

육포 원료 돈육의 미생물 분포 및 병원성 미생물의 분리

김태임 · 김현옥 · 김혜정¹ · 남기진¹ · 김천제 · 백현동*

건국대학교 축산식품생물공학과, ¹경남보건환경연구원

서 론

육포는 축산물보다는 농산물에 의존적이었던 우리의 전통적인 식생활에서 육가공품 중 유일하게 건조법에 의해 가공된 식품이다. 육포는 중간수분식품으로서 건조식품에 비해 맛과 조직감이 뛰어나며, 풍부한 단백질 함량에 비해 질량이 적고 상온저장이 가능한 식품이다.

현재 육포의 제조방법은 시간이 오래 걸리고 대량생산에 부적합한 전통적인 천일건조 방법에서 신속하고 대량생산이 가능한 열풍건조와 같은 건조방법으로 변화하였다. 그러나 국내의 육포 제조 기술은 아직 초보적인 단계이고, 육포의 영양적 측면, 저장성 및 중간수분식품으로서의 육포개발, 육포의 미생물 안전성 등에 관한 연구보고는 아직 미미한 실정이다. 따라서 대표적인 한국 고유의 조미 식자재를 대상으로 하여 가공 및 포장방법 등을 확립하는 것은 전체 식품공급체계의 효율성과 위생성을 제고시키는 데에 있어서 크게 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

최근 식품에 대한 안전성이 주요한 관심사로 등장하고 있다. 2000년도 우리나라 식중독 발생원인 중 발병원자의 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⁽²⁾.

따라서 본 연구에서는 우리 고유의 조미 식자재 및 식단에 적용될 수 있는 육류 식자재의 위생적인 공급을 위하여 원료육의 미생물 분포를 측정하였고, *Clostridium botulinum*, *L. monocytogenes* 등과 같은 식육제품과 관련된 식중독 균을 분리하여 잠재적인 위해를 조사하였다.

재료 및 방법

시료

서울 시내 정육점 등 10곳에서 돼지고기 불깃살을 구입하여 냉장상태로(<7℃) 운반하여 24시간 이내에 미생물 분포 실험과 식중독 및 병원성 세균의 분리 실험에 사용하였다.

오염지표균 측정

원료육 50 g에 0.1% 멸균 펩톤수 50 mL를 첨가하여 stomacher를 이용하여 1분 동안 균질화(Masticator) 하였고, 0.1% 멸균 펩톤수로 단계 희석하였다⁽³⁾. 중온성균과 저온성균은 Plate Count agar(이하 PCA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 도말하여 각각 36℃에서 48시간, 21℃에서 72시간 배양하였다. 혐기성세균은 PCA에 도말하여 BBL anaerobic jar(Difco)에서 36℃, 48시간 동안 배양하였다. 내열성세균은 100℃에서 10분간 가열 처리하여 영양세포를 사멸시킨 후 PCA에 도말하여 36℃에서 48시간 배양하였다. 효모와 곰팡이류는 pH 3.5로 조절한 Potato Dextrose agar(이하 PDA, Difco)에 도말하여 25℃에서 5~7일간 배양하였다. 대장균군은 Violet Red Bile agar with MUG(Difco) 배지를 이용하여 36℃에서 24시간 배양하였다. 균수는 그람 당 콜로니형성단위(cfu/g)로 측정하였으며 2회 반복 실험하였다.

병원성 미생물의 순수분리

원료육 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 획선 도말하여 36℃에서 24~48시간 배양하였다. *E. coli* O157:H7는 novobiocin을 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 획선 도말하여 36℃에서 24시간 배양하였다. *C. perfringens*는 Cooked Meat medium(Difco)에 접종하여 36℃에서 24시간 증균배양하여, 난황 첨가 *Clostridium Perfringens* agar에 획선 도말하여 36℃에서 24~48시간 동안 혐기 배양하였다. *B. cereus*, *Clostridium botulinum*, *L. monocytogenes*, *Shigella* spp. 및 *Yersinia enterocolitica*는 미국 FDA의 Bacteriological Analytical Manual(3,4)의 방법으로 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 획선도말하여 36℃에서 24~48시간 배양하였다(5).

병원성세균 동정

*B. cereus*는 API 50 CHB(bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)와 API 20E kit(bioMerieux)를 이용하였고, *S. aureus*는 mannitol을 분해하고 lecithin을 분해하는 전형적인 집락을 선택하여 clumping factor, coagulase, catalase 시험을 하고, 그람염색을 실시하여 전형적인 집락을 API Staphi kit(bioMerieux)을 이용하여 동정하였다. 모든 분리 균주는 API kit와 ATB plus software(bioMerieux)를 사용하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology에 기술된 일반적인 방법에 준하여 동정하였다.

결과 및 고찰

오염지표균 측정

육포 제조에 사용할 원료 돈육의 미생물 군수는 Table 1에 나타내었다. 원료 돈육에서 중온균은 $3.9 \times 10^2 \sim 3.9 \times 10^5$ cfu/g으로 높은 분포를 보였다. 저온균은 $1.5 \times 10^3 \sim 8.6 \times 10^2$ cfu/g으로 지표세균 중에서 전반적으로 가장 높은 분포를 나타내었지만, 중온균과 비교하였을 때 원료에 따라 적게 검출되는 검체도 존재하였다. 혐기성균은 중온균, 저온균과 유사한 분포를 보였으나 상대적으로 적게 검출되었고, 고온균은 모든 검체에서 검출되지 않았다. 대장균군 또한 모든 시료에 대해서 검출되지 않았다. 곰팡이와 효모 등 진균류는 $3.8 \times 10^1 \sim 5.1 \times 10^2$ cfu/g으로 검출되었다.

Table 1. Distribution of microbial groups in raw porks

Microorganisms (cfu/g)	Mesophilic bacteria	Psychrotrophic bacteria	Anaerobic bacteria	Spore-forming bacteria	Yeast & Molds	Coliforms
A ¹⁾	1.3×10^4	3.0×10^4	9.5×10^3	ND ²⁾	6.2×10^1	ND
B	6.9×10^3	2.1×10^4	4.1×10^3	ND	3.8×10^1	ND
C	1.2×10^4	7.6×10^3	3.4×10^5	ND	1.5×10^2	ND
D	3.9×10^2	1.7×10^3	2.0×10^4	ND	5.1×10^2	ND
E	8.8×10^4	6.8×10^4	6.6×10^4	ND	4.2×10^1	ND
F	5.3×10^4	8.6×10^4	9.9×10^4	ND	3.4×10^2	ND
G	2.6×10^5	4.5×10^4	1.8×10^5	ND	5.8×10^1	ND
H	3.9×10^5	2.6×10^4	3.4×10^5	ND	7.7×10^1	ND
I	3.2×10^4	5.2×10^4	3.6×10^4	ND	2.8×10^2	ND
J	1.3×10^3	1.5×10^3	3.1×10^3	ND	1.8×10^2	ND

¹⁾A-J: Number of samples.

²⁾ND: Not detected.

위해 미생물 분리 및 동정

미생물이 증식하기에 적당한 원료 돈육에서는 *B. cereus*, *S. aureus* 등 병원성세균이 2균주가 분리된 반면 *C. botulinum*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *C. perfringens*, *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*는 본 연구에서 분리되지 않았으며, 100℃에서 20분간 가열한 쇠고기에서는 모든 병원성균이 분리되지 않았다. *B. cereus*는

돈육 sample B와 J에서 분리되었고, *S. aureus*의 경우 돈육 sample B에서만 검출되었다 (Table 2).

Table 2. Incidence of pathogenic bacteria presented in raw porks

Pathogenic bacteria	Raw beef									
	A ¹⁾	B	C	D	E	F	G	H	I	J
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	- ²⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	+ ³⁾	-	-	-	-	-	-	-	+
<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>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾A-J: Number of samples, ²⁾-: Negative, ³⁾+: Positive.

포자를 형성하는 *B. cereus* 분리 균주는 그람 양성 포자형성균으로 mannitol 음성, lecithinase 양성균으로 Simmon's citrate 음성, NO₂ 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.

식품 및 식품의 제조, 사람, 기구, 기계 등의 조리환경에 의한 2차 오염의 가능성이 있는 *S. aureus*는 원료 돈육 B에서만 분리되었다. 분리된 *S. aureus*는 mannitol을 분해하고 lecithinase를 생성하는 그람 양성 구균으로 catalase, coagulase, hemolysin 및 lactose 양성, xylose 음성으로 ATB system에서 *S. aureus* 종에 대해 97.8% 상동성을 보였다.

요 약

시중의 정육점 및 백화점 등에서 유통 중인 10종의 돈육 원료에 대한 일반 세균수, 저온균수, 고온균, 혐기성균 및 진균류, 대장균군에 대한 미생물학적 분포와 병원성 미생물에 대한 분리-동정을 실시하였다. 실험결과 원료 돈육에서 중온균은 3.9×10^2 ~ 3.9×10^5 cfu/g으로 높은 분포를 보였고, 저온균은 1.5×10^3 ~ 8.6×10^2 cfu/g, 혐기성균은 중온균, 저온균과 유

사한 분포를 보였으나 상대적으로 적게 검출되었고, 고온균은 모든 검체에서 검출되지 않았다. 대장균군 또한 모든 검체에 대해서 검출되지 않았으며, 곰팡이와 효모 등 진균류는 3.8×10^1 - 5.1×10^2 cfu/g으로 검출되었다. *B. cereus* 는 돈육 sample B와 J에서 분리되었고, *S. aureus*의 경우 돈육 sample B에서만 검출되었다. *B. cereus*는 99.8%의 상동성을 보였고, *S. aureus*는 97.8%의 상동성을 보였다.

참 고 문 헌

1. Chung, M.S. et al. (1999) *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, 19, 36-40.
2. Leistner L. (2002) *Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY, USA pp.* 17-28.
3. Jackson GJ et al. (2001) FDA's Bacteriological Analytical Manual (www.cfsan.fda.gov).
4. Sneath PHA. Endospore forming bacteria. (1984) *Williams & Wilkins, Baltimore, USA pp.* 1104-1207.
5. Kandler O et al. nonsporing Gram-positive rods. (1984) *Williams & Wilkins, Baltimore, USA pp.* 1235-1245.