

연구노트

## 두부의 저장성에 미치는 복분자, 가자육, 오배자 에탄올 추출물의 효과

오세욱\* · 이영철 · 홍희도  
한국식품개발연구원

### Effects on the Shelf-life of Tofu with Ethanol Extracts of *Rubus coreanus miquel*, *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica*

Se-Wook Oh\*, Young-Chul Lee and Hee-Do Hong  
Korea Food Research Institute

From 7 different medicinal herbs, *Rubus coreanus miquel*, *Therminalia chebula Retz* and *Rhus javanica* was selected by paper disk method against 10 different microorganisms. The ethanol extracts of selected herbs was added into Tofu, and the total viable cell counts was determined. After 4 days, total viable cell count reached to 10<sup>7</sup> and the Tofu putrefacted. The tested sample added with 0.01% of *Terminalia Chebula Retz* extract, the shelf-life was extended as 108.8%, with 0.05% was 117.3% and with 0.1% was 132.6%. Among 3 kinds of medicinal herb, *Therminalia chebula Retz* has better powerful activity than others.

**Key words:** medicinal herb, extension shelf-life, natural preservative

### 서론

생활수준이 향상됨에 따라 보다 신선하며 방부제가 함유되어 있지 않는 식품에 대한 소비자의 선호도가 증가함으로써 최소 가공된 냉장식품의 유통이 증가하고 있으며 유통중 미생물적 안전성을 확보하기 위한 수단으로 천연항균물질에 대한 관심이 높아지고 있다<sup>(1)</sup>.

한편, 두부는 수분함량이 높은 식품으로 소화율이 대두식품 중에서 가장 높고<sup>(2)</sup>, 또한 아미노산 조성이 동물성 단백질과 유사하며 곡류 위주의 식생활에서 부족되기 쉬운 필수 아미노산이 높은 영양적으로 우수한 식품이다. 그러나, pH가 6.0 근처로 비교적 높고 수분함량이 80~88%로 보존성이 극히 불량한 단점이 있다<sup>(3,4)</sup>. 이러한 두부의 저장에 관한 연구로는 침지액의 pH를 조정하거나<sup>(5)</sup>, 두부를 유기산으로 응고시키는 방법<sup>(6)</sup>, 저온 살균<sup>(7)</sup>하거나 microwave 처리한 방법<sup>(8)</sup>이 있으며 수용성 키토산 분해물을 침지액으로 이용한 방법<sup>(9)</sup> 등이 보고되고 있으며 두부에서 부패균을 분리하여 식물체 유래의 항균물질에 대한 항균효과를 측정 한 논문<sup>(10)</sup>이 보고되고 있으나 식물체 유래의 천연항균물질을 두부에 직접 첨

가하여 저장성 연장 효과를 정밀 검토한 결과는 없는 실정이다. 따라서, 본 논문에서는 항균효과가 우수한 것으로 측정된, 정향피, 초두구, 복분자, 산사, 가자, 금앵자, 오배자를 대상으로 하여 항균효과를 재검토하였으며 그 결과 선발된 복분자, 가자, 오배자 3종의 에탄올 추출물을 두부에 농도별로 첨가하여 저장성에 미치는 영향을 정밀 검토하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 생약류

항균활성이 우수한 것으로 문헌조사된 정향피(*Eugenia caryophyllata*), 초두구(*Alpinia katsumadai* H), 복분자(*Rubus coreanus miquel*), 산사자(*Crataegus pinnatifida*), 가자육(*Terminalia Chebula Retz*), 금앵자(*Rosa laevaigate Michx*), 오배자(*Rhus javanica*) 7종을 사용하였다.

#### 공시 균주

실험에 공시된 균주로는 일반 식품 부패 미생물로 알려져 있는 균주로서 *Escherchia coli*(KCTC 2571), *Staphylococcus aureus*(ATCC 12692), *Bacillus subtilis*(ATCC 14593), *Bacillus cereus*(ATCC 11778), *Lactobacillus plantarum*(ATCC 8014), *Leuconostoc mesentroides*(ATCC 10830), *Candida albicans*(KCTC 7965), *Saccharomyces cerevisiae*(ATCC 9763), *Listeria monocytogens*(KCTC 3569), *Pseudomonas fluorescense*(ATCC 21541)를 실험에 사용하였다. 각 균주는 최적 성장 조건 및 배지에서 배양한 후 실험에 사용하였다.

\*Corresponding author : Se-Wook Oh, Korea Food Research Institute, 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Sungnam city, Kyunggi-do 463-420, Korea  
Tel: 82-31-780-9299  
Fax: 82-31-780-9299  
E-mail: swoh@kfri.re.kr

**에탄올 추출물 제조**

약용식물 5 g을 정확히 칭량하여 추출용기에 옮기고 80% 에탄올 100 mL을 첨가한 후 환류냉각장치를 이용하여 80°C에서 180분 동안 추출하였다. 추출물은 여과지(Whatman #2) 상에서 여과한 후 감압농축하여 에탄올을 제거하여 에탄올 추출물을 제조하였다.

**항균측정용 시료의 조제**

동결건조된 에탄올 추출물을 100 mg씩 정확히 칭량한 후 1 mL의 증류수로 녹이고 10,000×g에서 5분간 원심분리한 후 0.22 µm 막필터를 이용하여 제균하고 이를 항균력 측정을 위한 시료로 사용하였다.

**Paper disk method**

사면배지에서 배양된 각 균주 1백금이를 취해 액체 배지로 옮겨 균주의 최적 성장 온도에서 전배양한 후 이를 50 mL의 본배양 배지에 접종하여 균주를 배양하면서 균주의 성장 기중 early log phase에 도달한 균을 이용하여 항균활성을 검토하였다. 배양된 균주를 petri상의 고체배지에 접종하여 골고루 퍼지게 한 후 추출물을 8 mm filter paper disk(Whatman No.2)에 흡수시켜 고체배지 표면 위에 놓아 대상균주의 최적 성장온도에서 48시간 배양하였다. 배양 후 disk 주위의 clear zone의 직경(mm)으로서 항균력을 비교하였다<sup>(11)</sup>.

**두부의 저장성 연장 실험**

시중에서 구입한 두부(판두부, 분당 백화점에서 구입)의 겉 표면을 제거한 후 6.4×6.8×1.5 cm의 크기로 절단하여 ψ9.1×4.6 cm의 멸균용기에 넣고 두부량의 2배에 상당하는 수돗물을 넣은 후 여기에 복분자, 가자육, 오배자의 에탄올 추출물을 0.01%(v/w), 0.05%(v/w), 0.1%(v/w)의 농도가 되게 첨가하여 5°C에서 저장하면서 1일 간격으로 두부를 취하여 무균적으로 파쇄하여 총균수를 측정하였으며 측정치에 대하여 회귀분석은 단순회귀모델<sup>(12)</sup>에 따라 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**공시 생약재 선별**

정향피, 초두구, 복분자, 산사자, 가자육, 금앵자, 오배자의 7종에 대한 에탄올 추출물을 제조하여 10종의 공시균주에 대하여 paper disk method에 의한 항균활성을 측정하여 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 초두구 추출물의 경우 *B. cereus*에 대하여 항균활성을 나타내었으며 복분자 추출물은 *L. plantarum*, *C. albicans*, *L. monocytogens*에 대하여 항균활성을 나타내었으며 가자육은 *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. plantarum*, *L. mesentroids*, *C. albicans*, *S. cerevisiae*, *L. monocytogens*에 대하여 항균활성을 나타내어 가장 폭 넓은 항균 spectrum을 가지는 것으로 나타났다. 오배자 추출물의 경우도 비교적 넓은 항균 spectrum을 나타내었는데 *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. cerevisiae*, *L. monocytogens*, *P. fluorescense*에 대하여 항균활성을 나타내었다. 복분자, 가자육, 오배자 추출물이 비교적 광범위하면서도 높은 항균활성을 가지고 있는 것으로 판단되어 이들 3종을 두부의 저장성 연장 실험에 공시하기로 하였다.

**두부의 저장성 연장에 미치는 추출물의 효과**

복분자, 가자육 및 오배자 에탄올 추출물을 두부에 0.01%, 0.05 및 0.1%(w/w)의 농도로 첨가하여 5°C에서 저장하면서 총균수를 측정하여 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

두부의 초기의 미생물 수는 1.7×10<sup>3</sup> cfu/g으로 나타나 비교적 초기 미생물이 높은 것으로 판단되었다. 이는 시판용 두부를 소매상에서 구입하여 실험하였기 때문으로 유통중 총균수 증가가 발생한 것으로 판단되었다. 대조구의 경우 하루가 경과함에 따라 총미생물수가 2.2×10<sup>4</sup> cfu/g으로 측정되었으며 2일이 경과한 후에는 4.4×10<sup>5</sup> cfu/g으로, 4일 경에는 2.6×10<sup>7</sup> cfu/g으로 측정되었다. 저장 6일 이후에는 두부의 연부현상이 심하게 진행되었으며 총균수도 10<sup>9</sup> cfu/g에 도달하는 것으로 측정되었다.

**Table 1. Antimicrobial activity of selected medicinal herbs against 10 kinds of microorganism**

Extracts Microorganism	80% ethanol extracts						
	A <sup>1)</sup>	B <sup>2)</sup>	C <sup>3)</sup>	D <sup>4)</sup>	E <sup>5)</sup>	F <sup>6)</sup>	G <sup>7)</sup>
<i>E. coli</i>	- <sup>8)</sup>	-	7 <sup>9)</sup>	-	8	-	6
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	7	-	5
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	1
<i>B. cereus</i>	-	4	-	-	5	-	5
<i>L. plantarum</i>	-	-	5	-	6	-	-
<i>L. mesentroides</i>	-	-	-	-	5	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	6	-	7	4	-
<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	8	-	4
<i>L. monocytogens</i>	-	-	6	-	11	-	1
<i>P. fluorescense</i>	-	-	-	-	-	-	4

<sup>1)</sup>A: *Eugenia caryophyllata*, <sup>2)</sup>B: *Alpinia katsumadai* H, <sup>3)</sup>C: *Rubus coreanus* miquel, <sup>4)</sup>D: *Crataegus pinnatifida*, <sup>5)</sup>E: *Terminalia Chebula* Retz., <sup>6)</sup>F: *Rosa laevaigate* Michx, <sup>7)</sup>G: *Rhus javanica*.

<sup>8)</sup>No activity.

<sup>9)</sup>(diameter of clear zone-diameter of paper disk)/2.

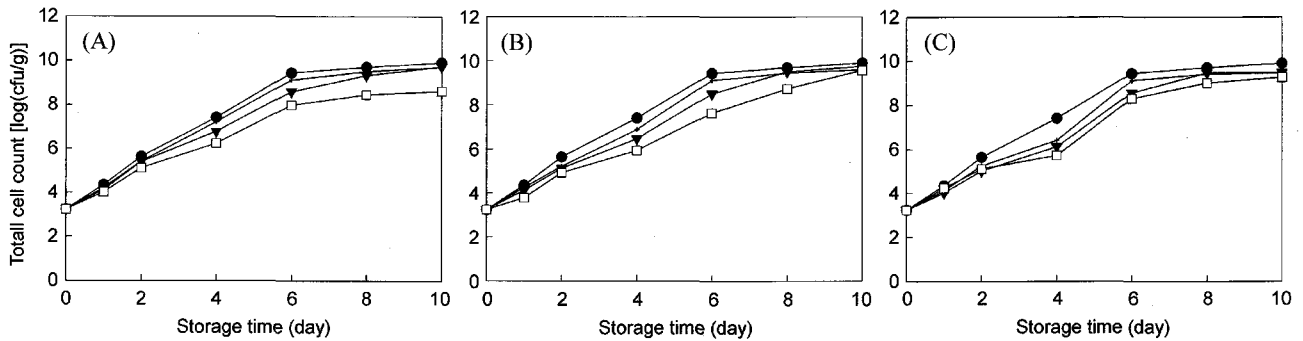


Fig. 1. Changes in total cell count of Tofu treated with 80% ethanol extracts stored at 5°C.

(A) *Rubus coreanus miquel*, (B) *Thermanialia chebula Retz*, (C) *Rhus javanica* ● : control, + : 0.01%, ▼ : 0.05%, □ : 0.1%

복분자의 에탄올 추출물을 첨가한 처리구의 경우 추출물의 첨가 농도가 증가할수록 느리게 총균수가 증가하는 경향을 나타내었으며 대조구에 비하여 현저한 차이는 없는 것으로 판단되었다. 복분자 추출물을 0.05% 첨가한 처리구와 0.1% 첨가한 처리구의 경우 저장 4일경에  $10^7$  cfu/g에는 도달하지 않는 것으로 나타나 복분자 추출물의 항균력에 의한 소폭적인 저장성 연장 효과가 있음을 알 수 있었으나 저장 6일 이후는 모든 처리구에서 부패현상이 관찰되었다.

가자육의 에탄올 추출물을 첨가한 처리구 및 오배자 에탄올 추출물을 첨가한 처리구도 복분자 추출물을 첨가한 처리구와 유사한 경향을 나타내었으나 가자육의 0.1% 첨가 처리구가 가장 저장성을 연장시키는 효과가 우수함을 알 수 있었다.

이 등<sup>(6)</sup>은 두부의 저장시 37°C에서는 12시간, 20°C에서는 18시간, 5°C에서는 약 120시간이 경과하였을 때 부패에 도달하였다고 하여 본 실험에서 나타난 저장 기간과 거의 유사함을 알 수 있었다.

본 실험에서 측정된 총균수를 그래프로 나타내었으며 이 그래프의 회귀방정식을 구하여 Table 2에 나타내었다. 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 회귀방정식에서 산출된 두부 부패의 시점으로 생각할 수 있는 총균수  $10^7$  cfu/g까지 도달하는 시간<sup>(10)</sup>을 계산한 결과 약 3.58일이 소요되는 것으로 나

타났으며 복분자 추출물을 0.01% 첨가한 처리구의 경우 약 3.77일이 소요되는 것으로 나타났으며 0.05%를 첨가한 처리구는 4.05일이, 0.1%를 첨가한 처리구는 4.54일이 소요되는 것으로 나타났다. 복분자 추출물을 첨가한 처리구의 경우 0.01% 첨가 처리구가 대조구에 비하여 저장기간이 105.2% 연장된 것으로 측정되었으며, 0.05% 첨가 처리구는 113.0%, 0.1% 첨가 처리구는 126.9% 연장되는 효과가 있는 것으로 판단되었다. 가자육을 첨가한 처리구의 경우 대조구에 비하여 0.01%는 108.8%, 0.05%는 117.3% 연장되는 것으로 나타났으며 0.1% 첨가 처리구의 경우 132.6% 연장되는 효과가 있는 것으로 나타났다. 오배자 추출물을 첨가한 처리구의 경우 각각 112.5%, 120.4% 및 119.8% 연장되는 효과가 있는 것으로 나타났으며 0.1%를 첨가한 처리구를 기준으로 하였을 때 가자 추출물이 가장 저장성을 연장시키는 효과가 우수한 것으로 나타났으며 복분자, 오배자 추출물은 가자육 추출물에 비하여 그 효과가 약간 미약한 것으로 판단되었다.

## 요 약

정향피, 초두구, 복분자, 산사자, 가자육, 금앵자, 오배자의 7종에 대한 에탄올 추출물을 제조하여 10종의 공시균주에 대

Table 2. Equations of total cell count and calculated extension time

Treatment	Regression equations	Days <sup>1)</sup>	Extension (%) <sup>2)</sup>
Control			
	$y = -0.1093x^2 + 2.1057x + 0.86$ ( $R^2 = 0.97$ )	3.58	100
<i>Rubus coreanus miquel</i>			
0.01%	$y = -0.0924x^2 + 1.9412x + 0.9971$ (0.97)	3.77	105.2
0.05%	$y = -0.0511x^2 + 1.5875x + 1.4114$ (0.98)	4.05	113.0
0.1%	$y = -0.0596x^2 + 1.4711x + 1.5457$ (0.97)	4.54	126.9
<i>Thermanialia chebula Retz</i>			
0.01%	$y = -0.0756x^2 + 1.798x + 1.1414$ (0.96)	3.90	108.8
0.05%	$y = -0.0217x^2 + 1.3769x + 1.6$ (0.97)	4.20	117.3
0.1%	$y = 0.0311x^2 + 0.8811x + 2.1157$ (0.98)	4.75	132.6
<i>Rhus javanica</i>			
0.01%	$y = -0.0627x^2 + 1.6837x + 1.2329$ (0.94)	4.03	112.5
0.05%	$y = -0.0189x^2 + 1.3354x + 1.5929$ (0.96)	4.31	120.4
0.1%	$y = 0.0067x^2 + 1.154x + 1.9257$ (0.95)	4.29	119.8

<sup>1)</sup>Time required to reach the  $10^7$  cfu/g.

<sup>2)</sup>Shelf-life extension percentage compared to control (3.58 day).

하여 paper disk method에 의한 항균활성을 측정하였다. 복분자, 가자육, 오배자 3종이 선발되었으며 이의 에탄올 추출물을 두부에 0.01%, 0.05 및 0.1%(w/w)의 농도로 첨가하여 5°C에서 저장하면서 총균수를 측정된 결과, 저장 4일 정도에 부패에 도달하는 것으로 판단되었다. 총균수 그래프의 회귀방정식을 구하여 유통가능 시간을 산출하였을 때 가자육 추출물을 첨가한 처리구의 경우 0.01% 첨가 처리구가 대조구에 비하여 저장기간이 108.8% 연장된 것으로 측정되었으며, 0.05% 첨가 처리구는 117.3%, 0.1% 첨가 처리구는 132.6% 연장되는 효과가 있는 것으로 판단되었다. 3종의 추출물 중 가자육 추출물이 가장 저장성을 연장시키는 효과가 우수한 것으로 나타났으며 복분자, 오배자 추출물은 가자육 추출물에 비하여 그 효과가 다소 미약한 것으로 판단되었다.

문 헌

1. Harris, L.J., Daeschel, M.A., Stile, M.E. and Klaenhammer, T.R. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogens*. *J. Food Prot.* 52: 384-387 (1989)
2. Miller, C.D., Denning, H. and Bauer, A. Relation of nutrients in commercially prepared soybean curd. *Food Res.* 17: 261-265 (1952)
3. Doston, C.R., Frank, H.A. and Cavaletto, C.G. Indirect methods as criteria of spoilage in Tofu (soybean curd). *J. Food Sci.* 42: 273-279 (1977)

4. Rehberger, T.G., Wilson, L.A. and Glatz, B.A. Microbiological quality of commercial Tofu. *J. Food Sci.* 47: 177-181 (1984)
5. Pontecorvo, A.J. and Bourne, M.C. Simple methods for extending the shelf life of soy curd(tofu) in tropical areas. *J. Food Sci.* 42: 969-973 (1978)
6. 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. Foods Sci. Technol.* 22: 116-122 (1990)
7. Champagene, C.P., Aurouze, B. and Coulet, G. Inhibition of undesirable gas production in tofu. *J. Food Sci.* 56: 1600-1603 (1991)
8. Wu, M.T. and Salunkhe, D.K. Extending shelf-life of fresh soybean curds by in-package microwave treatments. *J. Food Sci.* 42: 1448-1451 (1877)
9. 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: 476-481 (1997)
10. Ahn, E.S., Kim, M.S. and Shin, D.H. Screening of natural antimicrobial edible plant extract for dooboo, fish paste, makkoli spoilage microorganism. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 733-739 (1994)
11. Zaika, L.L. Spice and herbs; Their antimicrobial activity and its determination. *L. Food Safety* 9: 97-100 (1988)
12. Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. *Principle and Procedures of Statistics.* 2nd ed., McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, USA (1980)

(2002년 2월 7일 접수; 2002년 7월 4일 채택)