



한국 전통양념이 발효돈육의 병원성 미생물 성장에 미치는 영향

진상근* · 김철욱 · 이상원¹ · 송영민 · 김일석 · 박석규² · 하경희³ · 배대순⁴

진주산업대학교 동물소재공학과, ¹미생물공학과, ²순천대학교 식품영양학과,
³동물생명산업연구센터, ⁴진주교육청

Effects of Korean Traditional Seasoning on Growth of Pathogenic Germ in Fermented Pork

Sang-Keun Jin*, Chul-Wook Kim, Sang-Won Lee¹, Young-Min Song, Il-Suk Kim, Suck-Ku Park², Kyung-Hee Hah³ and Dae-Sun Bae⁴

Department of Animal Resources Technology, Jinju National University

¹Department of Microbiological Engineering, Jinju National University

²Department of Food and Nutrition, Sunchon National University

³Regional Animal Industry Research Center, Jinju National University

⁴Jinju Office of Educational Sector, Gyeongsangnamdo

Abstract

This study was carried out to investigate the growth of pathogenic germ in fermented pork with Korean traditional seasonings. The samples, outside muscle of pork ham were cut by the shape of cube (7×12×2 cm) and seasoned with five Korean traditional seasonings such as garlic paste (T1), pickled Kimchi (T2), pickled Kimchi juice (T3), soybean paste (T4), red pepper paste (T5). The rate of meat to seasonings was same. The seasoned samples were fermented at -1±1℃ for 28 days. Microbial pathogens such as *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* were not detected in all paste and samples. When 1.5×10³ CFU/cm² of *Escherichia coli* O157 was inoculated, the numbers were slightly increased to 10³~10⁴ CFU/cm² at 3 days and gradually decreased to the level of inoculation at 18 days in all samples. In the inoculation with *Listeria monocytogenes* (8×10⁴ CFU/cm²), the numbers were below 10³ CFU/cm² during 28 days in T3 and T4, while they were increased to 10⁶ CFU/cm² in T1 and T2 at 3 and 13 days respectively, and decreased to 10⁴ CFU/cm². In the inoculation with *Salmonella enteritidis* (3×10⁴ CFU/cm²), the numbers increased to 10⁵ CFU/cm² at 18 days, but they were rapidly decreased to the level of initial inoculation at 23 days.

Key words : fermented pork, Korean traditional seasonings, pathogenic germ

서 론

최근 식생활 수준이 향상됨에 따라 식품의 안전성에 대한 의식이 고조되고, 식생활의 다양화로 가공식품의 수요가 크게 증가함에 따라 식품의 양념이나 첨가물들이 보다 다양하고 광범위하게 사용되고 있다. 특히, 미생물의 증식을 억제

하는 보존제로 인공합성품이 상업적으로 사용되고 있으나 식품 첨가물의 안전성에 대한 소비자 인식이 증대됨에 따라 식재료를 비롯한 식품 첨가물들을 화학 합성물질에서 천연물로 대체하려는 경향이 높아지고 있다. 따라서 인체에 무해한 천연물로서 광범위한 항균작용을 나타내는 물질의 개발이 시급하게 되었으며 우리 주변에 널리 사용되고 있는 전통 양념류에 대한 관심이 집중되고 있다. 전통 양념류에 대한 많은 연구가 이루어지면서 최근 된장과 고추장에서 분리한 균들의 활성에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있으나 이들을 이용한 양념육에 병원성 미생물을 접종하여 이들의 활

* Corresponding author : Sang-Keun Jin, Department of Animal Resources Technology, Jinju National University, Jinju 660-750, Korea. Tel: 82-55-751-3283, Fax: 82-55-751-3514, E-mail: skjin@jinju.ac.kr

성에 관해 연구한 자료는 거의 없는 실정이다.

우리 고유의 전통 발효 식품인 된장, 고추장 및 김치는 오래 전부터 식생활에 중요한 기본 조미식품으로 널리 이용되어 왔으며 최근 그 수요가 증가하고 있는 추세이다. 대두발효 식품인 된장은 영양원뿐만 아니라 생리활성도 갖고 있어 고혈압 방지효과, 항돌연변이성, 항암성, 혈전용해능은 대두에서 기인되는 protease inhibitor, phytic acid 및 isoflavones 등에 의해 기인되는 것으로 알려져 있다(Chung et al., 1996). 고추장은 전통적인 대두 발효 식품으로 제조과정 중 amylase의 당화작용으로 인하여 생성된 당의 단맛, protease의 단백질 분해 작용으로 생성된 아미노산의 구수한 맛, lipase의 작용으로 생성된 지방산과 고춧가루의 매운맛 및 소금의 짠맛이 어우러져 특유의 맛을 이룬다. 김치는 비타민과 미네랄을 많이 함유하며, 특히 비타민 C와 Ca이 많이 들어 있으며, 항암효과, 독성물질 제거효과 및 항돌연변이 효과가 있다(Hur, 1996). 마늘 역시 항암효과 및 항돌연변이 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. Jang과 Kim(1984)은 한국 재래식 된장의 주요 균으로는 *Bacillus* sp., *Mucor* sp. 및 *Penicillium* sp.를 들 수 있으며 이 중에 향기에 영향을 미치는 주요 균은 *Bacillus* sp.라고 하였으며, Lee 등(1976)은 재래식 고추장의 숙성 중 주요 미생물은 *Bacillus subtilis*와 *Aspergillus oryzae*라고 하였다. 한편, 발효육은 자가숙성에 의하여 이루어지며 이에 의하여 발생하는 근육의 변화로는 근육단백질에 있어서 폴리펩타이드 체인의 응고에 의한 근섬유 단백질의 용해성 감소(Crespo et al., 1978)와 체인의 일부가 절단되면서 연해집은 물론 유리아미노산, 핵산 및 관련물질, 아민류, 암모니아, 크레아틴 등 비단백태 질소 화합물이 증가하여 제품은 독특한 맛과 향을 내게 되며(Dierick et al., 1974), 또한 지방도 분해되어 키톤, 알데하이드, 알코올류로 변하여 방향성 증진에 기여하게 된다(Whitaker, 1978).

본 연구는 돼지고기 비선호 부위인 뒷다리살에 인위적으로 병원성 미생물들을 접종시키고 한국 전통 양념에 28일간 침지시켜 숙성 발효시킨 돼지고기에 있어서의 식품안전성 측면에서 이들 병원성 미생물들의 성장 양상을 조사하기 위해 실시되었다.

재료 및 방법

공시재료 및 양념 배합비

돼지를 도축후 24시간 냉장된 지육에서 농립부가 고시한 가공기준에 준하여 뒷다리 부위 중 바깥 불깃살을 채취하여 과도한 지방을 제거하고 7×12×2 cm 크기로 자른 후 육을 Table 1에 나타낸 배합비로 미리 준비된 각종 양념액들에 동

Table 1. Formula of pickled Kimchi/juice and Korean traditional seasoned paste containing soybean, garlic and red pepper

Ingredients	Treatment*				
	T1 ¹⁾	T2 ²⁾	T3 ³⁾	T4 ⁴⁾	T5 ⁵⁾
Raw soybean paste	-	-	-	28	-
Red pepper paste	-	-	-	-	37
Pickled cabbage	-	63	64 (chopped)	-	-
Sticky rice starch	-	2	6	-	-
Pickled shrimp	12	4	4	-	-
Pickled sea food	-	-	6	-	-
Powder red pepper	-	3	6	-	-
Ground onion	19	10	-	10	-
Ground radish	18	-	-	19	-
Ground garlic	17	3	4	8	4
Ground ginger	9	2	1	3	-
Corn syrup	25	1	-	20	20
Ground pear	-	3	7	-	-
Glue plant	-	2 (fresh)	1 (dried)	-	-
Red mustard leaf	-	-	1	-	-
Ground pineapple	-	-	-	7	11
Ethyl alcohol	-	-	-	2	2
Water	-	7	-	3	26
Total	100	100	100	100	100

*T1; garlic paste, T2; pickled Kimchi, T3; pickled Kimchi juice, T4; soybean paste, T5; red pepper paste.

¹⁾ The salinity and saccharinity of pickled shrimp were 2.05, 3.40. Saccharinity of corn syrup and garlic was 18.33, 4.64. The garlic sauce was made from mixture of various ingredients, saccharinity of garlic was taken as standard condition.

²⁾ Pickled cabbage; after soaking in 40°C warm, with 8% salt for 18 hours, draining and adding seasoning. Sticky rice starch; adding 2 times as much water as the amount of sticky rice starch.

³⁾ Pickled cabbage (chopped); after soaking in 40°C warm, with 8% salt for 18 hours, draining, add seasoning and chopping into extremely tiny size. Pickled sea food; salted anchovy juice, pickled shrimp.

⁴⁾ Salinity and saccharinity of raw soybean paste were 2.77, 10.89 respectively, while saccharinity of corn syrup was 14.66 as standard to make the soybean paste

⁵⁾ Soybean paste with red pepper was made by mixture with various ingredients and salinity and saccharinity of red pepper paste were 2.92, 19.39.

일한 비율로 침지하여 $-1\pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 28일간 발효 숙성하였으며 이들을 미생물 측정용 재료로 활용하였다.

미생물 접종과 측정

1) 균주 및 배지

병원성 미생물 *Escherichia coli* O157:H7(*E. coli* O157:H7), *Listeria monocytogenes*(*L. monocytogenes*) 및 *Salmonella enteritidis*(*Sal. enteritidis*)는 경상남도 축산진흥연구원으로부터 분양하여 사용하였다. 종균을 위한 전배양배지로는 각각 mEC broth(novobiocin $20\ \mu\text{g}/\text{mL}$), *Listeria* enrichment broth (LEB) 및 Selenite F 배지를 사용하였으며, 콜로니 수 판정을 위한 선택배지로는 각각 MacConkey agar, Oxford agar 및 XLD agar 평판배지를 사용하였다.

2) 미생물의 전배양과 접종

병원성미생물의 증균을 위한 전배양은 500 mL 삼각플라스크에 전배양 배지 200 mL씩을 각각 넣고 121°C 에서 15분 멸균을 행한 다음, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 및 *Sal. enteritidis*의 병원성 미생물을 각 증균용 배지에 접종하여 *L. monocytogenes*는 35°C , *E. coli* 및 *Sal. enteritidis*는 37°C 에서 각각 24시간 배양하여 사용하였다. 전배양해 든 *E. coli* O157, *L. monocytogenes* 및 *Sal. enteritidis*의 배양액을 처리구별로 각각 1.5×10^3 CFU/cm², 8×10^4 CFU/cm² 및 3.0×10^4 CFU/cm²씩 인위적으로 접종하였다.

3) 병원성 미생물의 측정

National Veterinary Research and Quarantine Service(2000)의 방법으로 5종의 발효식품에 전배양하여 둔 각 병원성 미생물의 배양액 30 mL씩을 접종하여 잘 혼합한 후 4°C 의 냉장고에서 30일간 발효시키면서 5일 간격으로 시료를 채취하여 채취한 시료 1 g을 멸균증류수 9 mL로 희석한 다음, 그 희석용액 100 μL 를 각각의 병원성 미생물 선택평판배지에 도말하여 *L. monocytogenes*는 35°C , *E. coli* 및 *Sal. enteritidis*는 37°C 에서 각각 24시간 배양한 후 각각 선택평판배지에 나타난 콜로니 수를 계측하였다. 한편, 병원성 미생물 미접종 상태의 양념소스와 육에 대해서도 같은 방법으로 조사하였다.

통계처리

이상의 실험에서 얻어진 결과는 SAS(1999)의 GLM (General Linear Model) 방법으로 분석하였고 처리 평균간의 비교를 위해 Duncan의 Multiple Range Test가 이용되었다.

양념반죽과 원료 돈육의 병원성 미생물 측정

제조된 발효용 양념 반죽과 원료 돼지고기에 병원성 미생물인 *E. coli* O157, *L. monocytogenes*, *Sal. enteritidis*의 존재 여부를 파악하기 위해 조사한 결과를 Table 2에 나타내었다.

발효용 양념반죽과 발효용 원료 돼지고기 각각 5종 모두에서 상기한 3가지 병원성 미생물은 발견되지 않았다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 실험의 재료로 사용한 양념반죽의 재료뿐만 아니라 원료육인 돼지고기 뒷다리 부위는 식품으로서의 위생성과 안전성을 확보한 상태라고 판단된다.

인위적인 병원성 미생물 접종 후 발효기간별 미생물 증식 변화

Table 2의 실험 결과에서 양념 반죽액이나 원료육인 돼지고기 뒷다리 부위는 위생적이었다고 할 수 있으나 만약에 제조과정 중 취급 부주의 등에 의하여 병원성 미생물에 노출되었을 경우를 대비하여 인위적으로 병원성 미생물을 발효 돼지고기에 접종하고 발효기간에 따른 병원성 미생물의 변화 양상을 조사한 결과를 Fig. 1~Fig. 3에 나타내었다.

Fig. 1은 전배양해 든 *E. coli* O157의 배양액을 각각 1.5×10^3 CFU/cm²씩 인위적으로 접종하여 5가지의 전통양념에 침지하여 발효시킨 돼지고기의 발효기간 중 미생물 증식에 관한 것을 나타낸 것으로 접종 후 3일까지 T4와 T1은 10^3 CFU/cm²로 낮은 수준이었으나 T2, T3, T5는 10^4 CFU/cm²까지 증가한 후 각각 감소하여 18일경 T5를 제외하고 4가지 모두 접종 수준으로 낮아졌다. 발효 28일에는 모든 구가 접종 수준 이하로 낮아졌다. 이와 같이 발효식품에 접종한 대장균이 3일째까지 증가하다가 감소하는 것은 발효식품 중에 서식하고 있는 발효미생물의 영향으로 양념의 주종균인 유산균

Table 2. Counts of microbial pathogens in the raw seasoning paste and pork

Treatment ¹⁾	Seasoning paste (CFU/mL)			Pork (CFU/cm ²)		
	O157*	L**	S***	O157*	L**	S***
T1	0	0	0	0	0	0
T2	0	0	0	0	0	0
T3	0	0	0	0	0	0
T4	0	0	0	0	0	0
T5	0	0	0	0	0	0

¹⁾ T1 (Garlic paste-pork), T2 (Pickled Kimchi-pork), T3 (Pickled Kimchi juice-pork), T4 (Soybean paste-pork), T5 (Red pepper paste-pork).

*O157 : *Escherichia coli* O157, **L : *Listeria monocytogenes*, ***S : *Salmonella enteritidis*.

결과 및 고찰

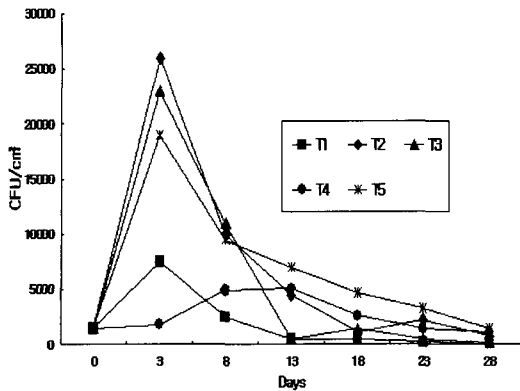


Fig. 1. Changes of *Escherichia coli* O157 inoculated on Korean traditional seasonings during fermentation period.

¹⁾T1 (Garlic paste-pork), T2 (Pickled Kimchi-pork), T3 (Pickled Kimchi juice-pork), T4 (Soybean paste-pork), T5 (Red pepper paste-pork).

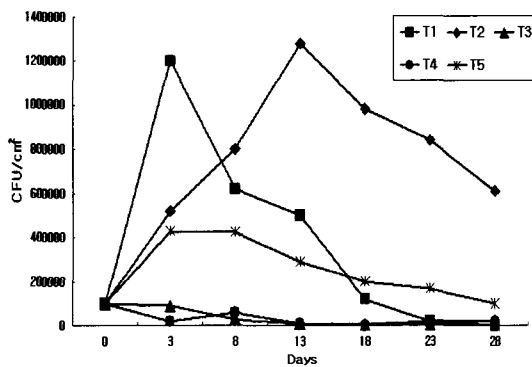


Fig. 2. Changes of *Listeria monocytogenes* inoculated on Korean traditional seasonings during fermentation period.

¹⁾T1 (Garlic paste-pork), T2 (Pickled Kimchi-pork), T3 (Pickled Kimchi juice-pork), T4 (Soybean paste-pork), T5 (Red pepper paste-pork).

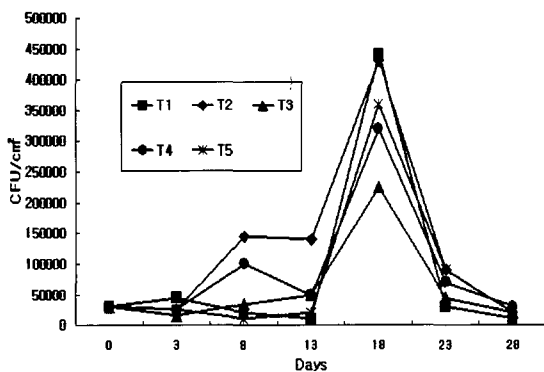


Fig. 3. Changes of *Salmonella enteritidis* inoculated on Korean traditional seasonings during fermentation period.

¹⁾T1 (Garlic paste-pork), T2 (Pickled Kimchi-pork), T3 (Pickled Kimchi juice-pork), T4 (Soybean paste-pork), T5 (Red pepper paste-pork).

이 배출하는 항생물질, 이산화탄소, 유기산 등에 의해 미생물 성장이 억제되었기 때문으로 판단된다(Fu et al., 1992).

Fig. 2는 육가공식품에서 빈번하게 식중독을 유발시키는 전배양된 *Listeria monocytogenes*를 8×10^4 CFU/cm²씩 인위적으로 접종하여 5가지의 발효돼지고기의 발효기간 중 미생물 증식에 관한 것을 나타낸 것으로 T3와 T4는 발효기간 28일 동안 10^3 CFU/cm² 이하의 아주 낮은 수를 나타내었다. 반면에 T5는 8일까지 10^5 CFU/cm²까지 증가한 후 감소하였다. T2와 T1은 13일과 3일째 각각 10^6 CFU/cm²까지 급격히 증가한 후 감소하였다. T2를 제외한 모든 구가 28일에는 접종 수준으로 낮아졌다.

Fig. 3은 식중독의 주요 원인 미생물인 *Sal. enteritidis*를 3.0×10^4 CFU/cm² 접종하여 5가지의 발효돼지고기의 발효기간 중 미생물 증식에 관한 것을 나타낸 것으로 13일까지는 모든 구가 점차적으로 증가하다가 18일에는 10^5 CFU/cm² 수준까지 도달한 이후 급격히 낮아져 23일 이후 접종 수준으로 낮아졌다. T2가 가장 높은 수준이었다.

요 약

이 연구는 한국 전통 양념을 이용한 발효 돼지고기가 병원성 미생물의 성장에 미치는 영향을 파악하기 위한 연구로 돼지고기의 바깥 불깃살을 채취하여 7×12×2 cm 크기로 자른 후 육을 동일한 비율의 양념액에 침지하여 병원성 미생물을 접종한 후 -1±1℃에서 28일간 발효숙성하면서 발효육(T1(마늘소스 돼지고기), T2(제육김치 돼지고기), T3(김치소스 돼지고기), T4(된장소스 돼지고기), T5(고추장소스 돼지고기)의 병원성 미생물의 성장 특성을 측정한 결과는 다음과 같다.

발효용 양념반죽과 원료 돼지고기 5종 모두에서 *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*은 발견되지 않았다. 1.5×10^3 CFU/cm² *E. coli* O-157를 인위적으로 접종 시 5가지 발효돼지고기 모두 접종 후 3일째 $10^3 \sim 10^4$ CFU/cm²까지 약간 증가한 후 감소하여 18일경 모두 접종 수준으로 낮아졌다. 8×10^4 CFU/cm² *Listeria monocytogenes*를 접종 시 T3와 T4는 28일 동안 10^3 CFU/cm² 이하의 아주 낮은 수를 나타낸 반면 T1과 T2는 10^6 CFU/cm²까지 증가한 후 10^4 CFU/cm² 이하로 감소하였다. 3×10^4 CFU/cm² *Salmonella enteritidis*를 접종 시 모든 구가 18일째 10^5 CFU/cm² 수준까지 증가한 이후 급격히 낮아져 23일 이후 접종 수준으로 낮아졌다. 향후 이들 전통 발효식품에서 병원성 미생물에 관여하는 균의 분리 기술에 관한 연구가 이루어져야 하겠으며 이러한 연구들의 축적으로 육가공 산업에 있어서 전통 장류를 이용한 제품화와 산업화에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 한국과학재단 지정 진주산업대학교 동물생명산업지역협력연구센터(과제번호: R12-2002-053-03003-0)의 연구비 일부 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

1. Chung, K. S., Yoon, K. D., Hong, S. S., and Kwan, D. J. (1996) Antimutagenic and anticarcinogenic effect of Korean fermented soybean products. Proceed. 1st Int. Symposium on functional and physiological activities of Korean traditional soybean fermented foods, KonKuk Univ. 3-24 (in Korean).
2. Crespo, F. L., Millian, R., and Serrani Moreno, A. (1978) Chemical changes during ripening of spanish dry sausage (Salchichon) III. Changes in water-soluble N compounds. *Archivos de Zootecnia*. **27**, 105-111.
3. Dierick, N., Vandekerckhove, P., and Demeyer, D. (1974) Changes in nonprotein nitrogen compounds during dry sausage ripening. *J. Food Sci.* **39**, 301-306.
4. Fu, A. H., Molins, R. A., and Sebranek, J. G. (1992) Storage quality characteristics of beef rib eye steaks packaged in modified atmospheres. *J. Food Sci.* **57**, 283-287.
5. Hur, Y. M. (1996) Inhibitory effects and antitumor of Korean cabbage Kimchi. *M.D. thesis*, Pusan National Univ. Pusan, Korea.
6. Jang, J. K. and Kim, J. K. (1984) Statistical analysis for the Relationship between Gas Chromatographic Profiles of Korean Ordinary Soybean paste Flavor and Sensory Evaluation. *Korean Soc. Microbio. Biotechnol.* **12**, 153-163.
7. Lee, K. H., Lee, M. S., and Park, S. H. (1976) Studies on the Microflora and Enzymes Influencing on Korea Native Kochuzang (Red Pepper Soybean Paste) Aging. *Korean Soc. Agri. Chem. Biotechnol.* **19**, 82-88.
8. National Veterinary Research and Quarantine Service (2000) Composition and processing criteria of animal products p.158-187, National Veterinary Research and Quarantine Service notice, 2000-6.
9. SAS (1999) SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute, Cary, NC, USA.
10. Whitaker, J. R. (1978) Biochemical changes occurring during the fermentation of high protein foods. *Food Technol.* **32**, 175-179.

(2003. 12. 15. 접수 ; 2004. 6. 2. 채택)