

原乳의 低温性 細菌의 증식에 의한 乳質變化에 관한연구

鄭忠一 · 姜國熙 · 李載英

成均館大學校 酪農學科

A Study on the Deterioration of Raw Milk Quality by the Growth of Psychrotrophic Bacteria

Choong-II Chung, Kook-Hee Kang and Jae-Young Lee

Department of Dairy Science, Sung Kyun Kwan University, Suwon 170, Korea

ABSTRACT-A trial was carried out to check the seasonal variation in total bacterial counts (T.B.C.) and psychrotrophic bacterial counts (P.B.C.) and to investigate the quality deterioration of raw milk collected from dairy farms in Kyunggi area, Korea.

T.B.C. of raw milk exceeded $10^7/m\text{l}$ in summer and $10^6/m\text{l}$ in winter 1980, but they have gradually decreased from 1983. In 1985, the counts showed less than $2 \times 10^6/m\text{l}$ through the whole year.

The same tendency of improvement in coliform counts was shown.

The counts were higher than $10^6/m\text{l}$ in summer and $10^5/m\text{l}$ in winter 1982, but they were kept lower than $1 \times 10^5/m\text{l}$ in 1985 through the whole year. Free fatty acids and free amino acids were increased in raw milk stored at 5°C and 10°C , by the growth of psychrotrophic bacteria.

Keywords □ Raw milk, Total bacterial counts, Psychrotrophic bacterial counts. Coliform counts, Free fatty acids, Free amino acids.

最近 우리나라의 경제성장에 따른 食生活向上으로 酪農製品의 소비가 급격한 증가를 보이고 있다.¹⁾ 이에 따라 소비자들의 우유제품에 대한 관심도 높아지고 있으며, 각 유업체에서도 종래의 集乳方式을 개선하여 목장에 냉각기를 설치하거나, 탱크로리에 의한 集乳方式으로 전환하고 있기 때문에, 점차 原乳의 품질이 향상되고 있다. 그러나, 集乳方式의 개선에도 불구하고 우유의 품질에 영향을 미치는 새로운 문제가 야기되고 있다. 즉 최근까지 가장 문제시되었던 일반 中溫性 細菌數는 현저하게 감소를 보이는 반면, 지금까지 별로 문제시되지 않았던 低温性 細菌의 증식이 높아지고 있다는 것이다²⁾. 우유에 있어서 저온성 세균의 증식은

牛乳와 유제품의 보존성을 저해하고 乳成分의 變化를 일으켜, 우유의 풍미에 결함을 야기시키며, 특히 단백질과 지방의 가수분해로 인하여 우유의 품질에 중대한 손상을 일으킨다³⁾. 특히, 1976년 여름 우유의 약 2%가 納乳되지 못하고 산패되어 폐기 처분되었다는 것은 原乳의 品質이 매우 심각하다는 것을 의미한다⁴⁾. Cousins 등⁵⁾은 7°C 이하에서 저장한 原乳의 총 균수 증가를 저온성 세균의 증식에 의한 것이라고 보고하였으며, Cousins와 Bramley⁶⁾도 원유의 저온성 균수는 총 균수의 10% 이하가 보통이라고 하였다. 이러한 저온성 세균의 대부분은 그람음성간균의 *Pseudomonas* spp.로 확인되고 있다⁷⁾. 우유의 저온성 세균은 대부분이 살균처리 과정에서 사멸되지만 一部の 그람양성균은 내열성이 강하여 살균처리 후에도 잔류하여 우유성분의 변질을 초래한다⁸⁾. 原乳의 저

Received for publication 4 December, 1986 accepted 23 December 1986
Reprint requests; Dr. K.H. Kang at the above address

온성 세균을 조사한 Lück⁹⁾에 의하면, 착유직후에 냉각한 우유의 저온성 세균수는 50/ml 였으나, 하루후에는 1,700~49,000/ml, 이틀후에는 4,300~71,000/ml로 증가하였다. 착유 직후의 저온성 세균수가 0~13×10³/ml인 경우, 이것을 3~5°C에 72시간 저장후에는 10~29×10⁶/ml로 증가하였고¹⁰⁾, Muir 등¹¹⁾에 의하면 8°C에 96시간 저장한 우유에 있어서, 총 세균의 93.8% 이상이 저온성 세균이었으며, 4°C에 저장한 경우는 12.2%이었다고 하였다. 저온성 세균의 형태와 수는 계절적으로 차이가 많다. 일반적으로 겨울 보다는 여름철 우유에서 더 많이 나타나는 것은 여름철의 기후조건이 저온성 세균의 발육에 최적 조건이 되기 때문이다^{12,13)}.

현재까지 저온성 세균으로 알려진 것은 *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Micrococcus flavus*, *Streptococcus faecalis* 등이 있다¹⁴⁾.

이러한 저온성 세균은 원유의 단백질이나 지방을 가수분해하므로 우유의 품질에 손상을 초래하게 된다¹⁵⁾.

우리나라에 있어서도 일반세균과 低温性 細菌의 증식으로 인한 乳質이 어떠한지를 검토하기 위하여 경기도 일원의 목장을 중심으로 原乳에 대한 細菌學的 品質을 조사하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

原乳의 試料—原乳의 시료는 1980년 1월부터 1985년 12월까지 6년간에 걸쳐, 경기도의 수원, 이천, 용인, 의정부, 동두천에 있는 각 牧場으로부터 서울의 우유처리장에 도착한 原乳를 혼합하여 분석용 시료로 사용하였다.

생균수 측정—일반세균수, 대장균군, 저온성 세균수의 측정은 Chung 등¹⁵⁾의 방법에 준하여 실시하였다.

脂肪함량 측정—원유의 지방함량은 Milko tester MK III(Foss Electric Co., Denmark)로 측정하였다.

無脂乳固形分の 측정—한국食品첨가물규격 및 기준의 一般試驗法¹⁶⁾에 따라 總 固形分을 구한다음, 지방함량을 공제하여 산출하였다.

단백질 분해력 측정—원유의 세균에 의한 단백질 분해력은 Trichloroacetic acid(TCA)에 용해되는 아미노산과 peptide를 Lowry-Folin 方法으로 정량하여 tyrosine 相當量으로 환산하여 표시하였다¹⁷⁾.

즉, 10ml의 시료를 密檢시험관에 넣고, 잘 혼합하여 數分간 방치후, Whatman No.2 여과지로 여과하였다. TCA 여과액 2ml에 alkaline copper tartrate 시약 10ml를 첨가하여 10분간 방치한후, 酸性 0.667N의 Folin-Ciocalteu 시약 1ml를 가하여 25~30°C에 30~45분간 發色시킨후, 650nm에서 Blank와 비교하여 흡광도를 측정하여 tyrosine 함량으로 환산하였다.

지방분해력 측정—原乳의 저장중에 일어나는 지방분해를 측정하기 위하여 Frankel and Tarassuk¹⁸⁾의 Extraction-titration 방법으로 유리지방산을 측정하였다. 즉, 우유 3ml를 시험관에 취한후, extraction mixture(isopropanol: petroleum ether: 4NH₂SO₄=40:10:1)를 넣어 혼합한다. 石油 에텔 6ml와 증류수 4ml를 첨가하여 약 15초간 강하게 혼든 다음, 5~10분간 방치했다가, 상층부를 다른 플라스크에 옮긴다. 1%의 methanolic α-naphtholphthalein (또는 1% methanolic phenolphthalein 6 방울)을 첨가한후, 표준 0.02N methanolic KOH 용액으로 적정하였다. 우유의 유리지방산 함량(meq/ml)은 實滴定量(ml)에 N/3P×10³을 곱하여 얻게 된다 (N, The normality of KOH; P, The proportion of the upper layer titrated).

결과 및 고찰

原乳의 一般細菌數—경기도내의 각 목장으로부터 우유처리장에 운반되어온 原乳를 貯乳탱크에 혼합한 후, 시료를 채취하여 원유중의 일반세균수를 측정하여 결과는 Fig.1과 같다. 이 그림에서 보는 바와 같이 1982년까지는 겨울철 우유에서도 4×10⁶/ml 이상이 검출되고 있으나, 6~9월의 여름철에는 10⁷/ml 이상을 나타내고 있다. 이러한 수준은 Lee 등¹⁹⁾이 경기도 지역에서 조사한 原乳의 세균수 보다는 약간 낮았으나 전체적으로는 비슷한 경

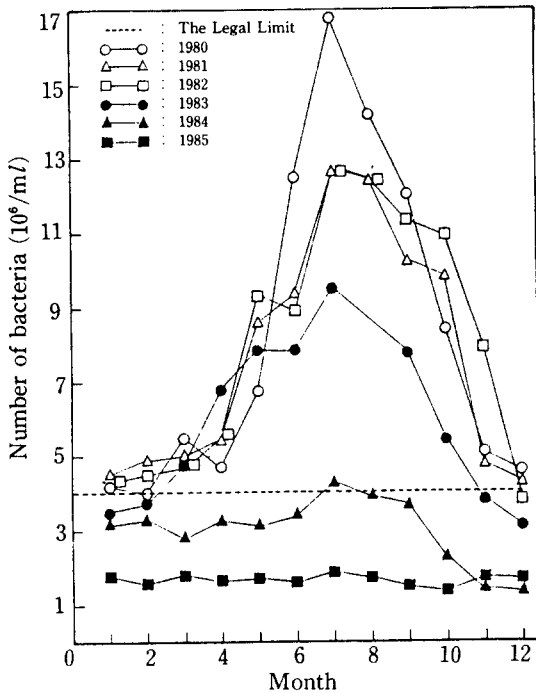


Fig.1. The monthly changes of the mean values of standard plate counts in raw milk collected in Kyunggi area.

향을 나타내는 것이다. 그리고, 1983년의 경우는 前年度에 비하여 세균수가 크게 줄어들기는 하였지만 겨울철을 제외한 3~10월까지의 모든 法的許容值 400만/ml 를 초과하여 原乳의 품질이 좋지 못함을 알 수 있다. 그러나, 1984년에는 7 월을 제외하면 모두 4×10^6 /ml 이하로 감소되었으며 1985년에는 여름철의 경우에도 2×10^6 /ml 이하로 감소되어 原乳의 細菌數가 현저하게 저하되었음을 알 수 있다. 일반세균수의 감소현상이 1984년부터 현저하게 나타나는 이유는 각 牧場에 원유냉각기를 이때부터 보급하기 시작하였고 또한 탱크로리에 의한 集乳方式이 도입되었기 때문에 原乳의 저장과 운반과정에서 세균증식이 억제되었기 때문이라고 생각된다. 原乳의 세균수가 최근 數年동안에 현저하게 감소되었지만 先進酪農國의 原乳에 비하면 아직도 높은 수준이다. 우리나라의 여건과 유사한 日本의 경우는 1973년에 400만/ml 이하의 수준에 도달하였고 1979년에는 200만/ml 이하가 전체 原乳의 95%에 도달하였으며, 최근에는 100

만/ml 이하를 목표로 하여 세균수를 감소시키기 위하여 노력하고 있으며 細菌數에 의한 等級制를 실시하고 있다. 유럽에서는 原乳代의 지불기준을 세균수로 정해놓고 있으며, 스웨덴은 10만/ml 까지, 덴마크는 3~20만/ml 까지, 미국은 2.5~100만/ml로 규제하고 있다³⁾. Kang 과 Kim²⁰⁾의 보고에 의하면 1978년 스위스의 경우는 세균수 8만/ml 이하의 原乳가 전체의 95%이며 20만/ml 이상인 原乳는 0.7% 정도라고 하였다. 이러한 선진국들의 원유품질에 비하면 우리나라의 原乳는 절반 이상이 아직도 총 균수 400만/ml 를 초과하고 있는 실정이다¹⁵⁾.

原乳의 大腸菌群數—原乳의 대장균군에 대한 조사결과는 Fig.2에 나타내었다. 지난 4 년동안의 年間月別 대장균군의 분포를 보면, 1982년에는 여름철에 5×10^5 ~ 10^6 /ml 였으나, 1983년에는 $2 \sim 4 \times 10^5$ /ml 였고, 점차 매년 감소하여, 1985년에는 年中 1×10^5 /ml 이하를 나타내었다.

대장균군이 매년 감소되는 경향은 일반세균수의 감소경향과 비슷하며, 1984년부터 현저하게 감소된 것은 각 목장에 보급된 우유냉각기와 탱크로리에 의한 原乳의 保存과 集乳方式

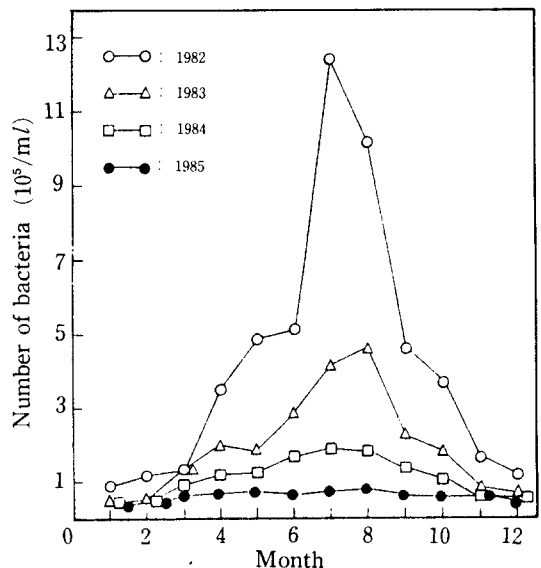


Fig.2. The monthly changes of the mean values of coliform bacteria in raw milk collected in Kyunggi area.

Table 1. The seasonal variation of SPC and PBC in raw milk collected from Kyunggi area.

Year	Month	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Average
1984	SPC ($\times 10^6$)	3.2	3.2	2.8	3.3	3.2	3.4	4.2	3.8	3.7	2.4	1.5	1.4	3.0
	PBC ($\times 10^5$)	3.1	3.6	3.7	3.8	3.4	3.3	3.4	3.3	3.2	3.3	2.3	2.1	3.2
	Ratio PBC/SPC (%)	9.7	11.3	13.2	11.5	10.6	9.7	8.1	8.7	8.6	13.8	15.3	15.0	11.3
1985	SPC ($\times 10^6$)	1.8	1.6	1.8	1.6	1.7	1.6	1.9	1.7	1.6	1.5	1.7	1.6	1.7
	PBC ($\times 10^5$)	2.4	2.7	3.1	3.0	3.1	3.2	3.0	3.1	3.1	2.8	2.8	2.7	2.9
	Ratio PBC/SPC (%)	13.3	16.9	17.2	18.8	18.2	20.0	15.8	18.2	19.4	18.7	16.5	16.9	17.5

이 개선되었기 때문이라고 생각된다.

原乳의 일반세균수와 대장균군의 함량에 있어서 경기도 일원의 목장을 기준해서 볼 때에는 현재 法的許容値 이하로 감소되었음을 알 수 있다. 그러나, 各地方의 原乳에 대해서는 별도의 연구가 필요하다.

一般細菌數와 低温性 細菌數의 비율—牧場에 우유냉각기가 보급되고, 또, 탱크로-리를 이용하여 集乳하는 경우에, 原乳의 저온보관 시간이 길어지게 되고, 이에 따라서 低温細菌의 증식이 높아지게 된다.

1984년과 1985년의 原乳중에 존재하는 일반세균수(SPC, Standard Plate Count)에 대한 저온성 세균(PBC, Psychrotrophic Bacterial Count)의 비율을 보면 Table 1과 같다.

1984년 경기도 일원에서 수집한 原乳의 일반세균수는 年平均 3×10^6 /ml 였고, 저온성 세균은 3.2×10^5 /ml 였는데, 일반세균에 대한 低温性 細菌의 존재비율은 年平均 11.3%를 나타내고 있다. 그러나, 1985년에는 일반세균수가 年平均 1.7×10^6 /ml, 그리고 低温性 細菌은 2.9×10^5 /ml 였으며, 一般細菌 全体에 대하여, 저온성 세균이 차지하는 비율은 17.5%로서, 前年度의 11.3%에 비하면 상당히 높아진 것을 알 수 있다. 1985년의 일반세균수 및 저온성 세균수가 1984년 보다 저하되었음에도 불구하고 PBC/SPC의 비율에 있어서, 1985년의 것이 높아진 것은 냉각기 보급 등의 시설개선으로 인한 일반세균수의 증식이 억제되고, 반대로 저온성 세균은 점유시간의 연장으로 인하여 크게 증식하였기 때문이라고 생각된다. 또,

1985년의 여름 원유에서 저온성 세균의 차지하는 비율이 年中 가장 높게 나온 것은 냉각기 보급으로 인하여, 원유를 냉장보존하므로 일반세균은 증식이 억제되고 반면에 저온성 세균은 억제되지 않기 때문에 나타나는 현상이라고 생각된다. 냉각기 보급에 따른 저온성 세균의 증식은 우유의 단백질분해 혹은 지방분해를 야기시키므로 乳質의 변화를 가져온다.

低温性 細菌의 증식과 乳質의 變化—경기도 일원의 12개 牧場에서 착유 직후에 채취한 原乳試料 114개를 5°C와 10°C에 보관하면서 24시간, 48시간, 72시간째의 총 균수, 저온성 세균수를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 5°C에 저장한 경우 72시간 경과후에도 SPC 1.6×10^6 /ml, PBC 8.4×10^5 /ml 였으나, 10°C 보관의 경우에는 72시간 후의 SPC가 5°C 저장시보다 5.7배 이상으로 높아졌고, PBC은 6 배

Table 2. Effect of storage temperature on the mean values of bacterial counts in raw milk.

Storage condition	Kind of bacteria		PBC/SPC (%)	
	SPC	PBC		
After milking	8.8×10^4	7.2×10^3	8.2	
5°C	24 hr	1.8×10^5	2.3×10^4	12.8
	48 hr	4.2×10^5	1.2×10^5	28.6
	72 hr	1.6×10^6	8.4×10^5	52.5
10°C	24 hr	2.9×10^5	5.6×10^4	19.3
	48 hr	1.4×10^6	4.4×10^5	31.4
	72 hr	9.2×10^6	5.2×10^6	56.5

Table 3. Effect of storage temperature on the mean values of proteolysis and lipolysis in raw milk.

Storage condition	Tyrosine ($\mu\text{g/ml}$)	FFA ^a (meq/100g fat)
After milking	36.4	2.81
5 °C	24 hr	2.98
	48 hr	3.16
	72 hr	3.48
10 °C	24 hr	3.27
	48 hr	3.88
	72 hr	4.62

이상의 증가를 나타냈으며, SPC:PBC의 비율도 72시간 후에는 모두 어느 쪽이나 50% 이상으로서, 냉장저장중에는 거의 低温性 細菌만이 증식함을 알 수 있었다.

이와같이 저온성 세균이 증식함에 따라 原乳의 품질이 어떻게 변화되는지를 조사하기 위하여, 단백질과 지방의 분해정도를 측정하여 비교하였다 (Table 3). 단백질분해 정도는 유리 tyrosine의 함량을 측정하였고, 지방의 분해는 유리지방산의 함량을 측정하였다. 原乳를 5°C에 보관하는 경우에는 72시간 후의 tyrosine 함량이 $42.6 \mu\text{g/ml}$ 로서 착유 직후보다 $6.2 \mu\text{g/ml}$ 증가를 나타냈지만 10°C 보관에서는 같은 조건하에서 $56.6 \mu\text{g/ml}$ 로서 착유 직후보다 $20.2 \mu\text{g/ml}$ 의 증가를 보이므로서 5°C의 경우보다 10°C 보관에서 약 3배의 단백질분해가 일어나고 있음을 알 수 있다. 또 지방분해에 있어서도 5°C보다 10°C 보관의 경우가 약 3배의 분해촉진 현상이 인정되고 있다. 이러한

현상은 일반적으로 原乳의 細菌數가 $10^6/\text{ml}$ 이상일 때, tyrosine 함량에 증가량을 검출할 수 있다고 한 Juffs²⁰⁾의 보고와도 일치하고 있다. 원유의 단백질분해와 지방분해는 반드시 細菌에 의한 것만은 아니고 착유시에 原乳成分으로 분비되어 나오는 血液性 lipase와 protease에 의한 영향도 부정할 수 없었으나, 原乳의 세균수가 증가됨에 따라 tyrosine 함량과 유리지방산의 함량이 증가되는 것으로 볼 때, 細菌性 酵素의 작용에 의한 것이 지배적임을 알 수 있다. Juffs²¹⁾에 의하면 5°C에 原乳를 3일간 보관하면 tyrosine 값이 上限線으로 생각되는 0.55 mg/ml 를 초과하였으며, 이 정도의 原乳는 官能上 異常이 있었다고 하였다. Muir 등¹¹⁾의 보고에서도 8°C에 48시간 저장한 原乳의 유리지방산 함량은 試料 47개중에서 11개가 3.0 meq/100g (지방)을 초과하였다고 하였다.

이상의 결과를 종합하여 볼때 原乳의 냉각을 철저히 하여, 착유 직후의 총 세균수를 더욱 감소시켜야 할 것이다.

先進酪農國의 原乳品質의 수준까지 높이기 위해서는 細菌數에 기준한 乳代支拂을 제도화 하고 牧場 관리자에 대한 衛生교육도 병행해야 할 것이다. 최근 국내 유업계에서는 치즈의 생산에도 관심이 높아지고 있는데, 모든 유제품의 품질을 향상시키기 위해서는 原乳의 質的 向上을 이룩하지 않으면 안된다. 특히, 냉장설비의 보급으로 인하여 우유의 냉장보존 시간이 길어짐에 따라 증식하는 低温性 細菌에 대한 감소대책을 강구해야 할 것이며, 저온성 세균의 菌種과 分布비율, 그리고 乳成分에 미치는 生化學的 研究도 매우 시급한 단계에 있음을 지적하지 않을 수 없다.

국문 요약

경기도 일원의 각 목장에서 집유한 原乳의 一般細菌數와 低温細菌數를 조사하고, 乳質의 변화를 검토하였다. 原乳의 總 菌數는 1980년 여름에 $10^7/\text{ml}$, 겨울에는 $10^6/\text{ml}$ 을 유지하였다. 대장균군도 1982년 여름에는 $10^6/\text{ml}$ 였고 겨울에는 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 였으나 매년 감소하여, 1985년에는 年中 均일하게 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 이하였다. 低温性 細菌은 每年 증가하는 추세에 있고, 原乳를 5°C나 혹은 10°C에 저장하는 경우에도 저온성 세균은 증식하며 동시에 단백질과 지방이 분해하여 유리지방산과 유리아미노산의 생성량이 증가하였다.

참고문헌

1. 農水産部 酪農課：酪農關係資料 p.55(1986).
2. 鄭忠一：牛乳의 品質에 영향을 미치는 低温性菌과 그 酵素. *Korean Dairy Technology* 4 (1), 1-12(1985).
3. 鄭忠一：牛乳의 냉각저장에 따른 低温細菌增殖과 加熱處理에 의한 生化學的 乳質變化에 관한 研究. 成均館大學校 酪農學科 博士學位論文 p. 1-5(1986).
4. Kang, K.H., Yoon, K.B. and Pack, M.Y.: Microbial contamination of raw milk and prevention with hydrogen peroxide treatment. *Korean J. Anim. Sci.* 25(4), 296-302(1983).
5. Cousins, C.M., Sharpe, M.E. and Law, B.A.: The bacteriological quality of milk for cheddar cheese-making. *Dairy Inds. International*, 42(7), 12-17(1977).
6. Cousins, C.M. and Bramley, A.J.: The microbiology of raw milk. *Dairy Microbiology* 1, 119-163(1981).
7. Juffs, H.S.: Proteolysis detection in milk. *J. Dairy Res.*, 40, 371-381(1973).
8. Shehata, T.E. and Collins, E.B.: Isolation and identification of psychrotrophic species of bacillus for milk. *Appl. Microbiol.*, 21, 466-469(1971).
9. Lück, H.: Bacteriological quality tests for bulk-cooled milk. A review. *Dairy Sci. Abst.*, 34, 101-122(1972).
10. Thomas, S.B., Druce, R.G. and Davies, A.: The significance of psychrotrophic bacteria in raw milk. *Dairy Ind.* 31, 27-32(1966).
11. Muir, D.D., Kelly, M.E. and Phillips, J.D.: The effect of storage temperature on bacterial growth and lipolysis in raw milk. *J. Soc. Dairy Technol.*, 31 (3), 137-144(1978).
12. Kikuchi, M. and Matsui, Y.: Bacteriological quality of bulk-collected raw milk. *Japanese J. Dairy and Food Science* 25(4), 119-125(1976).
13. Thomas, S.B. and Thomas, B.F.: Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk-collected raw milk. Part I. *Dairy Ind.*, 38, 11-15(1973).
14. Tinuoye, O.L. and Harmon, L.G.: Growth of thermophilic psychrotrophic bacteria in refrigerated milk. *Amer. Dairy Rev.*, 37(9), 26-30(1975).
15. Chung, C.I., Bae, I.H., Kang, K.H. and Lee, J.Y.: Bacteriological quality of raw milk handled at various conditions. *Korean J. Dairy Sci.* 6(1), 53-61(1984).
16. 韓國食品工業協會：韓國食品添加物 規格 및 基準의 一般 試驗法 (1977).
17. Lowry, D.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biochem.*, 193, 265-275(1951).
18. Frankel, E.N. and Tarassuk, N.P.: An extraction-titration method for the determination of free fatty acids in rancid milk and cream. *J. Dairy Sci.*, 38, 759(1955).
19. Lee, J.T., Park, S.Y., Kwon, I.K. and Kim, H.U.: Studies on the quality of farm bulk milk in Korea. *Korean J. Dairy Sci.*, 5(1), 22-28(1983).
20. Kang, K.H. and Kim, H.S.: Refrigerating equipments of Dairy plant. 1st *Technological Symposium for the Dairy Industry* 1, 157-189(1983).
21. Juffs, H.S.: Proteolysis detection in milk. *J. Dairy Res.*, 42, 31-41(1975).