

Lactococcus lactis ATCC 11454로 처리한 냉장 돼지고기 등심의 미생물, pH 및 관능평가

김창렬 · 김광현* · 이재일**

서강정보대학 식품영양과, *전남대학교 동물자원학과.

**전남대학교 수의과대학

Microbiological, pH and Sensory Evaluations of Refrigerated Pork Loins Treated with *Lactococcus lactis* ATCC 11454

Chang-Ryoul Kim[†], Kwang-Hyun Kim* and Jae-Il Lee**

Department of Food Science and Nutrition, Seo Kang College, Kwangju 500-742, Korea

[†]Department of Animal Science, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

**College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

Abstract

Microbiological, pH and sensory evaluations of pork loins treated with lactic acid cultures (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 grown in 10% milk solids) during storage at 4°C were assessed. Pork loins were immersed in solutions containing 3.96 log units, 4.10 log units, or 4.23 log units of individual lactic acid cultures for 2 min. Pork loins treated with lactic acid cultures had a inhibitory effect ($P<0.05$) on the growth of aerobic plate counts during storage of 3 days at 4°C. Pork loins treated with lactic acid cultures during storage of 3 days at 4°C significantly ($P<0.05$) decreased pH values compared to those of controls. Sensory evaluations for odor and appearance of pork loins treated with lactic acid cultures during storage of 9 days at 4°C were a "liked less" to "typical" category compared to those of controls.

Key words : pork loin, lactic acid cultures, aerobic plate counts, pH, sensory evaluation.

서 론

최근 식육의 생산과정에서 가축질병과 같은 전염성 질환의 발생으로 인하여 이들 식품의 위생학적 품질 안정성에 관한 소비자의 관심이 점점증하고 있다. 또한 여름철 냉장 돼지고기의 생산, 유통중 교차오염(cross-contamination)의 발생으로 식육의 저장에 의한 미생물학적 안정성 감소에 관한 연구의 필요성이 절실히 요구되고 있다^{1~5)}. 최근에 국내산 돼지고기와 소고기의 소비가 급감하고 있으며, 특히 돼지고기 등심과 안심의 시판율은 구제역과 광우병으로 인하여 감소하는 추세이다. 따라서 다양한 위생적 식육가공

을 위한 신기술의 개발과 소비증진을 위한 연구가 수행되어야 할 것이다. 이러한 문제점의 해결을 위한 방법의 하나로서 식육의 보존제에 관한 연구가 수행되고 있으며, 천연보존제에 의한 식육의 미생물학적 저장 안정성 향상 기술은 화학보존제의 남용에 의하여 발생할 수 있는 식중독으로부터 소비자의 건강을 유지시키기 위한 중요한 연구가 될 수 있다⁶⁻¹²⁾. 유산균은 전통적으로 식품의 풍미 생성과 보존에 기여하기 때문에 유제품과 육제품 등의 발효를 위한 종균으로 사용되고 있다. 유산균과 같은 그람양성세균에서 생성되는 천연항균물질로서 bacteriocins과 유기산 등은 식품의 품질을 열화시키는 것으로 알려져 있는 호기

* Corresponding author : Chang-Ryoul Kim

성 육부패세균의 대부분을 차지하고 있는 그람음성세균 및 병원성 식중독균의 증식억제에 효과적인 것으로 보고되고 있다⁷⁻¹²⁾. Kim과 Hearnberger¹²⁾는 *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257의 유산균 배양액을 이용하여 4°C 냉장 동안 생선에 존재하는 호기성 육부패세균인 그람음성세균의 증식을 유의적으로 감소하였다고 하였다. Khedkar 등¹⁰⁾은 우유에 증식한 *Lactobacillus acidophilus* LBKV³⁾는 *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Salmonella* spp. 와 같은 식품 부패 및 병원성 식중독균의 증식억제에 효과적이었다고 하였다. 또한 *Lactococcus lactis* spp.의 유산균 배양액은 세절한 소고기에서 그리고 병원성 식중독균인 *Clostridium botulinum*의 포자와 동시에 배양하였을 때 항균력을 나타내는 것으로 알려져 있다^{8,9)}.

한편 국내외적으로 냉장 돼지고기에 대한 브랜드화 추세가 가속화 되고 있으며 대량물량의 생산과 유통과정 동안 저품질육의 발생에 기인하여 불량품 발생의 근절(zero tolerance)을 목표로한 식육 품질관리 기술의 개발이 실시되어야 할 것이다. 돼지고기의 소비는 냉장육 형태로 전환되고 있으나 냉동육에 비교하여 장기간 저장이 어렵고 식품의 선도를 유지할 수 있는 기간이 짧기 때문에 저품질 냉장육 발생에 대처할 수 있는 국내산 고품질 냉장 돼지고기의 미생물학적 저장 안정성 향상에 관한 연구가 요구되고 있다³⁾. 그리고 다양한 가공 기술의 개발에 의하여 소비자의 기호성 변화에 대응할 수 있는 연구의 수행이 요구되며, 유산균 용액 등과 같은 천연 보존제를 이용하여 돼지고기 등심의 표면에 도포 후 냉장동안 미생물학적 품질에 미치는 영향에 대한 연구는 제한적이다.

본 연구는 광주 근교의 돼지고기의 가공업체에서 생산한 돼지고기 등심을 nisin과 유산 등의 천연 항균물질을 생산하는 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균 배양액을 이용하여 육표면에 도포한 다음 4°C 냉장 동안 호기성 부패세균, pH 및 관능평가에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 공시육 구입 및 실험설계

국내산 냉장 돼지고기 등심은 광주 근교의 돼지고기 가공업체로부터 암돼지(도체중량 100±30g)의 도축공정에서 구입하여 공시육으로 사용하였다. 각 4개의 처리구로 하여 12kg 돼지 등심(처리구 당 1kg × 4처리 × 3회)을 사용하였다.

2. 시료의 조제

신선한 돼지고기 등심(평균중량 50 ± 5g)을 가로 × 세로 × 두께(5×3×1cm)로 절단하여 0~4°C 냉장실에 보관하면서 3시간 이내에 실험에 사용하였다.

3. 저장 조건

돼지고기 등심의 저장 조건은 4°C 냉장 조건에서 9일 동안 저장하면서 3일 간격으로 분석에 사용하였다.

4. 유산균의 배양

천연 보존제는 *Lactococcus lactis* subsp. ATCC 11454를 한국종균협회로부터 구입하여 121°C, 15분 멸균(Brain Heart Infusion agar (Difco, USA))한 다음 37°C, 48시간 동안 3회 계대배양하여 활력을 증진하였다. 종균은 121°C 15분 멸균한 10ml의 10% 탈지분유 배지(Difco, USA)에 접종한 다음 37°C에서 48시간 3회 계대배양하였다. 모배양을 위하여 5개의 250ml 평면 회석병에 각 200ml의 10% 탈지분유 배지를 넣고 121°C, 15분 멸균한 다음 0.1%의 종배양액을 접종하였다. 그 후 배양기에서 37°C, 24시간 유지후 증식한 유산균 배양액을 돼지고기 등심의 표면 도포제로 사용하였다.

5. 유산균 배양액을 이용한 돼지고기 표면의 도포
10⁷~10⁸ CFU/ml 농도로 증식한 유산균 배양액은 각 400~600ml (v/w)의 유산균 용액을 멸균 증류수에 1L 단위로 희석하여 3.96 log units, 4.10 log units 및 4.23 log units 농도로 조절하였다. 그 후 각 500g의 돼지고기 등심(평균 50 ± 5g 중량)을 3개의 처리구로 구성하여 1L의 유산균 배양액이 함유된 멸균 플라스틱 용기에 넣고 실온에서 2분 동안 침지하였다. 그리고 대조구는 500g의 돼지고기 등심을 1L의 멸균 증류수에 2분 침지하여 물리적 인자를 제거하였다. 각 시료는 Whirl-Pak 시료백(Fisher Chemical Co., USA)에 넣고 4°C에 저장하면서 실험에 사용하였다.

6. 돼지고기 등심의 미생물학적 분석

시료의 미생물학적 분석을 위하여 표준세척법은 멸균 Whirl-pak bag에 50 ± 5g의 육시료와 50ml의 멸균한 0.1%(w/v) peptone water (Difco, USA)를 1 : 1로 넣고 1분간 shaking한 다음 0.1ml의 시료를 취하여 분석에 이용하였다. 각 시료는 멸균한 0.1% (w/v) peptone water(Difco, USA)에 적합한 농도로 희석한 다음 Kim 등³⁾의 방법에 따라 spread plating method 를 이용하여 페트리 디시에 도말하였다. 호기

성 균수 및 유산균수의 분석은 표준평판배지 (Difco, USA) 위에서 37°C, 48시간 각각 배양후 분석하였다. 그람음성균의 분석은 MacConkey agar (Difco, USA) 위에서 37°C, 48시간 배양후 분석하였다. 각 배지위에서 형성된 집락수는 log₁₀ CFU/g으로 환산하여 표시하였다.

7. pH 측정

돼지고기 등심의 pH는 flat type surface electrode를 이용하여 시료 표면의 앞뒤 4지점의 pH를 표준화된 pH meter (Accumet^R, Model 50, Fisher Scientific Co.)로 측정하였다.

8. 관능평가

시료의 관능평가는 9점 기호척도법으로 하여 훈련받은 10인의 심사원에 의하여 수행하였다. 냄새 및 외관 등의 기호도에 따라서 저장시료로부터 4일 간격으로 취하여 평가하였다. 신선육의 점수를 5점으로 하고 처리구가 대조구보다 더 싫은 경우는 1~4점, 가장 싫은 경우는 1점 그리고 처리구가 대조구보다 더 좋은 경우는 6~9점, 가장 좋은 경우는 9점으로 등급하였다.

9. 통계분석

각각 유산균 배양액으로 처리 전후 돼지고기 등심의 그람음성 세균수, 호기성 세균수, pH 및 관능평가에 대한 반복시료의 평균값을 SAS program¹³⁾을 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

수돗물로 2분간 침지한 돼지고기 등심의 대조구는 4°C 저장 9일후 저장 1일의 육시료보다 2.83 log units

의 호기성 미생물수의 증가를 나타내었다 (Table 1). 돼지고기 등심 대조구의 호기성 세균수와 그람음성세균수는 4°C 저장 9일후 각 5.30 log units 와 4.80 log units를 나타내므로서 90% 이상을 차지하는 그람음성세균이 육부패의 주요 세균으로 분석되었다. 각 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균 배양액 3.96 log units와 4.10 log units로 처리한 돼지고기 등심은 4°C 저장 3일 동안 초기 미생물수와 유사한 총균수를 나타내었으며, 이때 그람음성균수를 측정할 결과 각 2.46 log units와 2.38 log units으로서 유의적 감소를 나타내었다. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균 배양액 4.23 log units로 처리한 돼지고기 등심은 4°C 저장 3일 동안 그람음성세균수는 2.33 log units로서 대부분 그람양성세균인 유산균의 증식에 기인한 것으로 현미경의 관찰결과 분석되었다.

본 연구는 천연 보존제로서 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균 배양액(v/w)을 돼지고기 등심의 육표면에 4.10, 4.20 log unit 수준으로 처리하였을 때 호기성 육부패세균 중에서 저장 3일 동안 그람음성세균의 증식억제에 효과적이었다. 이러한 결과는 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균 배양액에서 생산된 nisin과 유산 등의 천연 항균물질에 의한 것으로 고려되었다. Smith와 Palumbo⁸⁾는 유산균 발효에 의하여 생성된 유기산은 소시지의 발효동안 병원성 세균인 *Staphylococcus aureus*의 세포증식을 억제하는데 효과적이었으며, 0.5% 포도당을 함유한 소시지에서 항균력이 증가하였다고 하였다. Kim과 Hearnberger¹²⁾는 *Lactococcus lactis* 19257의 2.5% 유산균 배양액과 0.5% sodium acetate 및 0.25% potassium sorbate의 조합으로 처리한 생선은 4°C에서 저장 6일 동안 호기성 육부패세균의 증식억제에 효과적이었다고 하였다. 본 결과 천연항균물

Table 1. Aerobic plate counts¹ on refrigerated (4°C) pork loins treated with different levels of lactic acid cultures from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454

Treatments	Storage time (days)			
	1	3	6	9
Control	2.47±0.203 ^a	2.83±0.145 ^a	4.00±0.058 ^a	5.30±0.058 ^a
LC ² /3.96 log units	6.43±0.033 ^b	6.50±0.058 ^b	6.43±0.088 ^b	6.67±0.033 ^b
LC/4.10 log units	6.57±0.033 ^b	6.47±0.033 ^b	6.73±0.033 ^b	6.70±0.000 ^b
LC/4.23 log units	6.70±0.000 ^b	6.57±0.033 ^b	7.10±0.000 ^c	7.27±7.033 ^c

¹ Mean values with different superscripts in the same column are significantly different (P < 0.05).

* Means of replications (Mean±standard error). LC² = lactic acid cultures.

질 생산 균주로서 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균배양액(v/w)은 4°C 저장 돼지고기 등심의 저장 안정성 향상 가능성을 나타내었다. 그러나 저장 안정성 증진을 위하여 유산균 농도의 조절, 기타 향균물질 생산 유산균의 적용과 보존제의 조합으로 육저장 안정성 향상에 대한 지속적 연구의 필요성이 검토되었다.

유산균 배양액(v/w)을 돼지고기 등심의 육표면에 처리후 4°C 저장 동안 pH변화를 관찰한 결과 처리 1일 후 대조구 등심은 유산균 배양액 처리구보다 유의적 증가 ($P < 0.05$)를 나타내었다 (Table 2). 이러한 결과는 4°C 저장 6일 동안 지속되었다. 또한 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균배양액(v/w) 4.23 log units의 처리구는 4°C 저장 3일 동안 대조구 및 3.96 log units와 4.10 log units 유산균 배양액 처리구 보다 유의적으로 낮은 pH가를 나타내었다 ($P < 0.05$).

본 연구의 결과 유산균 배양액 처리구는 대조구보다 4°C 저장 동안 낮은 pH가를 나타내었으며 이는 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산

균 배양액에서 생산된 유산 및 기타 유기산의 생성에 기인한 것으로 고려되었다. 이들 약산은 돼지고기 등심의 육 표면 pH를 감소함으로써 4°C 저장 동안 호기성 미생물의 증식억제에 기여한 것으로 고려되었다. Ray와 Sandine¹¹⁾은 유산 및 초산 등의 약산은 육표면의 초기 pH를 감소하거나 해리된 산분자 (dissociated molecules) 또는 해리되지 않은 산분자 (undissociated molecules)에 기인하여 항균력을 나타내며 유산균은 이들 향균물질 생산을 위한 유용한 천연보존제가 될 수 있다고 하였다. 이러한 결과는 Table 1에 나타난 바와 같이 유산균으로 표면 도말한 육은 초기세균수와 유사한 호기성 세균수를 저장 기간동안 유지하고 있으나, 대조구는 저장 6일 이후부터 급속한 호기성 세균수의 증가를 나타내므로 4°C 저장 6일 이후부터 급속한 미생물학적 육부패가 진행되고 있음을 알 수 있다.

냄새에 대한 돼지고기 등심의 관능평가 결과는 처리 1일 후 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균 배양액(v/w) 3.96~4.10 log units의 처리구는 대조구보다 유의적 ($P < 0.05$)으로 높게 등

Table 2. pH values¹ on refrigerated (4°C) pork loins treated with different levels of lactic acid cultures from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454

Treatment	Storage time (days)			
	1	3	6	9
Control	5.80±0.012 ^a	5.83±0.006 ^a	5.98±0.009 ^a	5.86±0.017 ^a
LC ² /3.96 log units	5.47±0.006 ^b	5.56±0.010 ^b	5.68±0.009 ^{ab}	5.73±0.015 ^a
LC/4.10 log units	5.35±0.010 ^b	5.40±0.009 ^b	5.65±0.015 ^{ab}	5.69±0.020 ^a
LC/4.23 log units	5.10±0.045 ^c	5.21±0.003 ^b	5.58±0.003 ^b	5.70±0.015 ^a

¹ Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

* Means of replications (Mean±standard error). LC² = lactic acid cultures.

Table 3. Odor values¹ on refrigerated (4°C) pork loins treated with different levels of lactic acid cultures from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454

Treatments	Storage time (days)			
	1	3	6	9
Fresh control	5.00±0.000 ^b	5.00±0.000 ^a	5.00±0.000 ^a	5.00±0.000 ^a
Control	5.33±0.333 ^b	4.33±0.333 ^b	4.33±0.333 ^b	3.67±0.333 ^b
LC ² /3.96 log units	6.00±0.577 ^a	4.67±0.333 ^{ab}	4.33±0.333 ^b	3.67±0.333 ^b
LC/4.10 log units	6.33±0.333 ^a	4.67±0.333 ^{ab}	4.00±0.000 ^b	4.00±0.000 ^b
LC/4.23 log units	5.33±0.333 ^b	4.67±0.333 ^{ab}	4.00±0.000 ^b	3.67±0.333 ^b

¹ Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

* Means of replications (Mean±standard error). LC² = lactic acid cultures.

Table 4. Appearance values¹ on refrigerated (4°C) pork loins treated with different levels of lactic acid cultures from *Lactococcus lactis* subsp *lactis* ATCC 11454

Treatments	Storage time (days)			
	1	3	6	9
Fresh control	5.00±0.000 ^a	5.00±0.000 ^a	5.00±0.000 ^a	5.00±0.000 ^a
Control	5.50±0.333 ^a	5.00±0.000 ^a	4.00±0.000 ^b	3.00±0.577 ^b
LC ² /3.96 log units	5.33±0.333 ^a	4.67±0.333 ^a	4.00±0.000 ^b	3.00±1.000 ^b
LC/4.10 log units	5.33±0.333 ^a	4.67±0.333 ^a	4.00±0.000 ^b	3.00±1.000 ^b
LC/4.23 log units	4.67±0.333 ^b	3.7 ±0.333 ^b	4.00±0.000 ^b	3.00±1.155 ^b

¹Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

*Means of replications (Mean±standard error). LC² = lactic acid cultures.

급되었다(Table 3). 그러나 4°C 저장 3일 이후부터 처리구는 대조구와 유의적 차이가 없었으며 ($P > 0.05$) 저장 9일 부터는 신선한 대조구 보다 “낮게 좋은” 등급으로 평가되었다.

외관에 대한 돼지고기 등심의 관능평가 결과는 처리 1일 유산균 배양액(v/w) 4.23 log units의 처리구는 대조구 및 3.96~4.10 units 처리구보다 유의적 ($P < 0.05$)으로 낮게 등급되었다 (Table 4). 이러한 외관의 관능평가 결과는 4°C 저장 3일까지 지속되었다. 그러나 4°C 저장 6일 이후부터 처리구는 대조구와 유의적 차이가 없었으며 ($P > 0.05$) 저장 9일부터는 신선한 대조구보다 “낮게 좋은” 등급으로 평가되었다.

본 연구의 결과 천연 육보존제로서 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균 배양액(v/w)을 돼지고기 등심의 육표면에 처리후 4°C 저장 동안 3.96~4.10 log units의 처리구는 대조구와 비교할 때 4.10, 4.23 log unit 유산균으로서 처리후 6일 저장 동안을 제외하고 냄새에 대해서 대조구보다 높은 등급으로 나타내었으며 냉장 돼지고기 등심의 미생물학적 육저장 안정성 향상을 위한 물질로 사용할 수 있을 것으로 검토되었다.

요 약

Lactococcus lactis subsp. *lactis* ATCC 11454의 유산균 배양액을 3.96 log units, 4.10 log units 및 4.23 log units의 농도로 처리한 돼지고기 등심은 4°C 저장 9일 동안 호기성 부패세균의 증식억제와 저장 안정성 증진 가능성을 나타내었다. 유산균 배양액 처리구는 4°C 저장 3일 동안 대조구 보다 유의적으로 낮은 pH 값을 나타내었다. 유산균 배양액으로 처리한 돼지고기 등심의 외관과 냄새에 대한 관능평가 결과는 4°C

저장 9일 동안 신선한 대조구와 유사하거나 보다 낮게 좋은 것으로 등급되었다.

감사의 글

본 연구는 2000 농림부 현장애로과제의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Gray, J. I., Gomaa, E. A., and Buckley, D. J.: Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Sci.*, 43, S111~S123 (1996).
2. Mendonca, A. F., Molins, R. A., Kraft, A. A., and Walker, H. W.: Effects of potassium sorbate, sodium acetate, phosphates and sodium chloride alone or in combination on shelf life of vacuum-packaged pork chops. *J. Food Sci.*, 54, 32~306 (1989).
3. Kim, C. R., Lee, J. I., Kim, K. H., Kang, C. K., Rhie, S. C., Moon, S. J., and Lee, Y. K. : Microbiological and sensory evaluations of refrigerated pork loins treated with citric acid. *Kor. Vet. Publ. Hlth*, 20, 329~335 (1996).
4. Mendonca, A. F., Molins, R. A., Kraft, A. A. and Walker, H. W.: Microbiological, chemical and physical changes on fresh, vacuum-packed pork treated with organic acids and salts. *J. Food Sci.*, 54, 18~21 (1989).
5. Payne, S. R., Durham, C. J., Scott, S. M. and Devine, C. E.: The effects of non-vacuum packaging systems on drip loss from chilled beef. *Meat Sci.*, 49, 277~287 (1998).
6. Raccach, M., Baker, R. C., Regenstein, J. M. and Mulnix, E. J.: Potential application of microbial antagonism to extended storage stability of a flesh type

- food. *J. Food Sci.*, 44, 43~46 (1979).
7. Daeschel, M. A.: Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Tech.*, 44, 164~167 (1989).
 8. Smith, J. L. and Palumbo, S. A. : Microorganisms as food additives. *J. Food Prot.*, 44, 936~955 (1981).
 9. Okereke, A. and Montville, T. J. : Bacteriocin inhibition of *Clostridium botulinum* spores by lactic acid bacteria. *J. Food Prot.*, 54, 349~353 (1991).
 10. Khedkar, C. D., Dave, J. M. and Sannabhadti, S. S. : Antibacterial activity of human strains of *Lactobacillus acidophilus* grown in milk against selected pathogenic and spoilage type bacteria. *Cultured Dairy Products Journal*, 11, 29 (1990).
 11. Ray, B. and Sandine, W. E.: Acetic, propionic and lactic acids of starter culture bacteria as biopreservatives. In *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, ay, B. and Daeschel. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA, pp. 103~106 (1991).
 12. Kim, C. R. and Hearnberger, J. O.: Gram negative bacteria inhibition by lactic acid culture and food preservatives on catfish fillets during refrigerated storage. *J. Food Sci.*, 59, 513~516 (1994).
 13. SAS : SAS User's Guide. : Stastics. SAS Institute Inc., Cary, N. C. (1991).
-
- (2001년 3월 17일 접수)