

수분활성도 조절에 의한 육제품의 장기저장에 관한 연구

신현길* · 김행하* · 이원창**

*건국대학교 축산가공학과 **건국대학교 수의학과

Studies on the Long-Term Preservable Meat Products Based on the Water Activity Control

Heuyn-Kil Shin*, Haeng-Ha Kim*, Won-Chang Lee**

* Department of Animal Products Science, Kon-Kuk University

** Department of Veterinary Medicine, Kon-Kuk University, Seoul 133, Korea

ABSTRACT-This experiment was carried out to develop long-term preservable meat products by controlling a water activity which has a potential inhibitory effects on the growth of microorganism and germination of spore. For this purpose the accuracy of instrument for the measurement of water activity, electric hygrometer was used for this study as well as water activity of final products were investigated according to the various amounts of different kinds of additives. Spore of *Bacillus* spp, *Clostridium sporogenes* and *Cl. botulinum* were inoculated to the meat products with different a_w and their growth states in 25°C were observed to find out the lowest a_w which inhibit their growth ($a_w \leq 0.950$).

Keywords □ Water activity, Humectant, *Clostridium botulinum*, *Clostridium sporogenes*

수분활성도(water activity; a_w)의 개념은 호주의 Scott^{1,2}에 의하여 처음 소개되어 졌으나 이를 직접 식품산업에 이용하게 된것은 수분활성도를 간편하게 측정할 수 있는 기구가 개발된 1970년대 후반부터이다³. 식품의 수분활성도는 미생물의 증식 및 생존에도 영향을 미칠뿐 아니라^{4,5,6} 식품에 존재하는 효소의 활성, 비효소 갈변화 반응^{7,8}, 또한 지방의 산화속도⁹ 등에도 직접적인 영향을 미치므로 수분활성도는 식품의 저장안정성을 결정하는 중요한 요소의 하나이다.

최근 많은 연구자들에 의하여 각종 미생물의 최저 증식 수분활성도 값이 밝혀졌으며¹⁰ 따라서 수

분활성도를 임의로 조절하므로써 식품의 저장성을 좋게 하려는 연구가 진행되고 있다. 그중에서도 특히 중간수분 식품(Intermediate moisture food)과 a_w -SSP(Self Stable Product) 등에 대한 연구는 산업화를 위해서 활발하게 진행되고 있다. 중간수분 식품이란 각 연구자들에 따라 수분활성도의 범위를 달리하고 있지만, 대개 0.90~0.60 범위를 가진 식품을 말하며^{3,10,11}, 건조나 Humectant 등의 첨가에 의해서 수분활성도를 낮추어 일반 세균의 증식을 억제하고 아울러 보존제를 첨가하여 곰팡이류의 증식을 억제하므로 상온에서도 장기저장이 가능한 식품을 말한다. 또한 a_w -SSP란 가열처리에 의하여 수분활성도에 내성이 강한 세균을 사멸시키고 식품의 수분활성도를 임의로 조절하므로써 가열처리에 의하여 아직 사멸

Received for publication 24 November 1986 ; accepted 2 December 1986
Reprint requests; Dr. Heuyn-Kil Shin at the above address

하지 않은. 포자의 발아를 억제하므로 장기저장이 가능한 식품을 말한다. 탈수에 의해서 식품의 수분활성도를 쉽게 낮출 수 있지만 조직이 좋지않아 실제 산업에 응용하기 위해서는 어려움이 있다. 따라서 식품의 수분활성도를 조절 할 수 있는 물질, 즉 Humectant 개발에 많은 연구가 진행되고 있으나^{6, 10, 11)}, 이러한 Humectant 는 무색, 무미, 무취, 무독할 뿐만 아니라, 동시에 수분활성도를 낮출 수 있는 활성이 강한 물질이 이상적이지만¹⁰⁾, 이러한 바람직한 조건을 가진 물질은 아직 개발되지 못하고 있다.

본 실험에서는 이제 국내에서 식품 산업에 이용되기 시작한 Electric hygrometer 의 수분활성도 측정에 있어 그 정확도를 조사했으며, 다음으로 수분활성도를 조절하여 실제 육제품을 생산한 다음 수분활성도에 내성이 강한 포자를 접종시켜 수분활성도에 따른 이들의 증식을 조사하였으며, 앞으로 이러한 제품의 생산에 따른 기초자료를 얻기 위하여 본 시험을 실시하였다.

재료 및 방법

Electric hygrometer Sensor 의 보정 및 표준화
—Electric hygrometer 는 3 개의 Sensor 와 온도 조절장치가 부착된 Novasina hygrometer (EEJA-3/SWISS)를 본 시험에 사용하였으며, 측정하고자 원하는 수분활성도의 범위는 미리제조한 표준용액¹²⁾ 을 이용하여 보정을 하였다. 수분활성도 값의 표준화를 위한 포화염용액은 모두 특급 시약으로 KNO₃, MgCl₂ · 6H₂O (純正化學/日本), BaCl₂ · 2H₂O, Mg(NO₃)₂ · 6H₂O (和光化學/日本) 등을 사용 하였으며 각 포화염용액은 2 차 증류수에 용해하여 포화상태로 만든다음 삼각프라스크에 밀봉하여 실험 실시 2 주전에 30°C 항온기에 보존한후 수분활성도 측정에 이용 하였다.

접종균주 및 포자생산—접종시험에 이용된 균주는 수분활성도에 내성이 강한 균주에서 포자를 생산하여 접종시험에 이용하였으며, 독일 정부 육연구소(Kulmbach)에서 분주받은 *Bacillus licheniformis* B14, B15와 *Bacillus subtilis* 또한 *Clostridium botulinum* Type A, *Clostridium spor-*

ogenes PA 3679가 이용되었다. *Bacillus* spp.의 포자생산은 Finley 와 Fields¹³⁾의 방법에 따라 포자생성을 촉진하기 위해 MnSO₄ · H₂O 를 첨가한 Standard-I-Agar (Merck)에서 포자를 생산하였고, *Clostridium* spp.의 포자는 Pang¹⁴⁾ 등의 방법에 따라 생산하였다. 생성된 포자는 혼합되어 있는 비포자를 살균하기 위해 80°C에서 10분간 가열처리 하였으며, 가열처리후 2000 r.p.m에서 20 분간 원심분리후 멸균 증류수로 현탁하여 다시 원심분리를 실시하여 세척하였다. 이렇게 얻어진 포자는 10⁸/ml 되게 희석하여 5°C 냉장고에서 보관하였다.

Sausage 의 제조 및 포자 접종시험—Sausage 제조를 위한 원료육은 도살후 24시간이 지난 돈육을 이용하였으며, Sausage 의 제조는 일반적인 방법에 의하여 실시하였다. 원료육은 Chopper(WD114, Seydelmann/West Germany)의 plate ϕ 3 mm 에서 만육한 다음 Cutter(VA. 64066, Seydelmann/West Germany)로 잘 세절 혼합하여 직경 5 cm 의 polyvinylidene chloride (Kurehalon/일본)에 충전한 다음 중심온도 80°C에서 30분간 가열처리를 실시하였다. 포자의 접종은 첨가물과 함께 Cutter 내에서 잘 혼합하였으며, 또한 육제품의 원료배합은 예비시험을 통하여 일정한 수분활성도로 조절된 배합비에 따라 실시하였다(Table 1).

미생물 시험—육제품의 저장중(25°C) 포자의 발아 증식을 조사하기 위하여 시료를 20g 취하여 180 ml 의 멸균 증류수와 함께 Stomacher에서 1 분간 균질화하여 Standard-1-agar (Merck)와

Table 1. The composition % of sausage material and a_w-value of final products.

Material	Composition (%)		
Lean pork	66.0	66.0	66.0
Back fat	17.0	18.0	18.0
NaCl	2.3	2.3	2.3
Water	14.7	7.7	6.7
Additives	2.0	2.0	2.0
Soya protein	—	4.0	—
Milk protein	—	—	5.0
a _w -value	0.976± 0.002	0.956± 0.002	0.950± 0.002

Table 2. Estimate of measurement accuracy (30°C).

Saturated salt solution	*a) S.V	Measured mean	*b) Difference %
KNO ₃	0.914	S ₁ 0.914	0.00
		S ₂ 0.914	0.00
		S ₃ 0.914	0.00
BaCl ₂ · 2H ₂ O	0.899	S ₁ 0.900	+0.11
		S ₂ 0.900	+0.11
		S ₃ 0.899	0.00
NaCl	0.751	S ₁ 0.752	+0.13
		S ₂ 0.752	+0.13
		S ₃ 0.752	+0.13
Mg(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0.514	S ₁ 0.514	0.00
		S ₂ 0.514	0.00
		S ₃ 0.514	0.00
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.324	S ₁ 0.333	+2.7
		S ₂ 0.332	+2.4
		S ₃ 0.328	+2.2

Two place data used for calculations.
Twenty replicates at each a_w level.

a) standard value
b) $\frac{\text{Mean S.V}}{\text{S.V}} \times 100$

Perfringens Selective agar (Merck)에 각각 접종하여 35°C에서 24시간 배양한후 Bacilli와 Clostridia의 수를 조사하였다.

결과 및 고찰

Hygrometer Sensor의 정확도—식품의 수분활성도를 정확하게 조절하기 위해서는 정밀한 수분활성

도 측정이 선행되어야 한다. 따라서 본 시험에서는 먼저 최근에 식품 산업에 소개된 Electric hygrometer의 Sensor의 정확도를 표준 포화염 용액에 대하여 조사하였다. 실제 Sensor로서 조사된 수분활성도 값이 표준 포화염용액의 수분활성도 값에 일치하는지를 조사하기 위하여 각기 수분활성도가 상이한 5 종류의 포화염용액을 30°C에서 반복하여 수분활성도를 측정하였다. 모든 측정은 E.R.H.(Equilibrium Relative Humidity)에 이르는 시간을 60분으로하여 백분율(%)로 계산하였으며 그 결과는 Table 2와 같다. Table에서 볼 수 있는대로 보정에 이용된 KNO₃, BaCl₂ · 2H₂O 그리고 Mg(NO₃)₂ · 6H₂O의 측정된 수분활성도 값은 표준 수분활성도 값과 거의 일치하였고, 반복 측정된 다른 포화염용액의 수분활성도 값과 표준 값과 평균차이도 2.43% 이하로 나타났다. 각 Sensor 간의 차이는 거의 보이지 않았으나 수분활성도가 낮은 MgCl₂ · 6H₂O의 경우에는 근소한 차이를 나타내었다. 본 실험의 결과를 Troller¹⁵⁾의 조사치와 비교하여 볼때 BaCl₂ · 2H₂O와 NaCl의 평균 차이는 각각 -0.30%과 -0.79%로 나타났으나 본 실험에서는 Table 2에서 볼 수 있는 바와 같이 BaCl₂ · 2H₂O와 NaCl의 평균차이는 0.11과 0.13%으로 각각 나타나 본 실험에 이용된 Hygrometer가 더 정확함을 알 수 있다.

Sausage의 수분활성도에 따른 저장중 Clostridium spp. 포자의 증식—육제품에 있어서 혐기성 포자의 발아 및 증식 최저 수분활성도치를 조사하기 위하여 수분활성도에 내성이 강한 Clos-

Table 3. Pork-Sausage inoculated with Clostridium sporogenes PA 3679.

Additives for loxering	Nitrite addition	a _w at beginning of storage	Clostridium sporogenes(×1000) per gram during storage (days) at 25°C								
			0	7	14	21	28	40	60	100	150
Control	100	0.976	78	1	100	* 16th	**	**	**	**	**
Soya protein 4%	50	0.956	100	10	3	3 31	800	* 40th	**	**	**
Milk protein 5%	50	0.950	78	10	0.1	0.1	0.1	1	0.01	0.1	0.1

* Day of first spoilage ** Not investigated

Table 4. Pork-Sausage inoculated with *Clostridium botulinum* type B.

Additives for lowering a_w	Nitrite addition ppm	a_w at beginning of storage	<i>Clostridium botulinum</i> ($\times 100$)/g during days at 25°C					First spoilage after days
			0	15	30	60	150	
Control	100	0.976	30	*	*	*	*	11
Soya protein 4 %	50	0.956	50	10	1	*	*	42
Milk protein .5 %	50	0.950	50	30	10	2	1	none

*Not investigated

Table 5. Pork-Sausage inoculated with a_w -tolerant *Bacillus* spp.

Additives for lowering a_w	Nitrite addition ppm	a_w at beginning of storage	<i>Bacillus</i> spp. ($\times 1000$) per gram during storage (days) at 25°C									
			0	7	14	21	28	40	60	100	150	
Control	100	0.976	140	100	130	780	110	85	200	16	*	
Soya protein 4%	50	0.956	140	200	98	130	100	800	1	91	18	
Milk protein 5%	50	0.950	100	98	1200	800	160	130	53	70	*	

*Not investigated

tridium sporogenes PA 3679 및 *Cl. botulinum* Type B의 포자의 접종시험을 실시하였다. 제품 내 접종된 포자의 증식은 Table 3과 4에서 나타내었으며, 수분활성도를 조절하지 않은 일반 Sausage의 수분활성도치인 0.976 ± 0.002 에서는 *Clostridium sporogenes*와 *Clostridium botulinum* 공히 25°C 저장 16일과 11일만에 부패하였다. 대두단백을 4% 처리한 Sausage에 있어서는 포자의 접종후 40여일만에 부패한 것으로 나타났다. 또한 수분활성도 값 0.950으로 조절된 육제품에 있어서는 *Clostridium botulinum*과 *Clostridium sporogenes* 마찬가지로 150여일간의 저장 시험중 부패를 일으키지 않았으며 육제품이 안정하였다. 따라서 본 시험의 결과에서 볼때 포자의 발아는 낮은 수분활성도에 의하여 억제됨을 볼수 있고 특히 수분활성도를 0.950 이하로 가열처리한 육제품은 상온에서도 그 보관이 가능한 것을 알 수 있다.

특히 수분활성도 0.956에서는 저장중 포자가 발아하여 증식하고 0.950에서는 포자가 발아하지 않음을 보아 혐기성 세균들의 포자의 발아는 수분활성도 0.956과 0.950사이에서 정지됨을 알 수

있다. 또한 수분활성도를 조절한 육제품에서 부패의 원인이 되는 포자의 발아 억제를 위해서는 수분활성도만의 포자 발아억제 효과를 이용할 것이 아니라 동시에 Sorbic acid나 Phosphate 등과 같이 포자 발아 억제 효과가 있는^{16,17} 물질을 첨가한다면 최저 발아억제 수분활성도치를 높여주므로 보다 바람직한 조직의 육제품을 생산할 수 있으리라 본다.

Sausage의 수분활성도에 따른 *Bacillus* spp의 포자의 증식—*Bacillus licheniformis*와 *Bacillus subtilis*는 수분활성도에 내성이 강하여 수분활성도 0.90까지 산소하의 조건에서 증식 하는 것으로 알려져 있다¹⁸). 하지만 본 시험에서는 Table 5에서 볼 수 있는 바와 같이 대조구나 수분활성도 조절구에서 공히 육제품중에 10^5 /g 접종된 *Bacillus* spp.인 포자가 발아 하지 않고 저장중 감소함을 볼수 있다. 따라서 저장중 비통기성 포장지에 육제품을 충전할 경우 Bacilli 포자의 발아에 의해 육제품을 부패시키지 않음을 알 수 있으며 특히 a_w -SSP와 같은 식품에 있어서는 혐기성 박테리아의 포자만이 부패에 관여하고 있음을 알 수 있다.

국문 요약

본 시험은 수분활성도(water activity)의 미생물 증식억제 효과 및 포자의 발아억제 효과를 이용하여 육제품의 수분활성도를 조절하므로써 장기저장 육제품의 생산가능성을 조사 하기 위하여 실시하였다. 먼저 이러한 육제품의 생산에 가장 중요한 Electric hygrometer 에 의한 수분활성도의 측정치의 정확도를 조사하였던 바 Electric hygrometer 의 각 Sensor 간의 차이는 거의 보이지 않았으며, 또한 측정치는 표준치와 거의 차이가 없었으나 낮은 수분활성도에서는(MgCl₂·6H₂O 포화염용액) 근소한 차이를 나타내었다 (S.V.Difference%=2.43). 다음으로 Sausage 반복 제조 실험을 통하여 각종 첨가제의 첨가비율에 따른 최종 제품의 수분활성도를 조사하였다. 수분활성도에 내성이 강한 *Bacilli* 와 *Clostridia* 의 균주에서 포자를 생성시켜 각기 수분활성도가 다른 육제품에 이들을 접종하여 25°C 저장중 이들의 증식상태를 조사하였던 바 이들의 발아는 수분활성도 ≤ 0.950에서 정지 되었다.

감사의 말

본 연구는 과학재단 연구비의 지원으로 이루어진 연구 결과의 일부이다.

참고문헌

1. Scott, W.J.: Water relations of *Staphylococcus aureus* at 30°C. *Aust. J. Biology Sci.*, **6**, 549-564(1963).
2. Scott, W.J.: Water relations of food spoilage microorganisms. *Adv. Food Res.*, **7**, 83-127(1957).
3. Leistner, L. and Rödel, W.: Microbiology of intermediate moisture foods. In; Jarvis, B., Chrostan, J.H.B. and Michener, H.D. (eds); *Medicine viva servizio congressi S.R.I. Parma*, p.35(1979).
4. Acott, K.A., Sloan, A.E. and Labuza, T.P.: Evaluation of agents in a microbial challenge study for an intermediate moisture dog food. *J. Food Sci.*, **48**, 541-546(1976).
5. Boylan, S.L., Acott, K.A. and Labuza, T.P.: *Staphylococcus aureus* challenge study in an intermediate moisture food. *J. Food Sci.*, **41**, 918-921(1976).
6. Elizabeth, A. and Theodore, P.: Prediction of water activity lowering ability of food humectants at high A_w. *J. Food Sci.*, **41**, 532-535(1976).
7. Coolrns, J. and Land.: Acceptance of intermediate moisture, deep-cat fish. *J. Food Sci.*, **40**, 858-863(1980).
8. Winston, P.W. and Bate, D.H.: Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology.*, **41**, 1232(1960).
9. Karel, M. and Nikerson, J.T.R.: Effect of relative humidity, air, and vacuum on browning of dehydrate orange juice. *Food Technol.*, **8**, 1214(1964).
10. Leistner, L. and Rödel, W. and Krispen, K.: Microbiology of meat and meat products in high and intermediate-moisture ranges. In; Rockland, L.B. and Stewart, G. F. (eds), Academic Press, New York, p.855(1981).
11. Labuza, T.P.: The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technol.*, **34**, 36-41(1980).
12. Anon.: Novasina manual, Novasina A.G. Zurich(1981).
13. Gould, G.W.: Methods for studying bacterial spores. *Methods in Microbiology* **6A**, 327-381(1971).
14. Pang, K.A., Carroad, P.A. and Wilson, A.: Effect of culture pH on D-value, cell growth and sporulation rates of P.A. 3679 spores produced in an anaerobic fermenter. *J. Food Sci.*, **48**, 467-470(1983).
15. Troller, J.A.: Statistical analysis of an measurement obtained with the sina scope. *J. Food Sci.*, **42**, 86(1976).
16. Wagner, M.K. and Busta, F.F.: Effect of sodium acid pyrophosphate in combination with sodium nitrite or sodium nitrate/potassium sorbate on *Clostridium botulinum* growth and toxin production in beef/pork frankfurter emulsions. *J. Food Sci.*, **48**, 990-991(1983).
17. Molins, R.A., Kraft, A.A., Walker, H.W. and

- Olson, D.G.: Effect of poly- and pyrophosphates on the natural bacterial flora and inoculated *Colistridium sporogenes* PA 3679 in cooked vacuum packaged bratwurst. *J. Food Sci.*, **50**, 876-880(1985).
18. Christian, J.H.B: Effects of reduced water activity on microorganism. In; Silliker, J.H. (ed), *Microbial Ecology of Foods.*, vol.1 Academic Press, p.70(1980).