

포장우육에서 *Brochothrix thermosphacta*의 생육특성에 관한 연구

신현길 · 김행하 · 진구복
건국대학교 축산가공학과

The Characteristics of Growth of *Brochothrix thermosphacta* on Packaged Beef

Heuyn-Kil Shin, Haeng-Ha Kim and Koo-Bok Chin

Department of animal products science, Kon-Kuk University, Seoul

Abstract

This work was carried out to get the basic data about packaged meat by investigating the characteristics of growth of *B. thermosphacta*. For this purpose, *B. thermosphacta* and Lactic acid bacteria were isolated from the vacuum-packaged beef and the effect of various conditions such as pH of beef, packaging method, and Lactobacilli on the growth of *B. thermosphacta* was investigated. In aerobic packaged beef, the pH did not affected the growth of the *B. thermosphacta*, while it did affected critically in vacuum packaged beef. The lowest pH for the growth of *B. thermosphacta* in aerobic-packaged beef was 5.3-5.4 and 5.4-5.5 in vacuum-packaged beef. The growth of *B. thermosphacta* was completely stopped when the beef with pH 5.7-6.0 was packaged in 100% CO₂, but it was not affected significantly when the beef was packaged in a mixture of CO₂(20%) and N₂(80%). The inhibitory effect of lactic acid bacteria on the growth of *B. thermosphacta* was observed faintly in aerobic-packaged beef, but in vacuum-packaged beef, the lower the pH, the more significant its inhibitory effect. The growth of *B. thermosphacta* was almost stopped in a beef with pH 5.5-5.6.

서 론

Fresh pork sausage에서 처음 분리된⁽¹⁾ *Brochothrix thermosphacta*는 처음에 *Microbacterium thermosphacta*로 명명되었으나, Sneath와 Jones⁽²⁾에 의해 *Brochothrix thermosphacta*로 재명명 되어졌다. 이 균은 특히 진공포장한 육 및 육제품의 초기 부패균으로서 호기적인 대사에 의해 자극적인 acetoin 및 diacetyl 등을 생성하여 심한 이취를 내며, 혐기적조건에서는 lactic acid와 지방으로부터 짧은 사슬의 fatty acid를 생성하는등 육의 저장중에 부패를 일으키는 주요한 균으로 알려져, 이에 대한 연구가 근래에 많이 진행되었다⁽³⁻⁵⁾.

포장육에 있어서 *B. thermosphacta*의 생육특성을 보면 0~2°C에서 저장한 진공포장 신선육에 있어서 저장초기에 급속하게 증식한다고 보고하였으며^(6,7) Shay⁽⁸⁾도

가열처리후 얇게 썰은 육을 5°C에서 저장한 결과 *B. thermosphacta*와 lactic acid bacteria가 우세균이었으며 총세균수가 10⁸cells/g에 이르는 저장 10일경부터 이취, 이미 현상을 보였다고 보고하였다.

Egan 등^(5,9)은 진공포장한 lunchon meat와 ham의 저장실험에서 주요부패균은 lactic acid bacteria가 아니라, *B. thermosphacta*라고 보고하였으며, Lee와 Simard 등은⁽¹⁰⁾ 진공및 질소 gas로 포장한 Veal Chuck와 pastrami에서 마찬가지로의 결과를 발표하였다. 하지만 같은 포장육의 실험에서 *B. thermosphacta*가 증식하지 않았다는 보고들도 있다^(11,12).

이처럼 포장육에서 *B. thermosphacta*의 생육에 대한 다른결과를 보인것은 *B. thermosphacta*가 특히 육의 pH^(4,5) 포장방법^(3,4) 또한 포장지의 산소투과도⁽¹⁵⁾나 길항작용을 가진 미생물의 존재여부에 따라^(13,16,17) 이들의 생육이 달라짐에 기인된 것이라고 생각된다.

따라서 본 실험에서는 포장육에서 주요 부패균인 *B. thermosphacta* 를 분리하여 이를 접종균으로 우육의 pH, 그리고 lactic acid bacteria 의 존재유무, 또한 통기성, 진공포장 및 혼합가스 포장등 포장방법에 따라 *B. thermosphacta* 의 생육특성을 비교, 조사하여 앞으로 포장육실험의 기초자료를 마련하고자 실시하였다.

재료 및 방법

B. thermosphacta 및 *Lactic acid bacteria* 의 분리

B. thermosphacta 의 분리는 pH 가 5.8이상인 우육을 진공포장하여 5°C에서 일주일간 저장한 후 육의표면을 취하여 멸균수와 함께 stomacher (Blender-80)에서 균을 추출한 다음, *B. thermosphacta* 의 선택배지인 STAA(streptomycin sulfate thalious acetate-actidione-agar)를 일부 수정한 배지에 (Table. 1) 접종하여 25°C에서 48시간 배양하여 Gardner⁽¹⁸⁾에 따라 19종의 균주를 분리하였다 (Table. 1).

Lactic acid bacteria 의 분리는 진공포장한 우육을 5°C에서 1주일간 저장한 후 *B. thermosphacta* 와 마찬가지로 추출하여, MRS-agar(Merck)에 접종하여 25°C에서 48-72시간 배양한 후 Gardner⁽¹⁸⁾에 따라 catalase 음성, gram 양성, glucose 의 발효시 CO₂를 생성하지 않으며 5~15°C에서 증식하나 45°C에서는 증식하지 않는 균을 다시 각종 당 발효성등을 통하여 streptobacterium group 의 lactic acid bacteria 21종을 분리하여 접종시험에 이용하였다.

포장시험육의 선택 및 처리

도살후 24시간 이상이 경과한 우육을 부위별로 육표면

Blood agar base (Merck)	40g
Beef extract	2g
Di-Kalium hydrogenphosphate	1g
Magnesium sulfate	0.8g
Sodium carbonate	0.35g
Inositol	10g
Natural red (0.3% solution)	10ml
Streptomycin	0.5g
Distilled water	1000ml
pH	7.0

Table 1. The composition of modified streptomycin sulfate-thalious-acetate-actidione(STAA)-agar

측정용 pH-meter(Nr. 654, Knick, west-Germany)를 이용하여 본 실험에서 사용하고자 하는 pH를 지닌 (5.3-5.4, 5.5-5.6, 5.7-6.0)육의 부위를 선별하였다. 육으로부터 지방 및 결체조직을 제거하고 육의표면에 오염되어 있는 미생물을 버너로 태운 다음, 육표면을 1cm 정도 두께로 가능한 무균적으로 제거하고 미리 멸균시킨 chopper 에서 육을 세절한 후 접종및 포장저장 시험에 이용하였다.

균주의 접종

B. thermosphacta 는 0.5% glucose를 첨가한 영양 배지에 배양시키면서 대수기의 배양균주 (ca. 5.0×10⁸ cells/ml)를 원심분리(3000g/10min.)에 의하여 분리하여 멸균증류수에 현탁시켰다. 다시 counting chamber에 의하여 같은 수의 균을 취하고 균주들을 혼합한 후 pool로 만들어 멸균생리식염수에 희석시킨 다음 육의 g 당 10⁴-10⁵이 되도록 포장시험육에 접종하였다. *Lactic acid bacteria* 도 마찬가지로 방법으로 접종하였으며, MRS-broth (Merck)에서 배양시켜 21균주를 같은 수로 혼합하는 pool로 만들어 본 실험에 이용하였다.

시험육의 포장 및 저장

통기성 포장시험은 멸균시킨 petridish에 균을 접종시킨 우육을 100g 정도 담고 LLD-polyethylene film (O₂ 투과도 : >1000cc/m²/24hr/atm)으로 포장하였다. 또한 진공포장 시험은 Nylon-Polyethylene Copolymer (O₂투과성 : 22cc/m², CO₂투과성 : 76cc/m², N₂투과성 : 14cc/m²/24hr/atm)에 균을 접종시킨 우육을 100g 정도 담고, 진공포장기 (H-Avs-7/한성정밀)를 이용하여 76cmHg로 압착후 열봉합하였다.

혼합가스 포장시험은 Nylon-Polyethylene Copolymer에 균을 접종시킨 우육을 100g 정도 담고 가스혼합기 (No. KH1003, Gastechnik, West Germany)와 포장기 (A 300/12, Multivac, Switzerland)를 이용하여 각각 20%CO₂+80% N₂, 100% CO₂를 주입한 후 열봉합하였다. 이와같이 포장된 육을 5±1°C의 저온에서 저장하였으며 통기성 포장은 15일간, 진공및 혼합가스포장은 21일간 저장하며 저장중 미생물의 변화를 조사하였다.

미생물 수의 측정

포장된 공시육은 저장날짜에 따라 개봉하여 무균적으

로 육 10g을 취하여 멸균증류수 90ml과 함께 stomacher로 1분간 균을 잘 균질화시킨 다음 미생물 실험을 실시하였다.

STAA-agar를 일부 수정하여 *B. thermosphacta*를 조사하였고, lactic acid bacteria는 MRS-agar를 이용하여 각각 조사하였다.

결과 및 고찰

우육의 PH에 의한 영향

*B. thermosphacta*는 특히 포장한 우육이나 육제품에 있어서 중요한 부패균의 하나로, Newton과 Gill⁽¹⁹⁾은 DFD(Dark, Firm, Dry)육의 부패와 *B. thermosphacta*의 증식은 밀접한 관계가 있다고 보고 하였으며, 특히 육의 pH에 따라 증식이 민감하여 선별적으로 육을 부패시킨다고 보고되었다^(4,5).

Fig. 1에서 볼 수 있는 바와 같이 pH가 5.8-6.0과 5.5-5.6인 우육의 통기성 포장에 있어서는 pH의 차가 *B. thermosphacta*의 증식에 영향을 거의 미치지 않으나 pH가 5.3-5.4인 처리구에서는 현저한 증식의 억제 를 보였다. 이는 육의 pH가 *B. thermosphacta*가 증식할 수 있는 최저 pH보다 높을 때 통기적인 조건에서는 pH가 그들의 생육에 큰 영향을 미치지 않는다는 다른 연구자의^(4,5) 결과와 일치한다.

진공포장육의 경우에 있어서는 육의 pH가 5.7-5.8에서는 이들의 증식이 아주 빨리 진행되었으며, 통기성 포장에서와 거의 차이를 보이지 않지만 pH 5.5-5.6에서는 현저하게 완만한 증식을 나타내었다.

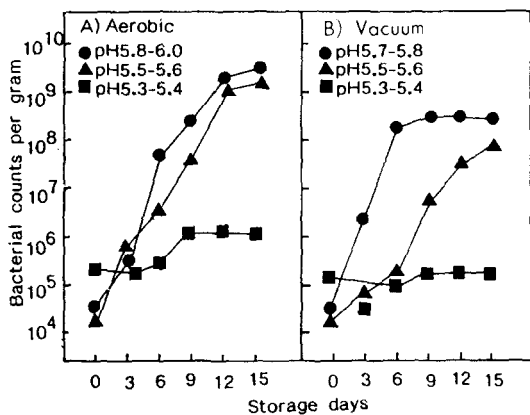


Fig. 1. The effect of pH of meat on the growth of *B. thermosphacta* on beef muscle stored at 5°C

pH가 낮은 (pH 5.3-5.4) 우육포장처리구에서는 진공포장에서 이들의 증식이 중지되었지만 통기성 포장에서는 아주 완만한 증식을 보여주고 있다. 따라서 이러한 결과에서 볼 때 통기성 포장에서는 pH 5.3-5.4의 범위가, 진공포장에서는 pH 5.4-5.5에서 *B. thermosphacta*의 증식 최저치임을 본 실험에서 보여주고 있다.

pH가 높은 우육 (pH>5.7)의 진공포장에 있어서 *B. thermosphacta*의 증식이 통기성 포장과 큰 차이를 보이지 않았으며 이러한 결과에서 볼 때 DFD육과 같은 pH가 높은 육을 진공포장할 경우 포장방법과 관계없이 부패가 빨리 진행됨을 알 수 있다.

포장방법에 의한 영향

pH가 5.7-6.0인 우육에 있어서 포장방법을 달리하여 *B. thermosphacta*의 증식을 살펴본 결과 (Fig. 2) 진공과 통기성 포장방법이 이들의 증식에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 본 실험에 사용한 포장지의 산소투과도와 연관이 있는 것으로 사료된다. 즉 *B. thermosphacta*는 산소의 투과도에 극히 민감하여 Egan과 Grau⁽⁵⁾에 따르면 산소투과정도

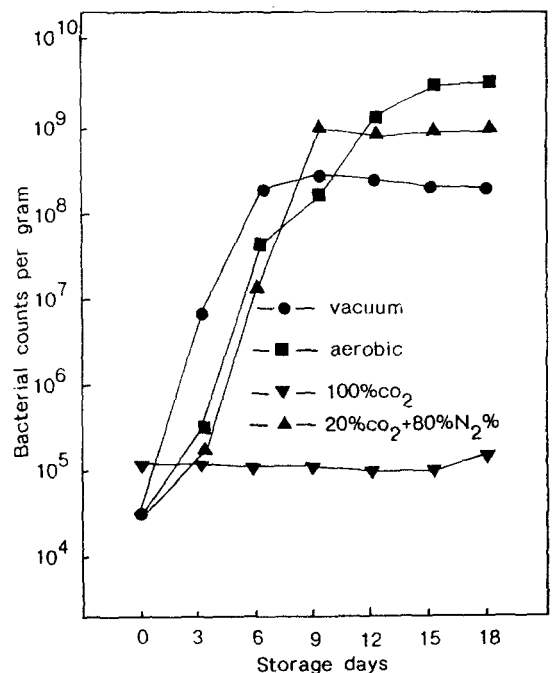


Fig. 2. The effect of packaging method on the growth of *B. thermosphacta* on beef muscle stored at 5°C (pH 5.7-6.0)

1000ml/m²/24hr/atm 과 20-30ml/m²/24hr/atm 의 비교에서 큰 증식의 차이를 발견하지 못했지만, 산소의 투과정도가 아주낮은 포장지에 의한 포장과는(1ml/m²/24hr/atm) 현저한 증식이 억제되었음을 보여주고 있다.

따라서 본 실험에서 사용한 film 인 Nylon-polyethylene copolymer 는 산소의 투과정도가 22ml/m²/24hr/atm 이므로 이러한 결과를 보이지 않았나 생각되며, 연구자들^(5,13,15)에 따라 포장육의 *B. thermosphacta* 의 증식 최저 pH 가 서로 다르게 나타나는 이유도 바로 이러한 문제 때문으로 사료된다. CO₂가스를 포장한 우육에서는 *B. thermosphacta* 가 거의 증식하지 않았고 저장 18일간 10⁵ cells/g 수준을 유지하였으며 이 결과는 Sutherland⁽¹⁴⁾의 실험결과와 일치한다.

Lactic acid bacteria 에 의한 영향

세절한 우육에 10⁴-10⁶cells/g 의 수준으로 lactic acid bacteria 와 *B. thermosphacta* 를 동시에 접종하였으며 통기성 포장구에서는 두 종류의 균 모두 급격한 증식을 보이고 있다.

Collins-Thompson 과 Lopez⁽¹⁶⁾은 lactic acid bacteria 를 일정수로 배양액에 접종하여 *B. thermosphacta* 의 증식억제 관계를 조사한 실험에서 lactic acid bacteria 가 *B. thermosphacta* 의 증식에 현저한 억제작용이 있는 것으로 보고 하였는데 Fig. 3에서 볼 수 있는 바와 같이 본 실험에서도 진공포장처리구는 *B. thermosphacta* 의 강한 증식억제효과를 보여주고 있으며, 특히 pH 가 낮은 포장처리구(pH 5.6이하)에 있어서는 현저한 생육억제효과를 보여주고 있다. 또한 통기성 포장처리구에 있어서는 lactic acid bacteria 에 의한 *B. thermosphacta* 의 생육억제효과는 Fig. 1, 2, 그리고 3을 비교해 볼 때 진공포장구에 비해 크게 나타나지 않았다.

Egan 등⁽⁹⁾은 세절한 luncheon meat 에 homo fermentative *Lactobacilli* 를 *B. thermosphacta* 와 동시에 접종하여 진공포장하였으나 두 종류의 균 모두 빠른 성장을 보였으며 *Lactobacilli* 의 증식억제효과는 발견하지 못했으며, 본 실험결과와는 상이한 결과를 보여주고 있으나 이러한 결과는 luncheon meat 자체의 높은 pH 에 기인하지 않나 사료된다. 또한 20%CO₂+80%N₂의 혼합가스포장에서는 *B. thermosphacta* 가 lactic acid bacteria 에 의해 가벼운 생육억제를 받고 있음을 Fig. 2와 3의 비교에서 알 수 있다.

따라서 lactic acid bacteria 에 의한 *B. thermos-*

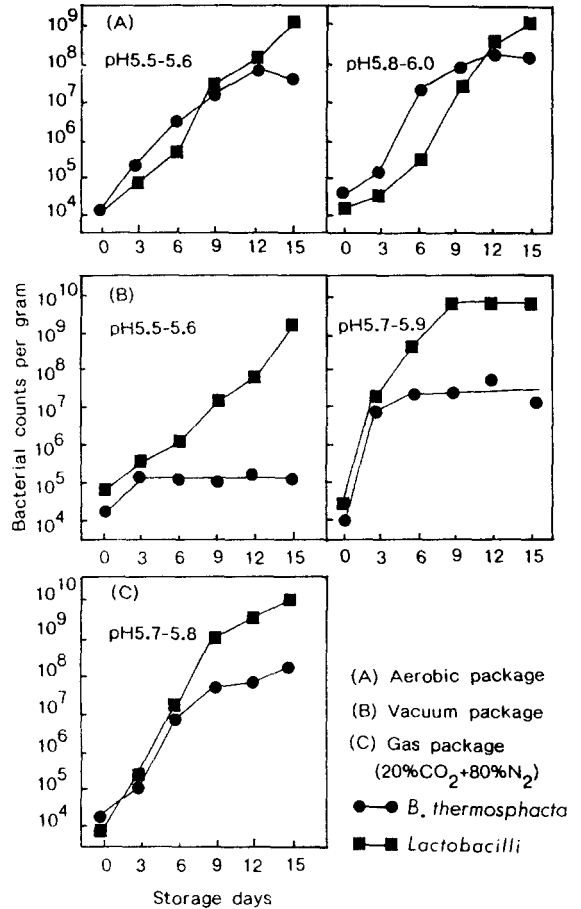


Fig. 3. The effect of the presence of *Lactobacilli* on the growth of *B. thermosphacta* on beef muscle stored at 5°C

phacta 의 증식억제효과를 종합하여 보면 통기성포장의 경우 억제효과는 크게 나타나지 않았으나 진공포장에 있어서는 pH 에 따라 억제효과가 달리 나타났으며, 육의 pH 가 낮을수록 증식억제효과는 커지는 것을 알 수 있다. 또한 혼합가스포장의 경우에도 lactic acid bacteria 의 존재가 *B. thermosphacta* 의 증식에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

요 약

본 실험은 포장우육에서 가장 주요한 부패균의 하나인 *B. thermosphacta* 의 생육특성을 조사하여 포장육 실험의 기초 자료를 마련하고자 실시하였으며 진공포장우육에서 *B. thermosphacta* 와 lactic acid bacteria 의

존재에 따른 *B. thermosphacta*의 생육 특성을 조사하였다.

통기성 포장우육에서는 높은 우육의 pH 범위에서 pH가 *B. thermosphacta*의 생육에 크게 영향을 미치지 않았으며 진공포장우육에서는 pH 5.5-5.6에서 pH 5.7이상에서 보다 크게 증식이 지연되었다.

포장방법에 따른 *B. thermosphacta*의 증식은 pH 5.7-6.0의 우육에서 100%가스포장했을 때 이들의 증식이 중지되었고, 20%CO₂와 80%N₂ 혼합가스포장했을 때 가벼운 증식억제 효과를 보였다. 또한 lactic acid bacteria의 *B. thermosphacta* 증식억제 작용은 통기성 포장에서 약하게 나타났으나, 진공포장에서는 pH가 낮을수록 크게 나타나며, pH 5.5-5.6의 우육에서 *B. thermosphacta*는 거의 성장이 중지되었다.

문 헌

- Mclean, R.A. and Sulzbacher, W.L.: *J. Bacteriol.*, **65**, 428(1953)
- Sneath, P.H.A. and Dorothy J.: *J. Syst. Bacteriol.*, **26**(2), 102(1976)
- Gill, C.O. and Penny, N.: *Meat Science.*, **14**, 43(1985)
- Campbell, R.J. Egan, A.F., Grau, F.H. and Shay, G. J.: *J. Appl. Bacteriol.*, **47**, 505(1979)
- Egan, A.F. and Grau, F.H.: in "Psychrotrophic organisms in spoilage and pathogenicity", Proceedings of the 11th international symposium of the committee on food microbiology and hygiene of IAMS. Academic Press, London, 211(1981)
- Sutherland, J.P. Patterson, J.T., and Murray, J.G.: *J. Appl. Bacteriol.*, **39**, 227(1975)
- Patterson, J.T. and Gibbs, P.A.: *J. Appl. Bacteriol.*, **43**, 25(1977)
- Shay, B.J., Grau, F.H., Ford, A.L., Egan, A.F. and Ratcliff, D.: *Food Tech.*, in Australia, **2**, 48(1978)
- Egan, A.F., Ford, A.L., and Shay, B.J.: *J. Food Sci.*, **45**, 1745(1980)
- Lee, B.H., Simard, R.E., Laleye, L.C. and Holley, R. A.: *J. Food Sci.*, **48**, 1537(1983)
- Roth, L.A. and Clark, D.S.: *Can. J. Microbiol.*, **18**, 1761
- Pierson, M.D., Collins-Tompson, D.L. and Ordal, Z. J.: *Food Tech.*, **24**, 1171(1970)
- Roth, L.A. and Clark, D.S.: *Can. J. Microbiol.*, **21**, 629(1975)
- Sutherland, J.P., Patterson, J.T., Gibbs, P.A., and Murray, J.G.: *J. Food Tech.*, **12**, 249(1977)
- Newton, K.G. and Gill, C.O.: *J. Appl. Bacteriol.*, **47**, 433(1979)
- Collins-Thompson, D.L. and Lopez, R.: *Can. J. Microbiology.*, **26**, 1416(1980)
- Newton, K.G. and Gill, C.O.: *J. Appl. Bacteriol.*, **44**, 91(1978)
- Gardner, G.A.: in "Sampling Microbiological Monitoring of Environment(eds. Board, R.G. and Lovelock, D.W.)", Academic Press, London, 21(1973)
- Newton, K.G. and Gill, C.O.: *J. Appl. Environ. Microbiol.*, **36**, 375(1978)
(1987년 9월 21일 접수)