

牛乳 貯藏中 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 含量과 生菌數의 變化

崔載春·權重浩*·申大休·尹衡植
慶北大學校 農化學科, *韓國에너지研究所
(1982년 8월 15일 수리)

Studies on the Changes of Nitrate, Nitrite Contents and the Viable Bacterial Population during Milk Storage

Jae Chun Choi, Joong Ho Kwon*, Dae Hyu Shin and Hyung Sik Yoon

Dept. of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, Teagu

*The Korea Advanced Energy Research Institute, Seoul

(Received August 15, 1982)

Abstract

The Changes of nitrate and nitrite contents at different storage temperatures (low temperature : 4~7°C, high temperature : 28~30°C) were studied in relation to the viable bacterial population.

The contents of nitrate and nitrite in milk were 1.10 ppm and 0.03 ppm, respectively.

When milk was stored for 7 days at 28~30°C, nitrate concentration decreased to 0.3 to 0.6 ppm, whereas nitrite increased up to 0.13 to 0.08 ppm. However, during the storage at 4~7°C, their contents were little changed.

The number of viable bacterial population in raw milk appeared 9×10^6 /ml, and rapidly increased throughout 3 days storage at high temperature, but afterward it tended to decrease.

This seemd to indicate that nitrate was reduced to nitrite by the nitrate reducing bacteria in milk, and the changes in the viable bacterial population were also related to the changes of pH and titratable acidity.

序 論

窒酸鹽 및 亞窒酸鹽은 各種 食品과 土壤, 飲料水 및 牧草等에 含有되어 있으며, ^{1,2,3)} 發色 및 保存 效果로 食肉製品에 添加되고 있다. ^{4,5)} 窒酸鹽은 施肥量, 水分, 溫度等의 外的條件과 草種, 器管部位, 生育期, 酵素系等의 內的要因에 의해 植物體內에 蓄積되어 갖가지 生理的 有害作用을 나타내며, ^{6,7)} 牧草에서 夏節期 옷자란 靑草로 飼育한 것소가 窒酸鹽 中毒을 일으켰다는 報告⁸⁾와 통조림 食品의 경우 주석의 異常溶出 事例도 있다. ^{7,9)} 窒酸鹽에 의한 生理的 作用은 窒酸鹽의 直接的인 것이 아니고 窒酸還元酵素나 還元細菌에 의해 生成된 亞窒酸鹽에 基因하게 되며, 窒酸鹽을 多量 含有한 食品을 攝取했을 경우 消化器管에서 細菌이나 酵素의

作用으로 還元된 亞窒酸鹽은 血中 hemoglobin 과 結合하여 methemoglobinemia 등 各種 中毒症狀을 일으키게 된다. ^{10,11)} 또한 最近 問題視되고 있는 것으로 亞窒酸鹽은 食品, 醫藥品 및 殘留農藥等의 成分으로 含有된 第二級 amine 과 反應하여 發癌性 nitrosamine 을 生成하게 되므로, ^{12,13)} 이에 關한 많은 研究가 이루어지고 있다. 野菜를 위시한 各種 食品과 唾液中の 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽에 對한 報告는 많이 있으나, ^{14,15,16)} 國內에서 生産 消費되고 있는 牛乳中の 이들에 對한 研究는 없는 것 같다. 한편 우유는 날로 그 消費量이 增加하고 있으나, ¹⁷⁾ 生産 및 供給 過程에서 細菌이 增殖하기 쉬운 性狀을 하고 있어 食中毒의 原因食品으로 注目되고 있다. ¹⁸⁾ 이와 관련하여 本研究에서는 牛乳貯藏中 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 含量과 生菌數의 變化를 檢

Table 1. Chemical composition(ppm) of feeding water

Degrees	Taste	pH	Hardness	Cl-ion	NH ₄ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N
Low	Tasteless	7.5	240	52	N.D	N.D	10.4
High	Tasteless	7.9	280	56	N.D	N.D	15.2
Mean	Tasteless	7.7	260	54	N.D	N.D	12.8

*N.D. indicates not detected. The details of the experiments are given in the text. All data are average values of triplicate experiments.

Table 2. Nitrate and nitrite contents(ppm) in pasteurage

Names	Nitrate(NO ₃ ⁻)			Nitrite(NO ₂ ⁻)		
	Low	High	Mean	Low	High	Mean
Orchard grass	324	360	342	0.11	0.25	0.18
Italianrly grass	298	326	314	0.09	0.24	0.15
Red clover	542	594	568	0.36	0.48	0.42

*The details of the experiments are given in the text. All data are average values obtained from at least three experimental results.

Table 3. Changes of nitrate contents (ppm) during storage

Parts	Storage temp.	Days						
		1	2	3	4	5	6	7
Raw milk	4~7°C	1.10	1.08	1.07	1.08	1.04	0.98	0.82
	28~30°C	1.10	1.06	0.98	0.82	0.56	0.52	0.26
Pasteurized milk	4~7°C	1.10	1.10	1.08	1.08	1.04	1.04	1.02
	28~30°C	1.10	1.08	1.06	1.02	0.92	0.88	0.65

*Days indicate the time elapsed following storage of milk. The experimental conditions were same as described in the text. All data are average values of nitrate contents obtained from triplicate experiments.

討하였으며, 아울러 試料乳를 採取한 牧場의 牧草와 給水에 對한 이들의 含量을 調査하였다.

材料 및 方法

1. 材料

試料用 牛乳는 慶北 慶山郡 河陽邑 大邱牧場에서 飼育되고 있는 5年生 Holstein 種 젖소에서 直接 搾乳한 것을 使用하였다.

2. 方法

1) 試料處理

젖소에서 搾乳한 原乳와 이것을 80°C에서 15~18秒 동안 處理한 殺菌乳로 區分하고, 이를 各各 4~7°C와 28~30°C에 貯藏하면서 24時間 간격으로 試料를 採取하였다.

2) 給水の 水質檢査

牧場의 給水를 週期的으로 採取하여 水質檢査法¹⁹⁾에 따라 測定하였다.

3) 牧草中の 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 定量

牧草는 牧場 草地의 低地, 平地, 高地에서 各各 均

一하게 採取하였으며, 窒酸鹽은 cadmium column을 利用하여 亞窒酸鹽으로 還元시킨 다음 naphthylethylenediamine에 依한 diazo coupling 法에 따라 前報²⁰⁾에서와 같이 定量하였다.

4) 牛乳中の 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 定量

牛乳中の 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 含量은 international dairy federation standard에 依한 cadmium column 還元法^{21,22)}에 따라 測定하였다.

5) 牛乳中の 一般 生菌數

bacto-plate count agar(Difco 社製)를 써서 標準寒天 平板培養法^{23,24)}으로 37±1°C에서 48時間 培養한 다음 試料 1ml 中の 集落數로써 計算하였다.

6) 牛乳의 pH 및 適定酸度

自動 溫度調節 pH meter(Model TD-15)를 使用하였으며, 適定酸度는 試料 10g을 取해 1% phenolphthalin 溶液 0.5ml를 加한 後 0.1N NaOH 溶液으로 適定하여 乳酸으로 換算하였다.^{23,23)}

Table 4. Changes of nitrite contents (ppm) during storage

Parts	Storage temp.	Days						
		1	2	3	4	5	6	7
Raw milk	4~7°C	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.05
	28~30°C	0.03	0.03	0.04	0.05	0.07	0.10	0.13
Pasteurized milk	4~7°C	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04
	28~30°C	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.06	0.08

*Days indicate the time elapsed following storage of milk. The experimental conditions were same as described in the text. All data are average values of nitrite contents obtained from triplicate experiments.

Table 5. Changes in viable bacterial population during storage. (Number of colony/ml)

Parts	Storage temp.	Days						
		1	2	3	4	5	6	7
Raw milk	4~7°C	9×10 ⁵	18×10 ⁵	45×10 ⁵	56×10 ⁵	40×10 ⁵	20×10 ⁵	7×10 ⁵
	28~30°C	9×10 ⁵	69×10 ⁵	152×10 ⁵	124×10 ⁵	54×10 ⁵	23×10 ⁵	23×10 ⁵
Pasteurized milk	4~7°C	180	191	195	204	194	192	190
	28~30°C	180	3×10 ⁵	15×10 ⁵	124×10 ⁵	69×10 ⁵	40×10 ⁵	31×10 ⁵

*Days indicate the time elapsed following storage of milk. All data on the table are represented as average values of viable bacterial population contained in the experimental condition obtained from triplicate experiments. The details of the experimental condition were given in the text.

結果 및 義察

1. 給水의 水質檢査

牧場에서 糞水의 給水로 使用하고 있는 水質을 檢査한 結果는 Table 1 과 같다.

給水에서 亞窒酸鹽은 檢出되지 않았으나 窒酸鹽의 含量은 平均 13 ppm으로 유럽 規制量^{25,26)}인 50 ppm에 는 未達되었다. 其他 檢査 項目은 飲料水 規格 基準¹⁹⁾에 適合한 것으로 나타나 家畜用 給水로서 별 問題가 없었다.

2. 牧草中의 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 含量

牧場에서 栽培되고 있는 代表의인 草種으로써 orchard grass, italyantly grass 및 red clover의 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 含量을 測定해 본 結果는 Table 2와 같다.

3가지 牧草 가운데 orchard grass와 italyantly grass는 다같이 窒酸鹽은 330 ppm, 亞窒酸鹽은 0.16ppm 정도로 거의 비슷한 數値를 보인 反面 豆科作物에 속하는 red clover는 이보다 훨씬 높은 含量으로 窒酸鹽은 560 ppm, 亞窒酸鹽은 0.40 ppm으로 各各 나타났다. 이와같이 草種에 따른 差異가 보여지며 一般 野菜中の 含量과 비슷한 結果를 나타내고 있다.^{15,16)}

3. 牛乳貯藏中 窒酸鹽의 含量變化

牛乳貯藏中 窒酸鹽의 含量을 調査한 結果는 Table 3과 같다.

牛乳中 窒酸鹽 含量은 1.10 ppm 정도로 불란서 保健

局 規制量인 15 ppm²⁵⁾에 比하면 極히 적은 含量이었다. 4~7°C의 低溫에서 原乳를 貯藏할 경우 窒酸鹽 含量은 貯乳 5日까지는 거의 變化하지 않았으나 高溫에 貯藏한 것은 저장 3日부터 多少 減少하기 시작하여 7日以後에는 아주 많은 減少를 보였다. 한편 殺菌乳의 경우는 低減에서는 貯藏 7日까지 거의 變化하지 않았으나 高溫에서는 貯藏期間이 경과함에 따라 完만한 減少를 보였다.

4. 牛乳貯藏中 亞窒酸鹽의 含量變化

牛乳貯藏中 亞窒酸鹽의 含量을 調査한 結果는 Table 4와 같다.

牛乳中 亞窒酸鹽의 含量은 0.03 ppm 정도로 穀物, 豆類, 野菜等의 含量¹⁴⁾보다는 多少 적은 量이었다. 原乳를 低溫에서 貯藏할 경우 亞窒酸鹽의 含量은 5日까지는 變化가 없었으나 高溫에서는 貯乳 3日부터 약간씩 增加하여 7日에는 約 4倍의 含量에 達하였다.

殺菌乳에서도 低溫 貯藏에서는 7日째까지 별 變化가 없었으나 高溫에 貯藏한 것은 4日째에 약간 變化를 보이다가 貯藏 7日에는 0.08 ppm 정도로 增加하였다. 이에 亞窒酸鹽은 高溫 貯藏에서 그 含量이 增加하는 點을 考慮하여 可能한 限 5°C 以下の 低溫貯藏이 要求된다.

5. 牛乳貯藏中의 生菌數 變化

牛乳貯藏中 生菌數의 變化를 調査해 본 結果는 Table 5와 같다.

原乳中の 生菌數는 9×10⁵ colony/ml이었으며 低溫

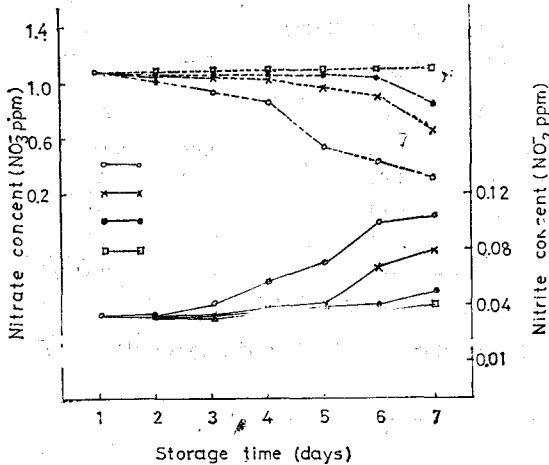


Fig. 1. Relationship between nitrate and nitrite content during milk storage.

Changes of raw milk in high (○-○) and low temperature (x-x). Changes of pasteurized milk in high (●-●) and low temperature (□-□). Solid lines represent nitrate contents and dot lines nitrite contents of milk. Days indicate the time elapsed following storage of milk. Each points are average values of triplicate experiments. The details of experiments are given in the text.

貯藏에서도 低溫菌의 生育으로 貯乳 4日에는 56×10⁶으로 그 數가 가장 많았으며 그 以後부터는 漸次 減少하는 傾向을 보였다. 高溫 貯藏에서는 細菌이 幾何級數의 增殖하여 3日에는 152×10⁶으로 最大値를 보이면서 급격히 減少하였다. 이는 微生物의 生育條件이 適當하면 急激히 增殖하지만 一定 時間이 지나면 營養分의 不足, 代謝產物의 蓄積 및 牛乳의 酸敗等 環境條件의 不良으로 微生物의 數가 減少하는 것으로 생각된다. 殺菌乳는 低溫 貯藏에서 菌의 增殖이 거의 없으나 高溫 貯藏한 것은 生菌의 急速한 增殖으로 貯乳 2日이 지나면서 飲用이 不可能한 狀態로 되어 4日째에는 124×10⁶으로 最大 增殖期를 맞으면서 점차 減少하는 傾向이었다.

6. 牛乳貯藏中 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 相互 含量 變化

牛乳 貯藏中 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 相互含量變化는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 殺菌乳에 있어서는 거의 含量變化가 없으나, 原乳에 있어서는 低溫 貯藏에서 貯乳 4~5日부터 窒酸鹽의 還元現象이 觀察되며 이는 原乳 低溫 貯藏中 3~4日부터 生菌數가 增加하는 것 과 잘 一致하는 것 같다. 한편 高溫 貯藏의 경우는 貯乳 初期부터 細菌數의 急激한 增加와 함께 窒酸鹽과 亞窒酸

鹽의 相互增減 現象이 뚜렷하였다. 이 같은 還元現象은 牛乳 貯藏中 增殖한 窒酸 還元細菌의 作用으로 생각되며, *Lactobacillus* 계통의 窒酸還元細菌이 主로 作用하는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾

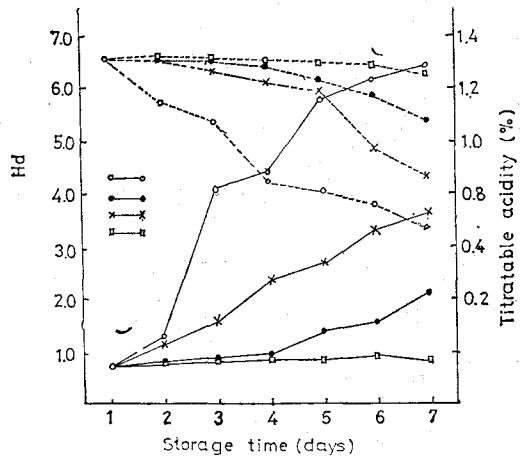


Fig. 2. Relationship between pH and titratable acidity percentage in milk storage.

Changes of raw milk in high (○-○) and low temperature (●-●). Changes of pasteurized milk in high (x-x) and low temperature (□-□). Dot lines represent pH values and solid lines titratable acidity percentage of milk. Days indicate the time elapsed following storage of milk. All data on the figure are average values of triplicate experiments. The details of experiments are given in the text.

7. 牛乳貯藏中 pH 및 酸度의 變化

牛乳 貯藏中 pH 및 適定酸度의 變化를 보면 Fig. 2와 같다. 原乳의 pH는 6.6程度로 他 報告^{28,29)}와 一致하며, 低溫 貯藏에서는 變化가 거의 없으나 貯藏 6日부터는 5.40으로 低下되었고, 高溫 貯藏에서는 3日째에 4.20으로 되고 그 後에는 甚하게 低下되어 7日頃에는 3.40으로 나타났다. 또한 殺菌乳는 低溫 貯藏에서 pH의 變化가 別로 없으나 高溫 貯藏에서는 5日에 5.90, 貯藏 7日째에 4.30으로 크게 低下되었다. 한편 牛乳의 酸度는 0.150程度로 金²⁸⁾, 全²⁹⁾ 등의 報告와 같은 것으로 나타났으며 低溫 貯藏에서도 酸이 서서히 生成되어 3~4日째에 0.19%로 增加되어 原乳의 酸度 基準値를 超過하였으나, 高溫 貯藏에서는 2日頃에 0.258%, 5日頃에 1.160%로 甚한 酸敗現象이 나타났다. 殺菌乳의 低溫 貯藏에서는 酸度에 別 變化가 없었으나 高溫 貯藏에서는 2日이 지나면서 飲用이 不可能한 程度의 酸이 生成되어 7日頃에는 0.742%로 異

味, 異臭가 發生하고 乳蛋白 凝固가 생겨 끈끈이 것 (ropy milk)이 觀察되었다. 이같이 低溫에서 보다 高溫貯藏에서 pH와 酸度의 相對的 變化가 일어났으며, 이는 牛乳中 酸生成 細菌의 增殖 및 窒酸鹽 還元過程의 促進과 聯關性을 보여주고 있다.

要 約

牛乳中 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 含量과 生菌數의 變化를 檢討할 目的으로 原乳와 殺菌乳를 各各 4~7°C와 28~30°C로 區分 貯藏하면서 이들의 含量變化和 아울러 pH 및 酸度의 關係를 調査한 結果는 다음과 같다.

(1) 牛乳中의 窒酸鹽(NO_3^-)의 含量은 1.10 ppm으로 높은 溫度에 貯藏할 경우 쉽게 減少하여 7日後에는 0.3~0.6 ppm이었고, 低溫 貯藏에서는 0.8~1.0 ppm으로 거의 變化가 없었다.

(2) 亞窒酸鹽의 含量은 0.03 ppm으로 높은 溫度에서는 그 含量이 增加하여 貯藏 7日에는 0.13~0.08 ppm으로 나타났으며, 낮은 溫度에서는 거의 變化가 없었다.

(3) 生菌數는 原乳에서 9×10^6 colony/ml이며, 높은 溫度에 貯藏할수록 急激히 增加하여 3日後에는 150×10^6 으로 最多數를 보였고, 低溫 貯藏에서는 3~4日後에 多少의 增加가 있었으나 큰 變化가 없었다. 殺菌乳의 경우 低溫 貯藏時는 거의 增殖이 없었으나 高溫 貯藏은 3日後에 120×10^6 으로 가장 많았고 그 以後는 減少하였다.

(4) 亞窒酸鹽의 生成과 窒酸鹽의 減少는 細菌數의 增殖과 같은 傾向으로 나타난 것을 볼 때 窒酸 還元細菌과 酵素等이 窒酸鹽 還元에 作用하는 것으로 생각된다.

(5) 細菌數의 增加가 pH와 酸度變化에 相互聯關性이 있는 것 같다.

(6) 殺菌乳의 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 含量變化는 거의 없으나 高溫 貯藏한 原乳의 경우 3日以後부터 窒酸鹽의 減少와 함께 亞窒酸鹽이 增加하는 現象을 보였다.

文 獻

1. Kazuhiko takahisi and Hirotooshi koda: *J. Japan. Soc. Food Sci. and Tech.*, **17**(8), 229 (1970)
2. Leonard, B.: *Nitrogen Metabolism in Plants*, (Edward Arnold, 1st ed.), 19 (1976)
3. 井上良則: 日本廣島大醫學雜誌, **20**(10, 11, 12), 341 (1972)
4. William L.: *Nature*, **225**, 21 (1970)
5. Roberts, T.A.: *J. Sci. Fd. Agric.*, **26**, 1735

- (1975)
6. 岡部昭二: 化學と生物, **15**(6), 352 (1977)
7. Hoff, J.E. and Wilcox, G.E.: *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **95**(1), 92 (1970)
8. 邊明大: 最新家畜生理衛生學(元進文化社), 346(1981)
9. Farrow, R.P. and Johnson, J.H.: *J. Food Sci.*, **36**, 341 (1971)
10. Miyazaki, A.: *Studies on Food Hygiene*, **27**(7), 45 (1977)
11. Peter, F.S.: *J. Sci. Fd. Agric.*, **26**, 1761 (1975)
12. James K. Forman and kenneth Goohed: *J. Sci. Fd. Agric.*, **26**, 1771 (1975)
13. Shank, R.C.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **31**, 361 (1975)
14. 文範洙外: 國立保健研究院報, **10**, 277 (1973)
15. 由光淳, 南宮錫: 韓國營養學會誌, **10**(4), 111 (1977)
16. 高英秀: 韓國食品科學會誌, **11**(3), 147 (1979)
17. 趙達換: 서울酪友會誌, **10**, 34 (1975)
18. Adams, H.S.: *Milk and Food Sanitation Practice*, (Wealth Fund, New York), 155 (1947)
19. 保健社會部 第106號: 水質檢査方法 및 水質基準, 180 (1980)
20. 權重浩, 尹衡植: 韓國營養食糧學會誌, **10**(1), 39 (1981)
21. International Dairy Federation: *Milk and Cheese Determination of Nitrate and Nitrite Contents Method by Cadmium Reduction and Photometry*, (IDF Standard), 84 (1978)
22. 日本衛生協會編, 衛生化學, **21** (3), 145 (1975)
23. 日本食品衛生協會: 食品衛生檢査指針(II), 253(1978)
24. 津郷友吉: 市乳工業(地球社), 297 (1974)
25. Remond, B.: *Lait*, **55** (547), 390 (1975)
26. Joerin, M.M. and Bowering, A.F.: *J. Dairy Sci. and Tech.*(New Zealand) **10**(1), 19 (1975)
27. 村松紘一, 丸山節子: 日食衛誌, **20**, 106 (1979)
28. 金時換, 李容旭: 公衆保健學雜誌, **12** (1), 25 (1974)
29. 全文鎮, 金榮數: 高麗大農林論集, **13**, 129 (1972)