

## 수학적 정량평가모델을 이용한 게맛살 부패균의 성장 예측모델의 개발

문성양 · 백장미<sup>1</sup> · 신일식<sup>1,\*</sup>

(주)아워홈 식품연구원, <sup>1</sup>강릉대학교 해양생명공학부

### Development of Predictive Growth Model of Imitation Crab Sticks Putrefactive Bacteria Using Mathematical Quantitative Assessment Model

Sung Yang Moon, Jang Mi Paek<sup>1</sup>, and Il Shik Shin<sup>1,\*</sup>

Ourhome Co., Ltd. Food Research Institute Analysis and Inspection

<sup>1</sup>Faculty of Marine Bioscience & Tecnology, Kangnung National University

Predictive growth model of putrefactive bacteria of surimi-based imitation crab in the modified surimi-based imitation crab (MIC) broth was investigated. The growth curves of putrefactive bacteria were obtained by measuring cell number in MIC broth under different conditions (Initial cell number,  $1.0 \times 10^2$ ,  $1.0 \times 10^3$  and  $1.0 \times 10^4$  colony forming unit (CFU)/mL; temperature, 15°C, 20°C and 25°C) and applied them to Gompertz model. The microbial growth indicators, maximum specific growth rate constant ( $k$ ), lag time ( $LT$ ) and generation time ( $GT$ ), were calculated from Gompertz model. Maximum specific growth rate ( $k$ ) of putrefactive bacteria was become fast with rising temperature and fastest at 25°C.  $LT$  and  $GT$  were become short with rising temperature and shortest at 25°C. There were not significant differences in  $k$ ,  $LT$  and  $GT$  by initial cell number ( $p > 0.05$ ). Polynomial model,  $k = -0.2160 + 0.0241T - 0.0199A_0$ , and square root model,  $\sqrt{k} = 0.02669$  (T-3.5689), were developed to express the combination effects of temperature and initial cell number. The relative coefficient of experimental  $k$  and predicted  $k$  of polynomial model was 0.87 from response surface model. The relative coefficient of experimental  $k$  and predicted  $k$  of square root model was 0.88. From above results, we found that the growth of putrefactive bacteria was mainly affected by temperature and the square root model was more credible than the polynomial model for the prediction of the growth of putrefactive bacteria.

**Key words:** predictive growth model, putrefactive bacteria, polynomial model, square root model, maximum specific growth rate constant ( $k$ )

## 서 론

식품의 미생물학적 안전성을 확보하기 위해서 최근 또 하나의 새로운 흐름으로서 식품 중에서의 미생물의 증식, 생장 및 사멸을 수학 모델을 이용하여 정량적으로 해석, 예측하는 연구가 특히 구미에서 많이 이루어지고 있다(1-3). 이 새로운 연구 분야는 예측식품미생물학(Predictive food microbiology)이라고 불리며, 각종 조건 하에서 식품 중의 미생물의 거동을 예측할 수 있는 해석수단으로서의 가치가 인정되고 있다. 이 같은 예측식품미생물학의 발달과 함께 병원 및 병원미생물에 오염된 식품을 섭취하는 것에 의한 감염의 risk(위험도)를 정량적으로 평가하고자 하는 움직임이 구미 각 국에서 시작되어, FAO(Food

and Agricultural Organization)/WHO(World Health Organization) 합동의 CODEX 위원회(CODEX Alimentarius Commission)에서는 그 guideline을 작성한 바 있다(4).

예측미생물학은 품질보존의 측면에서 생선식품의 미생물에 의한 변패 예측과, 안전성의 측면에서 식중독균의 발육에 미치는 환경요인의 영향에 관한 2가지의 분야에 대하여 1960년 이후의 연구에 의하여 축적된 지식을 기초로 발전하여 왔다(5).

식품유래의 병원미생물에 의한 위해성을 정량화 하려는 연구로는 최근 국제적으로 식품 안전상 관심도가 높은 *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7의 3균종을 대상으로 보고되어 있다. *S. enteritidis*에 대하여 Whiting과 Buchanan(1)은 껍질을 제거한 저온살균 계란으로 마요네즈 가공시에 감염균의 위해성을 “The Unit Operation Approach method”에 의해 정량화 하였다. Miller 등(6)은 *L. monocytogenes*의 식품미생물학적 안전기준치를 미생물학적 위해성 평가모델을 작성하여 해석하였다. 또한, Marks 등(7)은 마쇄 쇠고기의 생산에서 소비에 이르기까지의 *Escherichia coli* O157:H7의 전체적인 위해성에 대하여 정량적인 위해성 모델을 개발하였다.

\*Corresponding author: Il-Shik Shin, Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, 120 Gangnung daehangno, Gangnung, Gangwon 210-702, Korea  
Tel: 82-33-640-2346  
Fax: 82-33-640-2346  
E-mail: shinis@kangnung.ac.kr

더욱이 Brown 등(8)은 계육제품에 의한 *Salmonella* 감염증에 대하여 컴퓨터 그래픽으로 표현할 수 있는 정량적 평가모델을 개발하였다. 이는 미생물학적 위해성을 평가하는 종합적인 전문 프로그램으로서는 최초라 할 수 있다.

국내의 경우 수산식품에 있어서 특정균을 배지에 접종하고 온도, pH, 수분활성 등 일정한 조건하에서 경시적으로 생균수를 측정하고, 그것을 수학적으로 취급하기 쉬운 형태(일반적으로 대수)로 변환한 값을 시간에 대하여 plot한 1차 모델(예, 미생물의 열사멸곡선, 발육곡선)과 온도 등 발육에 영향을 미치는 요인의 값을 변화시킨 경우, 1차 모델식의 parameter의 변화를 모델화한 2차 모델(반응속도정수와 온도와의 관계를 나타내는 Arrhenius식, 열사멸곡선으로부터 얻어지는 D-value(또는 F-value)와 가열온도와의 관계 등)은 있지만, 부패미생물을 대상으로 각 요인의 어느 범위 내에서의 각각의 값에 대응하는 균의 정량적 정보를 예측할 수 있는 수학적 정량평가모델의 개발에 관한 연구는 김밥의 병원성 미생물에 대한 위해도 평가 모델을 개발한 연구(9,10)와 본 연구자들의 대표적 수산식품 식중독 세균인 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Listeria monocytogenes* 균의 성장변화를 정량적으로 예측하는 수학적 모델의 개발을 보고한 연구(11,12)외에는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 전보(11,12)에 이어 국내 어육연제품의 총생산량(2003년 91,121톤) 중 약 40%(36,263톤)를 차지하는 게맛살에서 부패균을 분리하고 온도와 초기균수에 따른 성장을 수학적 모델을 통하여 정량화함으로써 게맛살 부패균의 성장을 예측하여 유통기한 설정을 위한 기초자료를 제공하고 자 성장예측모델을 개발하였다.

## 재료 및 방법

### 부패균의 분리

시내에서 구입한 게맛살 제품을 25°C incubator에서 5일간 방치한 후 균질화한 현탁액 100 µL를 도말 평판법으로 Brain heart infusion(BHI, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) agar plate에 도말한 후, 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 평판 상에 나타난 colony를 외형적인 특징별로 계수하고 검출 빈도가 높고, colony의 특징이 뚜렷한 두 종류의 colony를 순수 분리하여 게맛살의 주 부패균으로 선정하였다. 분리한 부패균은 검출 비율에 따라 혼합한 후, Modified imitation crab(MIC) broth(9,10)에 24시간 이상 배양하였다. 배양액은 15%의 glycerol을 첨가하여 2 mL의 vial tube에 분주하고 -80°C에서 동결 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 부패균의 동정

분리 균주를 BHI broth에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후, hanging drop method로 운동성을 관찰하였고, Gram stain으로 균의 형태 및 Gram 염색성을 관찰하였으며, spore stain(malachite green 용액을 가하여 60초간 증탕)으로 포자 형성 유무를 관찰하였다. 또한, 균의 생리 화학적 특성을 규명하기 위하여, Catalase 시험, Indole 생성능, ONPG, gelatin 액화성, V-P reaction, Arginine dihydrolase 생성 여부와 당의 이용에 관한 시험을 API 50CHB(Bio merieux, France)로 실시하였고, 그 결과는 APILAB software(V4.0)로 판정하여 균을 동정하였다.

### 부패균의 성장 측정

온도, 초기균수가 균의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하

여 동결 보존한 균주를 45°C water bath에서 급속 해동한 후, 미리 준비한 멸균 MIC broth 50 mL에 접종하고 37°C incubator(Sanyo Co., Japan)에서 24시간 전 배양 하였다. 전 배양한 균주를 200 mL의 MIC broth에 초기 균수가  $1.0 \times 10^2$ ,  $1.0 \times 10^3$ ,  $1.0 \times 10^4$  CFU/mL가 되도록 접종하고 온도 15, 20, 25°C에서 각각 배양하였다. 각 실험구별 시간의 경과에 따른 균의 성장은 일정시간 간격으로 Plate count agar(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 사용하여 표준평판배양법(13)으로 생균수를 측정하여 나타내었다.

### Gompertz model의 적용

균의 sigmoid한 형태의 성장을 표현하기 위해 사용하는 연속함수의 대표적인 식으로는 Gompertz model과 Logistic model이 있다(14). 현재 실용화되어 있는 Food Micromodel과 Pathogen Modeling Program의 경우 Gompertz가 1825년에 인구동태의 조사결과를 경험식으로서 제시한 Gompertz model(식 (1), (15))을 사용하고 있으며, 본 연구에서도 Gompertz model을 이용, 1회의 배양실험에서 시간의 경과에 따른 12-16개의 생균수 값을 구하였고, 3회 반복 실험을 실시하였다. 이 실험 결과치를 Gompertz model에 대입하여 균의 증식을 대표하는 균의 생육 지표로서 최대증식속도상수( $k$ ), 유도기(Lag time,  $LT$ ), 세대시간(Generation time,  $GT$ )을 도출하였다.

$$\text{Log}(Nt) = A + C \cdot \exp(-\exp(-B(t - M))) \quad (1)$$

t: 배양시간(hr)

N(t): 배양시간에 따른 균수(CFU/mL)

A: 초기 균수의 log 값(CFU/mL)

C: 균수 증가량의 log 값 (CFU/mL)

M: 발육속도가 최대가 되는 시점의 시간

B: 시간 M에서의 발육 속도(최대 발육 속도)

$k \text{ (hr}^{-1}\text{)} = BC/e$

$LT \text{ (hr)} = M - (1/B)$

$GT \text{ (hr)} = (\log 2) e/BC$

도출된 최대증식속도상수( $k$ ), 유도기( $LT$ ), 세대시간( $GT$ )에 미치는 초기균수와 온도의 영향을 각각 One-way ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test(16)로 처리, 평균값 간의 유의성( $p < 0.05$ )을 SPSS(SPSS Inc., 2000) program(Ver. 10.0)으로 검정하였다.

### Parameter들의 결정과 정량 평가 모델의 개발

최대증식속도상수( $k$ )와 온도 및 초기균수와의 상관관계를 규명하기 위하여, 온도 15, 20, 25°C와 초기균수  $1.0 \times 10^2$ ,  $1.0 \times 10^3$ ,  $1.0 \times 10^4$  CFU/mL의 조건에서 Gompertz model로부터 구한 최대증식속도상수( $k$ )를 수학적 정량평가모델인 polynomial model(식 (2))과 square root model(식 (3))에 각각 적용하고(9,10), SPSS(SPSS Inc., 2000) program(Ver. 10.0)으로 각 식의 parameter를 결정한 후, Sigma Plot(SPSS Inc., version 7.0)으로 도식화 하였으며 각 배양 조건을 대입하여 실제 실험으로부터 구한 최대증식속도상수( $k$ )와 모델식으로부터 구한 최대증식속도상수( $k$ )와의 상관관계를 비교하였다.

$$k = a + bT + cA_0 \quad (2)$$

$$\sqrt{k} = b (T - T_{min}) \quad (3)$$

**부패균의 성장 예측**

MIC broth에서 온도와 초기균수에 따른 부패균의 최대증식속도상수(*k*)를 예측할 수 있는 정량평가모델을 polynomial model과 square root model을 이용하여 개발하였으며, 개발된 정량평가모델에 의하여 예측된 최대증식속도상수(*k*)를 이용하여 온도와 초기균수의 변화에 따른 부패균의 성장을 Gompertz model로 예측하여 증식곡선으로 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**부패균의 분리 및 생화학적 특성**

게맛살의 주 부패세균은 colony의 특징 별로 두 group(A, B)으로 나눌 수 있었으며, 그 점유 비율은 각각 60%와 34%였다. 분리균주의 동정을 위하여 gram stain, motility test, spore stain, catalase, ONPG 및 생화학적 특성을 관찰하였으며 Table 1에 나타내었다. A, B 균주 모두 gram positive, 간균으로 포자를 형성하였으며, B 균주는 점질물을 생산하였다. API kit 50CHB로 균을 동정한 결과, 게맛살의 주 부패세균인 A 균주는 내열성 포자를 형성하는 *Bacillus subtilis*로, B 균주는 탄소 원료로서 당을 분해하여 exopolysaccharide(EPS)를 생산하는 *Bacillus licheniformis*로 동정되었다.

**초기균수와 배양온도에 따른 균의 생육 지표치의 변화**

초기균수와 배양온도가 부패세균의 최대증식속도상수(*k*)에 미치는 영향을 알아보기 위하여 각각 다른 초기균수와 배양온도에서 측정된 최대증식속도상수(*k*)를 Table 2에 나타내었다. 최대증식속도상수는 온도가 높아질수록 값이 증가하여 25°C에서

**Table 1. Characteristics of putrefactive bacteria isolated from imitation crab sticks**

	strain A	<i>B. subtilis</i>	strain B	<i>B. licheniformis</i>
Gram stain	+	+	+	+
Form	rod	rod	rod	rod
Spore	+	+	+	+
Motility	+	+	+	+
rope	-	-	+	+
Catalase	+	+	+	+
ONPG	+	+	+	+
Indole	-	-	-	-
V-P	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	-	-	+	+
Gelatinase production	+	+	+	+

**Table 2. Effects of initial cell number and temperature on maximum specific growth rate constant (*k*) of putrefactive bacteria<sup>1</sup>**

Initial cell number (CFU/mL)	<i>k</i> (hr <sup>-1</sup> )		
	15°C	20°C	25°C
1.0 × 10 <sup>2</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.02	0.38 ± 0.06
1.0 × 10 <sup>3</sup>	0.09 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.19 ± 0.02	0.33 ± 0.06
1.0 × 10 <sup>4</sup>	0.10 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.03	0.31 ± 0.04

<sup>1</sup>Values (mean ± S.E. of 3 times replication) in same column not sharing a common superscript are significantly different (*p* < 0.05).

최대값을 나타내었다. 또한, 동일 온도조건 하에서 초기균수에 따른 최대증식속도상수(*k*)는 15°C에서 초기균수가 1.0 × 10<sup>3</sup> CFU/mL일 때 0.09로 가장 낮게 나타났으며, 20°C와 25°C에서는 유의적인 차이가 없었다(*p* > 0.05).

부패세균의 유도기(*LT*)에 미치는 초기균수와 배양온도의 영향을 알아보기 위하여 각각 다른 초기균수와 배양온도에서 부패세균을 배양하여, Gompertz model로부터 유도기(*LT*)를 구하였다(Table 3). 온도가 높아질수록 유도기는 짧아졌으며, 15°C의 경우, 초기균수가 1.0 × 10<sup>4</sup> CFU/mL일 때 가장 긴 유도기를 나타내었으나, 20°C와 25°C에서는 초기균수에 따른 유도기(*LT*)의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 세균의 유도기(*LT*)는 복합적인 환경요인(온도, pH, Aw, 보존료 등)에 영향을 받으며, 특히 온도에 많은 영향을 받는 것으로 보고(17-20)한 결과들과 유사한 경향을 나타내었으며, 온도와 유도기의 관계를 지수함수 형태로 나타낸 결과, 유도기가 온도와 밀접한 관계를 가지고 있음을 알 수 있었다(Fig. 1).

세대시간(*GT*)의 경우도 유도기(*LT*)와 마찬가지로 온도가 높을수록 세대시간(*GT*)은 짧아져 37°C에서 가장 짧은 세대시간을 나타내었으며, 초기균수에 따른 유의적인 차이는 없었다(Table 4). 즉 유도기(*LT*), 세대시간(*GT*) 모두 최대증식속도상수(*k*)와 같이 온도의 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.

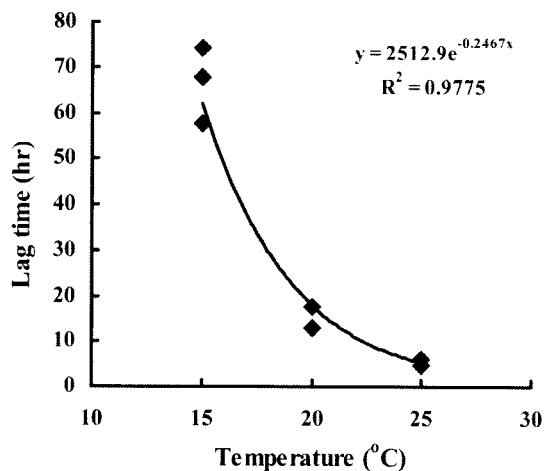
**온도의 변화에 따른 최대증식속도상수(*k*)의 정량평가모델**

온도와 초기균수에 따른 부패세균의 성장을 정량적으로 예측하기 위하여 square root model과 polynomial model을 이용하였다. 온도와 초기균수의 복합적인 영향을 표현하기 위해서는 식 (2)와 같은 polynomial model을 통하여 모델화하였다.

**Table 3. Effects of initial cell number and temperature on lag time of putrefactive bacteria**

Initial cell number (CFU/mL)	Lag time (hr)		
	15°C	20°C	25°C
1.0 × 10 <sup>2</sup>	60.43 ± 6.94 <sup>a</sup>	19.28 ± 4.07	6.36 ± 0.74
1.0 × 10 <sup>3</sup>	69.12 ± 11.07 <sup>ab</sup>	15.42 ± 6.20	5.38 ± 0.94
1.0 × 10 <sup>4</sup>	72.05 ± 11.46 <sup>b</sup>	12.43 ± 3.93	6.03 ± 1.83

Values (mean ± S.E. of 3 times replication) in same column not sharing a common superscript are significantly different (*p* < 0.05).



**Fig. 1. Effects of temperature and initial cell number on lag time of putrefactive bacteria.**

**Table 4. Effects of initial cell number and temperature on generation time of putrefactive bacteria**

Initial cell number (CFU/mL)	Generation time (hr)		
	15°C	20°C	25°C
$1.0 \times 10^2$	$2.53 \pm 0.34^a$	$1.60 \pm 0.16^a$	$0.82 \pm 0.12$
$1.0 \times 10^3$	$3.49 \pm 0.43^{ab}$	$1.60 \pm 0.18^a$	$0.95 \pm 0.21$
$1.0 \times 10^4$	$3.13 \pm 0.79^b$	$1.96 \pm 0.32^b$	$0.97 \pm 0.11$

Values (mean ± S.E. of 3 times replication) in same column not sharing a common superscript are significantly different ( $p < 0.05$ ).

식 (2)에서 a, b, c는 각 항의 상수이며, T는 온도(°C),  $A_0$ 는 초기균수를 나타낸다. 식 (2)에 해당하는 각 parameter 값과 통계적 분석치를 Table 5에 나타내었으며, 식 (4)와 같은 온도와 초기균수에 관한 polynomial model을 개발하였다.

$$k = -0.2160 + 0.0241 \cdot T - 0.0199 \cdot A_0 \quad (4)$$

한편, Table 2에 나타난 바와 같이 초기균수에 따른 최대증식속도상수(k)의 유의적인 차이는 없었으므로( $p > 0.05$ ), Ratkowsky 등(21), Zwietering 등(22,23)이 정의한 초기균수를 고려하지 않은 온도와 최대증식속도상수(k)간의 상호작용을 표현하는 2차 모델인 square root model(식 (3))을 사용하여 식 (5)와 같이 정량화 하였으며 통계적 분석치를 Table 5에 나타내었다.

*B. subtilis*와 *B. licheniformis* 두 균주를 혼합한 배양액에서 square root model에 의한 25°C에서의 최대증식속도상수(k)의 값은  $0.33 \text{ hr}^{-1}$ 으로, 이는 Ratkowsky 등(15)이 전체 생육가능 온도 범위에서 미생물 배양의 증식속도 모델에서 보고한 *B. subtilis*의 최대증식속도상수(k)와 비슷한 결과이며, *B. subtilis*와 *B. licheniformis* 두 균주를 혼합하여도 최대증식속도상수(k)에는 거의 영향이 없는 것으로 나타났다.

$$\sqrt{k} = 0.0267 (T - 3.5089) \quad (5)$$

**정량평가모델로부터 구한 최대증식속도상수(k)의 예측치와 실험치의 비교**

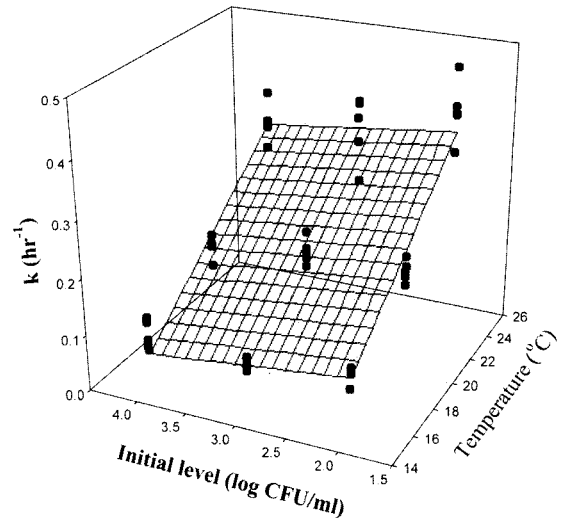
Polynomial model(식 (4))로부터 구한 부패세균의 최대증식속도상수(k)의 예측치와 실험치를 비교한 결과를 곡면응답 모델로 나타내었다(Fig. 2). 각 초기균수 조건에서 실험치와 예측치의 상관계수는 0.87로 나타났다.

한편, 초기균수를 고려하지 않고 온도만을 변수로 한 square root model의 확장된 형태인 식 (5)로부터 구한 최대증식속도상수(k)의 예측치와 실험치를 비교한 결과는 Fig. 3과 같으며 실험치와 예측치의 상관계수는 0.88로 polynomial model(식 (3))보다 약간 높은 상관관계를 나타내었다.

**Table 5. Parameters of square root model and polynomial model for prediction of the maximum specific growth rate (k) of putrefactive bacteria**

		Statistical analysis					$R^2$
		Coefficient	S. E.	t-value	P	S. E. of Estimate	
Square root model	$T_{min}$	3.5089	0.9502	3.6929	0.0006	0.0409	0.881
	b	0.0267	0.0015	17.894	<0.0001		
Polynomial model	a	-0.2160	0.0377	-5.7351	<0.0001	0.0407	0.870
	b	0.0241	0.0015	16.236	<0.0001		
	c	-0.0199	0.0074	-2.6712	0.0107		

$A_0$ : initial cell number (log CFU/mL).



**Fig. 2. Comparison of experimental k and predictive k by the response surface model of putrefactive bacteria at different culture conditions.**

●: experimental k, ■: predictive k.

이러한 결과는 Giffel과 Zwietering(24)이 square root model, square root model의 확장모델, modified Arrhenius model, polynomial model 등 4가지 형태의 실험치와 예측치 사이의 상관관계를 비교하였을 때, square root model이 보다 높은 상관관계를 나타내었다고 보고한 결과와 일치하는 것이며, *Vibrio parahaemolyticus*와 *Listeria monocytogenes*의 성장예측모델을 보고한 전보(11,12)와 같은 결과이다.

**2차 모델식과 Gompertz model에 의한 부패세균의 성장 예측**

서로 다른 온도, 초기균수 조건하에서 polynomial model과 square root model로 예측한 최대증식속도상수(k)를 균의 성장곡선을 표현하는 Gompertz model에 적용함으로써 각 조건에서 Gompertz model에 의한 균의 성장을 예측할 수 있었다.

초기균수  $1.0 \times 10^3$  CFU/mL, 온도 20°C에서의 반복실험을 통한 성장곡선(실험치)과, 같은 조건에서의 polynomial model과 square root model에 의한 예측 성장곡선(예측치)을 비교한 결과 직접적인 실험결과에 의한 균의 성장과 정량평가모델을 이용하여 예측한 균의 성장은 잘 일치하는 것으로 나타났다(Fig. 4).

*B. licheniformis*는 glucose, fructose 또는 sucrose를 분해하여 대수 증식기의 중간지점에서 가장 많은 양의 EPS를 생산하며(25), Carr 등(26)은 *B. licheniformis*와 특정 lactic acid bacteria에 의해 생성된 EPS는 맥주나, 와인에 로프 현상을 일으켜

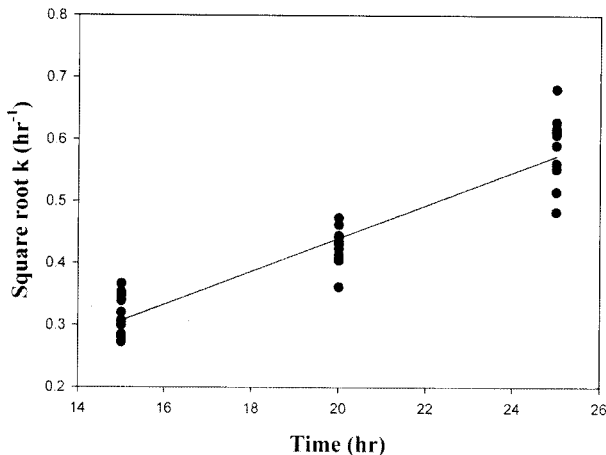


Fig. 3. Comparison of experimental  $\sqrt{k}$  and predictive  $\sqrt{k}$  by square root model of putrefactive bacteria at different culture conditions.

●: experimental  $\sqrt{k}$ , —: predictive  $\sqrt{k}$ .

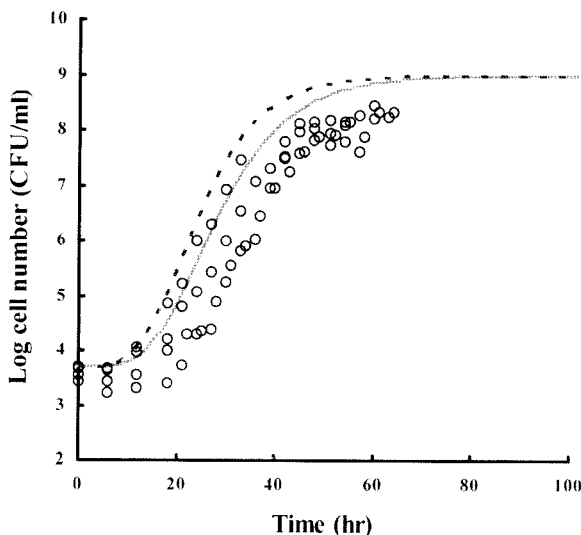


Fig. 4. Predictive growth curves of putrefactive bacteria by Gompertz model at initial cell number of  $1.0 \times 10^3$  CFU/mL, 20°C and pH 7.

○: experimental data, ----: growth curve by square root model, —: growth curve by polynomial model.

품질의 저하를 야기시킨다고 보고하였다. *B. subtilis*는 내열성 포자를 형성하여 일반적인 가열에 의한 식품에서 살아남은 포자에 의해 증식이 일어날 수 있으며, Spilimbergo 등(27)은 초임계 CO<sub>2</sub>를 이용해 60°C 90 bar에서 2시간 처리하면 완전히 포자를 불활성화 할 수 있다고 보고한 바 있으나, 게맛살 가공 공정상에서 *Bacillus*속의 완전한 사멸은 어려운 것으로 판단된다. 따라서 게맛살 제품 내에 존재하는 *B. subtilis*, *B. licheniformis*의 환경 요인에 따른 성장 예측을 통하여 제품의 유통기한 설정이나 위해도 평가를 위한 기초 자료로서 본 연구의 결과를 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

게맛살로부터 분리한 주요 부패세균은 내열성 포자를 형성하는 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis*로 동정되었다. 게

맛살의 제조 공정상 가열 처리 과정에서 *B. subtilis*와 *B. licheniformis* 등 내열성 포자를 형성하는 균을 완전히 사멸시키는 것은 어려우며, 살아남은 포자는 유통과정 중, 적정 온도와 시간이 경과함에 따라, 영양 세포로 발아하여 게맛살의 부패에 영향을 미친다. 이러한 부패세균의 증식에 있어서 초기균수와 온도의 영향을 조사한 결과, 초기균수에 따른 최대증식속도상수( $k$ )와 유도기( $LT$ ), 세대시간( $GT$ )은 유의적인 차이가 없었으며, 온도의 영향이 지배적인 것으로 나타났다. 또한 본 실험에서 유도기( $LT$ )와 온도의 관계는  $L(hr) = 2.5219e^{-0.2467 \cdot T}$ 의 관계가 성립하며, square root model과 polynomial model을 이용, 온도와 초기균수에 대한 최대증식속도상수( $k$ )를 정량화한 정량평가모델을 개발하였으며, 그 식은 다음과 같다.

Square root model:  $\sqrt{k} = 0.0267 (T-3.5089)$

Polynomial model:  $k = -0.2160 + 0.0241T - 0.0199A_0$

온도와 초기균수에 대한 최대증식속도상수( $k$ )의 정량평가모델로부터 특정온도와 초기 균수에서 최대증식속도상수( $k$ )를 계산할 수 있으며, 계산된 최대증식속도상수( $k$ )를 균의 기본 증식모델인 Gompertz model에 적용하여 균의 성장을 예측할 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 2000년도 수산특정연구개발사업의 일환으로 해양수산부의 연구비 지원에 의해 수행된 연구 결과이며, 이에 깊이 감사드립니다.

## 문 헌

- Whiting RC, Buchanan RL. Development of a quantitative model for *Salmonella enteritidis* in pasteurized liquid egg. *Int. J. Food Microbiol.* 36: 111-125 (1997)
- Hathaway SC, Roger LC. A regulatory perspective on the potential use of microbial risk assessment in international trade. *Int. J. Food Microbiol.* 36: 127-133 (1997)
- Dalgaard P, Jorgensen LV. predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold-smoked salmon. *Int. J. Food Microbiol.* 40: 105-115 (1998)
- CAC (Codex Alimentarius Commission). Draft principles and guidelines for conduct of microbiological risk assessment. CAC/GL-30, FAO Rome, Italy (1999)
- Faber JM. Predictive modelling of food deterioration and safety, pp 57-90. In: Food-borne microorganisms and their toxin. Pierson MD and Stem NJ (eds). Marcel Dekker, New York, NY, USA (1996)
- Miller AJ, Whiting RC, Smith JL. Use of risk assessment to reduce listeriosis incidence. *Food Technol.* 51: 100-103 (1997)
- Marks HM, Colemann ME, Lin CTJ, Roberts T. Topics microbial risk assessment: Dtnamic flow tree process. *Risk Anal.* 18: 309-328 (1998)
- Brown MH, Davies KW, Bifton CMP, Adair C, McClure PJ. Quantitative microbiological risk assessment: Principles applied to determining the comparative risk of Salmonellosis from chicken products. *J. Food Protec.* 61: 1446-1453 (1998)
- Park SY, Choi JW, Yeon JH, Lee MJ, Oh DH, Hong CH, Bahk GJ, Woo GJ, Park JS, Ha SD. Assessment of contamination level of foodborne pathogens in the main ingredients of *Kimbab* during the preparing process. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 122-128 (2005)
- Bahk GJ, Oh DH, Ha SD, Par KH, Joung MS, Chun SJ, Park JS, Woo GJ, Hong CH. Quantitative microbial risk assessment model for *Staphylococcus aureus* in kimbab. *Korean J. Food Sci. Tech-*

- nol. 37: 484-491 (2005)
11. Moon SY, Chang TE, Woo GJ, Shin IS. Development of predictive growth model *Vibrio parahaemolyticus* using mathematical quantitative model. Korean J. Food Sci. Tech. 36: 349-354 (2004)
  12. Moon SY, Woo GJ, Shin IS. Development of predictive growth model *Listeria monocytogenes* using mathematical quantitative model. Korean J. Food Sci. Tech. 37: 194-198 (2005)
  13. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. Method 940.36. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (2000)
  14. Whiting RC. Microbial database building: What have we learned? Food Technol. 51: 82-84 (1997)
  15. Ratkowsky DA, Ross T. Modelling the bacterial growth/no growth interface. Lett. Appl. Microbiol. 20: 29-33 (1995)
  16. Dunacn DB. Multiple-range and multiple F test. Biometrics, 11: 1-42 (1955)
  17. Zwietering MH, Cuppers HGAH, de Wit, JC, Van 'T Riet, K. Evaluation of data transformations and validation of a model for the effect of temperature on bacterial growth. Appl. Environ. Microbiol. 60: 195-203 (1994)
  18. Buchanan R L, Phillips JG. Response surface model for predicting the effects of temperature, pH, sodium chloride content, sodium nitrite concentration and atmosphere on the growth of *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 53: 370-376 (1990)
  19. Baranyi J, Roberts TA. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. Int. J. Food Microbiol. 26: 199-218 (1995)
  20. Augustin JC, Vincent C. Modelling the growth rate of *Listeria monocytogenes* with a multiplicative type model including interactions between environmental factors. Int. J. Food Microbiol. 56: 53-70 (2000)
  21. Ratkowsky DA, Lowry RK, Mcmeekin TA, Stokes AN, Chandler RE. Model for bacterial culture growth rate through the entire biokinetic temperature range. J. Bacteriol. 154: 1222-1226 (1983)
  22. Zwietering MH, de Koos JT, Hasenack BE, de Wit, JC, van 'T Riet K. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. Appl. Environ. Microbiol. 57: 1094-1101 (1991)
  23. Zwietering MH, Cuppers HGAH, de Wit, JC, van 'T Riet, K. Evaluation of data transformations and validation of a model for the effect of temperature on bacterial growth. Appl. Environ. Microbiol. 60: 195-203 (1994)
  24. Giffel MC, Zwietering MH. Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 46: 135-149 (1999)
  25. Larpin S, Sauvageot N, Pichereau V, Laplace JM, Auffray Y. Biosynthesis of exopolysaccharide by a *Bacillus licheniformis* strain isolated from ropy cider. Int. J. Food Microbiol. 77: 1-9 (2002)
  26. Carr JG, Norris JR, Pettipher GL, Wiley J. Essays in Agricultural and Food Microbiology. London, UK. pp. 291-307 (1897)
  27. Spilimbergo S, Bertucco A, Lauro FM, Bertoloni G. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by supercritical CO<sub>2</sub> treatment. Innovative Food Sci. Emerging Technol. 4: 161-165 (2003)

---

(2005년 8월 23일 접수; 2005년 10월 4일 채택)