



## 예측미생물학을 활용한 미강 식이섬유 함유 떡갈비의 유통기한 설정

허찬 · 김현욱 · 최윤상 · 김천제 · 백현동\*

건국대학교 동물생명과학부

### Application of Predictive Microbiology for Shelf-life Estimation of Tteokgalbi Containing Dietary Fiber from Rice Bran

Chan Heo, Hyoun Wook Kim, Yun-Sang Choi, Cheon-Jei Kim, and Hyun-Dong Paik\*

Division of Animal Life Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

#### Abstract

The objective of this study is to estimate the shelf-life of Tteokgalbi containing dietary fiber extracted from rice bran by using the predictive microbiology. This Tteokgalbi was made with 0%, 1%, 2%, and 3% dietary fiber. The number of total viable cells, anaerobic, psychrotrophic, and heat-stable bacteria and coliforms was calculated during 15 days of storage under  $4\pm 1^\circ\text{C}$  and the obtained data was applied to Baranyi function. The evaluation of fitness between predicted and observed data showed that these were matched in a satisfactory way. Heat-stable bacteria was detected lower than  $<1 \log \text{CFU/g}$  and coliforms were not detected during the storage. The changes of total viable cells and psychrotrophic bacteria in Tteokgalbi were increased gradually, but dramatically increased after 3 days of storage. The models of total viable cells and anaerobic bacteria showed very similar growth trends and values of growth parameters each other. The estimated shelf-life of each Tteokgalbi was calculated from the predictive model of total viable cells and the estimated shelf-life was 1.7, 2.3, 2.3, and 2.4 days, respectively. The results suggested that the prediction of bacteria growth could be used to evaluate the microbiological safety and determine the shelf-life of Tteokgalbi as ready-to-eat food in the local market.

**Key words:** Tteokgalbi, predictive microbiology, Baranyi function, dietary fiber, shelf-life

#### 서론

최근 국민 생활수준의 향상으로 인하여 사회 구조가 다양해지고 복잡해짐에 따라 식생활이 변화하면서 간편성을 추구할 수 있는 김밥, 샌드위치 등과 같은 즉석섭취식품(ready-to-eat food)의 수요가 점차 증가하고 있으며(Koo *et al.*, 2007), 즉석 소시지, 떡갈비, 양념육과 같은 식육제품도 일반 편의점 또는 대형 마트에서 어렵지 않게 찾아볼 수 있다. 하지만 영양소의 공급뿐만 아니라, 식품의 품질에 대한 욕구가 높아짐에 따라 비만, 고혈압, 암과 관상동맥 질환 등을 발생시키는 고지방 육제품에 대한 소비자들의 반응이 민감하기 시작하였다(Chin *et al.*, 2005). 한편 육류 섭취량이 증가하고 영양소의 과잉섭취로 인한 성인병 발생이 높아지는 추세에서 식이섬유는 기능성 식품으

로 그 중요성이 한층 고조되고 있다(Korean Food Industrial Association, 1997; Choi and Chin, 2002).

기능성 소재 중에서 식이섬유는 생리 기능적 측면에서 중요하게 평가받고 있으며 생리활성 인자로서 뿐만 아니라 영양학적으로 중요하게 평가되어지고 있다(Choi *et al.*, 2008). 미강의 주요 성분인 식이섬유는 인체 내 소화효소로는 분해될 수 없는 비소화성 물질로서, cellulose, hemicellulose, lignin, pectin, gum 등을 함유하고 있다(Lee and Shin, 2006). 고지방 식육제품의 문제점을 해결하기 위해 육제품에 지방 대체제로서 식이섬유를 첨가함으로써 지방 함유량을 낮추고, 지방의 과다섭취로 인해 발생하는 질환에 대한 소비자들의 우려를 해소할 수 있다(Chin, 2002).

이처럼 즉석섭취식품(ready-to-eat food) 시장이 확대와 기능성 소재를 이용한 식품의 수요가 증가하고 있다. 하지만 식품의 다양성의 증가와 동시에 육류 및 육제품의 처리·제조에 있어서 위생 안전성 확보가 필수적이며(Lee *et al.*, 2005), 식품의 개발·변화 속도가 점차 증가하고 있는 만큼 포장, 보존, 제조방법, 원료 등의 제품 특성에

\*Corresponding author : Hyun-Dong Paik, Division of Animal Life Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-2-2049-6011, Fax: 82-2-455-3082, E-mail: hdpaik@konkuk.ac.kr

맞는 좀 더 과학적인 유통기간의 정립의 필요성이 대두되고 있다. 우리나라 식품공전에는 ‘유통기간이라 함은 소비자에게 판매가 가능한 기간’으로 정의하고 있고, 제품의 특성에 따라 설정한 기간 내에서 식품기업이 유통기간을 자율적으로 정하도록 하고 있다(Korean Food and Drug Administration, 2008). 하지만 전면 개정된 식품공전 상에도 유통기간과 유통기한의 정의를 정확히 하지 않고 있다. 이런 이유로 인해 소비자, 유통업자 등의 입장이나 견해에 따라 달라지고 이로 인해 유통기한 측정결과도 달라지는 경우가 많다(Hwang, 2006). 현재까지 유통기한의 설정은 제조업체의 자율에 따라 결정되고 있지만 2007년 4월 5일 식품의약품안전청은 유통기한 설정사유서를 작성함에 있어 식품의 유통기한을 과학적이고 합리적으로 설정하는데 필요한 세부기준을 마련하여 입안예고 하였고, 2007년 10월 2일 식품의약품안전청 고시 “제2007-66호”에서 이와 같은 사항을 제정 고시하였다. 제정 고시된 “식품의 유통기한 설정 기준”에는 지표 실험으로서 이화학적, 미생물학적, 관능적 지표로 구분하고 있으며 식품의 특성에 따라 선정하여야 함을 명시하고 있다.

현재 식육 판매업소와 농장에서의 HACCP 기준 적용이 보급되고 있지만, 지난 20년간 국내·외 학회지와 관련 기관의 연구보고서를 기준으로 하여 우리나라의 식중독 발생 현황을 분석한 결과, 매년 식중독이 지속적으로 꾸준히 발생하며, 그 규모도 점차 집단화, 대형화되고 있다고 발표되었고, 그 중 식중독의 발생 주요 원인으로 육류 및 그 가공품, 어패류 및 가공품, 복합조리식품을 들 수 있는데, 이들은 사건 수나 환자 수에 있어서 계속적으로 증가하고 있는 실정이다(Park et al., 2001).

식품의 미생물학적 안전성을 확보하기 위해서 최근 또 하나의 새로운 흐름으로서 식품 중에서 미생물의 증식, 생장 및 사멸을 수학적 모델을 이용하여 정량적으로 해석·예측하는 연구가 전 세계적으로 많이 이루어지고 있다(Whiting et al., 1997; Hathaway et al., 1997; Dalgaard et al., 1998). 이를 예측미생물학(predictive microbiology)이라고 하며 각 조건 하에서 식품 중의 미생물의 증식을 예측할 수 있는 해석 수단으로서의 가치가 인정되고 있다(Moon et al., 2005). 이런 예측미생물학을 이용하여 즉석섭취식품 중의 하나인 김밥의 유통기한 설정 및 연장과 관련된 연구로 황색포도상구균을 대상으로 정량적 미생물 위해평가(quantitative microbial risk assessment, QMRA) 모델을 개발하였으며(Park, et al., 2005), Food MicroModel을 활용하여 김밥 중 황색포도상구균으로 인한 독소형 식중독이 발생하지 않을 농도를 기준으로, 유효 기간을 산정하였다(Lee et al., 2004).

따라서 본 연구에서는 다양한 수준(0, 1, 2, 3%)의 미강 추출 식이섬유 혼합물을 첨가하여 개발된 떡갈비의 미생물학적 안전성 확보를 위하여 일반세균수, 혐기성균, 저온

균, 고온균, 대장균군을 측정하였다. 이중 유통기한 설정의 지표실험 중 하나인 일반세균수를 예측미생물학에 적용하였으며, 이를 바탕으로 상업적으로 이용 가능한 떡갈비의 유통기한을 설정하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 미강 추출 식이섬유 혼합물의 제조

미강 추출 식이섬유 혼합물의 제조는 Kim 등(1997)에 의한 방법으로 하였다. 도정 직후에 신선한 미강(식이섬유 28.32%, 단백질 12.39%, 지방 20.36%, 수분 12.18%, 회분 8.79%)을 수거하여 미강의 안정화를 위하여 볶음기(TCR-500E, Lucky E&G, Korea)를 이용하였다. 120°C, 20분간 열처리한 후 미강 중량의 4배(v/w)에 해당하는 hexane을 가한 후 진탕기에서 24시간 동안 진탕, 여과하여 미강 내의 지방을 제거하였다. 탈지된 미강은 상온에서 건조한 후 미강 추출 식이섬유 혼합물 제조를 위한 시료로 사용하였다. 탈지 후 건조한 미강시료 150 g에 0.6% termamyl(type LS, Novozymes, Denmark) 1 L를 가하여 95°C에서 계속적으로 진탕하면서 1시간 동안 반응시킨 후 가제를 사용하여 여과한 다음 잔사를 4배(v/w)의 열수로 3회 수세하였다. 수세한 잔사를 실온으로 냉각 후 4배(v/w)의 무수 에탄올을 가하여 여과하고 잔사를 압착한 후 50°C의 열풍건조기(Enex-Co-600, Enex, Korea)에서 24시간 건조한 다음 분쇄하여 5°C 냉장고에 보관하면서 사용하였다. 제조된 미강 추출 식이섬유 혼합물의 일반성분은 식이섬유 53.27%, 단백질 22.99%, 지방 4.37%, 수분 12.78%, 회분 함량 7.41%이었다.

### 미강 추출 식이섬유 함유 떡갈비의 제조

떡갈비의 제조를 위해 Kim 등(2006)의 방법을 사용하였으며 본 실험에 사용된 돈육은 서울시 광진구 시내 A 정육점에서 도축 후 24시간이 경과된 국내산 냉장 돈육 후 지부위를 구입하여 사용하였다. 원료육은 과도한 지방과 결체조직을 제거하였고, 원료육과 등지방은 각각 8 mm plate로 분쇄하여 사용하였다. 세절된 육과 지방은 polyethylene bag를 이용하여 진공포장기(FJ-500XL, Fujee Tech, Seoul, Korea)에 의해 진공포장 후 사용 전까지 0°C에서 저장되었다. 세절된 육과 지방은 4°C에서 24시간 해동된 후 떡갈비 제조에 사용되었다. 세절된 육과 지방은 4개의 처리구로 나누어 각각 진간장(3.0%), 마늘분말(0.4%), 생강분말(0.2%), 양파분말(1.0%), 후추(0.1%), 설탕(1.1%), 분리대두단백(1.0%), 전분시럽(0.4%), 참기름(0.4%), 미향(0.4%), 인산염(0.2%)이 첨가되었다(Kim et al., 2006). 세절육과 첨가물은 4°C에서 15분간 혼합하였다. 대조군(control)에는 미강 추출 식이섬유 혼합물이 첨가되지 않았으며 지방의 함량이 20%가 되도록 반죽되었다. 다른 실험

균의 경우 미강 추출식이섬유 혼합물이 1, 2, 3%의 비율로 첨가되었으며 지방의 함량은 10%로 조정되었다(Table 1). 최종 제품은 4°C에서 15분간 반죽하여 균일한 조직을 갖도록 하였다. 모든 sample은 완전히 혼합한 후 polyethylene bags에 넣어 진공포장하였다. 또한, 냉장(4±1°C) 상태에서 15일간 저장하면서 저장 0, 3, 5, 7, 10, 15일에 각 처리구의 포장을 개봉하여 실험을 실시하였다.

**지표 오염균의 정량적 분석**

일반미생물은 식품공전의 일반미생물실험법을 기초로 하여 실험하였다. Sample 10 g에 0.1% 멸균 펩톤수 90 mL를 첨가하여 stomacher를 이용하여 1분 동안 균질화 하였고, 0.1% 멸균 펩톤수를 이용하여 단계 희석하였다. 일반세균수와 저온균은 Plate Count Agar(PCA, Difco, USA)에 도말하여 각각 36°C에서 24-48시간, 10°C에서 7일간 배양하였다. 혐기성세균은 PCA에 도말하여 BBL Anaerobic Jar(Difco, USA)에서 36°C, 48시간 동안 배양하였다. 내열성세균은 100°C에서 10분간 가열 처리하여 영양세포를 사멸시킨 후 PCA에 도말하여 36°C에서 24-48시간 배양하였다. 대장균군은 Violet Red Bile Agar with MUG(Difco, USA) 배지를 이용하여 36°C에서 24-48시간 배양하였다. 균수는 그람 당 콜로니형성단위(CFU/g)로 측정하였으며, 3회 반복 실험하였다.

**Baranyi function의 적용과 생육 지표 측정**

일반세균수, 혐기성균, 저온균 등은 log CFU/g으로 표현하였으며, 각 균수의 sigmoid한 형태의 성장을 표현하기

**Table 1. The formulation of Tteokgalbi containing dietary fiber**

Ingredients	Ratio (% , batch)				
	C <sup>1)</sup>	T1 <sup>2)</sup>	T2 <sup>3)</sup>	T3 <sup>4)</sup>	
Main material	Pork ham	70	70	70	70
	Pork fat	20	10	10	10
	Water	10	10	10	10
Additive	Soy sauce	3.0	3.0	3.0	3.0
	Sugar	1.1	1.1	1.1	1.1
	Pepper	0.1	0.1	0.1	0.1
	ISP <sup>5)</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
	Onion powder	1.0	1.0	1.0	1.0
	Garlic powder	0.4	0.4	0.4	0.4
	Ginger powder	0.2	0.2	0.2	0.2
	Starch syrup	0.4	0.4	0.4	0.4
	Sesame oil	0.4	0.4	0.4	0.4
	Cooking wine	0.4	0.4	0.4	0.4
	Phosphate	0.2	0.2	0.2	0.2
	Dietary fiber	0.0	1.0	2.0	3.0

<sup>1)</sup>Control, <sup>2)</sup>Tteokgalbi added with 1% fiber, <sup>3)</sup>Tteokgalbi added with 2% fiber, <sup>4)</sup>Tteokgalbi added with 3% fiber, <sup>5)</sup>Isolated soy protein.

위해 사용하는 연속함수의 식은 Baranyi와 Roberts(1994)가 제안한 Baranyi function식 (1)을 사용하였다. 3회 반복 실험을 통해 얻은 실험치를 저장 기간을 기준으로 하여 모델화하였다. 이 실험 결과를 Baranyi function에 대입하여 균의 증식을 대표하는 생육 지표들을 계산하기 위하여 MicroFit<sup>®</sup>(Institute of Food Research, Norwich, UK)을 사용하여 최대성장속도(maximum specific growth rate,  $\mu_{max}$ ), 유도기(lag time, LT)를 도출하였다. Baranyi function 식 (1) 중 A값은 식 (2)와 같이 정의되며  $q_0$ 는 균체의 성장과 관련된 아직 확실히 규명되지 않은 물질의 축적 양 또는 균체의 생리적 상태를 나타내는데 이용되며 이는 MicroFit<sup>®</sup>에 의해서 계산된 Lag time(식 (3))으로부터 역으로 구해진다(Baranyi and Roberts, 1994, 1995).

$$y = y_0 + \frac{\mu_{max}}{\ln(10)} - \frac{1}{\ln(10)} \ln \left( 1 + \frac{e^{\mu_{max}A} - 1}{10^{(y_{max} - y_0)}} \right) \tag{1}$$

$$A = t + \frac{1}{\mu_{max}} \ln \left[ \frac{e^{-\mu_{max}t} + q_0}{1 + q_0} \right] \tag{2}$$

$$t_{lag} = \frac{\ln \left( 1 + \frac{1}{q_0} \right)}{\mu_{max}} \tag{3}$$

- t : 저장기간(day)
- y<sub>0</sub> : 초기 균수의 log 값(log CFU/g)
- y : 시간에 따른 균수의 log 값(log CFU/g)
- $\mu_{max}$  : 최대 성장 속도(log CFU/g/day)

**성장에측곡선의 적합성 평가**

실측값과 예측값 간의 적합성을 평가하기 위하여 R<sup>2</sup>값과 Baranyi 등(1999)이 예측 모델의 적합성 평가에 제안한 bias factors( $B_f$ ), accuracy factors( $A_f$ ), root mean square error(RSME) 값들이 비교되었다. Bias factors는 실측치와 예측치 간의 상대적 편차의 측정이며 Accuracy factors의 경우 예측치가 얼마만큼 실측치에 가까운가를 측정하는 것이다. 두 값 모두 가장 이상적인 값은 1이다(Ross, 1996; Skandamis and Nychas, 2000). 두 값 모두 1에 가까울수록 예측값과 실측값간의 차이가 적은 적응을 나타내며 식 (4)와 식 (5)로 계산된다.

$$B_f = \exp \left[ \frac{\sum (\ln y_{predicted} - \ln y_{observed})}{n} \right] \tag{4}$$

$$A_f = \exp \left[ \frac{\sum (\ln y_{predicted} - \ln y_{observed})^2}{n} \right] \tag{5}$$

**미강식이섬유 함유 떡갈비의 적정 유통기한 설정**

Solberg 등(1990)이 제시한 즉석 식품의 미생물학적 안전성 확보를 위한 일반세균수의 적정 수준인 <10<sup>5</sup> CFU/g

에 따라 일반세균수가  $10^5$  CFU/g 이상이 되는 시점을 predicted shelf-life로 하였으며, Baranyi function식 (1), (2)을 이용하여 계산하였다. 미강 식이섬유 함유 떡갈비의 적정 유통기한 설정은 식품의 유통기한의 1.5배 이상의 기간 동안 식품의 품질이 유지되어야 한다는 안전계수(1/1.5)를 활용한 Koo 등(2007)에 의한 방법을 사용하였으며 식(6)과 같다.

$$\begin{aligned} \text{Estimated shelf-life} \\ = \text{predicted shelf-life} \times \text{safety factor (1/1.5)} \end{aligned} \quad (6)$$

**통계처리**

통계분석은 SAS program(Statistics Analytical System, USA, 1999)의 GLM(General Linear Model) procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정을 통하여 유의성 검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다.

**결과 및 고찰**

**저장기간 중 미생물학적 변화**

본 저장 실험에 사용된 미강 식이섬유 혼합물 함유 떡갈비는 일반 마켓에서 판매되는 것과 유사한 공정으로 실험실에서 제조되었으며 진공포장 후 즉시 냉장 조건( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )에서 15일 동안 저장하면서 저장기간 중 미생물학적 변화를 분석하였다(Table 2). 저장기간 동안의 미생물학적 변화를 관찰한 결과 고온균은 유효숫자 이하의 CFU/g를 나타내었으며, 대장균군의 경우, 전 저장기간 동안 검출되지 않았다(결과 미제시). 저장 당일(0일차) control, T1, T2, T3의 일반세균수는 각각 3.85 log CFU/g, 3.23 log CFU/g, 3.56 log CFU/g, 3.57 log CFU/g의 비교적 높은 초기 균수를 나타내었고, 혐기성균과 저온균의 분포 역시 비슷한 수준인 각각 3.05-3.77 log CFU/g, 3.42-3.68 log CFU/g을 나타내었다. 초기 균수가 비교적 높은 이유는 가열처리를 거치지 않은 비가열처리 제품이며, 각 실험군 간 차이는 제조당시 외부 오염에 따른 것으로 판단된다. 저장 0일에서 3일차까지 일반세균수는 서서히 증가하여 control, T1, T2, T3의 경우 4.30 log CFU/g, 4.27 log CFU/g, 4.26 log CFU/g, 4.13 log CFU/g을 나타내었으며 저장 5일차에서 급격히 증가하여 7.16 log CFU/g, 7.26 log CFU/g, 7.26 log CFU/g, 7.27 log CFU/g을 나타내었으며 혐기성균의 경우 비슷한 균수의 성장 패턴을 나타내었다. 저장 15일차에서 일반세균수의 경우 8.16-8.27 log CFU/g의 분포를 나타내었으며 혐기성균의 경우도 저장 마지막 일에 8.06-8.26 log CFU/g의 분포를 나타내었다. 하지만 저온균의 경우 저장 15일차까지 서서히 증가하였으며 control, T1, T2, T3의 경우 6.97 log CFU/g, 7.02 log CFU/g, 7.42 log CFU/g, 7.94 log CFU/g을 나타내었다.

**Table 2. Microbiological changes of Tteokgalbi containing dietary fiber during 15 days of storage at  $4 \pm 1^\circ\text{C}$**

Storage (days)		Microorganisms (Mean $\pm$ SD)		
		Total viable cells	Anaerobic bacteria	Psychrotrophic bacteria
0	C <sup>1)</sup>	3.85 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	3.77 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	3.46 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>
	T1 <sup>2)</sup>	3.23 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	3.70 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	3.68 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
	T2 <sup>3)</sup>	3.56 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	3.05 $\pm$ 0.43 <sup>c</sup>	3.42 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>
	T3 <sup>4)</sup>	3.57 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	3.38 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	3.51 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>
3	C	4.30 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	4.27 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	4.35 $\pm$ 0.20 <sup>d</sup>
	T1	4.27 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	4.36 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	4.45 $\pm$ 0.57 <sup>b</sup>
	T2	4.26 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	4.02 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	4.41 $\pm$ 0.42 <sup>c</sup>
	T3	4.13 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	4.20 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	4.60 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
5	C	7.16 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	7.17 $\pm$ 0.24 <sup>c</sup>	5.36 $\pm$ 0.09 <sup>d</sup>
	T1	7.26 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	7.21 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	5.41 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>
	T2	7.26 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	7.23 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	5.44 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>
	T3	7.26 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	7.24 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	5.55 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
7	C	7.39 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	7.35 $\pm$ 0.20 <sup>ab</sup>	5.34 $\pm$ 0.35 <sup>d</sup>
	T1	7.45 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	7.44 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	5.81 $\pm$ 0.61 <sup>c</sup>
	T2	7.45 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	7.33 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	6.83 $\pm$ 0.74 <sup>b</sup>
	T3	7.46 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	6.39 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	6.94 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
10	C	7.65 $\pm$ 0.12 <sup>d</sup>	7.54 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	6.54 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>
	T1	7.68 $\pm$ 0.25 <sup>c</sup>	7.66 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	7.40 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>
	T2	7.77 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	7.84 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	6.85 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>
	T3	7.82 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	7.86 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	6.64 $\pm$ 0.35 <sup>c</sup>
15	C	8.16 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	8.06 $\pm$ 0.32 <sup>c</sup>	6.97 $\pm$ 0.25 <sup>c</sup>
	T1	8.26 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	8.19 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	7.02 $\pm$ 0.29 <sup>c</sup>
	T2	8.26 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	8.24 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>	7.42 $\pm$ 0.61 <sup>b</sup>
	T3	8.27 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	8.26 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	7.94 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Control, <sup>2)</sup>Tteokgalbi added with 1% fiber, <sup>3)</sup>Tteokgalbi added with 2% fiber, <sup>4)</sup>Tteokgalbi added with 3% fiber, <sup>a-d</sup>Means with different letters in the same column were significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Baranyi function의 적용과 생육 지표 측정**

균의 성장을 표현하는 식으로는 Gompertz function, Logistic function, Monod function, 그리고 Baranyi function 등과 같은 예측 모델식이 사용되고 있으며 그 중에서 Baranyi function을 이용한 예측 모델의 개발이 최근 많은 연구가 이루어지고 있다(Amit *et al.*, 2008). 냉장조건( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )에서 15일 간의 저장 기간 동안 지표 오염균의 증식을 예측하기 위하여 균의 증식을 대표하는 생육 지표로서, 최대성장속도(maximum specific growth rate,  $\mu_{max}$ ), 유도기(lag time, LT), doubling time(DT)을 Baranyi function을 적용하는 MicroFit<sup>®</sup>을 사용하여 구하였다.

미강 식이섬유 혼합물 함유 떡갈비의 일반세균수, 혐기성균, 저온균을 대상으로 하여 저장기간 동안 예측된 생육지표들은 Table 3과 같고 성장예측곡선은 Fig. 1-3과 같다. 일반세균의 최대성장속도는 control, T1, T2, T3의 경우 각각 2.25, 3.65, 3.73, 3.93 log CFU/g/day을 나타내었으며 혐기성균의 경우 일반세균수보다 높은 수준인 3.73,

**Table 3. Growth parameters of microorganisms on the basis of Baranyi function in Tteokgalbi containing dietary fiber**

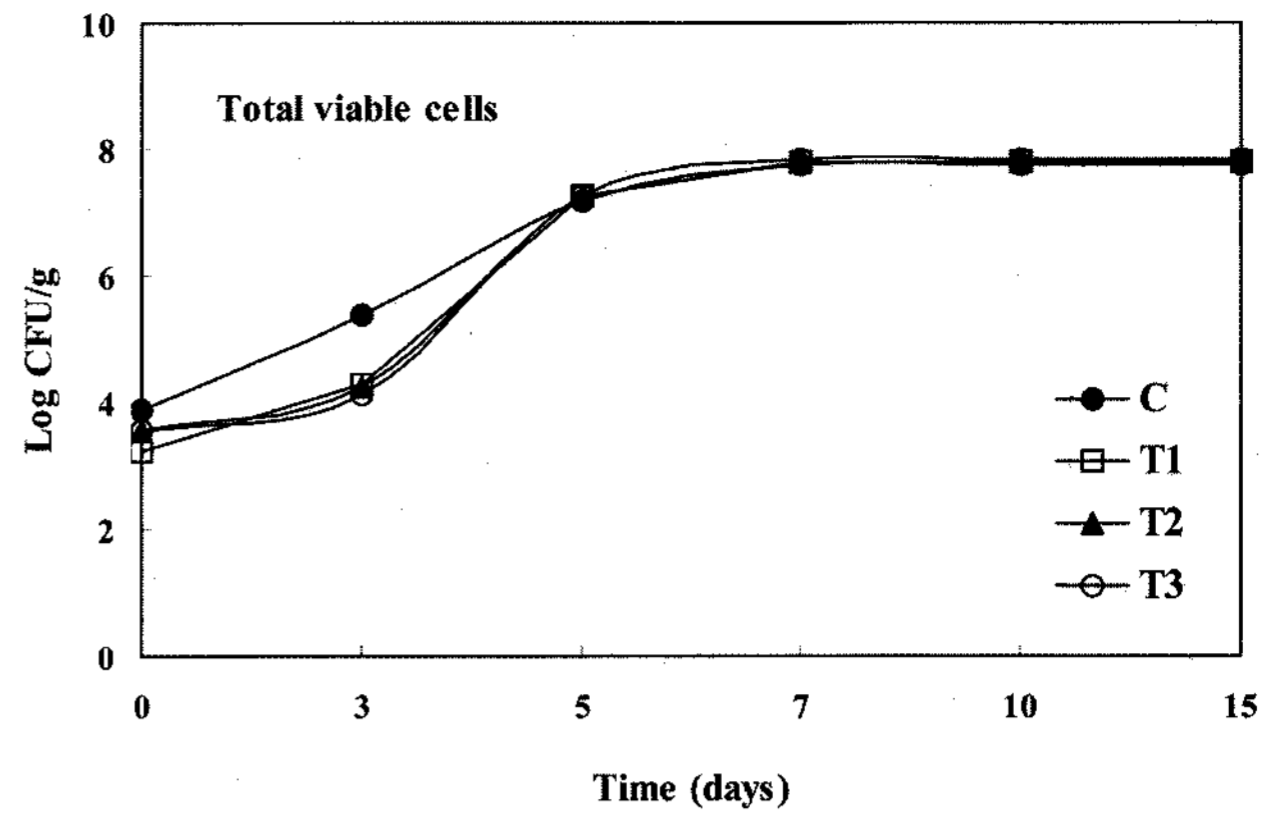
Microorganisms	Type	Growth parameters				
		$y_{0(5)}$	$y_{max(6)}$	$\mu_m^{(7)}$	LT <sup>(8)</sup>	DT <sup>(9)</sup>
Total viable cells	C <sup>(1)</sup>	3.85	7.75	2.25	1.52	0.31
	T1 <sup>(2)</sup>	3.23	7.80	3.65	2.36	0.19
	T2 <sup>(3)</sup>	3.56	7.83	3.73	2.63	0.19
	T3 <sup>(4)</sup>	3.57	7.85	3.93	2.75	0.18
Anaerobic bacteria	C	3.77	7.65	3.73	2.79	0.19
	T1	3.70	8.10	3.49	2.64	0.20
	T2	3.75	7.80	4.24	3.03	0.16
	T3	3.36	8.11	4.24	3.18	0.56
Psychrotrophic bacteria	C	3.45	7.01	0.76	0.35	0.92
	T1	3.69	7.23	1.03	1.49	0.67
	T2	3.45	7.16	1.51	1.71	0.46
	T3	3.50	6.80	1.17	1.16	0.59

<sup>1)</sup>Control, <sup>2)</sup>Tteokgalbi added with 1% fiber, <sup>3)</sup>Tteokgalbi added with 2% fiber, <sup>4)</sup>Tteokgalbi added with 3% fiber, <sup>5)</sup>Predictive initial cell count (log CFU/g), <sup>6)</sup>Predictive maximum cell count (log CFU/g), <sup>7)</sup>Maximum specific growth rate (log CFU/g/day), <sup>8)</sup>Lag time (day), <sup>9)</sup>Doubling time (day).

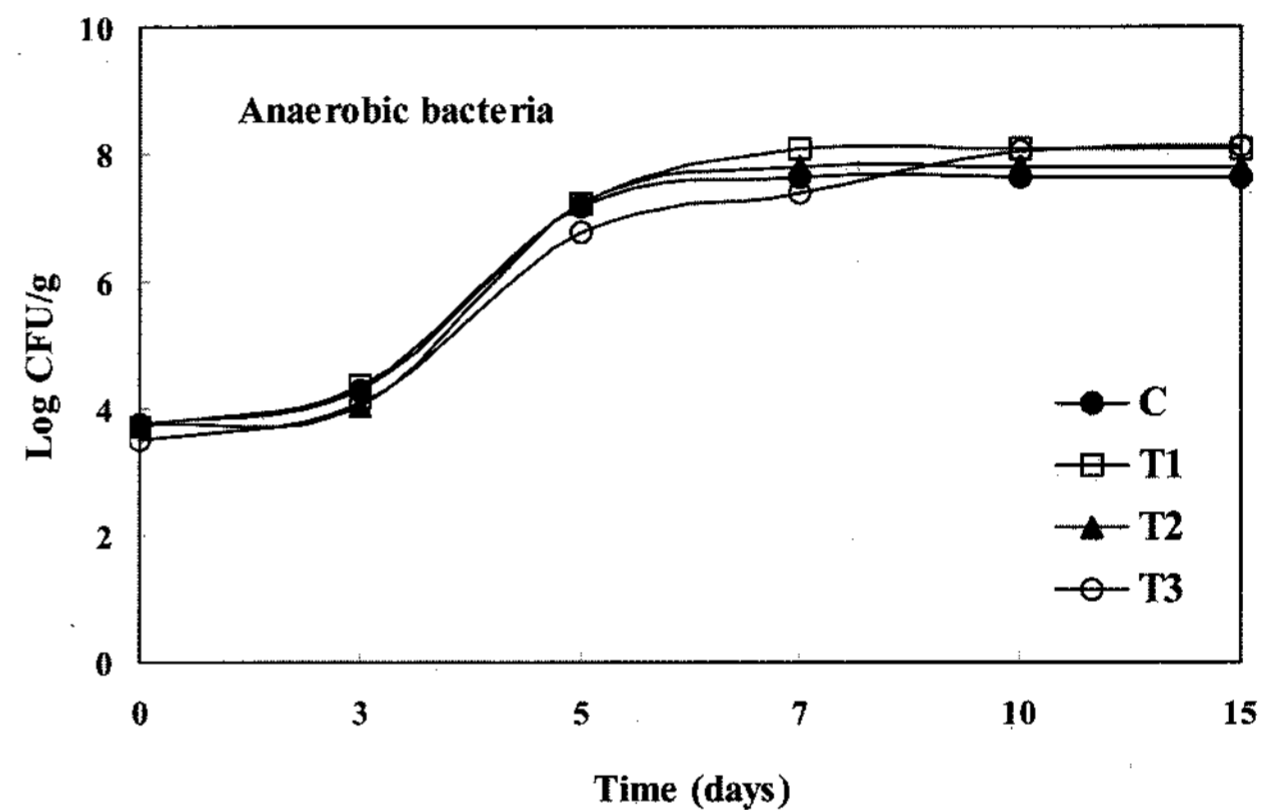
3.49, 4.24, 4.24 log CFU/g/day로 예측되었다. 저온균의 최대성장속도는 각각 0.76, 1.03, 1.51, 1.17 log CFU/g/day로 일반세균수와 혐기성균보다 낮은 성장속도를 보이는 것으로 나타났다. 한편 미장 식이섬유가 함유된 제품 간의 최대성장속도는 control보다 높은 값을 나타내었다. 일반세균수 유도기(LT)의 경우 control이 가장 짧은 1.52일을 나타내었고 T1, T2, T3의 경우 2.36, 3.63, 2.75일을 나타내었다. 저온균의 경우 일반세균수와 혐기성균보다 짧은 유도기를 나타내어 0.35, 1.49, 1.71, 1.16일을 나타내었다. 초기 균수의 두 배가 되는 시점인 doubling time(DT)의 경우 일반세균수는 0.31, 0.19, 0.19, 0.18일을 나타내어 미장 식이섬유가 함유된 제품의 DT가 control보다 짧은 것으로 예측되었다. 저온균의 DT 역시 control의 경우 0.92, T1-T3의 경우 0.67, 0.46, 0.59일을 나타내어 미장 식이섬유가 함유된 제품의 DT가 control보다 짧은 것으로 예측되었다.

#### 성장에측곡선의 적합성 평가

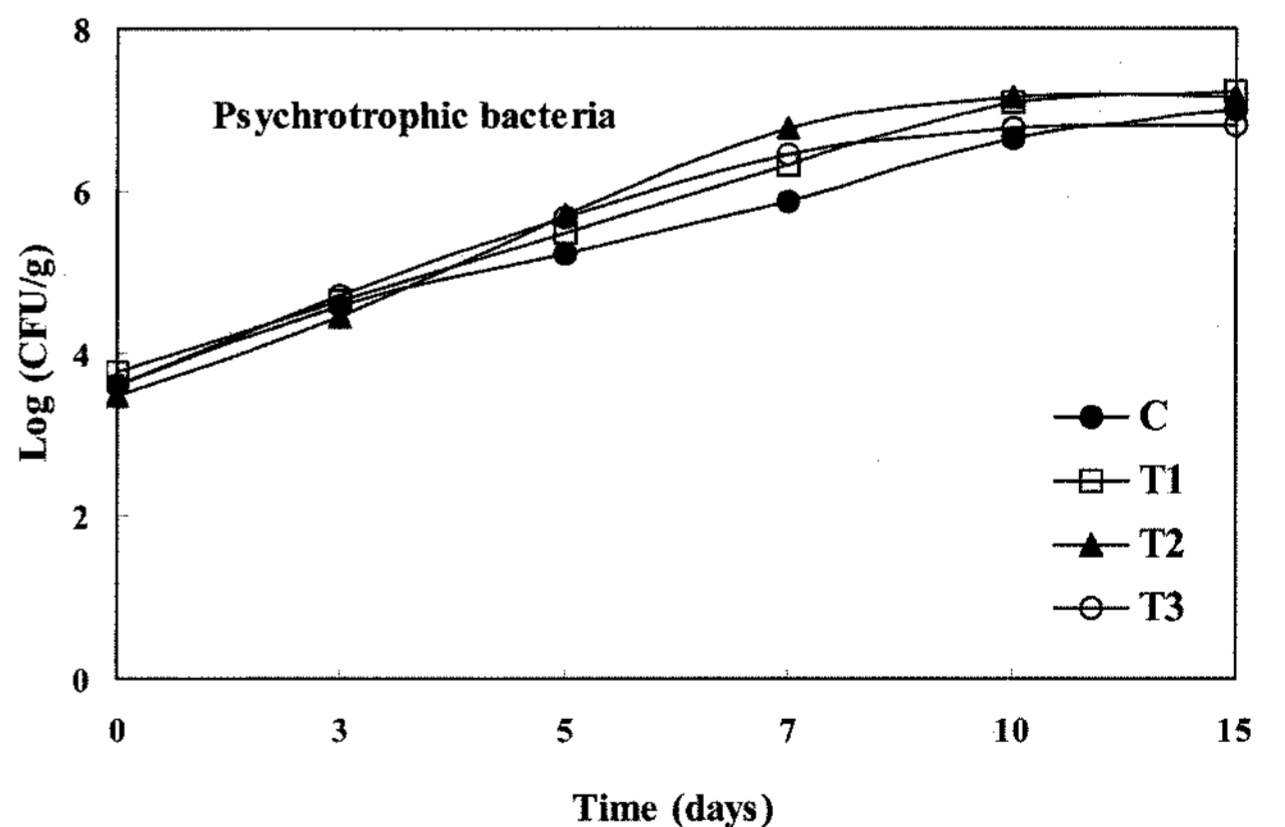
Baranyi function(식 (1), (2))로부터 예측한 일반세균수, 혐기성균, 저온균의 저장기간 동안의 실측치와 비교한 결과 높은 정확성을 나타내었다(Table 4). 일반세균수, 혐기성균, 저온균의 경우 처리구간 모두 0.923 이상의 높은  $R^2$  값을 나타내었으며  $B_p$ ,  $A_f$ 의 경우 역시 이상적인 값인 1에 가까운 값을 나타내었다. 일반세균수 control, T1, T2, T3의  $R^2$ 값의 경우 0.966, 0.986, 0.982, 0.981을 나타내어 저온균, 혐기성균보다 높은 정확도를 나타내었다. 실험을 통



**Fig. 1. Predictive growth models of total viable cells by Baranyi function in Tteokgalbi containing dietary fiber during 15 days of storage at 4±1°C (●, C; □, T1; ▲, T2; ○, T3).**



**Fig. 2. Predictive growth models of anaerobic bacteria by Baranyi function in Tteokgalbi containing dietary fiber during 15 days of storage at 4±1°C (●, C; □, T1; ▲, T2; ○, T3).**



**Fig. 3. Predictive growth models of psychrotrophic bacteria by Baranyi function in Tteokgalbi containing dietary fiber during 15 days of storage at 4±1°C (●, C; □, T1; ▲, T2; ○, T3).**

해 관찰된 균의 성장과 Baranyi function을 이용한 성장예측곡선은 잘 일치하는 것으로 나타났다.

**Table 4. Evaluation of the predictive models against experimental data of Tteokgalbi containing dietary fiber**

Micro-organisms	Type	Statistical analysis		
		$R^2$ <sup>5)</sup>	$B_f$ <sup>6)</sup>	$A_f$ <sup>7)</sup>
Total viable cells	C <sup>1)</sup>	0.966	1.004	1.052
	T1 <sup>2)</sup>	0.983	1.002	1.059
	T2 <sup>3)</sup>	0.982	1.001	1.057
	T3 <sup>4)</sup>	0.981	1.001	1.057
Anaerobic bacteria	C	0.982	1.000	1.046
	T1	0.986	1.000	1.055
	T2	0.975	1.001	1.072
	T3	0.923	1.032	1.559
Psychrotrophic bacteria	C	0.930	1.036	1.082
	T1	0.937	1.026	1.077
	T2	0.960	1.011	1.040
	T3	0.929	1.025	1.035

<sup>1)</sup>Control, <sup>2)</sup>Tteokgalbi added with 1% fiber, <sup>3)</sup>Tteokgalbi added with 2% fiber, <sup>4)</sup>Tteokgalbi added with 3% fiber, <sup>5)</sup>Correlation coefficient, <sup>6)</sup>Bias factors, <sup>7)</sup>Accuracy factors.

**미강 식이섬유 함유 떡갈비의 적정 유통기한 설정**

Newton 등(1979)은 육류의 유통기한 초기 세균수, 저장 기간과 저장온도, 그리고 포장과 관련되어 있다고 하였고, Nottingham(1982)은 육류가 부패하는 단계에서의 일반세균수는  $10^7$  CFU/cm<sup>2</sup>라고 하였다. James(1972)는  $10^8$ - $10^9$  CFU/g 정도의 균수가 되었을 때 육류의 부패가 일어난다고 보고하였다. 또한 Solberg 등(1990)이 제시한 즉석섭취 식품의 미생물학적 안전성 확보를 위해 일반세균수를 <math>10^5</math> CFU/g로 제한하였고 Mepba 등(2007)은 거리 음식 10종을 분석하였으며 이들 식품이  $10^3$ - $10^8$  CFU/g의 일반세균수를 가진다고 보고하였다. 이처럼 부패가 일어나는 단계 또는 미생물학적 안전성 확보를 기준으로한 유통기한 측정은 대상 식품에 따라서 다를 수 있다. 따라서 일률적인 기준으로 제품의 유통기한 산출은 의미가 없으며 각 제품의 성분과 저장방법 등을 고려한 과학적 이론에 근거한 객관적 측정과 지표가 마련되어야 한다. 떡갈비와 같은 비가열 처리로 판매가 되는 즉석 식품의 경우 단기저장식품으로서 미생물의 안전성이 우선되는 식품이기 때문에 제품의 관능적, 이화학적 측면 보다는 미생물학적 안전성 측면이 유통기한의 설정에 우선시 되어야 한다. 본 실험의 일반세균수 기준을 기준으로한 유통기한의 예측은 Table 5와 같다. Baranyi function 식 (1), (2)을 이용하여 계산된 균수가 >5 log CFU/g이 되는 시점인 predicted shelf-life의 경우 control, T1, T2, T3의 경우 각각 2.5, 3.5, 3.5, 3.6일로 예측되었으며 안전계수(1/1.5)를 고려한 estimated shelf-life의 경우 1.7, 2.3, 2.3, 2.4일로 측정되었다. 미강 식이섬유 혼합물이 첨가된 처리구가 control보다 약 0.6-0.7일 긴 유통기한을 가지는 것으로 측정되었고 식이섬유가 3% 함유된 떡갈비가 2.4일로 가장 긴 유통기한을 갖는 것으로 나타났다.

**Table 5. Evaluation of shelf-life of Tteokgalbi containing dietary fiber under 4±1°C storage**

Micro-organisms	Type	Shelf-life (days)	
		Predicted shelf-life <sup>5)</sup>	Estimated shelf-life <sup>6)</sup>
Total viable cells	C <sup>1)</sup>	2.5	1.7
	T1 <sup>2)</sup>	3.5	2.3
	T2 <sup>3)</sup>	3.5	2.3
	T3 <sup>4)</sup>	3.6	2.4

<sup>1)</sup>Control, <sup>2)</sup>Tteokgalbi added with 1% fiber, <sup>3)</sup>Tteokgalbi added with 2% fiber, <sup>4)</sup>Tteokgalbi added with 3% fiber, <sup>5)</sup>Days to reach  $10^5$  CFU/g, <sup>6)</sup>Shelf-life estimated from equation (4).

**요 약**

본 연구는 미강 추출 식이섬유 혼합물을 첨가한 떡갈비의 미생물학적 안전성 확보와 유통기한 산출을 위하여 예측미생물학을 이용하였다. 이를 위해 미강 추출 식이섬유 혼합물을 0, 1, 2, 3%의 비율로 첨가하였으며 냉장(4±1°C) 조건에서 15일간 저장하며 일반세균수, 혐기성균, 저온균, 내열성균, 대장균군의 미생물학적 변화를 관찰하였다. 일반세균수의 초기 균수(저장 0일)의 경우 3.23-3.85 log CFU/g을 나타내었으며 혐기성균, 저온균의 경우 비슷한 초기 균수를 나타내었다. 일반세균수와 혐기성균의 경우 저장 3-5일차에서 균수의 급격한 증가를 나타내었다. 저장기간 동안 측정된 균수를 Baranyi function을 바탕으로 성장예측곡선과 생육 지표를 예측하였으며, 성장예측곡선의 적합성을 검증한 결과 일반세균수, 혐기성균, 저온균의 경우 처리구간 모두 0.923 이상의 높은  $R^2$ 값을 나타내었으며  $B_f$ ,  $A_f$ 의 경우 역시 이상적인 값인 1에 가까운 값을 나타내었다. RSME 값 역시 모두 0.65 이하를 나타내어 실측치와 예측치 간의 높은 정확성을 나타내었다. Baranyi function 식 (1), (2)을 이용하여 계산된 균수가 5 log CFU/g이 되는 시점인 predicted shelf-life의 경우 control, T1, T2, T3의 경우 각각 2.5, 3.5, 3.5, 3.6일로 예측되었으며 안전계수(1/1.5)를 고려한 estimated shelf-life의 경우 1.7, 2.3, 2.3, 2.4일로 측정되었다. 미강 식이섬유 혼합물이 첨가된 처리구가 control 보다 약 0.6-0.7일 긴 유통기한을 가지는 것으로 측정되었고 식이섬유가 3% 함유된 떡갈비가 2.4일로 가장 긴 유통기한을 갖는 것으로 나타났다. 본 연구를 통해, 미강 추출 식이섬유 혼합물이 첨가된 떡갈비의 유통기한을 예측미생물학을 적용하여 측정할 수 있었으며, 식품산업에 있어서 이러한 예측미생물학은 식품의 제조·가공·판매 등을 결정할 때 미생물의 정량적 위험성을 판단하는 도구로서 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 2007년 농촌진흥청 농업특정연구사업의 지원 (과제번호: 20070301-033- 006-001-01-00)과 교육과학기술부, Brain Korea 21 지원 사업으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Amit, P., Theodore P. L., and Francisco D. G. (2008) Comparison of primary predictive models to study the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and turkey product slurries. *Food Microbiol.* **25**, 460-470.
- Baranyi, J., Pin, C., and Ross, T. (1999) Validating and comparing predictive models. *Int. J. Food Microbiol.* **48**, 159-166.
- Baranyi, J. and Roberts, T. A. (1994) A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.* **23**, 277-294.
- Baranyi, J. and Roberts, T. A. (1995) Mathematics of predictive food microbiology. *Int. J. Food Microbiol.* **25**, 61-75.
- Chin, K. B. (2002) Manufacture and evaluation of low-fat meat products (A review). *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **22**, 363-372.
- Chin, K. B., Kim, W. Y., and Kim, K. H. (2005) Physico-chemical and textural properties and antimicrobial effects of low-fat comminuted sausages manufactured with grapefruit seed extract. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **25**, 141-148.
- Choi, S. H. and Chin, K. B. (2002) Development of low-fat comminuted sausage manufactured with various fat replacers similar textural characteristics to those with regular-fat counterpart. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 577-582.
- Choi, Y. S., Jeong, J. Y., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Kim, H. W., Paik, H. -D. and Kim, C. J. (2008) Effects of dietary fiber from rice bran on the quality characteristics of emulsion-type sausage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **28**, 14-20.
- Dalgaard, P. and Jorgensen, L. V. (1998) 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.
- Dominguez, S. A. and Schaffner, D. W. (2007) Development and validation of a mathematical model to describe the growth of *Pseudomonas* spp. in raw poultry stored under aerobic conditions. *Int. J. Food Microbiol.* **120**, 287-295.
- Hathaway, S. and Roger, L. C. (1997) A regulatory perspective on the potential use of microbial risk assessment in international trade. *Int. J. Food Microbiol.* **36**, 127-133.
- Hwang, T. H. (2006) Improvement of shelf-life labeling system for effective food distribution management. MS thesis, Chungang Univ., Seoul, Korea.
- James, M. J. (1972) Mechanism and detection of microbial spoilage in meat at low temperature. *J. Food Technol.* **35**, 467-472.
- Kim H. Y., Jeong, J. Y., Choi, J. H., Lee, M. A., Lee, J. H., Chang, K. H., Choi, S. Y., Paik, H.-D., and Kim, C. J. (2006) Effects of ethanol extracts of *Bacillus polyfermenticus* SCD on Tteokgalbi quality during storage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **26**, 478-485.
- Kim, Y. S., Ha, T. Y., Lee, S. H., and Lee, H. Y. (1997) Effect of rice bran dietary fiber extract on gelatinization and retrogradation of wheat flour. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 464-469.
- Koo, M. S., Kim, Y. S., Shin, D. B., Oh, S. W., and Chun, H. S. (2007) Shelf-life of prepacked kimbab and sandwiches marketed in convenience stores at refrigerated condition. *J. Fd. Hyg. Safety* **22**, 323-331.
- Korean Food and Drug Administration. (2008) Korean Food Code available from <http://www.kfda.go.kr>.
- Korean Food Industrial Association. (1997) Food standards and criterions: meat product. Korean Food Code, Seoul. pp. 225-229.
- Lee, H. J. and Shin, M. S. (2006) Quality characteristics of french bread with various dietary fibers. *Korean J. Food Cookery Sci.* **22**, 477-487.
- Lee, N. Y., Jo, C., Kang, H. J., Hong, S. P., Kim, Y. H., and Lee, K. H. (2005) Microbiological and mutagenical safety evaluation of gamma irradiated ready-to-eat foods of animal origin. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **25**, 13-19.
- Lee, H. M., Lee, G. Y., Yoon, E. Y., Kim, H. J., Kang, Y. S., Lee, D. H., Park, J. S., Lee, S. H., Woo, G. J., Kang, S. H., Yang, J. S., and Yang, K. H. (2004) Computation of maximum edible time using monitoring data of *Staphylococcus aureus* in Kimbab and Food MicroModel. *J. Fd. Hyg. Safety* **19**, 49-54.
- Mepba, H. D., Achinewhu, S. C., Aso, S. N., and Wachukwu, C. K. (2007) Microbiological quality of selected street foods in port harcourt, Nigeria. *J. Food Safety* **27**, 208-218.
- Moon, S. Y., Paek, J. M., and Shin, I. S. (2005) Development of predictive growth model of imitation crab sticks putrefactive bacteria using mathematical quantitative assessment model. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 1012-1017.
- MicroFit® (1995) Microfit Software for PC. Version 1.0. Institute of Food Research., Norwich, UK.
- Newton, K. G. and Rigg, W. J. (1979) The effect of film permeability on the storage life and microbiology of vacuum-packed meat. *J. Appl. Bacteriol.* **47**, 433-445.
- Nottingham, P. M. (1982) Microbiology of carcass meat. In Meat Microbiology. Brown, M. H. (ed), Applied Science Publishers Ltd., London, UK, pp. 13.
- Park, H. O., Kim, C. M., Woo, G. J., Park, S. H., Lee, D. H., Chang, E. J., and Park, K. H. (2001) Monitoring and trends analysis of food poisoning outbreaks occurred in recent years in Korea. *J. Fd. Hyg. Safety* **16**, 280-294.
- Park, S. Y., Cho, J. W., Yeon, J. H., Lee, M. J., Lee, D. H., Kim, K. S., Park, K. H., and Ha, S. D. Assessment of contamination levels of foodborne pathogens isolated in major RTE foods marketed in convenience stores. *Korean J. Food*

- Sci. Technol.* **37**, 274-278.
29. Ross, T. (1996) Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *J. Appl. Bacteriol.* **81**, 501-508.
  30. SAS (1999) SAS/STAT Software. Release 8.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
  31. Skandamis, P. N. and Nychas, G. E. (2000) Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTT 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 1646-1653.
  32. Solberg, M., Buchalew, J. J., Chen, C. M., Schaffner, D. W., O'Neill, K., McDowell, J., Post, L. S., and Boderck, M. (1990) Microbial safety assurance system for foodservice facilities. *Food Technol.* **44**, 68-72.
  33. Whiting, R. C. and Buchanan, R. L. (1997) Development of a quantitative model for *Salmonella enteritidis* in pasteurized liquid egg. *Int. J. Food Microbiol.* **36**, 111-125.
- 
- (2008. 5. 19 접수/2008. 6. 4 채택)