

우유의 세균 자동측정장치의 오차범위 조사 및 오차발생 요인 분석에 관한 연구

정충일 · 엄양섭 · 김광태 · 강국희* · 이수원*

건국대학교 동물자원연구센터, *성균관대학교 식품생명자원학과

A Study on the Analysis of Errors occurred by Different Type of Automatic Bacteria Counting Equipments used in Counting Bacterial Number of Raw Milk

C. I. Chung, Y. S. Eom, K. T. Kim,
K. H. Kang* and S. W. Lee*

Animal Resources Research Center, Konkuk University

*Department of Food & Life Resource, Sung Kyun Kwan University

Abstract

This study was conducted to analyze the errors occurred between standard plate count(SPC) and Bactometer, Malthus, Bactoscan and to investigate correlation coefficient(r) between SPC and each equipments for the purpose of making new calibration curve. Correlation coefficients of three different types of equipments to SPC value were 0.71, 0.81, 0.84 respectively(n=287) and that of three types of equipments were 0.71~0.82 relatively low. In raw milk, correlation coefficients of three types of equipments to SPC were in the range of 0.67~0.73 below 3.0×10^4 (CUF/ml) of bacterial number, and those between the three types of equipments were 0.68~0.72. Between $3.0 \times 10^4 \sim 5.0 \times 10^5$ (CFU/ml) of bacterial number, correlation coefficients of the three different types of equipments were 0.71~0.81, and those between the three different types of equipments were 0.64~0.77. Over 5.0×10^5 (CFU/ml), correlation coefficient of the three types equipments were 0.66~0.83 and those between them were 0.70~0.85 respectively. The error of the three different types equipments to SPC value was significantly high, 37~53% of them was under 50% of error range, and in case of raw milk less than 3.0×10^4 of bacterial number, 44~67% of them showed over 100% of error.

Key words : SPC, bactometer, malthus, bactoscan, correlation coefficient, significant range.

서론

농가의 원유시료에 대한 세균검사방법의 하나로 오랫동안 Standard Plate Count(SPC)법이 이용되어 왔으나, 이 방법은 배양기간이 길고 많은 노력과 숙련이 필요하므로 현장에서 한꺼번에 많은 시료를 다루는데 문제가 있을 뿐 아니라 개인간 또는 실험실간의 오차 발생 등 여러가지 단점들이 지적되어 왔다¹⁾. 우리나라에서는 1993년 6월부터 원유의 품질 향상을

위해 유질등급제가 도입된 이래 약 15,000여 농가에 대하여 월 2회 이상씩 세균검사를 실시해야 하고 시료수도 많아져 원유검사의 신속성이 매우 중요해졌다²⁾. 따라서 우리 나라에서는 거의 모든 유업체나 집유조합들이 원유 중의 세균수 측정을 종전에 해 오던 SPC방법에서 자동식 측정방법으로 바꾸어 실시하고 있다. 현재 각 유업체나 집유조합 또는 검사기관에서 원유의 세균검사용으로 보유하고 있는 주요 자동측정장치는 Malthus 70대, Bactometer 32대, Bactoscan 38대 등이며, 이러한 고가의 장비를 단기간내에 구입하게 된 중요한 이유는 재래식으로 검사할 경우 장시간 소요되어 모든 농가 원유의 세균검사가 불가능 할뿐 아니라 농가와 집

Corresponding author : C. Il Chung, Animal Resources Research Center, Konkuk University.

유업체들간의 검사결과에 대한 불신으로 인한 이해 당사자간에 분쟁의 소지를 없애기 위한 조치였다.

농가 원유의 세균수 측정은 곧바로 유대와 연결되어 농가소득에 직접 영향을 미치므로 낙농가에게 있어서는 대단히 민감한 문제가 아닐 수 없다. 그러나 문제는 이러한 자동측정장치들의 표준곡선들이 1993년 6월 당시(농가원유의 세균수 10만/ml 이하의 1등급이 23%, 50만 이상이 41.3%)를 기준으로 만들어졌으며 그 후 한차례 개정되긴 하였으나 원유의 품질이 크게 개선된 현재(세균수 10만/ml이하의 1등급이 전체 농가 원유의 85%정도)에도 그대로 사용하고 있는 것은 하나의 문제점으로 지적되고 있다⁽³⁾.

정(1998)이 동일 시료에 대하여 1개월간 Malthus와 Bactometer를 사용하여 오차범위를 조사해본 결과 전체 원유시료 129개중 오차범위 30% 이내가 13.9%에 불과하고 100% 이내가 34.5%였으며, 200% 이상은 무려 43.8%에 달하였다. 원유의 세균수는 원유의 저장온도와 시간에 따라 항상 변할 수 있기 때문에 어느 정도의 오차범위가 발생하는 것은 불가피하지만 그러한 점을 감안한다고 할지라도 상기의 오차는 이미 오차의 한계를 크게 초과하였을 뿐 아니라 집유업체와 농가간에 심각한 마찰을 야기할 수 있는 매우 중대한 문제가 아닐 수 없다.

따라서 본 연구의 목적은 농가에 유대지급의 수단으로 사용하고 있는 세균검사의 정확성을 기하기 위하여 SPC와 현재 사용하고 있는 세균자동측정장치들간의 오차 범위와 상관계수를 조사하고 이들 오차발생의 요인들을 분석함으로써 현실에 맞는 새로운 표준곡선을 작성하는데 기초자료를 확보코자 하는 것이다.

재료 및 방법

국내에서 가장 많이 사용되고 있는 Malthus (System-V, Lab M. Co., UK), Bactometer (Model 128, Biomerieux Vitek, Inc., U.S.A.), Bactoscan(Foss Electric Co., Denmark) 검사기기간의 상관계수와 오차범위 측정 및 오차발생의 원인 조사를 위해 경기도 지역의 농가와 집유탱크의 원유시료에 대하여 SPC와 Malthus, Bactometer, Bactoscan에 의한 측정방법

으로 세균수를 조사하여 SPC와 자동측정기간에 정확한 상관계수와 오차범위를 조사하였다.

시료채취

경기지역의 약 20개의 낙농가와 집유노선별 탱크로리로부터 월 2회 직접 시료를 채취하여 아이스박스에 넣어 실험실로 운반하여 냉장고에 보관(4℃)하였다가 12시간이내에 미생물검사를 실시하였다.

일반세균수의 측정

일반세균수는 American public health association(APHA, 15th Ed.)방법에 따라 시료 1ml를 무균적으로 채취하여 멸균된 인산완충용액에 희석한 후, direct pour plating으로 하였으며, 30℃/72시간 배양하여 균락을 계수하였다⁽⁴⁾.

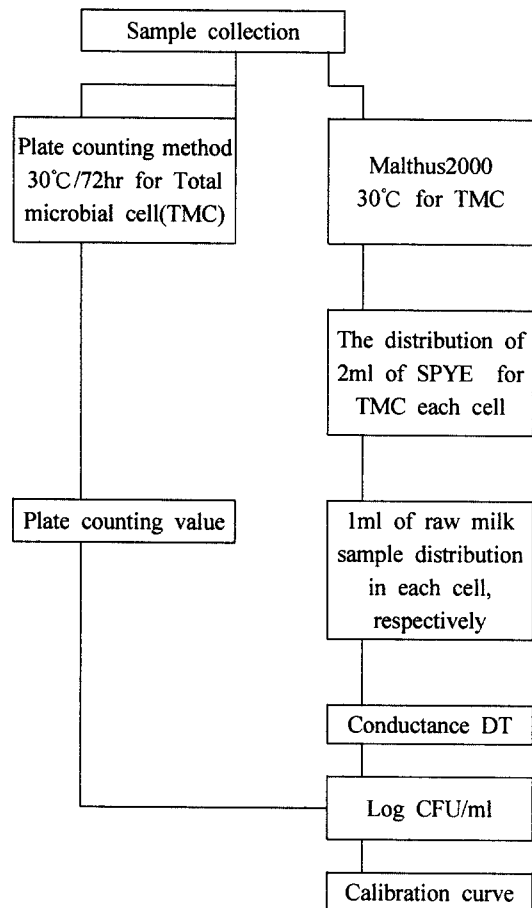


Fig. 1. Scheme to make calibration curve by SPC and Malthus method.

Conductance method(Malthus)에 의한 세균 수 측정

Conductance방법의 원리는 Fig. 1과 같이 cell내의 배지에 접종된 시료중의 세균이 증식하면서 대사활성의 결과 나타나는 배지의 전류의 변화를 측정하여 세균수를 추정하는 방법으로 유도체를 통한 교류흐름에 대한 전기저항치의 역수로 나타낸다^(5, 6). 시료를 배양해서 세균수가 역치가에 도달할때까지 요구되는 시간을 Detection Time(DT)로 나타내는데 시료의 DT는 SPC와 일정한 상관관계를 나타낸다^(7,8). 각 cell에 2ml의 Malthus special peptone yeast extract broth(SPYE, Lab M. Co.)를 분주하고 시료 1ml을 접종한 다음 Malthus analyzer에 넣고 배양하여 detection time에 따른 세균수를 얻었다.

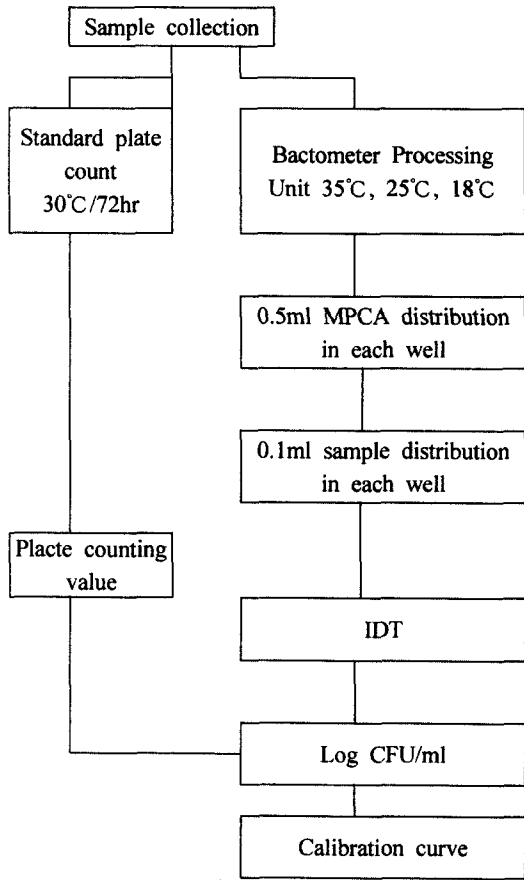


Fig. 2. Scheme to make calibration curve by SPC and Bactometer method.

Impedance method(Bactometer)에 의한 세균 수 측정

Impedance방법의 원리는 Fig. 2와 같이 최초의 배지에 가한 전류를 측정하고 세균의 증식에 의해 발생하는 대사산물이 미치는 전류의 변화를 Impedance를 통해 측정하였다^(9,10-12). 먼저 Bactometer Processing Unit의 온도를 설정한 다음 각 module well에 Modified plate count agar(MPCA)를 0.5ml씩 분주하여 균화 후, 여기에 시료 0.1ml을 접종하여 배양을 시작하여 미리 입력된 프로그램에 의해 자동연속적으로 Impedance detection time(IDT)를 얻었다.

Bactoscan을 이용한 세균 수 측정

40°C 정도로 원유를 가열하고 lysing용액으로 casein과 체세포를 용해시켜 단백질 분해효소

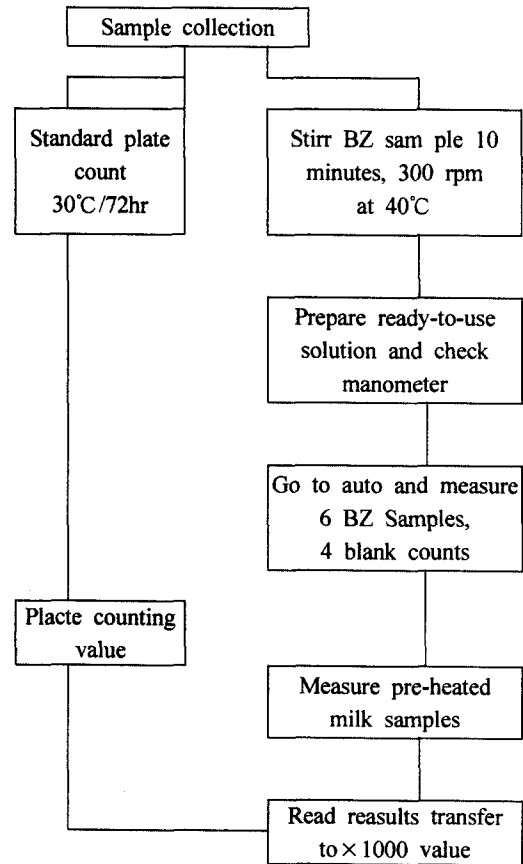


Fig. 3. Scheme to operate Bactoscan to measure total viable cell.

로 분해시키고 세균은 acridine orange으로 염색한 후 continuous flow epifluorescent 현미경으로 감지하여 Bactoscan으로 계수하였다. Bactoscan에 의한 결과치에 1,000을 곱하여 SPC 값과 비교하였다⁽¹³⁾.

결과 및 고찰

일반세균수(SPC) 측정치와 각 검사기기와 상관관계 조사

본 실험에서 사용된 자동측정기기 장치의 결과치 비교는 상업적 편의상 각기 A, B, C로 구분, 표시하였다. 20개 농가와 8개 집유노선의 탱크로리로부터 총 287개 시료를 채취하여 동일시료에 대한 세균수를 자동세균검사기기별로 측정하여 결과치와의 상관계수를 조사한 결과 각기 0.79, 0.81, 0.84로 비교적 낮은 것으로 나타났으며, 각 검사기기간의 상관계수는 A에 대한 B와 C는 각기 0.75, 0.75였고 B대 C는 0.71로 역시 검사기기간의 상관계수도 낮게 나타났다.

세균수에 의한 검사방법별 상관계수

1. 세균수 3만/ml 미만(시료수 110)에서는 SPC에 대한 A, B, C는 각기 0.69, 0.73, 0.67이었고, A 대 B와 C 그리고 B 대 C는 각기 0.70, 0.68, 0.72로 나타났다.
2. 세균수 3만 이상 50만/ml 미만(시료수 107)에서는 SPC에 대한 A, B, C의 상관계수는 0.82, 0.81, 0.71이었으며, A에 대한 B와 C

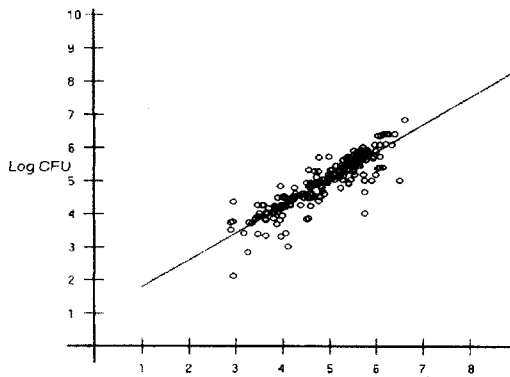


Fig. 4. Scatterplot of between SPC and A results(n=287, r=0.79).

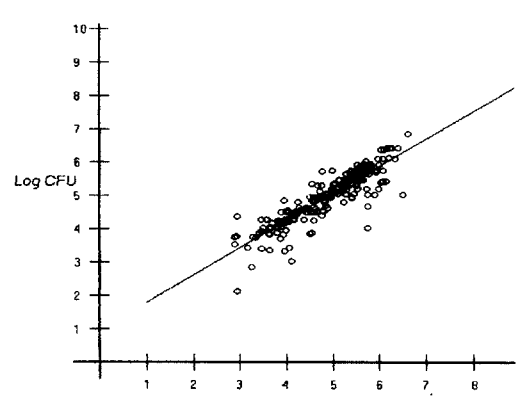


Fig. 5. Scatterplot of between SPC and B results(n=287, r=0.81).

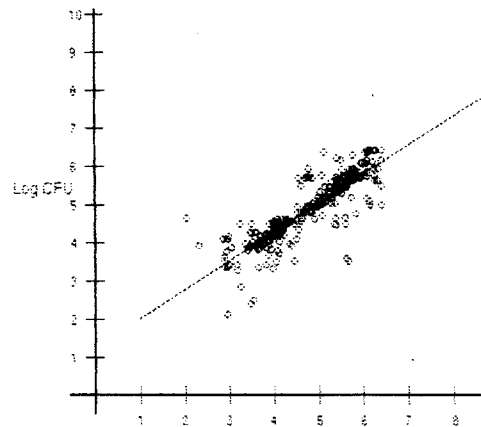


Fig. 6. Scatterplot of between SPC and C results(n=287, r=0.84).

의 상관계수는 0.77, 0.64, B 대 C는 0.75로 세균수 3만/ml 미만에서 보다는 약간 높게 나타났으나 역시 전체적으로는 낮았다.

3. 세균수 50만/ml 이상(시료수 70)에서는 SPC에 대한 A, B, C의 상관계수가 0.83, 0.77, 0.66이었고 A에 대한 B, C 그리고 B에 대한 C의 값은 각기 0.70, 0.73, 0.85로 나타났다.

세균수에 의한 검사방법별 오차범위 분석 전체적으로 3종의 자동검사기기 모두가 Table 1과 같이 SPC 방법에 의한 측정치와는 상당한 차이를 나타내었다. SPC 측정치에 대해 50% 미만의 오차를 나타내는 것이 기종별로 차이는 있으나, 37%~53%에 불과한 반면 100%

Table 1. Significant range of three data (between SPC and A, B, C respectively)

	SPC : A				SPC : B				SPC : C			
	<50%	50~100%	100~200%	>200%	<50%	50~100%	100~200%	>200%	<50%	50~100%	100~200%	>200%
<30,000	24 (22%)	27 (24%)	35 (32%)	24 (22%)	20 (19%)	30 (27%)	38 (33%)	22 (21%)	12 (17%)	11 (16%)	22 (31%)	25 (36%)
30,000~500,000	71 (73%)	15 (16%)	11 (11%)	0 (0%)	70 (72%)	18 (18%)	8 (8%)	1 (2%)	18 (48%)	12 (32%)	7 (20%)	0
>500,000	40 (56%)	18 (26%)	6 (9%)	6 (9%)	58 (83%)	7 (10%)	5 (7%)	0	27 (58%)	15 (33%)	4 (9%)	0
Total	135 (49%)	60 (22%)	52 (19%)	30 (11%)	148 (53%)	55 (20%)	51 (18%)	23 (9%)	57 (37%)	38 (25%)	33 (21%)	25 (17%)

이상의 오차를 나타낸 경우는 27%~38%나 되었다. 특히 세균수 3만/ml 이하에서는 오차범위 100% 이상이 A 54%, B 44%, C 67%이었고 50% 미만은 불과 22%, 19%, 17%에 지나지 않아 세균수 3만~50만의 100% 이상 오차 11~20%보다는 매우 높았으며 50% 미만의 48~73%보다는 매우 낮게 나타났다.

이와 같이 SPC에 대한 Bactometer, Malthus, Bactoscan의 상관관계가 낮게 나타난 것은 1993년 유질에 의한 등급제를 실시하면서 도입된 각 검사기기에 대한 표준곡선을 작성할 당시의 원유의 세균수가 매우 높았기 때문으로 생각된다. 그 당시 원유의 세균수 평균 50만/ml 이상을 기준으로 작성한 표준곡선을 그 후 일부 수정하기는 하였으나, 최근 유질이 크게 향상되어 전체 원유의 90% 정도가 세균수 10만 이하인 1등급 원유인 점을 감안할 때 특히 세균수 3만/ml 이하의 고품질 원유에 대해 더욱 상관관계가 낮다는 것은 문제가 있으므로 현재의 고품질 원유에 알맞는 새로운 표준곡선의 작성이 시급한 것으로 판단된다.

검사방법 차이에 따른 고찰

국내에 원유 세균수 검사를 위해 도입되어 유업회사나 집유조합에서 사용하고 있는 자동 검사장비의 기종이 대부분 Bactometer, Malthus, Bactoscan이며, 이들 기종간에 기기의 작동원리상의 차이로 다소간의 측정 오차가 발생 하는 것은 피할 수 없으나 상기 나타난 결과로 볼 때 기종간의 상관관계가 매우 낮은 것으로

판단된다. 특히 위생적 원유일수록 SPC 측정치에 대한 각 자동검사기기간의 상관관계가 낮아져 새로운 문제점으로 나타나고 있다. 원유의 세균수에 의해 유질등급이 결정되고 그에 따라 유대가 지불되는 농가에 있어서는 소득과 직결되는 매우 민감한 사안이므로 검사기종의 통일과 아울러 세균수 10만 이하의 1등급 원유에 알맞는 새로운 표준곡선을 작성하는 것은 대단히 중요하고 시급한 문제라고 생각한다.

요 약

- 총 287개 원유 시료에 대한 세균수 측정에서 SPC에 대한 A, B, C의 상관계수는 각기 0.79, 0.81, 0.84였으며, 각 자동측정기기간의 상관계수도 0.71~0.75로 매우 낮았다.
- 세균수 3만/ml 미만 원유에서는 SPC에 대한 각 측정기기들의 상관계수가 0.67~0.73, 그리고 각 측정기기간에는 0.68~0.72였으며, 3만 이상 50만/ml 미만에서는 SPC에 대한 상관계수는 0.71~0.82, 각 측정기기간에는 0.64~0.77, 그리고 50만/ml 이상에서는 0.66~0.83과 0.70~0.85로 나타났다.
- SPC 측정치에 대해 50% 미만의 오차를 나타내는 것이 기종별로 차이는 있으나 37~53%인 반면 100% 이상의 오차를 나타낸 것이 27~38%나 되었다. 특히 세균수 3만 미만에서 100% 이상의 오차를 보이는 것이 44~67%로 세균수가 낮아질수록 오차범위가 커지는 경향을 나타냈다.

감사의 글

위 논문은 1998학년도 건국대학교 학술진흥 연구비에 의해 이루어진 것이므로 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. 강국희 : 우유의 신속한 세균수 측정법. 유가공연구. 11(1), 1-16, 14(1993).
2. 강현미, 정충일, 정동관 : Bactometer를 이용한 원유의 총균수 및 저온성균수 측정. 한국낙농학회지. 16(4), 362 (1994).
3. 김대중, 정충일 : 국산원유의 미생물학적 품질개선에 관한 연구. 한국낙농학회지. 15(2), 95 (1993).
4. A.P.H.A. : Standard methods for the examination of dairy products. 15th Ed. American Public Health Association. Washington, D. C. (1985).
5. Kahn, P. and Firstenberg-Eden, R. : Prediction of shelf-life of pasteurized milk and other fluid dairy products in 48 hours. *J. Dairy Sci.* 70, 1544 (1987).
6. 남은숙, 정충일, 강국희, 정동관 : Malthus를 이용한 원유내의 총균수, 대장균수, 저온성균수 측정 한국식품과학회지. 26(6), 764 (1994).
7. Firstenberg-Eden, R. and Klein, C. S. : Evaluation of a rapid impedimetric procedure for the quantitative estimation of coliforms. *J. Food Sci.* 48, 1307 (1983).
8. Firstenberg-Eden, R. and Tricarico, M. K. : Impedimetric determination of total, mesophilic and psychrotrophic counts in raw milk. *J. Food Sci.* 48(6), 1750 (1983).
9. Khayzt, F. A. and Richardson, G. H. : Detection of abnormal milk with impedance microbiology instrumentation. *J. Food Prot.* 49, 519 (1986).
10. Bishop, J. R., White, C. H. and Firstenberg-Eden, R. : Rapid impedimetric method for determining the potential shelf-life pasteurized whole milk. *J. Food Prot.* 47, 471 (1984).
11. Firstenberg-Eden, R. : Collaborative study of the impedance method for examining raw milk samples. *J. Food Prot.* 47(9), 707 (1984).
12. Firstenberg-Eden, R. : Rapid estimation of the number of microorganisms in raw meat by impedance measurement. *J. Food Technol.* 37(1), 64 (1983).
13. Vasavada, C. P. : Rapid methods and automation in dairy microbiology. *J. Dairy Sci.* 76, 3101 (1993).

(2001년 5월 28일 접수)