



# 식품과 식품제조환경의 곰팡이 검사법

## Methods for the Detection of Fungi from Foods and Food Factory Environments

이 헌 준

Hun Jun Lee

위생미생물연구센터

Hygiene & Microbiology Research Center

### I. 머릿말

식품의 안전을 확보하기위한 노력 중 미생물로 인한 위해를 제어하기위한 노력은 미생물학의 발전과 함께 오랫동안 실행되어왔다. 그럼에도 불구하고, 대형 식품사고는 여전히 발생되고 있고 사회문제화까지 되고 있는 것이 현실이다. 이러한 대형 식품사고가 근절되지 않는 주요한 원인으로서, 현대의 식생활이 과거와는 크게 달라졌다는 점과 다양한 새로운 가공식품이 연이어 출현하게 되어, 지금까지의 식품위생관리기술로만으로는 미생물을 완전하게 제어할 수가 없게 되었다는 점이다.

이러한 배경 속에 식품안전을 지속적으로 고도관리를 하는 것을 목적으로 하는 시스템인 HACCP(Hazard Analysis and Critical Control Point)가 미국에서 출발하여, 유럽은 2007년부터 전 식품에 의무화되었다. 일본도 이 제도를 도입한 이래, 관련 행정기관, 국공립 및 민간연구기관 등이 협조하여 원활한 실시와 정착을 위하여 노력하고 있다.

HACCP의 실행은 먼저 리스크의 평가분석으로부터 시작된다. 한국에서도 멀지않은 장래에 이 제도를 실

시한다는 소식을 들었을 때, 곰팡이를 전공하는 저자의 머릿속에 먼저 떠오른 것은 국제적으로 문제시 되고 있는 식품의 곰팡이 오염에 대한 리스크조사를 어떻게 할 것인가 하는 점이다. 곰팡이 오염도의 측정엔 식품 중에 포함되어있는 곰팡이 생균수를 측정하는 것만이 아니라, 오염곰팡이를 동정하여 균종별 오염도를 파악하고 발암성진균독을 생성하는 균종을 감별해야 한다. 장차 HACCP를 실행함에 있어 곰팡이 동정을 비롯한 미생물의 리스크를 분석 평가할 수 있는 인재양성이 절실히 요구되고 있다.

현재의 위생미생물 연구소는 일본의 식품, 화장품, 의약품을 위시한 각종 공업제품에 곰팡이를 비롯한 미생물이 발생하였을 때, 발생한 미생물을 신속히 동정하여, 유해성물질 생성유무, 병원성 유무 등에 관한 정보와 발생원인에 대한 분석정보를 제공하고 있다. 또한 각종 작업환경의 부유곰팡이를 조사하여, 오염재발생방지에 대한 조언을 하는 것이 주요 업무 중 하나이다.

금년 5월, 대전에서 개최된 한국식품과학회 제76차 학술대회에 주제 측의 고마운 배려로 특별강연의 기회를 얻어 「식품 및 식품제조환경의 오염곰팡이의 특징과 동정법」에 관하여 강연을 하였다. 강연을 마친

Corresponding author: Hun Jun Lee  
Hygiene & Microbiology Research Center  
21-6, 4-Chome, Aoto, Katsushika-Ku, Tokyo, 125-0062, Japan  
TEL: +81-3-5680-9831  
Fax: +81-3-5680-9832  
email: eibiken@kabi.co.jp

후 많은 분들로부터 질문을 받았고, 그 대부분은 곰팡이 검사에 관한 기술적인 질문이었다. 이 글은 강연 당시 받았던 질문을 참고로 하여, 식품의 곰팡이 제어를 담당하는 분 혹은 직접 검사를 담당하는 분들에게 도움이 되도록 곰팡이의 생물학적 특징과 기본이 되는 시험법 몇 가지를 소개하기로 하였다.

## II. 곰팡이의 생물학적 특징

곰팡이는 다른 미생물과 비교하여 많은 다른 특징을 가지고 있지만, 그 중에도 발육과정을 이해하는 것은 각종 곰팡이 시험에 매우 좋은 참고가 된다.

세균은 이미 잘 알고 있는 바와 같이 이분열로 증식하여 동일한 형태와 기능의 세포들이 증가하지만, 곰팡이는 포자가 발아하여 균사를 이루고 균사가 증식하여 균사체를 이룬다. 또한 균사 중에는 기질로부터 영양을 흡수하는 기능을 가지는 균사(영양균사), 포자(분생자)를 형성하는 균사(생식균사)가 있다. 이와 같이 곰팡이는 발육과정이 있고 과정별 구성되고 있는 세포의 종류나 수가 다르다는 것을 이해하여야 한다. 또한 균종이나 균주에 따라 인공배지에서는 포자 형성능이 빠르게 저하하여 포자를 형성하지 않는 경우가 있다는 것을 기억해 두면 도움이 된다.

곰팡이 포자를 배지에 접종하였지만 곰팡이가 배양되지 않았다고 하며 그 이유가 무엇인지 하는 질문을 종종 받는다. 곰팡이가 배양되지 않은 원인에는 여러 가지가 있지만, 그 중에도 이미 포자를 형성하지 않게 된 균을 배지에 접종한 것이 원인이었던 것이 이외로 많았다. 포자를 형성하지 않는 균주는 균사를 접종하여야 하며, 통상의 방법대로 집락을 텃치하여 접종하면 배양하여도 집락이 형성되지 않는다.

배양한 곰팡이가 커다란 집락을 형성되었다고 해서 반드시 포자를 형성하였다고 생각해서는 안 되며, 동일한 세포들로 형성된 세균의 집락과는 근본적으로 다르다는 것을 염두에 둘 필요가 있다.

## III. 곰팡이의 생균수 측정

식품 중의 곰팡이 생균수측정은 기본적으로는 세균

의 시험법과 같이, 균질화시킨 검체를 희석하여 배양한다 점에 동일하다. 하지만, 세균은 통상 30~35°C에서 24 혹은 48시간 배양하여 집락을 카운트하지만, 곰팡이는 20~25°C에서 5~7일간 배양한다. 곰팡이의 경우, 성장이 빠른 균종은 배양전반기에 집락을 형성하고 이 집락으로부터 비산된 포자가 배양후반기에 새로운 집락을 형성하는 경우가 있다. 특히 배양기간 중, 중간 관찰 등으로 배양한 사례를 이동, 취급하는 과정 중의 충격으로 포자가 비산되는 경우가 많으므로 주의가 필요하다. 지금까지 곰팡이 생균수를 측정하는 과정 중에 배양 3일 혹은 5일에 판정한 집락수가 10개 전후였는데, 배양 7일에 수십 개 혹은 수백 개로 늘어난 적이 없었는지. 이와 같이, 중간 판정과 최종판정의 균수에 커다란 차이가 생겼을 때에는, 추가 형성된 집락이, 배양전반에 형성된 집락의 포자가 비산하여 형성된 집락이 아닌지를 의심하고 확인할 필요가 있다(그림 1).

주요 곰팡이를 배양하여 매일 관찰하여, 배양일수에 따른 형태변화를 익혀두면 생균수 측정의 집락판별에 크게 도움이 된다.

## IV. 곰팡이의 분리 및 동정시험

각종 재료로부터 곰팡이를 분리하고 동정하는 것은 곰팡이 제어를 위해 반드시 필요한 시험 중 하나이다. 미생물의 동정에는 형태학적, 생화학적, 면역학적, 분

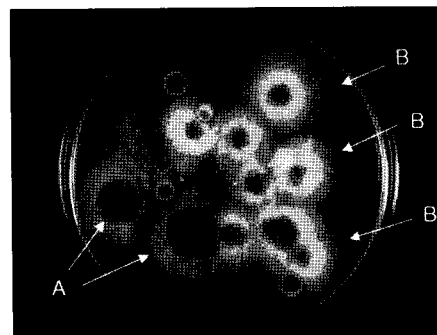


그림 1. 곰팡이 생균수 검사 예  
A: 검체 중의 곰팡이(*Aspergillus niger*)  
B: A로부터 포자가 비산하여 형성된 집락들

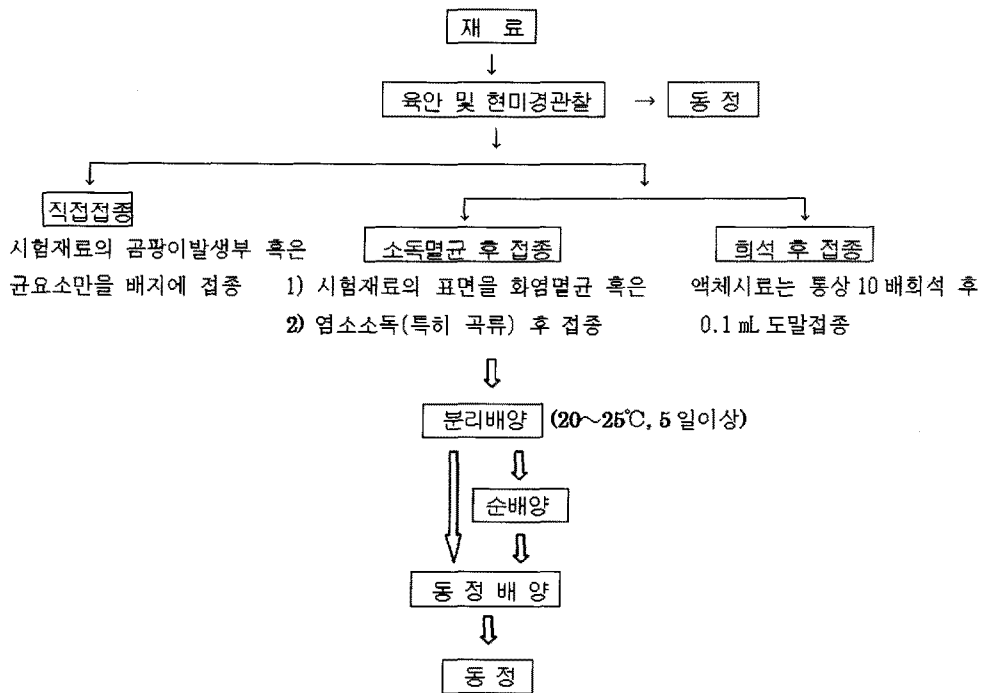


그림 2. 곰팡이 시험재료관찰에서 분리 및 동정

자생물학적 방법 등이 사용되고 있다. 특히 최근에 눈부신 발전을 한 분자생물학적 방법은, 세균의 경우, 동정가능 균종의 범위가 넓어졌고, 신뢰도가 높아 유용하게 이용되게 되고 있다. 그러나 곰팡이의 경우, 현재의 DNA 염기배열해석법으로는 동정가능 균종의 범위가 좁고, 다른 수종의 균종과 동시에 해석결과가 100% 일치하거나, 동정이 불가능 경우가 많아, 통상의 시험법으로 사용하기에는 아직 한계가 있다. 곰팡이 동정은, 형태학적 방법이 주 동정법으로 사용되고 있으며, 곰팡이 검체의 관찰에서 분리 및 동정까지의 과정을 그림 2에 요약하였다.

곰팡이 동정은 앞으로 분자생물학적 방법이 더욱 진보하여 실용화되더라도 형태학적 방법의 가치는 변화하지 않을 것이다. 이는 우리가 장미를 눈으로 식별하는 것을 포기하고 유전자 분석만으로 이해하려고 하지 않는 것과 같기 때문이다. 곰팡이를 육안 및 현미경을 통하여 관찰하고, 그 형태학적 특징을 식별하여 동정을 하기 위해서는 비교적 장시간의 노력과 경험

이 필요하지만, 육안으로는 보이지 않는 아름다운 자연을 즐길 수 있다는 기쁨이 있다(그림 3).

식품 분야 뿐만 아니라, 각종 공업분야에 미생물체어의 필요성이 과거 어느 때보다도 높아지고 있고, 곰팡이를 동정할 수 있는 인력의 필요성이 증대하고 있는 가운데, 장기간의 노력과 훈련이 요구되는 것이 이유로, 곰팡이 동정술을 습득하고자 하는 젊은 인재가 최소한 것에 대해 매우 유감스럽게 생각된다.

검체로부터 곰팡이를 분리하고 배양할 경우, 검체에 발생한 포자에 각별한 주의가 필요하다(그림 4). 검체의 포자, 특히 건조성 포자는 주위 공기 중에 비산하기가 쉽고, 공기 중에 부유한 포자는 알레르기성 질환의 유발 혹은 악화의 원인이 될 수가 있다. 또한 실험실내 다른 배양물의 오염원인이 되므로, 검체의 운반에는 밀폐용기 사용, 충격방지에 주의하고, 곰팡이 시험전후에는, 자외선살균소독, 소독살균용 에탄올 분무 등을 실시하는 등 주의가 필요하다.

한편으로는, 육안으로 곰팡이가 관찰이 된 검체라고

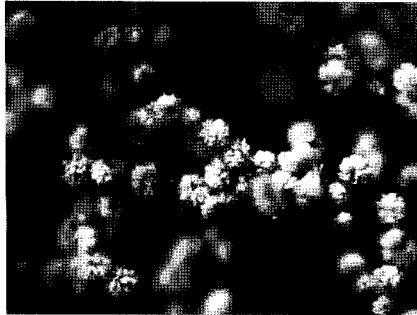


그림 3. *Eurotium rubrum*의 실제 현미경상

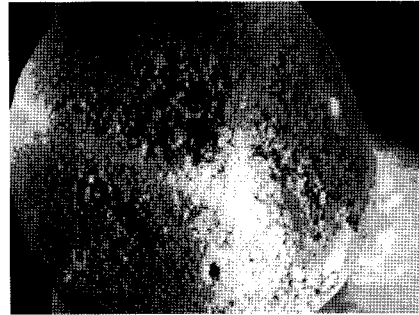


그림 4. 굴에 발생하여 포자를 대량으로 형성한 곰팡이

해서 반드시 포자가 대량 발생해 있다고는 할 수 없고, 균사체만을 형성하여 포자를 형성하지 않은 경우도 종종 있다. 검체에 발생한 곰팡이가 포자를 대량으로 형성하였을 경우에는, 비로드상, 과립상 혹은 분말상으로 보이며, 실제현미경으로 관찰하면, 포자 형성유무 확인이 용이하다(그림 5, 6). 또한, 검체의 포자형성유무의 확인이 불가능한 경우에는, 포자가 형성된 것을 전제로 취급하는 것이 안전하다.

## V. 실내오염곰팡이 검사법

식품제조환경의 미생물 오염도 조사는 오염 방지 및 억제에 위하여 반드시 수행해야할 시험 중 하나이며, 일본의 경우, 실내공기, 제조라인, 바닥, 벽면 등에 대한 곰팡이 오염 조사를 정기적으로 실시하는 회사가 늘어나고 있다. 실내공기 및 표면의 곰팡이 조사과정

을 그림 7에 나타내었다.

실내공기의 조사는 과거에는 공기 중으로 부터 배지에 자연 낙하하는 낙하균을 조사하는 방법을 많이 사용하였으나, 지금은 air sampler로 대상공기 일정 양을 채취하고 배양하여, 공기 1m<sup>3</sup> 중의 부유곰팡이 수를 측정하는 방법이 주류가 되고 있다. Air sampler에는 여러 가지 종류가 있지만, 실험실에서 제작한 평판 배지를 사용할 수 있는 종류가 범용되고 있다. 대상 실내공기의 채취량은 통상의 경우 100 L이지만, 공기오염도가 높을 것으로 예상될 경우는 채취량을 줄이는 반면에 오염도가 매우 낮은 경우는 채취량을 늘리는 등 경우에 따라 조절이 필요하다.

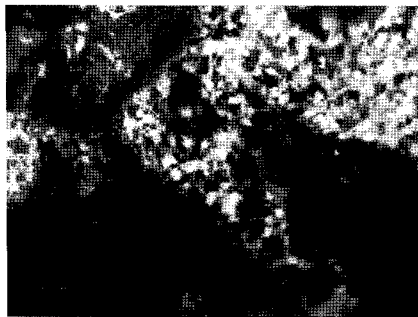


그림 5. 냉동만두의 표면에 발생한 *Penicillium brevicompactum*의 포자 (실체 현미경 20배전후)

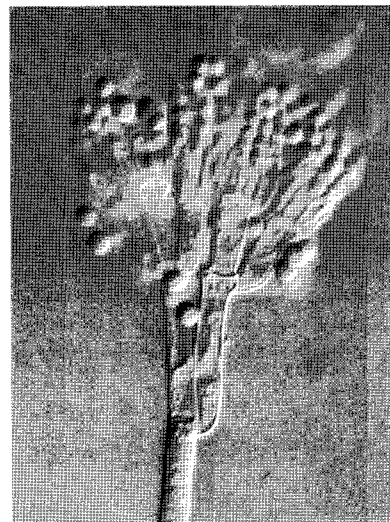
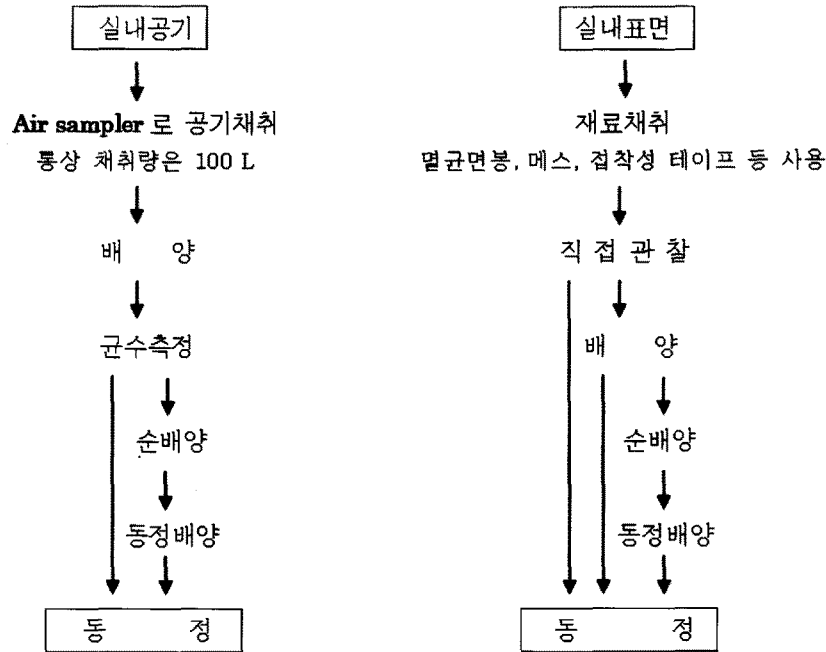


그림 6. *Penicillium brevicompactum*의 광학현미경상



실내공기

사 용 배 지 ; 항생물질(클로람페니콜 등)첨가PDA 혹은 DG18배지  
균 수 측 정 배양 3일~5일에 1차 카운트하고, 5일~7일에 확인

발생표면

직접관찰 ; 채취한 재료를 slide glass에 놓고, 표본액으로 처리한 후 현미경관찰.

배양 전 시험재료의 현미경관찰 소견은, 배양후 복수의 균이 분리되었을 때,  
발생균을 감별하는 주요 단서가 된다.

동정배양 ; 일반적으로 거대배양과 슬라이드배양법을 사용하지만, 순배양한 집락으로  
부터 제작한 표본을 현미경관찰하여 동정이 가능한 경우도 많다.

그림 7. 실내곰팡이 조사법

제조라인이나 실내 바닥, 벽면 등 표면의 곰팡이 오염도 혹은 표면에 발생한 곰팡이 재료채취는 털균면봉, 메스, 접착성 테이프 등 대상 표면의 성질에 따라 선택을 하여 사용한다.

배양 후 집락을 관찰할 때에는 평판배지를 실내광원을 향하여 각도를 변화시키면서 관찰하면 용이하게 관찰할 수가 있다. 세균의 경우, 집락을 카운트 할 때, 마킹을 하면서 집락을 두드리지만, 곰팡이의 경우 포자가 비산하는 원인이 되므로 가능한 한 집락에 물리

적 충격을 가하지 않도록 주의하면서 마킹을 한다.

실내 공기 중 부유곰팡이 수는 위생관리가 철저히 이루어지고 있는 곳은 부유균수가 10 cfu/m<sup>3</sup> 이하이며, 일반적으로는 100에서 500 cfu/m<sup>3</sup>를 나타낸다. 실내 부유 곰팡이 수의 위생기준은 생산하는 식품의 종류에 따라 매우 큰 차이가 있어 일괄적으로 가이드라인을 설정하는 것으로 의미가 없고, 제조식품분야 별, 회사별 기준설정이 필요하다. 또한, 공중부유곰팡이 수가 1000 cfu/m<sup>3</sup> 이상인 경우, 실내에 곰팡이가 대량으

로 발생하고 있을 가능성이 높으므로, 즉각적인 대책이 필요하다.

실내공기로부터 분리되는 주요 곰팡이는 *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp. 등이 있고, *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, 등 발암성 진균독을 형성하는 균종이나, *A. fumigatus*, *Trichosporon* sp. 등 병원성이 있는 균종이 검출되었을 때에는 취급에 각별한 주의가 필요하다.

## VI. 땀음말

동경도의 남부에 위치하고 있는 가나가와현에 있는 오다와라시는 하꼬네 관광의 거점 도시이면서, 가마보꼬(환살 생선으로 만든 어묵)의 명산지이기도 하다. 후생성 연구기관에 근무하던 어느 날, 한 가마보꼬 생산 회사로부터 제품에 발생한 곰팡이의 종류, 유해성 유무 및 원인을 조사해달라는 의뢰를 받았다. 조사한 결과 원인 곰팡이는 *Penicillium glabrum*이었으며, 이 균종은 식품위생상 문제가 되는 독성물질을 산생하는 균종이 아니며, 사람과 동물에 병원성이 있는 균종도 아니다. 하지만, 토양에 널리 분포되어있으며, 건조과일, 냉동식품, 곡류 등 다양한 종류의 식품에 발생하며, 실내공기로부터도 검출되는 균종이다. 금후의 재발생 방지대책으로서 식품보존제를 사용하는 것도 하나의 방법이라고 설명을 하였더니, 이 회사의 사장은

200여년 동안 식품보존제를 사용하지 않고 생산, 판매해온 제품이라고 하면서 식품보존제 사용을 거부하였다. 결과적으로, 전통의 제조법을 지키기 위하여, 공기오염 방지를 위한 시설투자와 미생물오염을 지속적으로 감시, 관리를 하는 시스템을 구축하는 방법을 선택하였다.

최근에는 한국에도 많은 가공식품이 다양하게 생산되고 있지만, 약 20여년전에는 한국과 일본의 식품가공기술에 많은 차이가 있었다. 그 당시 저자는 그리 멀지 않은 장래에 「일반가정에서 간단하게 만드는 김치셋트」를 일본의 어느 회사가 개발판매하지 않을까하고 걱정을 한 적이 있다. 필요한 야채를 적당하게 잘라서 비닐봉투에 넣고, 첨부된 부재(양념과 동결건조 곰팡이)를 넣고 버무리기만 하면 완성되는 쓰께모노(주로 야채를 소금, 된장, 간장, 식초 등에 절이고 곰팡이로 발효시킨 것)를 만드는 제품셋트를 보았기 때문이다.

한국에는 많은 종류의 전통식품이 있다. 고도의 위생적인 생산환경과 엄정한 관리체제 아래에서, 과거와 동일하면서도, 과거 보다 우수한 제품을 만드는 것, 그리고 현대 생활에 맞는 가공제품을 생산하는 것이 앞으로의 중요한 과제라고 생각한다. 또한, 식품의 위생관리를 위해서도, 좋은 발효식품을 만들기 위해서도, 식품미생물을 전공하는 많은 젊은 인재가 육성되고 배출되었으면 마음 간절하다.