

## 최근 원유의 미생물학적 품질

건국대학교 낙농학과  
정 충 일

### I. 序 論

지난 1983년 서울우유에서 시작한 탱크로리에 의한 집유방식의 개선과 cold-chain system의 도입을 기점으로 우리 나라 원유의 미생물학적 품질이 크게 향상되었다. 1980년대 초 경기도 일부지역에서 집유한 원유 1ml당 세균수가 1,000만대(하절기)이었던 것이 1985년 부터는 연평균 세균수가 1ml당 100만대의 고른 분포를 나타내어 불과 4~5년 사이에 세균수가 1/10로 크게 감소하였다.<sup>35)</sup> 특히 상온에서 잘 생육하는 대부분의 병원성 균이나 부패균 등 일반 증온성 균이 현저하게 감소하였다. 그러나 우리 나라 원유는 세균수가 법적 허용기준인 1ml당 400만 이내로 들어오기는 하지만 10만 이하의 수준에 비하면 아직도 요원하며 그 후 현재까지 유질개선을 위한 추가적인 조치가 이루어지지 않았고 목장에서 위생관리상태도 별로 나아진 것이 없으므로 아직도 지역별, 농가별로 상당한 차이가 있으나 5~6년 전에 비해 미생물학적 측면에서 더 이상의 유질 향상은 이루어지지 못하고 있는 실정이다.

아무리 위생적으로 착유된 원유라도 농가에서의 저장조건, 집유 및 공장까지의 운송방법 등에 따라 원유의 세균수에 상당한 변화가 생긴다. 中江<sup>34)</sup>에 의하면 착유 직후 원유의 세균수가  $10^3/ml$  이던 것이 우유켄이나 파이프라인의 단계에서  $10^4 \sim 10^5/ml$ 이 되었고 공장 수유시에는  $10^5 \sim 10^7/ml$ 에 달하였다고 하였다.

현재 우리 나라 원유의 세균수도 대개 이와 비슷한 수준으로 생각된다. 그리고 과거에 별

로 문제시하지 않았던 저온세균수가 최근 현저하게 증가하여 공장 수유시 원유의 저온 세균수가 일반 세균수를 능가하는 경우가 많이 발견되고 있어 새로운 문제로 등장하고 있다. 특히 저온 유통방식에서는 저온세균이 우유와 유제품의 보존성이나 품질을 결정하는 중요한 요인의 하나로 지적되고 있음에도 불구하고 국내에서는 아직까지 이러한 균이나 이 균에 유래하는 효소들의 작용에 대해 보고된 것이 별로 없다. 이에 대한 끊임없는 연구가 이루어져야 하리라 생각하며 여기에서는 저온세균의 특성과 문제점 및 대책을 알아보려고 한다.

### II. 低溫細菌의 種類와 分布

저온세균은 자연계에 널리 분포되어 있으며 박테리아, 효모, 곰팡이 등이 포함된다. 저온세균은 대체로 20~25°C의 발육적온을 갖고 있으며 10°C 이하에서도 증식하여 우유의 풍미에 중대한 영향을 미칠 뿐 아니라 단백질과 지방을 분해하여 우유 및 유제품의 변질을 초래하는 가장 중요한 원인균이다. 우유 및 유제품으로부터 분리되는 저온세균은 간균과 구균, 그람음성균과 그람양성균, 유포자균과 무포자균, 호기성 균과 통성 혐기성 균 및 혐기성 균 등으로 분류되는데 *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus* 등이 주종을 이루고 있다(Table. 1).<sup>5, 24, 32)</sup> 이중 원유에서 발견되는 균의 대부분이 그람음성 간균인 *Pseudomonas* spp. 로 확인되었다.<sup>7, 16)</sup>

Table 1. Psychrotrophic microorganisms found in fresh raw milk.

Thermoduric & Psychrotrophic genera	Psychrotrophic genera
<i>Microbacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Acinetobacter</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Flavobacterium</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Aerobacter</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Alcaligenes</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Bacillus</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Arthrobacter</i>

호기성 그람음성 간균으로는 *Flavobacterium*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas* 등이 있으며, 특히 *Pseudomonas*는 우유와 유제품에서 단백질 및 지방 분해작용에 관여하며 가장 흔한 냉장우유의 부패균으로 알려져 있다.<sup>3, 6, 31)</sup> 가장 대표 적인 *Ps fluorescens*는 카제인을 분해하며 일반적으로 썩음발생보다 강한 효소가 카제인에 작용할 경우 멸균유의 gel화가 일어난다.<sup>11)</sup>

원유에서 검출되는 그람양성의 저온세균은 그 숫자에서 그람음성균보다는 훨씬 적지만 이들의 존재 역시 우유의 미생물학적 품질에 큰 영향을 주고 있다. 이들은 우유의 살균처리에도 불구하고 생존하거나 포자를 형성하여 살균유의 부패에 관여한다.<sup>29, 30)</sup> 또한 일부 그람양성의 저온세균 중에는 상당한 내열성을 갖고 있어 제품의 보존성을 저하시키고 있으며, 간균 또는 구균으로써 *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* 등이 있다.<sup>22, 27)</sup>

원유의 저온세균수는 위생적으로 착유된 경

우 총균수의 10% 이하가 보통이나 저온저장중 쉽게 우세균으로 된다.<sup>7, 14)</sup> 최근의 실험조사에 의하면 원유의 저온 세균수가 크게 증가하여 일반세균수와의 비율이 공장수유시 매일 집유인 경우 40~70%, 격일 집유인 경우는 훨씬 더 높아 110~130%가 되고 있다(Table. 2). 또한 농가별로 착유 직후 채취한 원유를 7°C로 서상하면서 12시간 간격으로 저온 세균을 조사한 결과 비교적 위생적으로 착유하여 관리한 원유의 세균수가 48시간 후에 도  $\times 10^5$ 대 이었으나 비위생적으로 착유된 원유의 경우는  $\times 10^6$ 대 이었고 저온세균은 일반세균의 2배 이상의 비율로 증가하였다(Table. 3). 외국의 연구보고에 의하면 원유를 5°C로 보관하였을 경우 1일후에  $4 \times 10^5/ml$ , 2일후에  $2.1 \times 10^6/ml$ , 3일후에는  $1.1 \times 10^7/ml$ 이었고<sup>15)</sup>, Thomas 등<sup>25)</sup>은 원유의 저온세균수가 착유후 3~5°C로 72시간 저장후  $1 \sim 2.9 \times 10^7/ml$ 으로 증가하였다고 보고하였다. 또한 원유를 8°C에서 96시간 저장한 경우 93.8%가  $5 \times 10^6/ml$  이상이었고, 4°C에 저장한 경우 12.2%이었다.<sup>18)</sup>

Table 2. Bacterial counts of tank-lorry milk collected from Kymyggi area during Sep.-Oct. of 1990.

Bacterial counts	Area A	Area B	Area C	Area D
SPC( $\times 10^5/ml$ )	12	11	22	27
PBC( $\times 10^5/ml$ )	8.2	4.7	28	30
PBC/SPC (%)	68	43	127	111

1) Milk from areas A & B was collected everyday.

2) Milk from areas C & D was collected every other day.

Table 3. Bacterial counts of raw milk stored at 7°C during Jan.-Feb. of 1989.

		unit : $\times 10^4/ml$				
Storage time	Bacterial counts	Farm A	Farm B	Farm C	Farm D	Farm E
After milking	SPC	7.4	1.8	32	51	97
	PBC	1.3	$3 \times 10^3$	67	14	24
	PBC/SPC(%)	18	17	21	28	25
12 hrs	SPC	8.8	2.0	34	58	116
	PBC	3.4	$5 \times 10^3$	11	22	43
	PBC/SPC(%)	39	25	32	38	37
24 hrs	SPC	17	3.4	54	66	168
	PBC	11	1.2	36	103	82
	PBC/SPC(%)	65	35	67	156	49
36 hrs	SPC	28	7.2	123	110	326
	PBC	44	8.3	240	227	441
	PBC/SPC(%)	157	115	195	206	135
48 hrs	SOC	46	21	284	276	670
	PBC	128	46	680	540	1,380
	PBC/SPC(%)	278	219	240	196	206

### Ⅲ. 低溫細菌과 耐熱性 酵素

최근 많은 학자들에 의해 저온세균으로부터 내열성이 매우 강한 효소들이 분리되어 커다란 관심을 모으고 있다. Adams 등<sup>1)</sup>은 원유에서 분리 배양한 저온세균의 70~90%가 내열성 효소를 생성하며, 이들은 149°C에서 10초간 가열한 후에도 대부분이 가열전 활성의 70%를 갖고 있으며 UHT 살균유의 풍미와 보존성에 커다란 영향을 미치고 있다고 보고하였다.

*Pseudomonas* 균주가 생성하는 protease 중 내열성이 강한 것은 *Bacillus stearothermophilus*의 포자보다 4,000배 이상이나 되며 150°C 가열에서 효소활성을 90% 실행시키는데 90초가 걸린다는 보고도 있다.<sup>20)</sup> 효소활성의 최적 pH는 7~8로 pH6.5에서도 최고 활성치의 85~90%의 활성을 나타내고 있다. 최저온도는 45°C이지만 실온에서도 최고치의 25%의 활성을 보이고 casein에 대한 분해력은  $\kappa$ -casein에 가장 강하게 작용하며 다음  $\beta$ -casein이다. Protease가 카제인에 작용하면 카제인 분해에 의해 카제인태 질소가 감소하고 가용성 질소와

비단백태 질소가 증가하며 gel化的 가장 중요한 열쇠가 되는  $\kappa$ -카제인의 분해가 일어나 그 결과 para  $\kappa$ -casein으로 되면서 gel을 형성한다.<sup>13)</sup> 또한 내열성 lipase에 대한 연구도 많이 이루어지고 있으며 지방분해 작용이 가장 강한 *Pseudomonas fragi*로서 원유를 4°C에서 48시간 또는 8°C에서 24시간 저장했을 경우 유리지방산이 현저히 증가되었으며 이들로부터 생성된 lipase의 일부는 100°C에서 10분간 가열한 후에도 지방분해 능력을 나타내고 있었다는 보고도 있다.<sup>13, 18)</sup>

Schultze and Olson<sup>21)</sup>에 의하여 586개의 저온세균 배양액 중 90%가 protolysis나 lipolysis 현상을 보였고 66%가 양쪽 성질 모두를 나타내었다. Bockelmann<sup>2)</sup>은 bulk-tank 우유의 저온세균수 조사에서 분리한 세균의 46%가 *Pseudomonas* spp. 이며 그 중 77%는 지방을 분해하고 85%는 카제인을 분해한다고 보고하였다. 저온 세균에 의해 생성되는 또 하나의 효소는 phospholipase로서 지방구막을 분해해서 지방이 lipase에 쉽게 노출되도록 하는 역할을 하며 일반시유나 변질유에서 분리된다.<sup>10)</sup> *Pseudomonas*의 평균 57%가 phospholipase C를

Table 4. Monthly bacterial counts of raw milk sampled from tank-lorries and silo-tanks in 1989.

Month	Tank-lorry ( $\times 10^4$ )	Silo-tank ( $\times 10^4$ )	ST/TI (%)
1	95/ml	123ml	29.5
2	82	108	31.7
3	91	150	64.8
4	115	157	36.5
5	127	200	57.5
6	139	168	20.9
7	180	210	16.7
8	125	160	28.0
9	110	144	30.9
10	98	121	23.5
11	93	116	24.7
12	94	118	25.5

생산하며, 6°C에서도 지방구막을 파괴하는데 충분한 활성을 나타내며 HTST나 UHT 살균에도 파괴되지 않는 것으로 알려 지고 있다.<sup>12)</sup>

#### IV. 低溫細菌의 問題點

우유 및 유제품 변질의 중요한 원인균의 하나인 저온세균은 우유 생산단계에서 심하게 오염될 경우 공장에 도착하는 동안 증식하여 우유의 단백질이나 지방분해를 일으켜 풍미의 악화를 초래한다. 특히 공장에서 수유된 후 저유 탱크에서 다음날 사용될 때까지의 저장기간 중에도 당초 세균수의 20~60%까지 증식된다 (Fig. 4).

일반적으로 저온세균은 열에 약하여 대개의 경우 63°C~30분 가열처리에 사멸되나 일부 그람양성의 내열성 저온세균은 살아남아 제품의 품질에 중대한 영향을 미친다. 세균의 열에 의한 사멸은 대수적으로 진행되기 때문에 최초의 세균수가 많을 수록 살아남을 가능성이 크며, 균종간 또는 균주간에 상당한 차이가 있다. 그리고 살균처리 후 살아남은 세균은 거의 모두 가열에 의한 상해를 입었으므로 平板培養에 의해 集落을 형성하지 못하므로 일반세균검사에 잘 나타나지 않는 수가 많다.

살균처리한 직후에는 저온세균이 발견되지 않았으나 제품을 6~7°C에서 7일간 저장한 후 배양시험한 결과 세균수가  $10^5 \sim 10^6/\text{ml}$ 에 달하였다<sup>19, 28)</sup>고 하는 실험결과가 이를 입증하고 있다. 이러한 열 손상균이 제기능을 회복하는 데에는 glucose, amino acid, peptide, 무기인 등을 필요로 하며, 이러한 것들에 의해 RNA가 재합성되어 손상 입은 부분이 회복하여 제품의 변질을 초래한다. 또한 저온세균으로부터 생성된 효소의 특성으로 보아 저온세균에 오염된 원유를 UHT 살균할 경우 저온세균 자체는 사멸한다고 해도 내열성 효소는 잔존하여 단백질 또는 지방분해를 일으켜 우유 중의 카제인의 불안정화, 우유의 응고, 또는 gel화와 유리지방산의 증가 등의 원인이 된다.

제조과정중 제품이 저온세균에 오염되었을 경우 균수가 매우 적거나 대부분 열손상을 입었기 때문에 일반검사법으로는 검출이 어렵고 또한 배양시간이 길어 상당한 기간이 소요되며, 저온세균의 종류가 다양하고 그 성질이나 작용도 각기 달라 일반 중온균과의 배양온도 등에 있어서 애매한 점이 많아 명확하게 구분이 되지 않는 경우가 많다. 그리고 저온세균의 색소환원 능력이 일반세균에 비해 매우 약하기 때문에 저온세균수가 많은 원유의 경우 원유의 간이세균검사법으로 사용되고 있는 MBRT나

Resazurin 방법으로는 정확성을 기할 수 없다는 것과 또한 저온세균이 생산한 효소를 측정할 수 있는 적절한 방법이 현재로서는 없는 것도 문제점으로 지적되고 있다. 이에 대한 대책은 다음과 같다.

1. 목장의 착유단계에서부터 철저한 위생관리와 소독으로 세균의 오염을 최대한 방지하고 냉각을 철저히 하여 세균의 증식을 억제하는 것이 최선의 방법이다. 착유기구나 탱크, 파이프라인등의 CIP를 철저히 하여 세균의 오염을 최소화한다. 왜냐하면 저온저장한 우유의 보존성은 발육속도가 일정한 조건하에서는 최초의 균수에 의존하며 균수가 일정한 경우에는 저장온도에 따라 크게 달라지기 때문이다.

2. 원유의 세균수를 줄이고 유질을 개선하기 위한 방법으로 낙농선진국에서 실시하고 있는 것과 같이 乳價를 세균수에 따라 차등 지급해야 한다.

3. 원유의 일반세균수 측정을 위해 사용되고 있는 표준평판 배양법의 배양온도를 현재의 32°C에서 25~27°C로 낮추는 방법을 검토할 필요가 있다. 원유의 저온 세균수가 일반세균수보다 많을 경우 배양온도는 저온세균의 발육적온에 가깝도록 조정하는 것이 바람직하다 또한 세균검사의 간이방법으로 이용되고 있는 MBRT나 Resazurin Test는 저온세균의 색소환원능력이 일반세균보다 매우 약하기 때문에 냉장으로 저온세균이 증식했을 경우 정확성을 기하기 어렵다.

4. 저온세균은 일반적으로 7°C에서 10일간 배양해야 하므로 한번 검사하는데 상당한 시일이 소요되고 현장에서 이용하기에는 문제가 많으므로 배양시간을 단축하여 쉽게 검출할 수 있는 방법도 아울러 연구 개발하여야 할 것이다.

## V. 結 論

원유의 냉각저장중 저온세균의 증식으로 인한 단백질 및 지방분해와 풍미결함 문제는 이제 남의 나라 이야기가 아니고 바로 우리의

현실로 다가왔다. 원유는 목장의 착유단계에서부터 위생적으로 취급되고 철저히 냉각되어야 함은 물론이고 과거에 일반세균이나 대장균에 의해서 원유의 미생물적 품질을 판정하는 방법에서 벗어나 저온세균을 포함하는 새로운 검사방법이 개발되어야 할 것이다. 더구나 목부구인난과 인건비 상승 등의 요인으로 격일제 집유가 불가피해지고 있는 상황에서 저온 세균 및 그 효소에 대한 활발한 연구와 시기에 맞는 적절한 조치가 반드시 이루어져야 하리라 생각한다.

## VI. 參考文獻

1. Adams, D. M., J. T. Barach, and M. L. Speck. 1975. Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria. *J. Dairy Sci.* 58 : 828.
2. Bockelmann, I. Von. 1970. Lipolytic and psychrotrophic bacteria in cold stored milk. *XV Int. Dairy Congr.* 1E : 106.
3. Brandt, M. J. and R. A. Ledford. 1982. Influence of milk aeration on growth of psychrotrophic pseudomonas. *J. Food Prot.* 45 : 132.
4. Brock, T. D. and M. T. Madigan. 1988. *Biology of microorganisms*, 5th ed Prentice-Hall Int., Inc.
5. Cousin, M. A. 1982a. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products : A review. *J. Food Prot.* 45 : 172.
6. Cousin, M. A. 1982b. Psychrotrophs in relation to keeping quality of milk products. *J. Food Prot.* 45 : 830.
7. Cousins, C. M. and A. J. Bramely. 1981. The microbiology of raw milk. In Robinson, R. K. (Ed.). 1981. *Dairy microbiology*. Vol. 1. *Appl. Sci. Publ.*, London.
8. Cousin, M. A. and E. H. Marth. 1977. Psychrotrophic bacteria cause changes in

- stability of milk to coagulation by rennet of heat. *J. Dairy Sci.* 60 : 1042.
9. Fitz-Gerald, C. H. and H. D. Deeth. 1983. Factors influencing lipolysis by skim milk cultures of some psychrotrophic microorganisms. *Aust. J. Dairy Technol. Sep.* : 97.
  10. Fox, C. W., G. L. Chrisope, and R. T. Marshall. 1976. *J. Dairy Sci.* 59 : 1857.
  11. Gebre-Egziabher, A., E. S. Humbert, and G. Blankenagel. 1980. Heat-stable proteases from psychrotrophs in milk. *J. Food Prot.* 43 : 197.
  12. Griffiths, M. W. 1983. *J. Food Technol.* 18 : 459.
  13. Law, B. A., M. E. Sharpe, and H. R. Chapman. 1976. *J. Dairy Res.* 43 : 459.
  14. Law, B. A., C. M. Cousins, M. E. Sharpe and F. L. Davies. 1979. In cold tolerant microbes in spoilage and the environment (Society for Applied Bacteriology Technical Series No. 13) : pp 137~152. A. D. Russell and R. Fuller(Ed.). Academic Press, London.
  15. Lück, H. 1972. Bacteriological quality tests for bulk-cooled milk. A review. *Dairy Sci. Abstr.* 34 : 101.
  16. Malik, R. K. and D. K. Mathur. 1983. Isolation and identification of protease-producing psychrotrophic bacteria from dairy products in India. *Dairy Sci. Abstr.* 45 (7919) : 834.
  17. Mikolajcik, E. M. and N. T. Simon. 1978. Heat resistant psychrotrophic bacteria in raw milk and their growth at 7°C. *J. Food Prot.* 41 : 93.
  18. Muir, D. D., M. E. Kelley and J. D. Phillips. 1978. The effect of storage temperature of bacterial growth and lipolysis in raw milk. *J. Soc. Dairy Technol.* 31(4) : 203.
  19. Nakanishi, T. 1983. Changes and keeping quality of cow's milk by various heat treatment. *Japanese J. Dairy and Food Sci.* 32 : A75.
  20. Richardson, B. C. and I. E. Tewhaiti. 1978. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* 13 : 172.
  21. Schultze, W. D. and J. C. Olson. 1960. Studies on psychrotrophic bacteria. II. Psychrotrophic coliform bacteria in stored commercial dairy products. *J. Dairy Sci.* 43 : 351.
  22. Stadhouders, J. 1975. Microbes in milk and dairy products. An ecological approach. *Neth. Milk Dairy J.* 29 : 104.
  23. Stokes, J. L. and M. L. Redmond 1966. Quantitative ecology of psychrophilic microorganisms. *Appl. Microbiol.* 14(1) : 74.
  24. Thomas, S. B. and B. F. Thomas. 1973. Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulkcollected raw milk. *Dairy Ind.* 38 : 11.
  25. Thomas, S. B., R. G. Druce, and A. Davies. 1966. The significance of psychrotrophic bacteria in raw milk. *Dairy Ind.* 31 : 27.
  26. Vedamuthu, E. R. 1984. Testing for psychrotrophic bacteria. *Technics/Topics.* 14 : 2.
  27. Washam, C. J., H. C. Olson, and E. R. Vedamuthu. 1977. Heat resistant psychrotrophic bacteria isolated from pasteurized milk. *J. Food Prot.* 40 : 101.
  28. Watrous. G. H., Jr., S. E. Barnard. and W. W. Coleman. 1971. Bacterial concentrations in raw milk, immediately after laboratory pasteurization and following 10 days storage at 7.2°C. *J. Milk Food Technol.* 34 : 282.
  29. Watrous, G. H., Jr., E. D. Glass, Jr., W. T. Butz, W. F. Johnstone, and C. W. Pierce. 1970. Quality and economic considerations in the dating of milk. I. Influence of milk dating on quality of milk. *J. Milk Food technol.* 33 : 529.
  30. Weckbach, L. S. and B. E. Langlois. 1975. Effects of heat treatment on survival and growth of psychrophilic bacteria in milk. *J. Dairy Sci.* 58 : 785(Abstract).

31. White, C. H., W. T. Gillis, D. L. Simmler, M. K. Galal, J. R. Walsh, and J. T. Adams. 1978. Evaluation of raw milk quality tests. *J. Food Prot.* 41 : 356.
32. Witter, L. D. 1961. Psychrophilic bacteria—A review. *J. dairy Sci.* 44 : 983.
33. 中西式雄, 由路厚雄, 管理弘. 1976. UHT殺菌乳の保存性. *日本酪農科學會誌* 25(3) : A99.
34. 中江利孝. 1976. 微生物學的 見地からみた原料及び市乳の諸問題. *日本酪農科學會誌* 25(6) : A233.
35. 鄭忠一. 1987. 우유의 냉각저장중 저온세균 증식과 가열처리에 의한 생화학적 유질변화에 관한 연구. *성균관대학교 박사학위논문.*
36. 鄭忠一. 1984. 牛乳의品質과 低溫性 細菌. 第2回 酪農産業技術세미나. p. 139.
37. 鄭忠一. 裴仁傑, 姜國熙, 李載英. 1984. 牛乳의 取扱條件에 따른 細菌數 變化. *韓國酪農學會誌* 6(1) : 53.