

Pediocin 용액침지가 두부의 저장성에 미치는 영향

박수정 · 박기재¹ · 정승원¹ · 김석중² · 윤광섭[†]

대구가톨릭대학교 식품외식산업학부, ¹한국식품연구원, ²동덕여자대학교 식품영양학과

Effect of Pediocin Treatment on Soybean curd Quality during Storage

Su-Jung Park, Kee-Jai Park¹, Seong-Weon Jeong¹, Seok-Joong Kim² and Kwang-Sup Youn[†]

Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

¹Korea Food Research Institute, Kyunggi-do 463-746, Korea

²Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

Abstract

We investigated the effects of pediocin on physicochemical and microbial changes in soybean curd, 9 days of storage at 10°C, in order to improve shelf-life. As the storage time of curd increased, the pH of solutions treated by pediocin immersion did not vary greatly, whereas the pH of control curd decreased after 5 days of storage. Titratable acidity increased in non-treated curd after 5 days of storage, and also in curd immersed in pediocin solutions of 300 and 500 ppm, after 6 and 7 days of storage, respectively. A pediocin solution of 1,000 ppm the development of titratable acidity. Also, turbidity did not increase during storage of curd treated with a pediocin solution of 1,000 ppm. The bacterial count of the immersion solution was $10^{2.5}$ CFU/mL at the commencement of storage, remained stable for 5 days of storage, and then increased rapidly. Coliforms were detected in untreated curd after 2.5 days of storage. In curd treated with 300, 500 or 1,000 ppm of pediocin, the elapsed times to coliform detection were 3.5 days, 5 days and 7 days, respectively. It is thus possible to prevent the deterioration of soybean curd with pediocin treatment.

Key words : pediocin, soybean curd, microbial, shelf-life

서 론

식품의 변질이나 부패는 일반적으로 물리 화학적 변화와 미생물학적 변화로 나눌 수 있으며 식품의 구성성분이나 조건에 따라 차이는 있지만 물리 화학적 변화보다는 미생물 작용에 의한 변질이 대부분을 차지하는 것으로 알려져 있다 (1). 식품보존을 위한 다양한 식품첨가물들이 개발되어 있지만, 인공합성품은 장기간 섭취 시 체내에 축적되어 발암성, 돌연변이 유발성 등의 위험이 있기 때문에 천연보존제로 대체 사용하려는 시도가 진행되고 있다(2).

인체에 해가 없는 천연자원으로부터 신규 천연보존제의 개발 및 사용에 많은 관심이 집중되고 있는 가운데, 지금까

지 알려진 천연항균물질로는 식물성 항균물질과 동물성 항균물질, 그리고 미생물이 생산하는 천연항생물질 등이 있다(3). 미생물이 생산하는 여러 대사산물 중 길항 작용을 가진 물질을 박테리오신(bacteriocin)이라 하는데, 이는 미생물이 생산하는 천연 항균성 단백질로서 기존 항생제가 2차 대사산물인데 반하여 자신의 유전자로부터 직접 생합성(ribosomal translation)되는 것이 특징이다(4).

Pediocin은 *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* 그리고 *P. cerevisiae*로 부터 생산되는 일련의 항균물질로 *Pediococcus* 속(屬)은 치즈, 소세지, 오이피클 등의 유익한 세균의 발효에 의해 만들어 지고, 많은 양의 lactic acid를 생산하여 식품의 pH를 낮춰서 보존성을 높여 주는데 이 *pediococci*는 pH와 열에 안정하고, 항균 spectrum 범위가 넓은 특징을 가진다고 알려져 있다(5). 특히 *P. acidilactici* M은 *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus cereus*,

[†]Corresponding author. E-mail : ksyoun@cu.ac.kr,
Phone : 82-53-850-3209, Fax : 82-53-850-3209

Aeromonas hydrophila 등의 생육을 억제 시키는 작용을 한다고 알려져 있으며 순수하게 정제된 pediocin은 식품의 shelf-life를 늘릴 수 있다고 보고되고 있다(6).

두부는 고단백 식품의 대부분이 포화 지방산과 콜레스테롤의 함유량이 높는데 반하여 지방의 약 80%가 불포화 지방으로 이루어져 있고(7), 그 중에는 리놀렌산이 많이 함유되어 인체 내에서 콜레스테롤과 지방산이 혈액 속에 축적되는 것을 방지해주는 효과가 있다(8). 반면 수분함량이 대체로 80-88%인 고수분 식품으로서 상온에서 보존성이 나빠 침지액의 pH를 조정하거나(9) 소금(10), 보존료(11)를 침지액에 첨가하는 방법, 오존처리(12), 초산처리(13) 등 그밖에도 여러 가지 방식으로 저장성 향상에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나 아직 확실한 성과는 얻지 못하고 있다.

따라서 본 연구에서는 식품의 미생물학적 안전성과 저장성유지를 위한 새로운 방법으로, 두부를 pediocin 희석액에 침지시켜 저장성을 연장할 수 있는 적절한 처리 기술을 개발하고자 저장 중 품질 특성을 살펴보았다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 두부는 국내산 콩으로 제조되어 시판되고 있는 짜게용 제품(풀무원)을 시장에서 구입하여 사용하였다.

Pediocin의 배양 및 추출

Pediocin의 배양 및 추출은 Daba 등(14)의 방법에 준하여 실시하였다. Pediocin을 추출하기 위하여 먼저 *Pediococcus acidilactici* M을 MRS broth 활성화하고 이것을 멸균한 culture media(20% whey 50 mL, yeast extract 15 g, tryptone peptone 15 g, glucose 5 g, 증류수 500 mL fill up)에 접종하여 37°C에서 18시간 정치 배양하였다. 배양물을 stomacher bag에 담아서 70°C에서 30분 동안 사멸시키고, 실온으로 냉각한 후 pH를 6.0으로 하여 30분 동안 교반하였다. 그런 다음 원심분리하여 상등액을 제거하고 5 mM sodium phosphate buffer(pH 6.0)를 넣고 현탁시키는 것을 3회 반복하였다. 현탁액의 cell과 pediocin을 탈착시키기 위해 원심분리하여 상등액을 제거하고 100 mM-NaCl 50 mL로 현탁시켜 pH를 2.0으로 조정하고 4°C에서 24 시간 교반하였다. 교반액을 다시 원심분리한 후 상등액을 취해 0.2 µm cellulose nitrate membrane filter(Whatman)로 여과한 액을 동결건조 하여 Pediocin M 분말로 추출하였으며 이의 자세한 처리과정을 Fig. 1에 나타내었다. *Pediococcus acidilactici* M을 배양하여 얻은 pediocin의 활성을 평가하기 위하여 agar well diffusion method를 이용하였다(15). Inhibitory zone(≥1mm)을 확인하여 활성을 test한 결과 추출한 pediocin의 활성은

최소저해농도가 27.7 ppm로 나타났으며 이때의 활성이 514,440 AU/g의 활성을 나타내었다.

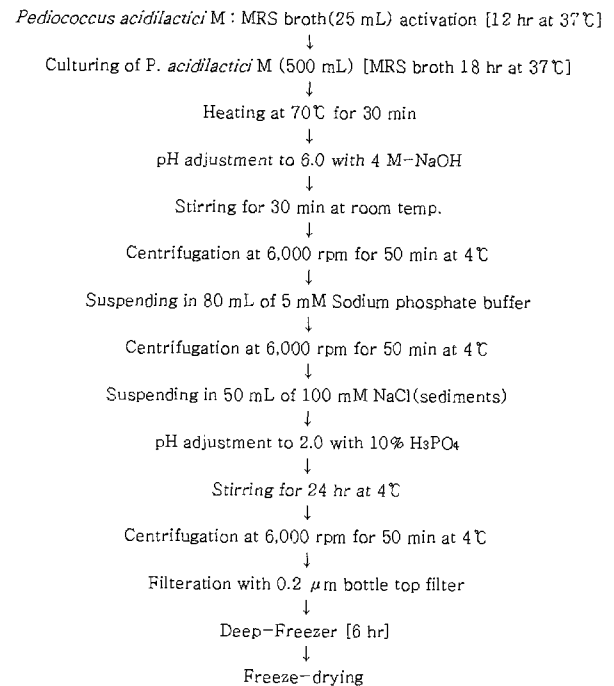


Fig. 1. Flow chart of extraction pediocin M cultured by *Pediococcus acidilactici* M.

Pediocin 용액의 처리

두부의 저장성에 미치는 pediocin처리의 효과를 알아보고자 멸균 증류수 600 mL에 pediocin을 각각 300, 500 및 1,000 ppm로 용해하여 pediocin 침지액을 제조하고, 여기에 150 g의 두부를 침지시켜 9일간 10°C에서 저장하면서 저장기간 중 침지액의 탁도, pH, 산도, 총균수 및 대장균수를 측정하였다.

pH 및 산도 측정

두부의 pH는 침지액을 25 mL를 취하여 pH meter(MP220, Mettler-Toledo, Switzerland)로 pH를 측정하고, 산도는 침지액 25 mL를 교반하면서 0.1 N NaOH 로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 적정량을 lactic acid로 환산하였다.

탁도 측정

저장 중 탁도의 변화는 두부 침지액 25 mL를 취하여 탁도계(2100A, HACH, U.S.A)를 사용하여 측정하였다.

일반세균수, 대장균군 측정

저장 중 두부침지액의 1 mL를 취해 멸균증류수에 10배 단계로 적절하게 희석하여 사용하였다. 일반세균수는 각각의 희석액 1 mL를 plate count agar(Difco)배지를 부어 혼합한 다음, 37°C에서 48시간 배양하여 형성된 colony를 계측

하고 시료 mL 당 colony forming units (CFU/mL)로 나타내었다. 대장균군의 측정은 일반세균수 측정에서와 같은 방법으로 조제된 시험용액 1 mL를 violet red bile agar(Difco Lab.)에 접종하고 37°C에서 48 시간 동안 배양하여 형성된 colony 수를 계측하여 대장균의 검출유무를 확인하였다.

결과 및 고찰

pH와 산도의 변화

Pediocin을 각각 300, 500 및 1,000 ppm의 농도로 첨가한 침지액에 두부를 침지하여 10°C에서 저장하면서 침지액의 pH와 산도의 변화를 측정한 결과는 Fig. 2, 3에 나타내었다. 두부 침지액의 초기 pH는 6.6이었으며, pediocin 첨가 농도가 높을수록 pH가 낮아져 300, 500 및 1,000 ppm 첨가액의 pH는 각각 3.33, 3.08, 2.82를 나타내었으며 이는 pediocin의 초기 산도가 낮기 때문으로 생각된다. 대조구의 경우 저장 5일 이후 pH가 감소하는 경향을 보였으나 첨가구의 pH 저하가 억제되는 것으로 볼 때 pediocin 처리가 부패미생물의 증식을 억제하는 효과가 있는 것으로 판단되었다. 이와 유사한 결과로는 Kim 등(16)은 클로렐라 첨가가 두부의 저장성이 연장되어 pH의 급격한 감소가 억제된다고 보고하였다. 또한 Lee 등(8)은 일반두부를 20°C에서 저장하였을 때 초기 pH 6.30이 9시간 이후 pH 5.85로 가장 낮았으며 부패가 완전히 진행된 18시간 이후 pH 5.50이었다고 보고하였다.

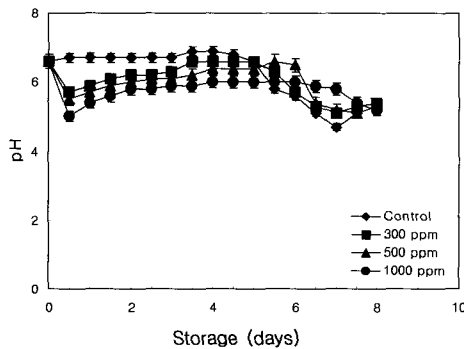


Fig. 2. Changes in pH of immersion solution from soybean curd at 10°C during storage.

산도의 변화를 살펴보면 pH와 유사한 경향으로 pediocin의 첨가농도가 높을수록 산도가 높은 것으로 나타났는데, 이는 pediocin 자체의 산도 때문인 것으로 생각되며, 저장 5일 이후 대조구의 산도는 급격한 증가를 보였다. 첨가농도에 따라서는 300 ppm 첨가구는 저장 6일 이후, 500 ppm 처리구에서는 저장 7일 이후 빠른 증가를 보였으나 1,000 ppm 처리구에서는 급격한 증가를 보이지 않았다. 두부의

저장기간이 길어짐에 따라 pediocin의 첨가농도가 높을수록 pH의 저하가 지연되는 것으로 두부의 저장성연장에 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

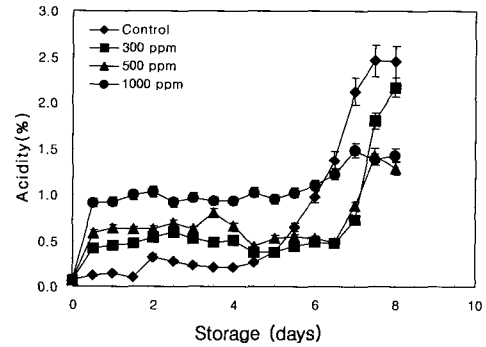


Fig. 3. Changes in acidity of immersion solution from soybean curd at 10°C during storage.

저장 중 탁도의 변화

두부의 저장 중 침지액의 탁도변화를 Fig. 4에 나타내었다. 1,000 ppm의 pediocin을 첨가한 침지액의 탁도는 저장기간 중 크게 증가하지 않아 두부의 부패에 따른 분해물의 생성이 억제됨을 확인할 수 있었으나 대조구는 저장 6일 이후부터는 급격한 탁도의 증가를 보였다. 그 외의 pediocin의 처리농도에 따라서는 300 ppm과 500 ppm의 경우 6일 이후 약간 증가함을 보여 서서히 부패가 진행됨을 확인할 수 있었다. 이와 같은 탁도의 증가는 저장중 세균성장과 부패에 따른 침질물의 생성에 의해 탁도가 증가하는 것으로 Jung 등(17)이 보고한 오미자와 매실을 이용한 두부의 저장에 따른 탁도의 변화와 유사한 경향을 나타내었다.

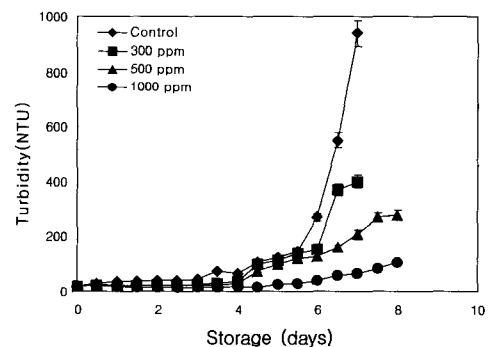


Fig. 4. Changes in turbidity of immersion solution from soybean curd at 10°C during storage.

저장 중 미생물의 변화

저장기간에 따른 일반세균수와 대장균군의 변화를 나타낸 결과는 Fig. 5와 6에 나타내었다. 두부 침지액의 초기 일반세균수는 2.50 log CFU/mL 로 저장기간이 경과함에

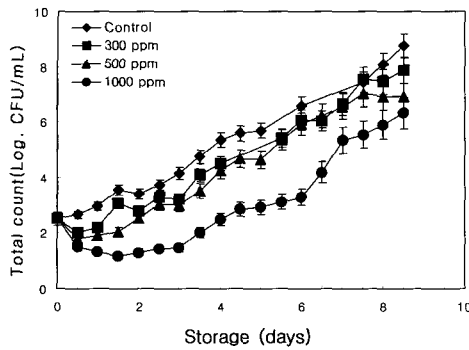


Fig. 5. Changes in aerobic bacterial counts of immersion solution from soybean curd at 10°C during storage.

따라 서서히 증가하는 경향을 보였으며 저장 5일 이후부터는 빠르게 증가하는 양상을 보였다. 그러나 1,000 ppm 처리구의 경우 저장 2일까지는 균수가 감소함을 보여 pediocin 처리가 일반세균수의 감소에 영향이 있음을 확인할 수 있었으며 300 및 500 ppm 처리구의 경우에는 저장 1.5일에서 균수가 다시 증가함을 보여 pediocin 처리에 따른 초기 균수의 감소효과를 확인할 수 있었다. 두부의 저장한계를 6.00 log CFU/mL 균수가 검출되는 시점으로 볼 때 1,000 ppm 처리구에서는 저장 8일까지도 안정한 것으로 나타났지만, 낮은 처리농도에서는 도달시간이 각각 6일과 7일로 나타났으며 대조구는 5일 이후로 판단할 수 있었다. 그러나 본 실험에서는 두부 침지액의 균수를 측정했으므로 저장 두부를 대상으로 한다면 저장성이 더 연장될 것으로 판단된다. 자몽중자추출물을 두부저장의 천연항균소재로 활용한 결과(18)에 의하면 총균수의 감소와 함께 대장균수도 현저히 낮은 값을 보였다고 보고하여 본 연구결과와 유사한 결과를 얻었다.

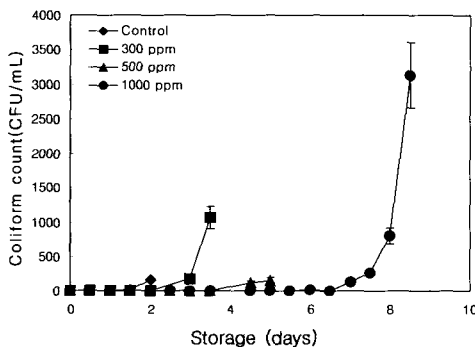


Fig. 6. Changes in coliform bacterial counts of immersion solution from soybean curd at 10°C during storage.

대장균군의 검출을 확인해본 결과 대조구는 저장 2.5일에서 검출을 확인하였으며, 300 및 500 ppm 처리구에서는 3.5일과 5일째에서 검출되었으며, 1,000 ppm 처리구에서는

저장 7일 이후 검출이 확인 되어 pediocin 처리에 따른 저장성 연장 효과가 있는 것으로 확인하였다. Seo 등(19)의 보고에 의하면 항균성이 있는 마린엑스를 두부의 저장 시 침지액으로 활용하여 총균수와 대장균수의 억제능을 보여 본 연구와 유사한 결과를 얻었으며 설정된 농도에서는 첨가농도에 따른 차이를 확인하였다. 이와 같은 결과로 보아 pediocin 처리는 두부의 저장성 연장에 효과가 있음을 확인하였으며 처리농도가 높을수록 억제효과가 높았다. 축육제품의 저장성 연장을 위하여 복합 bacteriocin을 적용한 결과 일반세균수는 대조구에 비하여 유의적인 감소를 보인다고 보고한 결과로 볼 때(20) 본 연구에서 사용되는 pediocin 처리도 두부제품 뿐만 아니라 다른 식품에도 활용가능성이 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구는 pediocin 처리에 따른 두부의 저장성 연장 효과를 확인하고자 pediocin을 첨가한 침지액에 침지시킨 두부를 10°C에서 저장하면서 두부의 품질변화를 측정하였다. pH는 무처리구의 경우 저장 5일 이후 pH가 감소하는 경향을 보였으나 첨가구에서는 pH 감소가 억제되었다. 산도의 변화는 무처리구의 경우 저장 5일 후 급격한 증가를 보인 반면에 300 ppm 처리구는 저장 6일, 500 ppm 처리구는 7일 이후 빠른 증가를 보였으나 1,000 ppm 처리구에서는 급격한 증가를 보이지 않았다. 저장 중 침지액 탁도의 변화는 무처리구의 경우 저장 6일 이후부터 급격한 증가를 보였고, 300, 500 ppm 처리구의 경우 저장 6일 이후 서서히 증가한 반면에 1,000 ppm 처리구에서는 저장기간 내에 큰 증가를 보이지 않았다. 두부 침지액의 초기 일반세균수는 2.50 log CFU/mL으로 저장기간이 경과함에 따라 서서히 증가하다가 저장 5일 이후부터는 빠르게 증가하는 양상을 보였다. 그러나 1,000 ppm 처리구의 경우 2일까지는 균수가 감소하였고, 300, 500 ppm 처리구의 경우에는 저장 1.5일까지 균수가 감소하였다가 다시 증가함을 보였다. 대장균군의 검출을 확인 해 본 결과 무처리구는 저장 2.5일에서 검출되었고, 300 ppm과 500 ppm 처리구에서는 각각 3.5일, 5일에서 검출되었으며 1,000 ppm 처리구에서는 저장 7일 이후 검출되었다. 따라서 pediocin 처리는 두부의 저장성 연장에 효과가 있음을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 감사드립니다.

참고문헌

1. Jung, J.H. and Cho, S.H. (2003) Effect of steeping treatment in the natural antimicrobial agent solution on the quality control of processed tofu. *Korean J. Food Preserv.*, 10, 41-46
2. Park, J.G., Her, J.H., Li, S.Y., Cho, S.H., Youn, S.K., Choi, J.S., Park, S.M. and Ahn, D.H. (2005) Study on the improvement of storage property and quality in the traditional seasoning beef containing medicinal herb extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 34, 113-119
3. Heo, C.H. and Cho, S.H. (2002) Antimicrobial activity of polylysine produced by *Streptomyces* sp. *J. Agric. Life Sci.*, 36, 47-52
4. Kim, S.I., Chang, J.Y., Kim, I.C. and Chang, H.C. (2001) Characterization of bacteriocin from *Bacillus subtilis* cx1. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, 29, 50-55
5. Elegado, B.E., Kim, W.J. and Kwon, D.Y. (1997) Rapid purification, partial characterization, and antimicrobial spectrum of the bacteriocin, Pediocin AcM, from *Pediococcus acidilactici* M. *Int. J. Food Microbiol.*, 37, 1-11
6. Kim, W.J. (1993) Pediocins: bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, and *P. cerevisiae*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, 6, 3003-3011
7. 김길환. (1982) 콩, 두부와 콩나물의 과학. 한국과학기술원
8. Lee, M.W. and Lee, H.W. (1984) Studies on the texture and shelf-life of soybean curd. *J. Seoul Woman's Univ.*, 13, 437-451
9. Pontecorvo, A.J. and Bourne, M. (1978) Simple methods for extending the shelf life of soy curd in tropical areas. *J. Food Sci.*, 43, 696-972
10. Lee, K.S., Kim, D.H., Baek, S.H. and Choun, S.H. (1990) Effects of coagulants and soaking solutions of tofu (soybean curd) on extending its shelf life. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 22, 116-122
11. Miskovsky, A. and Stone, M.B. (1987) Effect of chemical preservatives on storage and nutrient composition of soybean curd. *J. Food Sci.*, 52, 1535-1537
12. Park, I.K., Kim, S.Y. and Kim, S.D. (1994) Storage of soybean curd prepared with ozone treated soybean. *J. East Asian Soc. Dietary Life*, 4, 51-56
13. Wu, M.T. and Salunkhe, D.K. (1977) Extending shelf-life of fresh soybean curds by in-package microwave treatment. *J. Food Sci.*, 42, 1448-1450
14. Daba, H., Lacroix, C., Huang, J., Simard, R.E. and Lemieux, L. (1994) Simple method of purification and sequencing of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* UL5. *J. Appl. Bacteriol.*, 77, 682-688
15. Kim, W.J., Hong, S.S., Cha, S.K. and Koo, Y.J. (1993) Use of bacteriocinogenic *Pediococcus acidilactici* in sausage fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 3, 199-203
16. Kim, S.S., Park, M.K., Oh, N.S., Kim, D.C., Han, M.S. and In, M.J. (2003) Studies on quality characteristics and shelf-life of chlorella soybean curd (tofu). *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 46, 12-15
17. Jung, G.T., Ju, I.O., Choi, J.S. and Hong, J.S. (2000) Preparation and shelf - life of soybean curd coagulated by fruit juice of *Schizandra chinensis Ruprecht(Omija)* and *Prunus mume(Maesil)*. *J. Korean Food Sci. Technol.*, 32, 1087-1092
18. Jung, J.H. and Cho, S.H. (2003) Effect of steeping treatment in the natural antimicrobial agent solution on the quality control of processed tofu. *Korean J. Food Preserv.*, 10, 41-46
19. Seo, K.I., Kim, Y.T. and Kim, H.C. (2000) Antimicrobial activities of marinex and preservative characteristics of soybean curds soaked in diluted marinex. *Korean J. Food Preserv.*, 7, 326-330
20. Han, K.S., Oh, S.J., Moon, Y.I. and Kim, S.H. (2002) Antimicrobial effects of a bacteriocin mixture from lactic acid bacteria against foodborne pathogens. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, 22, 164-171

(접수 2007년 1월 29일, 채택 2007년 3월 30일)