food Sci.*, **56**, 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. 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)
12. Shin, D. H., Kim, M. S., Bae, K. S. and Kho, Y. H. : Identification of putrefactive bacteria related to soybean curd. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 29(1992)
13. Yang, R., Hyon, J. H. and Whang, Y. H. : A basic study on chitin from krill and kruma prawn for industrial use. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 14(1992)
14. 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)
15. Knorr, D. : Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.*, **47**, 593(1982)
16. Knorr, D. : Use of chitinous polymers in food. *Food Tech*, **38**, 85(1984)
17. Cho, H. R. : Antimicrobial activity and food preservative function of a low molecular weight chitosan. *PhD thesis*, Bukyung University(1989)
18. 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)
19. Lee, M. H. and Lee, H. W. : Study on the rheological properties and preservative of soybean curd(tofu). *The Journal of Seoul Women's University*, **13**, 437(1984)

(1998년 9월 4일 접수)