J. Fd Hyg. Safety
Vol. 26, No. 4, pp. 366~369 (2011)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

조미건어포의 *Staphylococcus aureus* 오염도 및 생존패턴 분석

조준일 · 이순호 · 최준혁 · 최은정 · 황인균*
식품의약품안전청 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 미생물과

Analysis of Prevalence and Survival pattern of *Staphylococcus aureus* from Dried Seasoned Fishes

Joon-Il Cho, Soon-Ho Lee, Jun-Hyuk Choi, Eun-Jung Choi, and In-Gyun Hwang*
Food Microbiology Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, 643 Yeonje-ri Gangoe-myeon, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-951, Korea
(Received June 20, 2011/Revised August 3, 2011/Accepted September 1, 2011)

ABSTRACT - In this study, the contamination levels of total aerobic bacteria, *E. coli,* total coliform and S. *aureus* of seasoned dried fishes (SDF) in Korea were investigated. A total of 81 SDF samples were purchased randomly from 28 stores. Contamination range of total aerobic bacteria, total coliform and *S. aureus* were 150~1,700,000, 10~31,000 and 10~220 CFU/g, respectively. *E. coli* was detected in only one samples in the qualitative test. We have analyzed quantitatively Staphylococcal enterotoxins (SE-type A, C and D) produced by *S. aureus* contaminated in SDF using a TECRA kit and standard curve. The curve equation was Y = 0.1499 * X + 0.1183 and maximum amount of SEs in SDF was 0.71 ng/ml. Reduction speed of *S. aureus* in SDF stored at 37°C was the highest among the samples stored for 8 days at different temperature of 7, 18 and 37°C. On the basis of the results, SDF in Korea can be contaminated by a variety of pathogenic bacteria. Therefore, precautionary measures are necessary for consumer protection, including the improvement of sanitary conditions in the processing plants in Korea.

Key words: Seasoned dried fish, *Staphylococcus aureus*, enterotoxin, Standard curve, Survival pattern

조미건어포는 주로 어육을 조미·건조하여 가공한 식품으로 간식, 술안주, 반찬 등 다양한 형태로 꾸준히 소비가 증가되는 식품으로 그 제조 과정이 복잡하고 원료에서 최종 생산품까지 대부분의 작업이 수작업으로 이루어지고 있어 위생관리 및 미생물에 대한 대응이 필수적이나 살균을 위한 열처리 시 제품의 품질을 변화시켜 사실상 열처리를 통한 살균공정 적용이 어려운 실정이다[1]. 또한 우리나라에서 유통되고 있는 조미건어포는 원료의 남획, 설비비용 및 가공비용 상승 등 국내의 가격 경쟁력 저하로 베트남, 중국 등 가격이 비교적 저렴한 동남아시아에서 건조·가공된 제품들이 다량 유통 중이며 원산지의 고온 다습한 기온과 비위생적인 제조공정 및 운송·보관 공정으로 인해 국내·외 조미건어포에 대한 소비자의 불안이 높아지고 있다[2,3]. 실제로 조미건어포는 원료의 선별, 껍질제거 및 포 뜨기, 세척, 설탕과 소금을 이용한 조미, 조미숙성, 착발, 냉풍건조, 탈발, 선별 및 포장 단계를 거쳐 제조되는데 대부분 수작업으로 이루어져 황색포도상구균에 대한 위험이 다른 식중독균에 비하여 높을 것으로 예상되며, 현행 우리나라에서는 식품공전에 조미건어포 황색포도상구균의 기준을 100 CFU/g 이하로 규정하여 관리하고 있는 실정이다[4].

황색포도상구균은 화농성 질환 및 식중독의 원인균으로 식품 위생상 중요한 관리 대상이 되고 있으며 공기, 토양 등 자연계에 널리 분포하고 있어 건강한 사람과 동물의 피부 등에 상재하고 있어 식품에 쉽게 오염될 수 있다[5-9]. 황색포도상구균은 독소를 생성하여 식중독을 유발하며, 생성된 독소는 분자량이 약 26,000~35,000 Da인 단일 폴리펩티드이며 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J 형 등이 보고되고 있다. 또한 황색포도상구균이 생성한 독소는 내열성이 강해 100°C에서 30분간 가열해도 완전히 파괴되지 않으며 1 μg으로 식중독을 유발시키는 것으로 알려져 있다[10-16].

이에 본 연구는 국내에서 유통되고 있는 국내산과 수입

*Correspondence to: In Gyun Hwang, Food Microbiology Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, 643 Yeonje-ri Gangoe-myeon, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-951, Korea
Tel: 82-43-719-4301, Fax: 82-43-719-4300
E-mail : inghwang@korea.kr

산 조미건어포에 대하여 황색포도상구균 등 미생물 오염도를 조사하고, 조미건어포에서의 황색포도상구균 생존 패턴에 관한 연구를 수행하여 효과적이고 과학적인 조미건어포의 미생물학적 위생관리 방안을 마련하고 수산식품 먹거리의 안전성 확보 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

시험재료

2010년 서울시 종로구에 위치한 광장시장과 대형마트 등에서 판매되는 조미건어포 수입산 49건 국내산 32건, 총 81건을 구매하여 연구에 사용하였다.

표준균주

본 연구에 사용된 표준균주는 *S. aureus* ATCC 27664, 23235 및 13565로 American Type Culture Collection (ATCC)에서 분양 받았으며, tryptic soy broth (TSB, Difco Laboratories, Detroiy, MI, USA)에 전 배양하여 1 ml을 vial tube에 50% glycerol를 첨가하여 −70ºC에 동결 보관하면서 실험에 사용하였다.

미생물 시험

총호기성세균

조미건어포 25 g에 225 ml의 멸균생리식염수를 가한 후 bag mixer를 사용하여 30초간 균질화하여 시험용액으로 하였다. 시험용액 1 ml과 각 단계 희석액 1 ml씩을 멸균 petridish 2매에 취하여 약 50ºC로 유지한 plate count agar에 접종하여 35ºC에서 24~48시간 배양 후 생성된 집락수를 계산하였다.

대장균군 및 대장균

대장균군은 시험용액 1 ml과 각 단계 희석액 1 ml씩을 대장균군용 건조필름(3M™Petrifilm™EC/CCPlates) 2매에 접종하여 35ºC에서 24시간 배양 후 생성된 전형적 집락수를 계산하였다. 대장균은 시험용액 1 ml을 3개의 EC 배지에 접종하고 44ºC에서 24시간 배양 후 가스가 발생된 발효관의 배양액을 EMB 배지에 접종하여 37ºC에서 24시간 배양한 후 전형적인 집락이 발생되면 미생물 자동 동정기 VITEK 2 compact system (Biomerieux)를 활용하여 최종 동정하였다.

황색포도상구균

시험용액 1 ml과 각 단계 희석액 1 ml씩을 Baird-Parker (BP; Oxoid, Basingstoke) Agar 3매에 접종하여 35ºC에서 24시간 배양 후 생성된 전형적 집락수를 계산하였고 미생물 자동 동정기 VITEK 2 compact system (Biomerieux)를 활용하여 최종 동정하였다.

황색포도상구균 enterotoxin 정량 분석

Staphylococcal enterotoxin (SEs) 정량분석을 위한 표준곡선 작성을 위해 Toxin Technology (USA)로부터 SEA (cat no. AT 101), SEC (cat no. CT 111), SED (cat no. DT 303) 독소를 구입하였으며 sterile deionized water에 1 mg/ml로 희석하여 −80ºC에 보관 후 실험에 사용하였다. 정량표준곡선은 Staphylococcal enterotoxin (SEs)을 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0 ng/ml의 농도로 희석한 후 TECRA kit를 이용하여 독소를 확인 하였으며 ELISA reader를 사용하여 희석액 각각의 OD 값을 측정하여 표준곡선에 대한 방정식을 도출하였다. 분리된 황색포도상구균 균주는 TECRA kit 및 ELISA reader를 활용하여 414 nm에서 OD 값을 측정한 후 개발된 방정식에 값을 대입하여 독소량을 산출하였다[17].

조미건어포에서의 황색포도상구균 생존패턴

표준균주를 TSB에 24시간 배양 후 성장패턴을 확인한 후 cocktail을 제조하여 시험용액으로 사용하였다. 시험용액 1 ml을 조미건어포 20 g에 균일하게 접종하여 조미건어포의 황색포도상구균 최종 농도가 80 CFU/g 수준이 되게 하였다. 황색포도상구균이 접종된 조미건어포를 멸균 백에 넣고 유통 조건을 고려하여 7, 18, 37ºC에서 보관하면서 각 시간대 별(0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 144, 96, 144시간) 균의 변화를 Baird-Parker agar를 사용하여 2회 반복 확인하였다.

결과 및 고찰

미생물 오염도 분석

총호기성세균

총호기성 세균은 식품 중 자연스레 존재하고 있으며 식품의 원료, 생산・제조 시설 및 유통 환경의 일반적인 위생상태의 지표로 사용될 수 있다. 조미건어포의 총호기성 세균을 분석한 결과 Table 1과 같고 총 81건 중 73건(90%)

Table 1. Microbial contamination level in seasoned dried fishes

	Total aerobic bacteria	Total Coliform	Staphylococcus aureus
Positive No(%)	73(90%)	36(44%)	15(19%)
Range	150~1,700,000 CFU	10~31,000 CFU	10~220 CFU
Average	82,000 CFU	980 CFU	60 CFU

에서 세균수가 검출되었고 오염도 범위는 150~1,700,000 CFU/g로 나타났다. Solberg 등[18]은 비가열식품에 대한 미생물 안전기준치로 총호기성세균의 경우 100,000 CFU/g 이하를 제시하였는데 본 연구결과 16건(20%)에서 이 기준을 초과하는 것으로 나타났다. 이는 윤[4] 등 과 박[19] 등의 연구와 유사한 수준으로 나타났고 이러한 결과는 대다수의 조미건어포 제조 업체는 수작업에 의존하고 있으며 미생물 오염에 대한 대책 마련이 미흡한 작업 환경에 의한 것으로 사료 된다[20].

대장균군 & 대장균

대장균군과 대장균은 식품위생상 분변오염의 지표로 사용되며 조미건어포의 대장균군 분석한 결과는 Table 1과 같고 36건(44%)에서 대장균군이 검출되었고 오염도 범위는 10~31,000 CFU/g로 나타났다. 대장균은 1건에서 검출되어 윤[4] 등의 연구와 유사한 경향을 나타내었다.

황색포도상구균

황색포도상구균은 독소형 식중독균으로 강한 환경 저항성으로 인해 자연계에 널리 분포하며 2010년 주요 식중독 원인균으로 식품 위생상 중요하게 관리되는 미생물이다. 조미건어포의 황색포도상구균 분석한 결과는 Table 1과 같고 15건(19%)에서 검출되었고 오염도 범위는 10~220 CFU/g로 나타났다. 이는 윤[4] 등의 연구에 비해 높은 오염수준으로, 제품의 원산지, 첨가물 첨가 용량 및 보관・유통 환경의 차이에서 기인된 것으로 사료된다.

황색포도상구균 enterotoxin 정량 분석

우리나라 황색포도상구균 식중독의 주요 원인 독소는 A, C 및 D type으로 알려져 있고 조미건어포에서 분리된 Staphylococcal enterotoxin 정량을 위해 Fig. 1과 같이 A, C 및 D 혼합 type의 enterotoxin에 대한 표준곡선 방정식을 도출하였다.

$Y = 0.1499*X + 0.1183$

X : enterotoxin 량 (ng/ml)

Y : OD값 (414 nm)

분리된 황색포도상구균의 enterotoxin 생성량은 평균 0.01 ng/ml, 생성량 범위는 −0.23~0.71 ng/ml으로 확인되었다. 또한 측정된 독소량은 황색포도상구균의 식중독 유발을 위한 최소 독소량 1,000 ng/ml에는 미치지 못하는 것으로 나타났다[21].

조미건어포에서의 황색포도상구균 생존패턴

조미건어포에서 황색포도상구균 성장패턴은 Fig. 2와 같고, 최대 성장은 37ºC 4시간, 18ºC 24시간, 7ºC 72시간에서 160, 150, 150 CFU/g 수준으로 증식하였다. 초기 오염도에 비해 보관 초기에는 균의 증식이 모든 온도에서 나타났으나 최대 성장 이후에 감소하는 경향을 나타내었다. 온도가 높은 37ºC에서 가장 뚜렷한 균의 감소경향을 보였고 이는 다양한 미생물 성장패턴 연구 결과와 유사한 것으로 나타났다. 박[16]등의 연구에서와 같이 7ºC에서 보관한 조미건어포의 황색포도상구균은 급속한 성장은 이루어지지 않으나 오랜 시간 생존하는 것으로 확인되었다.

요 약

재래시장과 대형마트 및 온라인 상에서 판매되는 조미건어포를 대상으로 미생물학적 안전성 평가를 위해 조미건어포 81건을 수집하여 미생물 오염도를 분석하고 생성된 독소량을 측정하였다. 또한 유통・보관 조건에 따라 조미건어포에서의 황색포도상구균 성장패턴을 연구하여 조미건어포 등 수산물 가공품 안전성 확보 및 정량적 위해평가에 활용하고자 하였다. 총호기성세균, 대장균군 및 황

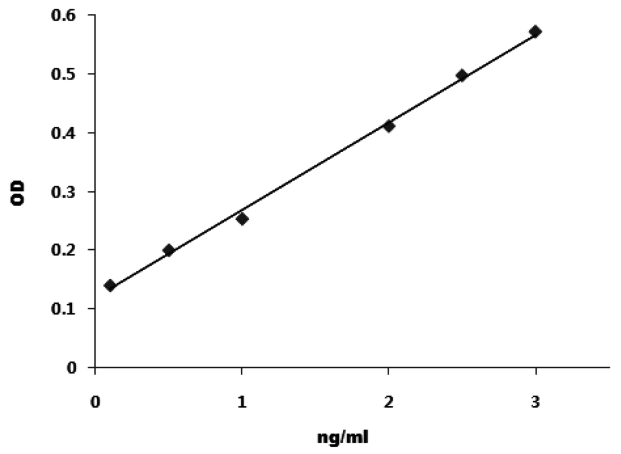

Fig. 1. Standard curve of Staphylococcal enterotoxins (SE type A, C and D).

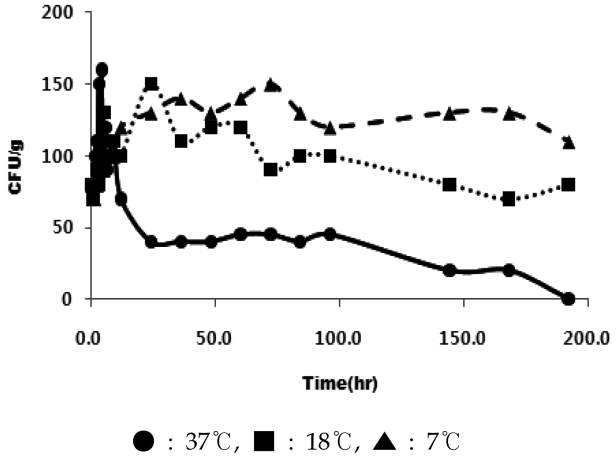

Fig. 2. Survival pattern of *Staphylococcus aureus* in seasoned dried fishes during the storage.

색포도상구균은 73건(90%), 36건(44%), 15건(19%)에 각각 검출되었고 오염도 범위는 150~1,700,000 CFU/g, 10~31,000 CFU/g 및 10~220 CFU/g로 나타났고 대장균은 1건에서 검출되었다. 황색포도상구균의 enterotoxins (type A, C and D)정량을 위해 표준곡선을 통해 방정식을 도출하였고 분리된 황색포도상구균이 생성한 enterotoxins은 평균 –0.05 ng/ml 이었고 생성량 범위는 –0.23~0.71 ng/ml 으로 식중독 유발을 위한 최소 독소량에는 미치지 못했다. 조미건어포의 황색포도상구균 성장패턴 확인을 위하여 초기 황색포도상구균의 오염도를 80 CFU/g으로 하여 7, 18, 37°C에서 8 일간 보관한 결과, 초기 증식 후 온도가 높을수록 빠른 감소경향을 나타내었다. 본 연구 결과 유통중인 조미건어포는 대체적으로 미생물학적 안전성이 확보된 것으로 평가되었으나, 일부의 조미건어포에서는 총호기성세균이 10^5 CFU/g 수준을 초과하며 대장균 및 황색포도상구균의 관리기준을 벗어난 것들이 있어 위생적인 제품의 생산 및 위생적인 유통관리 시스템의 정착이 필요한 것으로 사료된다. 또한 황색포도상구균의 독소생성량 표준곡선과 조미건어포의 황색포도상구균 생존패턴에 관한 연구는 조미건어포 생산, 가공 및 판매하는 산업체에서 널리 활용 가능할 것으로 판단되며, pH 및 수분활성도 등 다양한 변수에 따른 황색포도상구균 생존패턴 변화 등에 관한 연구가 추가적으로 시행되어야 할 것으로 생각되어 진다.

참고문헌

1. 함희진, 김수언, 유승희, 황영옥, 최성민 : 그대로 섭취하는 수산가공식품 중 조미건어포류에 대한 주요 식중독균 분포, 한국식품위생안전성학회지, **25**, 10-15 (2010).
2. 윤민혜, 홍해근, 이인숙, 박민정, 윤수정, 박정화, 권연옥 : 조미 건어포류의 안전성에 대한 조사연구, 한국식품위생안전성학회지, **24**, 143-147 (2009).
3. 함희진, 김무상, 최병현, 김명희: 시판 건 해산물 중 아황산염류 함량 조사, 한국식품위생안전성학회지, **14**, 380-385 (1999).
4. Yoon, M.H., Hong, H.G., Lee, I.S., Park, M.J., Yun, S.J., Park, J.H. and Kwon, Y.O.: A survey of the safety in seasoned dried fishes. *J. Fd. hyg. Safety,* **24(2)**, 143-147 (2009)
5. Kim, D.H., Kwon, K.R., Lee, K.H., Ju, Y.R., Oh, K.S. and Kark, HS.: Studies on Staphylococcal food-poisoning and enterotoxin productivity, Report of National Institute of Health, **26**, 111-121(1989).
6. Ryu, P.Y., Kim, Y.I., Rhee, J.H., Chung, S.S., Ahn, T.H., Shin, J.h., Ryang, D.W., Kim, Y.H.: Antimicrobial resistance and plasmid profile of methicillin-resistant S. aureus, *J. Infection*, **27(1)**, 15-29 (1995).
7. Yi, D.H. and Hong, H.S.: Isolation and cultural conditions of *Actinomycetes* strain producing effective antibiotic for MRSA, 건국기술연구논문집, 24 (1999).
8. Jung, C.H. and Kang, H.J.: Antimicrobial susceptibilities and -lactamase production of S. aureus isolated from bulk milk and domestic animals, Kor. *J. Vet. Publ. Hlth*, **17(3)** (1993).
9. 김승곤, 김충환, 김태운, 이건섭, 정경석: 최신병원위생학, 고문사, pp. 251-256 (2000).
10. Kim, D.H., Kim, B.S., Lee, K.H., Ju, Y.R., Oh, K.S., Kark, H.S. and Choi. Y.K.: A study on diagnosis of Staphylococcal food poisoning and enterotoxin, The Report of National Institute of Health, **27(1)**, 56-63 (1990).
11. Lee, K.U., Kim, Y.J., Lee, S.M., Lee, M.S. and Kim, B.H.: Nonstaining method for determination of gram reactions and comparision of the API Staph (DMS) and Cowan and Steel procedures for the identification of *staphylococcus* and *Micrococcus.* The Report of of National Institute of Health, **25**, 277-288 (1988).
12. Cho, D.T.: Significance of methicillin-resistant S. aureus as a nosocomial pathogen, *J. Infection*, **27(1)**, 11-13 (1995).
13. 강윤숙, 윤선경, 좌승협, 이동하, 우건조, 박영식, 김창민: 김밥 중 황색포도상구균의 분포조사. *J. Fd. hyg. Safety,* **17(1)**, 31-35 (2002).
14. Chen, T.R., Hasiao, M.I.I., Chiou, C.S. and Tsen HY.: Development and use of PCR primers for the investigation of C_1, C_2 and C_3 enterotoxin types of Staphylococcus aureus strains isolated from food-borne outbreaks. *Int. J. Food Microbiol.* **71**, 63-70 (2001).
15. Ha, K.S., Park, S.J., Shim, W.B. and Chung, D.H.: Screening of MRSA (Methicilline Resistant Staphylococcus Aureus) and seb gene in producing strains isolated from food service environment of elementary schools. *J. food. Hyg. Safety* **18**, 79-86 (2003).
16. Park, S,G., Hwang, Y.O., Jung, J.H. and Lee, K.M.: Biological characteristics of Staphylococcus aureus isolated from food-borne patients in Seoul. *J. food. Hyg. Safety* **16**, 159-167 (2001).
17. 식품의약품안전청 연구보고서: 예측모델개발을 활용한 즉석섭취식품의 효율적 위해관리 연구. (2008).
18. Solberg, M., Buckalew, J.J., Chen, C.M., Schaffner, D.W., O'Neli, K., McDowell, J., Post, L.S. and Boderck, M.: Microbiological safety assurance system for food service facilities. *J. food. Technol*, **44**, 68-73 (1990).
19. Park, S.Y., Choi, J.W., Yeon,, J.H., Lee, M.J., Ha, S.D., Park, K.H., Moon, E.S., Ko, M.H., Lee, J.H., Cho, Y.S and Ryu, K.: Analysis of microbial contamination and preservatives in children's favorite foods around elementary schools in Gyeonggi and Incheon. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.,* **35(2)**, 224-230 (2006).
20. Hajime S.: Increase in host resistance by lactic acid bacteria 9th International academic symposium-lactic acid bacteria and health, The Korean Public Health Assosiation, pp. 31-48 (1995).
21. Atanassova, V., Meindl, A., and Ring, C.: Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. *Int. J. Food Microbiol.* **68**, 105-113 (2001).