

## 쇠고기 저장 중 이취발생에 대한 Indicator 탐색

변고은 · 안수림 · 심수동 · 이종용 · 홍광원 · 민상기<sup>1</sup> · 이승주\*

동국대학교 식품공학과, <sup>1</sup>건국대학교 축산식품생물공학전공

### Investigation on Beef Quality Indicator of Off-Flavor Development during Storage

Ko Eun Byeon, Soo Rim An, Soo Dong Shim, Jung Young Lee, Kwang Won Hong, Sang Gi Min<sup>1</sup>, and Seung Ju Lee\*

Department of Food Science and Technology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Science from Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

#### Abstract

Beef quality indicators of off-flavor development during storage were investigated in terms of temperature dependence. The off-flavor development time (ODT) was detected using the R-index sensory test. During varying storage conditions at 25°C, 15°C, and 5°C, elements of beef quality were measured, such as volatile basic nitrogen (VBN), pH, color (CIE L\*, a\*, b\*), Warner-Bratzler shear force (WBSF), *Pseudomonas spp.* CFU, and lactic acid bacteria (LAB) CFU. A model with temperature dependence of ODT during storage was developed using Arrhenius-like equation, and a requirement with quality indicators was mathematically derived, resulting in similar temperature dependence. The temperature dependence of beef quality indicators was represented by the Arrhenius activation energy (Ea). Upon comparing the Ea of beef quality indicators and ODT, the temperature dependence similarity was found to be higher in the order of three groups: VBN, pH, a\* value; LAB, *Pseudomonas spp.*; and WBSF, L\* value, b\* value. Therefore, VBN were determined as the most effective indicator of beef quality during off-flavor development.

**Key words :** indicator, beef qualities, off-flavor, temperature dependence, kinetics

#### 서 론

소비자의 고품질 식자재의 수요와 관심의 증가함에 따라 식육사업은 보다 위생적인 가공 공정, 제품의 품질 향상, 최적의 유통기술, 안전성 평가기술 등에 대한 연구가 필수적이다. 쇠고기의 품질 평가는 이화학적, 물리적 측정 방법 등의 다양한 평가 방법들이 있지만 판매 현장에서 소비자의 구매를 결정 짓는 것은 관능적 평가에 의한 것이 대부분이다. 따라서 관능적 성질을 대변할 수 있는 품질인자가 여전히 탐색되어야 한다.

취발성 물질로 생성 되는 이취는 식재료의 품질인자인 속도와 신선도의 변화를 나타내므로 이를 이용하면 품질 변화와 안전성을 간접적으로 평가할 수 있다(Park, 2004).

식육의 이취는 주로 저장환경의 오염, 지방의 산패, 미생물 또는 내인성 효소의 단백질과 암모니아 분해 등에 기인하며, 이취 생성물질은 hydrogen sulfide, methyl mercaptan, dimethyl sulfide 등의 유황분해 물질이 대부분이다(Park, 2004; Wilkes *et al.*, 2000). 기존의 이취 분석은 기기적 분석 또는 일반적 관능평가로 이루어져 왔으나, Robinson 등(2005)은 특수관능기법인 R-index를 적용하여 미세하게 변하는 시료의 변화를 평가한 바 있다.

쇠고기의 기존 연구사례들은 보면 저장 조건이나 가공 처리 조건의 변화를 주어 저장 중 품질변화를 알아보는 연구가 대다수 이루어져왔다. Montgomery 등(2003)은 방사선 처리된 쇠고기의 저장 중 품질변화를 연구한 바 있고, Zakrys 등(2008)은 저장 중 산소 농도에 따른 쇠고기의 품질변화를 연구하였다. 위의 연구에서는 이화학적 평가인 pH, 육색, TBA, VBN, oxymyoglobin 측정, 물리적 평가인 Warner-Bratzler shear force 측정, 생물학적 평가인 총균수, *Pseudomonas spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix*

\*Corresponding author : Seung Ju Lee, Department of Food Science and Technology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea. Tel: 82-2-2260-3372, Fax: 82-2-2260-3372, E-mail: Lseungju@dongguk.edu

*thermosphacta*, lactic acid bacteria 등의 측정 그리고 관능적 평가로 냄새, 이취, 색, 육즙 보유량, 유연성 등을 평가하여 다양한 측면에서의 쇠고기 품질평가를 행하였다. 하지만 실험을 통하여 얻은 객관적인 실험값들과 관능을 통하여 얻은 주관적인 값들 간의 상호작용을 알아 본 연구는 미비하다.

Goka 등(2008)의 육포에 관한 연구는 이를 보완하여 객관적 실험값들과 관능적 품질변화의 연관성을 *Pearson's correlation analysis*를 이용하여 분석한 바 있다. 그 결과 관능품질 변화에 직접적인 영향을 주는 이화학적 변화를 알아 낼 수 있었다. 하지만 이에 적용된 일반적 관능평가는 패널의 상황적 변수가 고려되지 않고, 관능검사 시 발생하는 품질의 변화가 미미할 경우 검지에 어려움을 줄 수 있다(Park and Lee, 2008).

R-index는 매 회 관능검사 시 초기 상태의 시료와 검사 시료를 같이 제시하여 초기 상태의 시료를 얼마나 정확히 판단하는지를 평가한다. 따라서 패널의 정확도를 평가할 수 있으며 이러한 이점은 Robinson 등(2005)의 연구에서 밝혀 진바 있다. 또 다른 R-index 적용 연구에는 Robinson 등(2004)의 isoflavone 역치 분석, Villegas 등(2007)의 우유 음료의 관능적 차이를 분석, Argaiiz 등(2005)의 구아바(guava) 음료의 가열 이취검지시간의 탐색 등이 있다. 위의 연구들 모두 정확도가 향상된 관능검사 결과를 얻을 수 있었으며, 따라서 쇠고기의 저장 중의 이취 발생검지에서도 특수관능 기법인 R-index를 적용하면 보다 정확한 결과를 얻을 수 있다고 예상된다.

쇠고기의 저장 중 품질 변화를 결정하는 환경인자는 저장 기간에 따른 저장 온도라고 할 수 있으며, 이취 발생의 시점 또한 저장의 온도-시간 이력에 의하여 결정된다(Thomas *et al.*, 2007). 저장 온도가 변하는 조건에서의 품질 변화는 온도의존성에 따라 변하는 양상이 매우 달라진다. 온도의존성이 높은 경우 온도 차이에 의한 품질 변화가 큰 반면, 낮은 경우에는 품질 변화는 작게 된다. 즉, 온도의존성의 분석으로 품질의 변화를 예측할 수 있게 된다(Scott and Heldman, 1990). 이와 같이 이취발생을 검지할 수 있는 간접수단으로써의 품질인자를 온도의존성으로 분석함으로써, 이취발생의 온도의존성과 가장 가까운 온도의존성을 갖는 품질지표를 탐색하여야 한다.

따라서 본 연구에서는 쇠고기의 이취발생을 간접적으로 나타낼 수 있는 품질인자를 탐색하고자 온도의존성의 관점에서 상호관계를 분석하였다. 먼저, 쇠고기의 저장 중 특수관능기법인 R-index에 의한 이취검지시간을 탐지하였고, 이화학적, 물리적, 생물학적 품질인자를 측정하였다. 이취검지시간의 온도의존성의 관계식을 개발하여, 이에 따른 이취발생 indicator의 선별 요건을 유도하였다. 저장 중 온도-시간 이력에 대한 kinetic 상수 및 Arrhenius 상수를 각 품질인자에 대하여 산출하여 이취발생 indicator의 선별 요건과 비교 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 연구에서는 저렴하면서도 등심과 비슷한 식감을 주어 소비자들이 선호하는 채끝을 시료로 사용하였다. 시료로 사용된 쇠고기의 이력은 강원도 횡성군의 축사에서 2년간 사육되고 도축되어  $-2.5^{\circ}\text{C}$ 에서 20일 정도 보관된 1등급육을 사용하였다.

### 저장 실험

습득한 시료는 분석 용도에 맞게 정량하여, 50 mL 팔콘 튜브에 넣어 일반 랩포장과 유사한 조건으로 준비하였다. 각 시료들은 5, 15,  $25^{\circ}\text{C}$ 로 설정된 항온배양기(SH-75B, Biofree Co., Korea)에 보관하여 관능검사, 생물학적 분석, 이화학적 분석에 이용하였다.

### 관능 검사

#### 패널 선정

패널은 동국대학교 식품공학과 대학원생 15명을 선정하였다. 패널들에게  $30^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 보관되어 이취가 발생된 쇠고기인 signal reference와 냉장 온도인  $-2^{\circ}\text{C}$ 에서 보관되어 신선한 쇠고기인 noise reference를 일주일간 매일 30분씩 제공하여, 쇠고기 품미에 적응하는 사전훈련을 실시하였다. 사전훈련 후 삼점검사를 실시하여 패널의 구별 능력을 시험하였다(Robinson *et al.*, 2004; Park and Lee, 2008). 삼점검사는 signal reference와 noise reference의 두 가지 시료를 총 6가지 배치 방법으로 5회 실시 하였다(Kim and Koo, 2003).

#### R-index 관능검사

지름 15 cm의 하얀 접시에 시료를 10 g씩 준비하고, 무작위 세자리 숫자로 표기하였다. 패널은 쇠고기의 이취를 5초간 맡고 다음 시료에 미치는 영향을 줄이기 위하여 3분간 신선한 공기를 들이마셨다. 평가 결과는 제공된 평가표에 기재하였다.

제공된 평가표에는 시료의 확신 정도에 따라 “실험시료가 signal과 동일하며 확신한다.” signal sure(S), “실험시료가 signal과 동일하지만 확신할 수 없다.” signal unsure(S?), “실험시료가 noise와 동일하지만 확신할 수 없다.” noise unsure(N?), “실험시료가 noise와 동일하며 확신한다.” noise sure(N)의 4가지 카테고리 평가하였다. 관능 검사 중에도 패널들이 noise reference의 확신도가 떨어져 다시 인지하기를 원하면 제공하였다. 실험은 시료 별 총 5회 반복하여 측정하였다(Robinson *et al.*, 2004; Park and Lee, 2008).

R-index 및 저장 중 이취 발생 검지시간(threshold) 산출  
 측정된 R-index는 O'mahony(1992)에서 보고된 식 (1)로  
 계산하여 수치로 변환하였다. 이취검지를 구분하는 경계  
 점의 R-index값은 Bi와 O'mahony(1995)에 의해 정리된 통  
 계표를 이용하여 산출하고, 유의 수준은  $\alpha=0.05$  또는  
 $\alpha=0.01$ 의 양측검점(2 tails)을 적용하였다. 이취검지를 구  
 분하는 경계점 R-index는 통계표의 값의 50%를 더하여 평  
 가하였다. 그 이유는 통계표의 critical value는 이취가 검  
 지되지 않은 값인 50%로부터 얼마나 떨어 졌는지를 표현  
 한 값이기 때문이다(Bi and O'mahony, 1995; Park and  
 Lee, 2008).

	Signal sure(S)	Signal unsure(S?)	Noise unsure(N?)	Noise sure(N)	
Signal	a	b	c	d	Total = a+b+c+d
Noise	e	f	g	h	Total = e+f+g+h

$$R = \frac{a(f+g+h)+b(g+h)+c(h)+\frac{1}{2}(ae+bf+cg+dh)}{(a+b+c+d)(e+f+g+h)} \quad (1)$$

이취검지시간은 패널 각각의 산출된 값을 평균하였다  
 (Robinson *et al.*, 2004). 실험 반복 횟수는 5회이므로 통  
 계표에 n=5를 대입하여 경계점을 정하였다. 경계점 일 때  
 의 R-index를 해당 저장 온도의 이취 발생시간으로 정하  
 였다(Park and Lee, 2008).

### 생물학적 분석

#### *Pseudomonas* spp. 측정

각각의 시료 5 g을 멸균된 희석액 bufferfield's phosphate  
 buffer(IDF phosphate buffer 0.0425 g/L of KHPO adjusted  
 to pH 7.2)를 20 mL에 넣어 1분간 균일하게 마쇄한 뒤 다  
 시 buffer 25 mL을 첨가하였다. 0.9% NaCl을 사용하여 검  
 액을 알맞은 희석배수로 만들었다. 멸균해 놓은 배지에 20  
 mL의 cephalosporin fucidin cetrinide(CFC) supplement를  
 첨가한 후 균했다. 적정량의 검액을 배지에 도말하고, 30°C  
 에서 48시간 배양한 뒤 균락수를 계수하였다.

#### Lactic acid bacteria(LAB) 측정

LAB 의 측정도 마찬가지로 각각의 시료 5 g을 멸균된  
 희석액 bufferfield's phosphate buffer(IDF phosphate buffer  
 0.0425 g/L of KHPO adjusted to pH 7.2)를 20 mL에 넣어  
 1분간 균일하게 마쇄한 뒤 다시 buffer 25 mL을 첨가하였  
 다. 0.9% NaCl을 사용하여 검액을 알맞은 희석배수로 만  
 들었다. 미리 멸균한 MRS 배지와 적정량의 검액을 petri  
 dish에 부어 균한 다음 37°C에서 혐기적 조건으로 48시간  
 배양하였다. 미생물 실험은 3회 반복 실험을 하고, 시료 g  
 당 colony forming unit(CFU)로 나타내었다.

### 이화학적 분석

#### Volatile basic nitrogen(VBN) 측정

휘발성 염기태 질소는 식품공전(2002)에 기재된 Conway  
 법을 이용하여 측정하였다. 시료 5 g에 증류수 25 mL을 넣  
 고 잘 섞어 30분 간 침출 후 여과하고, 확산기 덮개에는  
 기밀제를 고무 발리주었다. 여과액에 5% 황산을 사용하여  
 약산성으로 중화시킨 후 확산기 외실 아래쪽에 1 mL을 넣  
 었다. 확산기 내실에 0.01 N 황산을 1 mL가한 뒤, 확산기  
 외실 위 쪽에 탄산칼륨 포화용액 1 mL을 넣고 덮개를 덮  
 어 외실의 용액을 섞어 주었다. 이때 외실과 내실의 용액  
 이 섞이지 않게 주의하여야 한다. 25°C에서 60분 정치 후  
 황산용액에 미리 만들어 둔 Brunswick 시약을 한 방울 떨  
 어뜨린다. Brunswick 시약은 메틸레드 0.2 g 및 메틸렌블루  
 0.1 g을 에탄올 300 mL에 녹이고 여과한 시약을 말한다.  
 그 후 0.01 N 수산화나트륨 용액으로 적정하여, 아래의 식  
 (2)를 이용하여 환산하였다.

$$VBN(mg) = 0.14 \times \frac{(b-a) \times f}{W} \times 100 \times d \quad (2)$$

여기서 a는 본 실험에서의 적정치(mL), b는 공실험의 적  
 정치(mL), d는 희석배수, W는 시료의 양(g), f는 0.01 N  
 NaOH의 역가를 의미한다(KFDA, 2002).

#### pH 측정

pH 측정의 시료는 근섬유 방향으로 2×2×2.5 cm(가로×  
 세로×길이) 잘라서 측정하였으며, 고체시료 전용의 센서  
 가 장착되어 있는 pH meter(Seven Multi, Mettler Toledo.  
 Co., Ltd., USA)를 사용하여 시료 내부의 pH를 측정하였다.

#### 육색 측정

시료의 조건은 pH 측정과 동일하며, Chroma meter  
 (Model CR-300, Minolta Co., Japan)를 사용하여 CIE  
 system의 L\*, a\*, b\* 값을 산출하였다.

#### Warner-Bratzler shear force(WBSF) 측정

WBSF 측정은 Combes 등(2003)의 방법에 의하여 시료  
 를 근섬유 방향으로 1×1×2 cm(가로×세로×길이) 잘라서  
 측정하였다. Texture Analyzer(TA-XT2, Stable Micro  
 Systems, UK)에 Warner-Bratzler blade를 장착하여 측정하  
 였다. 기기 조건은 pre-test speed 2.0 mm/s, test speed  
 2.0 mm/s, post-test speed 5.0 mm/s로 실시하였다.

#### 저장 중 품질변화 kinetic 및 온도의존성 분석

관능적 R-index에 의한 이취검지시점  
 관능적 이취검지시점의 온도의존성으로 비교 분석하기

위하여 이취검지시점인  $t_R$ 의 역수를 취하여 이취생성 반응속도의 개념으로 간주하여 Arrhenius-like 식을 가정하여 적용하였다.

$$\frac{1}{t_R} = A \cdot \exp\left(\frac{-Ea.A}{R \cdot T}\right) \quad (3)$$

여기서  $t_R$ 은 이취검지시간(h), A는 pre-exponential factor (1/h),  $Ea.A$ 는 활성화에너지(kJ/mol), R은 이상기체상수 ( $8.314 \times 10^{-3}$  kJ/K, mol), T는 절대온도(K)를 의미한다. 식 (3)의 양변에 로그를 취하여 식 (4)을 유도하였으며 Arrhenius 상수값을 회귀분석하여 산출하는데 사용하였다.

$$\ln\left(\frac{1}{t_R}\right) = \ln A + \left(\frac{-Ea.A}{R}\right)\left(\frac{1}{T}\right) \quad (4)$$

#### 생물학적, 이화학적 품질인자

저장 온도 별 실험 결과인 생물학적, 이화학적 품질인자의 반응속도상수를 구하는 식은 아래와 같다. 품질인자의 변화 kinetics는 0차 혹은 1차로 간주하였으며, 0차 반응일 경우 식 (5), 1차 반응일 경우 식 (6)를 이용하였다.

$$y = k \cdot t + y_0 \quad (5)$$

$$y = y_0 \cdot \exp(k \cdot t) \quad (6)$$

여기서 k는 반응속도상수(1/h), t는 경과 시간(h), y는 측정값,  $y_0$ 는 초기값을 의미한다. 1차 반응일 경우의 식(6)은 exponential 함수이므로 양변에 자연로그를 취하면 식(5) 형태의 1차 함수식이 된다. 다시 말하여 선형 함수식으로 변형되며 식 (7)과 같다.

$$\ln y = \ln y_0 + k \cdot t \quad (7)$$

품질인자가 0차 반응인지 1차 반응인지 여부에 따라 식 (5) 또는 식 (7)을 사용하였다. 각 품질인자의 반응속도상수는 온도의존성을 나타내는 Arrhenius 식 (8)으로 표현된다.

$$k = B \cdot \exp\left(\frac{-Ea.B}{R \cdot T}\right) \quad (8)$$

여기서 k는 반응속도상수(1/h)이고 B는 식 (3)의 A와 같이 pre-exponential factor를 의미한다. 식 (8)의 양변에 로그를 취하여 식 (9)을 유도하였으며 Arrhenius 상수값을 회귀분석하여 산출하는데 사용하였다.

$$\ln k = \ln B + \left(\frac{-Ea.B}{R}\right)\left(\frac{1}{T}\right) \quad (9)$$

#### 이취발생 indicator의 선발요건 알고리즘

저장 중 온도 조건과 무관하게 이취가 발생하는 시점에서 항상 일정한 값을 보이는 품질인자를 탐색하기 위하

여 다음과 같은 알고리즘을 개발하였다. 이취검지시점  $t_R$ 까지의 품질인자의 변화는 0차 반응의 식 (5) 또는 1차 반응의 식 (7)에 식 (3)을 대입하여 다음과 같이 계산된다.

$$y - y_0 = k \cdot t_R - \frac{B \cdot \exp\left(\frac{-Ea.B}{R \cdot T}\right)}{A \cdot \exp\left(\frac{-Ea.A}{R \cdot T}\right)} \quad (10)$$

$$\ln y - \ln y_0 = k \cdot t_R - \frac{B \cdot \exp\left(\frac{-Ea.B}{R \cdot T}\right)}{A \cdot \exp\left(\frac{-Ea.A}{R \cdot T}\right)} \quad (11)$$

식 (10)과 식 (11)로 부터 이취검지시간의 활성화에너지  $Ea.A$ 와 생물학적 또는 이화학적 품질인자의 활성화에너지  $Ea.B$ 가 서로 같으면 품질변화는 B/A(일정한 상수값)로 계산되어 이취검지시점에서는 온도와 상관없이 항상 일정한 값을 보임을 알 수 있다. 결과적으로 이취발생을 대변할 수 있는 최적의 품질인자는 이취검지시간의 온도의존성과 동일해야 한다는 법칙을 개발하였으며, 이에 따라 가장 적합한 품질인자를 선별하였다.

#### 통계분석

패널 각각의 R-index 값의 15인에 대한 평균 및 표준편차를 산출하였고,  $\alpha=0.01$ 과 0.05 수준에서의 R-index 값들의 비교는 t-test를 통하여 그 유의성을 검정하였다. Kinetic model 상수와 Arrhenius 상수는 회귀분석하여 산출하였다. 통계 프로그램으로 MS Excel(2007)과 SPSS 14.0버전(2006)을 사용하였다.

## 결과 및 고찰

#### 쇠고기 이취에 관한 패널의 R-index

패널의 시료에 대한 친숙도를 향상을 위하여 실시된 사전 훈련과 삼점검사는 이취가 발생한 signal reference와 이취가 없고 신선한 noise reference를 이용하여 진행하였다. 삼점검사 결과 패널 모두 정답률 60% 이상을 통과하여 추가 사전훈련 없이 바로 R-index를 이용한 판능검사를 실시하였다.

R-index값은 O'mahony(1992)에 의해 정리된 식 (1)을 이용하여 수치로 환산하였고, 쇠고기 저장 온도 별 시간에 대한 R-index의 평균값은 Table 1로 나타내었다. 저장 온도가 높은 25°C에서 가장 빨리 R-index 최고치에 도달하였다. 25°C에서는 24시간, 15°C에서는 72시간, 5°C에서는 168시간에서 가장 높은 R-index 값을 기록하여, 저장 시간이 길어 질수록 signal reference로 변화함을 알 수 있었다(Argaiz *et al.*, 2005).

**Table 1. R-index vs. storage time for beef stored in an airtight container at 25°C, 15°C and 5°C.**

Temperature		Time (h) vs. R-index (%)								
25°C	Time	12	18	24	36					
	R-index	63.33 ±5.81 <sup>1)</sup>	99.85 ±0.25	100.0 ±0.31	100.0 ±0.12					
15°C	Time	18	36	42	48	60	66	72		
	R-index	51.00 ±0.56	52.22 ±3.85	56.67 ±3.58	61.48 ±6.35	95.85 ±2.68	99.04 ±1.00	100.0 ±0.12		
5°C	Time	36	60	72	96	108	132	144	156	168
	R-index	51.00 ±0.97	53.33 ±4.7	56.67 ±3.85	60.37 ±4.64	63.33 ±4.05	67.77 ±5.60	71.84 ±5.09	95.56 ±3.08	100.5 ±2.01

<sup>1)</sup> Mean±standard deviation (n=15).

**R-index에 의한 이취검지시간**

이취검지시간은 Bi와 O'mahony(1995)에 의해 보고된 통계표를 사용하여 경계점의 R-index 를 정하였다. 통계표에 의한 유의적 수준은  $\alpha=0.05$ 에서 35%,  $\alpha=0.01$ 에서 39.49%였으며, 각 50%(chance value)를 더하여 85%와 89.49%를 이취발생 R-index 경계점으로 정하였다. 패널 개인의 온도 별 이취검지시간을 구하고, 전체 평균한 결과는 Table 2와 같다. 25°C에서는  $\alpha=0.05$  유의수준의 경계점을 약 15.44시간에  $\alpha=0.01$  유의수준의 경계점을 약 16.21시간에 넘어 이취가 검지되었고, 15°C에서는  $\alpha=0.05$  유의수준의 경계점을 약 56.11시간에  $\alpha=0.01$  유의수준의 경계점을 약 57.67시간에 넘어 이취가 검지되었으며, 5°C에서는  $\alpha=0.05$  유의수준의 경계점을 약 151.43시간에  $\alpha=0.01$  유의수준의 경계점을 약 153.50시간에 넘어 이취가 검지되었다. 이취검지시간을 넘은 후에는 R-index 값이 서서히 증가 하였다. 저장 온도 별  $\alpha=0.05$ 와  $\alpha=0.01$  유의수준의 경계점 시간을 비교하면 5°C에서 보관된 것이 약 2.07시간으로 가장 큰 차이를 나타내었다. 이는 5°C 일 때 이취의 변화 양상이 비교적 서서히 일어났음을 의미한다. 온도의존성 비교 분석은 보다 더 명확하다고 판단되는  $\alpha=0.01$  유의수준의 이취검지시간을 이용하였다.

**저장 중 생물학적 품질변화**

온도 별 저장 중 쇠고기의 *Pseudomonas* spp., LAB 증식을 측정하는 것은 Fig. 1(a), (b)과 같다. 저장온도가 다른 세가지 시료를 살펴볼 때 저장 기간이 증가하거나 저장온도가 높을수록 균이 빠른 속도로 증가하였다. 쇠고기 미생물의 수가 6-7 Log CFU/g에 도달하면 부패가 되고, 9 Log CFU/g일 때 성장이 멈춘다고 보고하였다(Shin et al., 2006). *Pseudomonas* spp.의 경우 25°C에서는 저장 24시간, 15°C에서는 저장 48시간, 5°C에서는 132시간 일 때 6 Log CFU/g에 도달하여 부패가 시작되었음을 알 수 있었다. 그 후에도 저장 온도 별 *Pseudomonas* spp.의 수는 9-10 Log CFU/g까지 증가하는 양상을 보였다.

LAB는 Nattress와 Jeremiah(2003)의 연구 결과 균락수

**Table 2. Off-flavor development time for beef stored in an airtight container at R-index values of threshold at  $\alpha=0.05$  and 0.01**

Significance level	Off-flavor development time (h)		
	25°C	15°C	5°C
$\alpha=0.05$	15.44±0.72 <sup>1),a</sup>	56.11±1.41 <sup>b</sup>	151.43±0.28 <sup>c</sup>
$\alpha=0.01$	16.21±0.51 <sup>a</sup>	57.67±1.20 <sup>b</sup>	153.50±0.76 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup> Mean±standard deviation (n=15).

<sup>a-c</sup> Means with different superscripts in the same rows are significantly different ( $p<0.05$ , n=15).

가 5 Log CFU/g에 도달하였을 때 패널이 허용 할 수 없을 정도의 이취가 발생되어 식이가 어렵다고 보고된 바 있다. 측정된 LAB의 균락수는 초기값인 2 Log CFU/g에서 서서히 증가하여, 이취검지시점에서 15, 25°C에서는 동일하게 5 Log CFU/g로 증가하였지만, 5°C에서는 4 Log CFU/g이어서 온도의존성이 조금 높게 나타날 것으로 보여진다. 이로 미루어 보아 저온을 제외하면 LAB의 증식이 이취 발생에 깊은 연관성이 있다고 예상된다.

**저장 중 이화학적 품질변화**

저장 중 쇠고기는 내인성 효소와 미생물의 작용으로 인하여 육단백질이 저분자 무기질소 화합물인 펩타이드와 아미노산으로 분해 되어 VBN 함량은 상승하게 된다(Al-Masri and Al-Bachir, 2007). 저장시간에 따른 VBN의 함량의 변화는 Fig. 1(c)에 나타내었다. VBN 또한 초기값은 5.76 mg%이었으나 저장시간의 경과, 저장온도가 높을수록 급속하게 증가하였다. Park 등(1988)의 VBN의 함량이 15 mg% 이상이 되면 이취가 발생한다고 보고하였고, 식품공전에 서는 포장육의 경우 VBN의 함량이 20 mg% 이하로 규정되어 있다. 저장 온도가 25°C일 경우 36-48시간, 15°C일 경우 48-60시간, 5°C일 경우 144-156시간에서 VBN 값이 18 mg% 이상으로 증가하여 부패되었음을 알 수 있었다. 또한 15°C에서 138시간일 때 최고치인 29.05 mg%를 기록하였다.

Nattress 등(2000)의 연구에서 쇠고기 저장 중 pH의 변

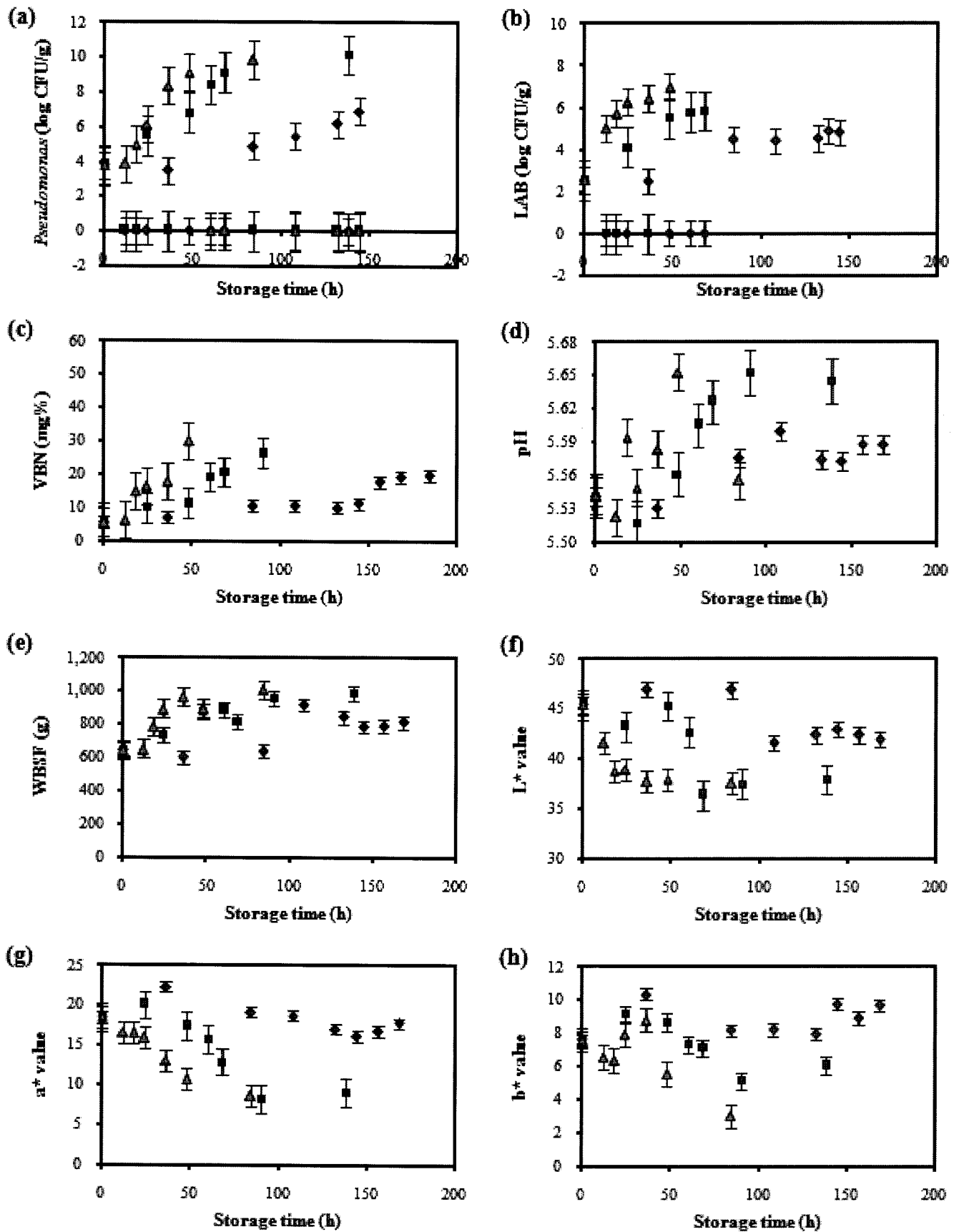


Fig. 1. Changes of the quality variables of meat during storage at different temperatures. ◆ 5°C, ■ 15°C, ▲ 25°C. (a): *Pseudomonas* spp., (b): LAB, (c): VBN, (d): pH, (e): WBSF, (f): L\* value, (g): a\* value, (h): b\* value.

화는 점차 증가한다고 보고한바 있다. 저장 중 pH가 증가 원인은 유리아미노산의 생성, 숙성 중 단백질의 완충물질의 변화, 전해질 해리의 감소 및 암모니아의 생성과 아미노산의 분해로 인한 것이다(Shin *et al.*, 2006). 저장 시간에 따른 pH의 변화 양상은 Fig. 1(d)와 같으며, 본 연구도 초기 pH 5.54±0.015에서 pH 5.65±0.113까지 상승하여, 기존 연구와 유사한 결과를 나타내었다.

Warner-Bratzler blade로 측정된 전단력의 결과는 Fig. 1(e)와 같다. 저장기간이 길어질수록 WBSF은 증가하였으나, 이취검지시점의 온도 별 유의성은 나타내지 않았다.

L\*, a\*, b\*값의 산출 결과는 Fig. 1(f), (g), (h)에 나타내었다. 저장 온도 별 L\*, a\*, b\*값은 저장 온도에 따라 변화 속도의 차이를 보였으나 점차적으로 감소하였다. 25°C에서 저장된 쇠고기의 경우 이취검지구간에서 L\*, a\*, b\*값이 급격히 감소하는 것에 반하여 5°C에서 저장된 쇠고기의 경우 매우 서서히 감소하였다. 저장 온도 별의 이취검지시간에 해당되는 값을 비교하여 보면, 특히 a\*값의 경우 이취가 검지되었을 때 모든 저장 온도에서 약 16정도의 값을 동일하게 보였다. 이는 저장 온도에 따른 변화속도 차이는 있으나 이취발생과 유사하게 변화함을 알 수 있었다.

저장 중 쇠고기 이취발생 indicator의 선별

이취발생을 간접적으로 나타낼 수 있는 품질인자를 탐

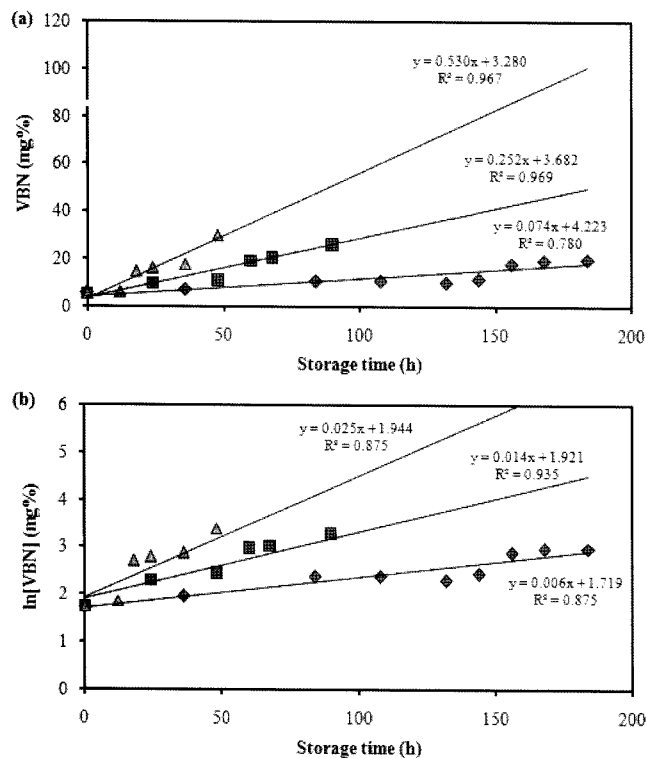


Fig. 2. Sample data fitting for one quality variable (VBN value) of beef stored in an airtight container by regression analysis with kinetic Eq. (5) and (7) of 0<sup>th</sup> (a) and 1<sup>st</sup> (b) order reactions, respectively.

색하기 위하여 이취발생 indicator의 요건인 온도의존성을 분석하였다. 먼저 각 품질인자의 kinetic 상수를 산출하기 위하여 가능한 0차 반응인 식 (5)와 1차 반응인 식 (7)을 적용하여 저장 중 각 품질인자의 측정 데이터를 Fig. 2와 같이 회귀분석 결과는 Table 3과 같았다. 먼저 반응차수를 결정하기 위하여 결정계수(R<sup>2</sup>)를 비교해보면 기존에 알려진 바와 같이 *Pseudomonas spp.*와 LAB는 1차 반응이였으며, VBN의 함량 변화는 0차 반응에 더 가까웠으며, L\*, a\*, b\*값, pH, WBSF은 특정 반응차수에 치우침이 없이 모호하게 나타났다.

다음 단계로 쇠고기 품질인자의 반응속도 상수에 대한 온도의존성 및 활성화에너지를 포함한 Arrhenius 상수값을 구하기 위하여 식 (10) 또는 식 (11)을 사용하여 Fig. 3과 같이 회귀분석한 결과는 Table 4와 같았다. pH와 VBN의 활성화에너지가 매우 유사하였으며, 특히 육색의 b\*값이 매우 큰 것으로 나타났다. 하지만 육색의 b\*값의 경우 결정계수(R<sup>2</sup>)가 0.566으로 매우 낮아 구해진 활성화에너지의 정확도는 매우 낮다고 판단된다.

최종적으로 이취검지시간의 온도의존성은 본 연구에서

Table 3. Kinetic constant (k) in Eq. (5) and (6), and goodness of fit for beef quality variables from regression analysis with 0<sup>th</sup> and 1<sup>st</sup> order reactions

	Temperature (°C)	0 <sup>th</sup> order reaction		1 <sup>st</sup> order reaction	
		k(1/h)	R <sup>2, 1)</sup>	k(1/h)	R <sup>2, 1)</sup>
<i>Pseudomonas spp.</i> (log CFU/g)	5	-	-	5.3×10 <sup>-2</sup>	0.899
	15	-	-	1.08×10 <sup>-1</sup>	0.849
	25	-	-	1.93×10 <sup>-1</sup>	0.845
LAB (log CFU/g)	5	-	-	4.1×10 <sup>-2</sup>	0.887
	15	-	-	1.16×10 <sup>-1</sup>	0.964
	25	-	-	1.93×10 <sup>-1</sup>	0.082
VBN (mg%)	5	7.4×10 <sup>-2</sup>	0.780	6×10 <sup>-3</sup>	0.875
	15	2.52×10 <sup>-1</sup>	0.969	1.4×10 <sup>-2</sup>	0.935
	25	5.3×10 <sup>-1</sup>	0.967	2.5×10 <sup>-2</sup>	0.875
L* value	5	-2.8×10 <sup>-2</sup>	0.584	-1.0×10 <sup>-3</sup>	0.587
	15	-6.4×10 <sup>-2</sup>	0.563	-2.0×10 <sup>-3</sup>	0.554
	25	-7.4×10 <sup>-2</sup>	0.526	-2.0×10 <sup>-3</sup>	0.540
a* value	5	-2.1×10 <sup>-2</sup>	0.455	-1.0×10 <sup>-3</sup>	0.468
	15	-9.1×10 <sup>-2</sup>	0.783	-7.0×10 <sup>-3</sup>	0.763
	25	-1.25×10 <sup>-1</sup>	0.941	-1.0×10 <sup>-2</sup>	0.960
b* value	5	4.0×10 <sup>-3</sup>	0.067	5.5×10 <sup>-4</sup>	0.085
	15	-2.1×10 <sup>-2</sup>	0.496	-3.0×10 <sup>-3</sup>	0.493
	25	-5.0×10 <sup>-2</sup>	0.538	-1.0×10 <sup>-2</sup>	0.645
pH	5	3.2×10 <sup>-4</sup>	0.651	6.0×10 <sup>-5</sup>	0.651
	15	1.02×10 <sup>-3</sup>	0.741	2.0×10 <sup>-4</sup>	0.740
	25	5.0×10 <sup>-4</sup>	0.102	4.0×10 <sup>-4</sup>	0.103
WBSF (g-force)	5	1.349	0.520	1.0×10 <sup>-3</sup>	0.554
	15	2.438	0.830	3.0×10 <sup>-3</sup>	0.808
	25	4.396	0.716	5.0×10 <sup>-3</sup>	0.685

<sup>1)</sup>Determination coefficient (R<sup>2</sup>)

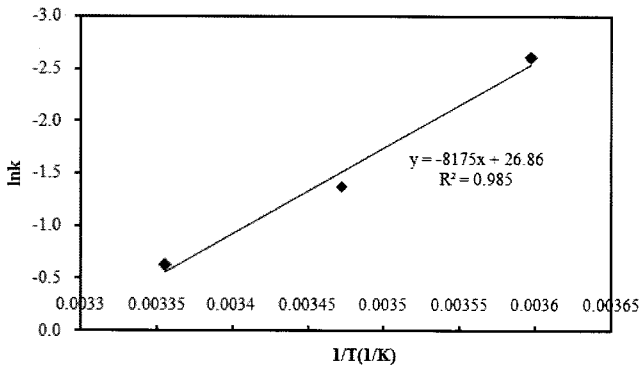


Fig. 3. Sample data fitting for one quality variable (VBN reaction content) of beef stored in an airtight container by regression analysis with Arrhenius equation Eq. (9).

Table 4. Arrhenius constants (A, B, and Ea) in Eq. (4) and (8), and goodness of fit for beef quality variables from regression analysis with Arrhenius equation.

	A (1/h)	B (1/h)	Ea (kJ/mol)	R <sup>2</sup> (1)
<i>Pseudomonas</i> spp.	-	1.25×10 <sup>7</sup>	44.538 (1 <sup>st</sup> ) <sup>2)</sup>	0.998
LAB	-	5.09×10 <sup>8</sup>	53.539 (1 <sup>st</sup> )	0.970
VBN	-	4.62×10 <sup>11</sup>	67.967 (0 <sup>th</sup> ) <sup>3)</sup>	0.985
L* value	-	6.75×10 <sup>4</sup>	33.722 (0 <sup>th</sup> )	0.872
a* value	-	1.05×10 <sup>10</sup>	61.856 (0 <sup>th</sup> )	0.891
b* value	-	8.88×10 <sup>-21</sup>	105.01 (0 <sup>th</sup> )	0.566
pH	-	1.31×10 <sup>8</sup>	65.506 (1 <sup>st</sup> )	0.982
WBSF	-	5.82×10 <sup>7</sup>	40.664 (0 <sup>th</sup> )	0.999
1/t <sub>R</sub>	2.03×10 <sup>12</sup>	-	77.270	0.991

<sup>1)</sup>Determination coefficient (R<sup>2</sup>)

<sup>2)</sup>1<sup>st</sup> order reaction (1<sup>st</sup>)

<sup>3)</sup>0<sup>th</sup> order reaction (0<sup>th</sup>)

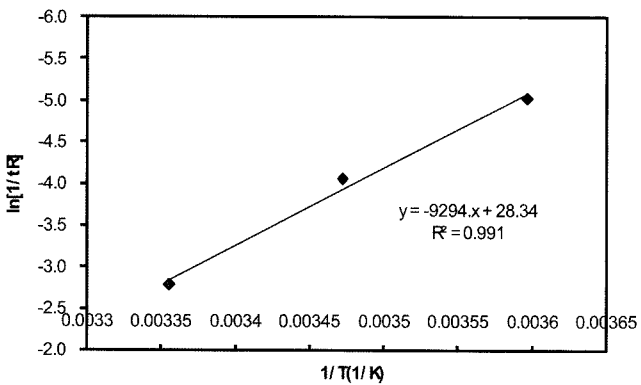


Fig. 4. Data fitting for reciprocals of off-flavor development time (1/t<sub>R</sub> in Eq. (3)) based on R-index of beef stored in an airtight container by regression with Arrhenius equation Eq. (4).

제안된 식 (4)를 사용하여, α=0.01 유의수준의 이취검지시간을 회귀분석하였다. 회귀분석 결과는 Fig. 4과 같았으며 Arrhenius 상수값은 Table 4와 하단에 나타내었다. 이취발생 indicator의 요건인 온도의존성은 결과적으로 VBN, pH,

a\*값, LAB, *Pseudomonas* spp., WBSF, L\*값, b\*값 순의 활성화에너지가 이취검지시간의 활성화에너지와 유사하게 나타났다. 이취검지시간의 활성화에너지와 유사하다고 판단되는 상위 그룹인 VBN, pH, a\*값 등의 실험 결과를 살펴보면 이취가 검지되는 시점의 전, 후로 값들이 급격히 상승하는 양상을 보이며, 온도와 상관 없이 이취검지시간에 대부분 일정한 값들을 나타내었다. 이는 회귀분석의 결과와 동일하게 온도의존성이 유사함을 의미한다. 또한 LAB와 *Pseudomonas* spp.는 이취검지시간의 활성화에너지와 유사성이 중간 정도로 평가되었는데, 이는 미생물의 특성상 온도 조건에 따른 활성이 다르기 때문에 그러한 결과를 얻었다고 보여진다. 이에 반하여 WBSF, L\*값, b\*값은 온도의존성이 유사하지 않고, 변화 추세를 보이더라도 이취검지시점에서의 값들이 일관성이 없어, 저장 중 변화하지만 이취발생에는 직접적으로 작용하지 않는 사실을 유추할 수 있다.

Stivarius 등(2002)에 의하면 육색은 저장 시 표면에 접촉되는 산소에 따라 변화의 양상이 달라진다고 보고한 된 바 있으며, 이는 식육 색소인 myoglobin의 산화에 의한 것으로 보여진다. 또한 pH의 경우 변화의 폭이 비교적 크지 않고, 시료 별 큰 오차를 나타낸다. 이로 미루어볼 때 육색의 a\*값과 pH는 본 연구에서는 이취검지시간과 유사한 온도의존성을 보였으나 환경적 변수가 발생될 경우 동일하다고 판단하기 어렵다. 이에 반하여 VBN의 경우 외부의 영향 보다는 쇠고기의 내인하는 효소와 미생물의 작용에 의해 이루어지고, 식이한계에 대한 기준치가 제시되어 있어 보다 정확한 품질인자라고 판단된다. 따라서 쇠고기의 이취발생 indicator는 여러 품질인자 중 변화의 양상이 뚜렷하고 가장 온도의존성이 유사한 VBN인 것으로 사료된다.

요 약

쇠고기의 저장 중 이취발생을 대변할 수 있는 품질인자를 탐색하고자 온도의존성의 관점에서 상호관계를 분석하였다. 특수관능기법인 R-index에 의한 이취검지시간을 탐지하였고, 이화학적, 생물학적 품질인자를 측정하였다. 먼저, 이취검지시간의 온도의존성의 관계식을 개발하여, 이에 따른 이취발생 indicator의 선별 요건을 유도하였다. 이화학적 분석은 VBN, pH, 육색, Warner-Bratzler shear force, 그리고 생물학적 분석은 *Pseudomonas* spp., Lactic acid bacteria를 대상으로 하였다. 품질인자의 온도의존성은 Arrhenius 상수인 활성화에너지를 사용하여 분석하였다. 그 결과 VBN, pH, a\*값, LAB, *Pseudomonas* spp., WBSF, L\*값, b\*값의 순으로 이취발생과의 온도의존성이 유사하게 나타났으며, 상위권에 있는 pH와 a\*값에 비하여 환경적 요인에 안정한 VBN이 쇠고기 저장 중 이취발생



의 최적 indicator인 것으로 탐색되었다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부에서 주관하는 농림기술개발 연구과제의 일부로 이루어진 바, 이에 감사 드립니다.

## 참고문헌

1. Al-Masri, M. R. and Al-Bachir, M. (2007) Microbial load, acidity, lipid oxidation and volatile basic nitrogen of irradiated fish and meat-bone meals. *Bioresource Technol.* **98**, 1163-1166.
2. Argaiz, A., Pérez-Vega, O., and López-Malo, A. (2005) Sensory detection of cooked flavor development during pasteurization of a guava beverage using R-index. *J. Food Sci.* **70**, S149-S152.
3. Bi, J. and O'Mahony, M. (1995) Table for testing the significance of the R-index. *J. Sensory Stud.* **10**, 341-347.
4. Combesa, S., Lepetit, J., Darchea, B., and Lebas, F. (2003) Effect of cooking temperature and cooking time on Warner-Bratzler tenderness measurement and collagen content in rabbit meat. *Meat Sci.* **66**, 91-96.
5. Goka, V., Obuzb, E., and Akkaya, L. (2008) Effects of packaging method and storage time on the chemical, microbiological, and sensory properties of Turkish pastirma-A dry cured beef product. *Meat Sci.* **80**, 335-344.
6. KFDA. Food code. (2002) Korea Food and drug Administration. Seoul, Korea, pp. 222-223.
7. Kim, W. J. and Koo, G. H. (2003) Sensory Evaluation of Food. Hyoil Publishing Co., Korea, pp. 40-45. (in Korean)
8. Montgomery, J. L., Parrish, F. C., Olson, D. G., Dickson, J. S., and Niebuhr S. (2003) Storage and packaging effects on sensory and color characteristics of ground beef. *Meat Sci.* **64**, 357-363.
9. Nattress, F. M. and Jeremiah, L. E. (2000) Bacterial mediated off-flavour in retail-ready beef after storage in controlled atmospheres. *Food Res Int.* **33**, 743-748.
10. O'Mahony, M. (1992) Understanding discrimination tests: a user-friendly treatment of response bias, rating and ranking R-index tests and their relationship to signal detection theory. *J. Sensory Stud.* **7**, 1-47.
11. Park, G. B., Kim, Y. J., Lee, H. G., Kim, J. S., and Kim, Y. H. (1988) Changes in Freshness of meat during postmortem storage. *J. Anim. Sci.* **30**, 672-677.
12. Park, H. J. and Lee, S. J. (2008) Sensory detection of off-flavor development during pasteurization of Aloe vera gel using R-index. *Food Eng. Prog.* **12**, 235-240.
13. Park, K. B. (2004) Meat Science. Sun Jin Mun Hwa Sa, Seoul, Korea, pp. 211. (in Korean)
14. Robinson, K. M., Klein, B. P., and Lee, S. Y. (2004) Utilizing the R-index measure for threshold testing in model soy isoflavone solutions. *J. Food Sci.* **69**, S1-S4.
15. Robinson, K. M., Klein, B. P., and Lee, S. Y. (2005) Utilizing the R-index measure for threshold testing in model caffeine solutions. *Food Qual. Prefer.* **16**, 283-289.
16. Scott, E. P. and Heldman, D. R. (1990) Simulation of temperature dependent quality deterioration in frozen foods. *J. Food Eng.* **11**, 43-65.
17. Shin, H. Y. Ku, K. J., Park, S.K., and Song, K. B. (2006) Use of freshness indicator for determination of freshness and quality change of beef and pork during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 325-330.
18. Scott, E. P. and Heldman, D. R. (1990) Simulation of temperature dependent quality deterioration in frozen foods. *J. Food Eng.* **11**, 43-65.
19. Stivarius, M. R., Pohlmanb, F. W., McElyeab, K. S., and Appleb, J. K. (2002) Microbial, instrumental color and sensory color and odor characteristics of ground beef produced from beef trimmings treated with ozone or chlorine dioxide. *Meat Sci.* **60**, 299-305.
20. Thomas, R., Anjaneyulu, A. S. R., Gadekar, Y. P., Pragati, H., and Kondaiah, N. (2007) Effect of comminution temperature on the quality and shelf life of buffalo meat nuggets. *Food Chemistry.* **103**, 787-794.
21. Villegas, B., Carbonell, I., and Costell, E. (2007) Inulin milk beverages: Sensory difference in Thickness and creaminess using R-index analysis of the ranking data. *J. Sensory Stud.* **22**, 377-393.
22. Wilkes, J. G., Conte, E. D., Kim, Y. K., Holcomb, M., Sutherland, J. B., and Miller, D. W. (2000) Review sample preparation for the analysis of flavors and off-flavors in foods. *J. Chromatogr A.* **880**, 3-33.
23. Zakrys, P. I., Hogan, S. A., O'Sullivan, M. G., Allen, P., and Kerry, J. P. (2008) Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Sci.* **79**, 648-655.

(Received 2009.4.7/Revised 2009.5.14/Accepted 2009.5.21)