

## 장조림 원료육의 미생물 분포 및 분리 병원성 세균의 동정

김혜정 · 김현옥<sup>1</sup> · 남기진 · 이동선<sup>2</sup> · 김창한<sup>1</sup> · 백현동\*<sup>1</sup>

경남보건환경연구원, \*<sup>1</sup>건국대학교 축산식품생물공학과, <sup>2</sup>경남대학교 식품생명공학부

### 서 론

최근에 우리나라는 사회·경제적인 변화가 급변함에 따라 국민 식생활도 급격히 변화하고 있다. 특히 생활양식에서 가정 내에서의 식사 준비 시간은 점차 감소하고 외식과 편의식품의 이용이 증가하고 있다. 그러나 우리나라의 음식은 서구식과는 많이 달라서 사람의 손이 많이 필요하며 조리시간이 오래 걸리는 특징을 가지고 있다. 특히 육류 식자재는 조리 준비시간이 많이 걸리고, 충분히 익히지 않거나 잘못된 가공과 저장에 의하여 위생적 위해를 유발시킬 위험성을 가지고 있다. 2000년도 우리나라 식중독 발생원인 중 발병환자의 49.1%가 육류 및 육가공 식품에 기인한 것으로 나타났으며, 최근에는 *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7에 의한 식중독 사고가 세계 각국에서 문제시 되고 있고 우리나라에서도 수입쇠고기에서 *E. coli* O157:H7이 검출된 바 있다<sup>(1)</sup>.

돼지고기, 닭고기와 쇠고기가 대부분을 점하는 육류 식품은 최근의 한국 식단에서 에너지 및 단백질 급원으로서 차지하는 비중이 상당히 크며, 많은 비율이 조미된 형태로 섭취되는 것으로 나타났으나 이에 대한 육류 식자재의 가공방법은 거의 개발되고 있지 않았을 뿐만 아니라 한국 고육 식단의 조미육류의 가공에 대한 접근도 거의 이루어진 적이 없는 실정이다. 급변하는 생활양식 하에서 한국 식문화의 유지와 효율적인 성장을 위해서는 반가공 단계의 육류 식자재의 개발과 공급체계가 확립되어야 하며, 이들 육류 식자재에 대한 안전성이 확보되는 것이 중요하다. 이러한 개념으로 도입된 식품 보존기술이 복합적 보존기술이다<sup>(2)</sup>.

따라서 본 연구에서는 원료 및 가열 처리한 쇠고기에서 미생물 군수를 측정하고 식중독세균의 분포를 측정하여 식자재의 원료의 잠재적 위해를 조사함으로써 한국 조미 육류 식자재의 가공 공정시 위생적으로 공급할 수 있는 기초 자료로 활용하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 시 료

시중 마트 4곳에서 쇠고기 우둔살을 구입하여 냉장상태로(<7℃) 운반하여 24시간 이내에 미생물 분포 실험과 식중독 세균의 분리 실험에 사용하였다. 쇠고기 우둔살 600 g을 증류수 1200 mL에 넣어 100℃에서 20분간 가열 처리하였다.

### 장조림 원료육의 미생물 분포

쇠고기 우둔살 50 g에 0.1% 멸균 펩톤수 50 mL를 첨가하여 11,000 rpm에서 5분 동안 균질화(model AM-10, Nihonseiki Kaisha, Tokyo, Japan) 하였고, 0.1% 멸균 펩톤수로 단계 희석하였다. 증온성균과 저온성균은 Plate Count agar(이하 PCA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 도달하여 각각 36℃에서 48시간, 21℃에서 72시간 배양하였다. 혐기성세균은 PCA에 도달하여 혐기성 배양기(modular atmosphere controlled system, Don Whitley Scientific Ltd., England)에서 36℃에서 48시간 동안 배양하였다. 내열성 세균은 100℃에서 10분간 가열 처리하여 영양세포를 사멸시킨 후 PCA에 도달하여 36℃에서 48시간 배양하였다. *E. coli*와 대장균군은 Violet Red Bile agar with MUG(Difco) 배지를 이용하여 36℃에서 24시간 배양하였다. *Enterobacteriaceae*는 Violet Red Bile Glucose agar(Difco)를 사용하여 36℃에서 24시간 배양하였으며, 유산균수는 MRS agar(Oxoid, Basingstoke, UK)를 사용하여 36℃에서 48시간 배양하여 균수를 측정하였다. *Clostridium* spp.는 Reinforced Clostridial Medium(Difco)를 이용하여 36℃에서 48시간 배양하였으며, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* 및 *Staphylococcus aureus*는 미국 FDA의 Bacteriological Analytical Manual에 따라 균수를 측정하였다<sup>(3)</sup>. 균수는 그람 당 콜로니형성단위(cfu/g)로 측정하였으며 2회 반복 실험하였다.

### 병원성 세균의 분리

쇠고기 우둔살 25 g을 무균적으로 취하여 0.1% 멸균 펩톤수 225 mL를 가하여 11,000 rpm에서 5분 동안 균질화하여 검액으로 사용하였다. *Salmonella* spp.는 Selenite broth(Difco)와 Rappaport-Vassiliadis R10 broth(Difco)를 사용하여 36℃에서 24시간 증균배양하여 Hektoen Enteric agar(Difco)와 SS agar(Difco)에 희석 도달하여 36℃에서 24~48시간 배양하였다. *E. coli* O157:H7는 novobiocin 첨가한 modified EC medium(Difco)에 접종하여 36℃와 43℃에서 24시간 배양하여 MacConkey Sorbitol agar(Difco)와 Fluorocult *E. coli* O157:H7 agar(Merck, Darmstadt, Germany)에 희석 도달하여 36℃에서 24시간 배양하였다. *C. perfringens*는 Cooked meat medium(Difco)에 접종하여 36℃에서 24시간 증균배양하여, 난황 첨가 *Clostridium perfringens* agar에 희석 도달하여 36℃에서 24~48시간 동안 혐기 배양하였다. *B. cereus*, *Clostridium botulinum*, *L. monocytogenes*, *Shigella* spp. 및 *Yersinia enterocolitica*는 미국 FDA의 Bacteriological Analytical Manual의 방법<sup>(9)</sup>으로 실험하였고, *Staphylococcus aureus*는 10% sodium chloride를 첨가한 Tryptic Soy broth(Difco)를 사용하여 36℃에서 24시간 증균배양하여 난황 첨가한 Mannitol Salt agar(Difco)와 EY Tellurite enrichment를 첨가한 Baird-Parker agar(Difco)에 희선도달하여 36℃에서 24~48시간 배양하였다.

### 병원성 세균의 동정

*B. cereus*는 API 50 CHB(bioMerieux, Marcy I'Étoile, France)와 API 20E kit(bioMerieux)를 이용하였고, *C. perfringens*는 API 20A kit(bioMerieux)를 이용하였으며, *L. monocytogenes*는 CAMP 실험, hemolysis 실험 및 API listeria kit(bioMerieux)를 이용하여 동정하였다. 모든 분리 균주는 API kit와 ATB plus software(bioMerieux)를 사용하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology에 기술된 일반적인 방법에 준하여 동정하였다<sup>(4,5)</sup>.

## 결과 및 고찰

### 장조림 원료육의 미생물 분포

원료 및 가열 처리한 쇠고기 우둔살의 미생물 군수는 Table 1에 나타내었다. 원료육에서 중온균은  $2.3 \times 10^1 \sim 8.0 \times 10^4$  cfu/g으로 높은 분포를 보였으나 가열 처리한 쇠고기 우둔살에서는 검출되지 않았다. 저온균은 원료육에서는  $3.7 \times 10^1 \sim 1.2 \times 10^5$  cfu/g으로 지표세균 중에서 가장 높은 분포를 나타낸 반면 가열처리 후 한 검체에서는  $6.0 \times 10^0$  cfu/g으로 감소하였고, 세 검체에서는 검출되지 않았다. 혐기성균은 중온균, 저온균과 유사한 분포를 보였으며, 포자형성균은 두 검체에서  $2.0 \times 10^1$  cfu/g의 분포를 보였으나, 가열 처리한 쇠고기 우둔살에서는 검출되지 않았다. 대장균군, *E. coli*, Enterpbacteriaceae, *C. perfringens*, *S. aureus* 등은 원료육과 가열 처리한 쇠고기 우둔살에서 모두 검출되지 않았으며, *B. cereus*는 한 검체에서  $2.0 \times 10^0$  cfu/g의 분포를 보였으나 가열육에서 검출되지 않았다.

Table 1. Distribution of microbial groups in raw and heated beefs (cfu/g)

Microorganisms	Microbial count							
	Sample 1		Sample 2		Sample 3		Sample 4	
	Raw	heated	Raw	heated	Raw	heated	Raw	heated
Mesophilic microorganisms	$6.4 \times 10^4$	ND <sup>1)</sup>	$2.3 \times 10^1$	ND	$8.2 \times 10^1$	ND	$8.0 \times 10^4$	ND
Psychrotrophic microorganisms	$9.4 \times 10^4$	ND	$3.7 \times 10^1$	ND	$1.7 \times 10^2$	ND	$1.2 \times 10^5$	$6.0 \times 10^0$
Anaerobic microorganisms	$4.6 \times 10^3$	ND	$3.2 \times 10^1$	ND	$2.8 \times 10^1$	ND	$1.4 \times 10^4$	ND
Spore-forming microorganisms	$2.0 \times 10^1$	ND	ND	ND	ND	ND	$2.0 \times 10^1$	ND
Lactic acid bacteria	$2.0 \times 10^1$	ND	$1.0 \times 10^1$	ND	$2.0 \times 10^1$	ND	$1.0 \times 10^1$	ND
<i>Enterobacteriaceae</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Coliforms	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Escherichia coli</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Bacillus cereus</i>	$2 \times 10^0$	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Clostridium perfringens</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Staphylococcus aureus</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

<sup>1)</sup> ND: not detected.

### 병원성 세균의 분리 및 동정

미생물이 증식하기에 적당한 원료육에서 *B. cereus*, *C. perfringens* 및 *L. monocytogenes* 등 병원성 세균이 3균주 분리된 반면 *C. botulinum*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *S. aureus* 및 *Y. enterocolitica*는 본 연구에서 분리되지 않았으며, 100℃에서 20분간 가열한 쇠고기에서는 모든 병원성균이 분리되지 않았다(Table 2).

포자를 형성하는 *B. cereus* 분리 균주는 그람 양성 포자형성균으로 mannitol 음성, lecithinase 양성 균으로 Simmon's citrate 음성, NO<sub>2</sub> 생성, glucose, fructose, mannose, starch를 분해하고 lysine과 ornithine

decarboxylase 음성, arginine dihydrolase 양성으로 ATB automated identification system에서 *B. cereus* 종에 대해 99.8% 상동성을 보였다.

원료육에서 분리된 *C. perfringens*는 그람 양성 간균으로 포자를 형성하며 mannitol을 분해하고 lecithinase를 생성하였다. 그리고 catalase 음성, 호기성 조건에서 비발육하였으며, lactose, mannose, saccharose, maltose, trehalose를 분해하며, *C. perfringens* 종에 대해 99.9%의 상동성을 보였다.

Table 2. Incidence of pathogenic bacteria presented in raw and heated beefs

Microorganisms	Raw beefs	Heated beefs
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	+	-
<i>Clostridium botulinum</i>	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	+	-
<i>Salmonella</i> spp.	-	-
<i>Shigella</i> spp.	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-

<sup>1)</sup> -: negative, <sup>2)</sup> +: positive

원료육에서 분리된 *L. monocytogenes*는 Oxford agar에서 esculin을 분해하며 그람양성 간균으로 CAMP 실험에서 *S. aureus* 양성, *Rodococcus equi* 음성, hemolysis 양성으로 *L. monocytogenes* 종에 대해 98.6%의 상동성을 보였다.

## 요 약

장조림 원료 쇠고기 우둔살과 가열 처리한 쇠고기 우둔살에서 중온성 세균, 저온성 세균, 혐기성 세균, 포자형성균 및 대장균군 등과 같은 미생물 군수의 변화를 측정하였고, *B. cereus*, *C. botulinum*, *C. perfringens*, *L. monocytogenes* 등과 같은 9종류의 주요 병원성 세균의 분리를 시도하였다. 원료육에서 중온균, 저온균, 혐기성 균 등은 대부분 높은 분포를 보였으나 가열 처리육에서는 급격히 감소하였으며, 대장균군, *E. coli*, Enterobacteriaceae, *C. perfringens*, *S. aureus* 등은 원료육과 가열 처리한 쇠고기 우둔살에서 모두 검출되지 않았다. 식중독균인 *B. cereus*, *C. perfringens* 및 *L. monocytogenes* 등 3균주가 원료육에서 분리된 반면, *C. botulinum*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *S. aureus* 및 *Y. enterocolitica*는 분리되지 않았다.

## 참고문헌

1. Chung, M.S. et al. (1999) *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, **19**, 36-40.

2. Leistner, L. (2002) The hurdle concept. In Hurdle Technologies. Leistner L et al. Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York, NY, USA pp. 17-28
3. Jackson, G.J, et al. (2001) FDA's Bacteriological Analytical Manual ([www.cfsan.fda.gov](http://www.cfsan.fda.gov)).
4. Sneath, P.H.A. Endospore forming bacteria. (1984) In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Sneath PHA et al. Williams & Wilkins, Baltimore, USA pp. 1104-1207.
5. Kandler, O. et al. nonsporing Gram-positive rods. (1984) In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Sneath PHA et al. Williams & Wilkins, Baltimore, USA pp. 1235-1245.