pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 40, No. 3, pp. 204~208 (2025)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2025.40.3.204

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

Plate Count Agar와 Dry Film Media의 총 호기성 세균 검출 효율 및 정량 정확도 비교

임지유 · 김채영 · 김은영 · 김중범*
국립순천대학교 식품공학과

Comparison of Detection Efficiency and Quantitative Accuracy in Total Aerobic Bacterial between Plate Count Agar and Dry Film Media

Jl-Yu Im, Chae-Young Kim, Eun-Yeong kim, Jung-Beom Kim
Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon, Korea

(Received May 12, 2025/Revised June 14, 2025/Accepted June 16, 2025)

ABSTRACT - This study evaluated the feasibility of using dry film media by comparing the detection efficiency and quantitative accuracy in total aerobic bacteria of Plate Count Agar (PCA; incubation for 48 h) and MC-Media Pad A.C+ (MMPAC+; incubation for 24 h). In the quantitative accuracy experiment for 60 salad samples, PCA yielded results of 6.1±1.0 log CFU/g, and MMPAC+ yielded results of 6.3±1.1 log CFU/g. The *P*-value for PCA and MMPAC+ was 0.335, indicating no statistically significant differences. The correlation coefficient (R^2) was 0.5545, demonstrating a significant correlation between the two methods. In low-level inoculation of total aerobic bacteria in salads resulted in 3.3±0.1 log CFU/g for PCA and 3.4±0.1 log CFU/g for MMPAC+, showing no significant difference with a *P*-value of 0.251. High-level inoculation exhibited 8.9±0.2 log CFU/g for PCA and 9.0±0.3 log CFU/g for MMPAC+, and no significant difference was observed with a *P*-value of 0.561. Therefore, the use of dry film media, specifically MMPAC+ (incubated for 24 h), in addition to PCA (incubated for 48 h), is suitable for total aerobic bacterial experiments.

Keywords: Total aerobic bacteria, Plate Count Agar, MC-Media Pad A.C+, Salad, Quantitative accuracy

최근 식품산업이 발전하며 가정 내 식습관이 변화하였고 간편하게 조리하고 섭취할 수 있는 식품의 소비가 증가하였다[1]. 이러한 소비 특성의 변화에 따라 단순 조리 또는 그대로 섭취할 수 있는 새싹채소, 샐러드 등 신선편의식품이 주목받고 있다[2]. 신선편의식품을 선호하는 주된 이유는 '음식 조리할 시간이 부족하여 시간을 절약하기 위해서'가 39.3%로 가장 높았으며, '쉽고 간편하게 한 끼를 해결할 수 있어서'가 26.8%로 조사되었다[3]. 신선편의식품은 가열로 인한 영양소의 파괴가 없고 간편하다는 장점이 있지만, 개봉 후 바로 섭취하지 않으면 식중독 발생의 우려가 있어 위생관리를 철저하게 하여야 한다[4]. 또한 샐러드의 원료인 채소는 병원성 미생물이 생산단계에서 오염될 수 있고, 가공, 포장 등 제조단계에서 작업자와 작업장의 위생 상태에 따라 영향을 받을 수 있어 철저한 위생관리가 필요하다[5].

미국의 토마토, 시금치 식중독 사고와 같이 채소와 과일은 수확 후 소비되는 과정에서 병원성 미생물에 오염될 수 있다[6]. 이중 *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes, Yersinia enterocolitica, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum* 등이 신선 농산물과 관련하여 식중독을 발생시킨 것으로 보고되고 있다[7]. 샐러드용 채소와 상추에서 *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Shigella sonnei, Listeria monocytogenes* 등이 검출되어 식중독을 유발한 사례가 보고되었고, 2004년에는 토마토를 먹고 약 300명이 *Salmonella* spp.에 의한 식중독 사례가 보고되었다[8-12]. 또 Abadias 등[13]은 스페인에서 판매되는 혼합 채소 샐러드에서 일반세균이 5.4-8.5 log CFU/g 검

*Correspondence to: Jung-Beom Kim, Department of Food Science and Technology, Sunchon National University, Suncheon 57933, Korea
Tel: +82-61-750-3259, Fax: +82-61-750-3208
E-mail: okjbkim@sunchon.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

출되었다고 보고하였고, Jo 등[14]은 새싹채소에서 일반세균이 8.0-8.9 log CFU/g 검출되었다고 보고하였다. 일반세균의 일부가 기회감염균일 수 있고, 일반세균의 높은 오염도는 식품의 부패 정도를 나타낸다[15]. 따라서 식품 중 일반세균은 식품의 안전성을 평가하는 중요한 미생물학적 요소이다.

일반세균 검출 실험은 일반적으로 식품공전에 따라 수행한다[16]. 시험용액 1 mL, 10배 단계 희석액 1 mL을 멸균 페트리접시 2매 이상에 무균적으로 가하여 약 43-45°C로 유지한 표준한천배지를 무균적으로 분주하고 응고시킨다. 확산집락의 발생을 억제하기 위하여 다시 표준한천배지 3-5 mL를 가하여 응고시킨 후 페트리접시를 뒤집어 35±1°C에서 48±2시간 배양한다[16]. 식품공전에 따른 표준평판법(Plate Count Agar, PCA)이 전통적으로 사용되고 있으나, 배지의 제조 및 조작이 번거롭고 많은 노동력과 실험에 장시간이 소요된다는 단점이 있다. 건조필름은 미생물이 증식할 수 있도록 영양성분과 특정 미생물을 선택 배양하기 위한 지시약과 억제제를 필름에 코팅하여 건조한 것으로 시료를 접종하면 한천배지와 같이 겔을 형성한다[17]. 건조필름은 부피를 적게 차지하기 때문에 여러 시료 처리가 가능하고, 배지를 제조할 필요가 없고 지시약이 혼합되어 있으므로 검출이 용이하다는 장점이 있어 식품 중 미생물 실험 배지로 많이 사용되고 있다[18].

현재까지 건조필름 연구 결과를 살펴보면 대장균군과 대장균의 검출을 위한 건조필름 방법의 평가[17], 물 중 일반세균 정량에 대한 배지법과 건조필름법의 상관관계[19], 대장균군 건조필름의 위양성과 위음성 균주 분리 동정[20], 한국 전통식품 중 미생물 분석을 위한 건조필름법 평가[21] 등 건조필름을 48시간 배양하여 일반세균수를 평가한 연구는 다수 보고되고 있으나 신속한 검출을 위해 24시간 배양 후 기존 식품공전 배지법과 비교한 연구는 미미한 수준이다.

따라서 본 연구에서는 24시간 배양 건조필름법과 48시간 배양 표준평판법(PCA)의 검출 효율과 정량 정확도 비교로 24시간 건조필름법의 일반세균 적용 가능성을 평가하여 소비기한이 짧은 신선편의식품의 미생물학적 안전성 확보에 기여하고자 한다.

Materials and Methods

실험 재료 및 전처리

본 실험에 사용된 샐러드는 전라남도 소재 일반 음식점(15곳)과 동일한 제품을 전국 단위로 판매하는 편의점(16곳), 프랜차이즈 업소(12곳), 온라인 업소(17곳)에서 판매되는 샐러드 총 60건을 구매하여 사용하였다. 멸균된 filter bag (BNF-1930FW, BNF-Korea, Gimpo, Korea)에 샐러드 25 g과 멸균인산완충희석액 225 mL를 가하고, 균질기(Homogenizer H3-1, HAPS, Seoul, Korea)를 이용하여 1분간 균질화하여 시험원액으로 사용하였다.

Plate Count Agar를 이용한 일반세균 정량시험

일반세균수는 식품공전에 따라 실험하였다[16]. 시험원액 1 mL와 10배 단계 희석액을 시험용액으로 사용하였다. 각각의 시험용액 1 mL에 PCA(표준평판법, MB cell, Seoul, Korea)를 분주한 후 35±1°C에서 48±2시간 배양하였다. 배양 결과 15-300개 사이의 집락을 형성하는 평판을 선정하고 계수한 후 희석배수를 곱하여 일반세균수를 산출하였다.

MC-Media Pad A.C+를 이용한 일반세균 정량시험

각각의 시험용액 1 mL를 MC-Media Pad A.C+ (MMPAC+; JNC corp., Tokyo, Japan)에 각 2매 이상씩 접종하여 35±1°C에서 24±2시간, 48±2시간 각각 배양하였다. 생성된 붉은 집락 수를 계산하고 그 평균 집락 수에 희석배수를 곱하여 일반세균수를 산출하였다.

일반세균 분리 배지의 회수율 비교 시험

채소류에서 분리한 일반세균 균주를 저(2-3 log CFU/g), 고(8-9 log CFU/g)농도가 되도록 멸균인산완충희석액으로 희석하여 샐러드 총 3종에 접종하였다. 접종한 후 10분간 방치하여 균이 시료에 부착되도록 한 후 시료 10 g에 멸균인산완충희석액 90 mL를 가하여 1분간 균질화한 후 시험 원액으로 사용하였다. 시험 원액 1 mL와 10배 단계 희석액을 시험용액으로 사용하였다. 각각의 시험용액 1 mL를 PCA (MB cell)와 MMPAC+ (JNC corp.)에 분주한 후 35±1°C에서 48±2시간, 35±1°C에서 24±2시간 각각 배양하였다. 생성된 집락 수를 계산하고 그 평균 집락 수에 희석배수를 곱하여 일반세균수를 산출하였다.

통계처리

각각 배지의 일반세균수를 산출한 후 SPSS Statistics (ver. 27.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA)를 이용하여 분석하였다. 대응표본 T-test를 통해 집단 간의 평균값을 비교하고 $P<0.05$ 수준에서 유의적인 차이를 확인하였다.

Results and Discussion

모니터링을 통한 일반세균수 배지의 검출 효율 비교

MMPAC+(24시간 배양)과 MMPAC+(48시간 배양)의 일반세균수 비교는 Table 1에 나타내었다. MMPAC+(24시간 배양)의 일반세균 오염도는 6.3±1.1 log CFU/g, MMPAC+(48시간 배양)의 일반세균 오염도는 6.4±1.0 log CFU/g으로 검출되었다. MMPAC+(24시간 배양)과 MMPAC+(48시간 배양)의 P-value는 0.491로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 상관계수(R^2)를 산출한 결과 0.9748로 나타나 MMPAC+(24시간 배양)과 MMPAC+(48시간 배양)을 이용한 시험법은 매우 강한 상관관계를 나타내었다(Fig. 1).

PCA(48시간 배양)와 MMPAC+(24시간 배양)의 일반세

Table 1. Comparison of total aerobic bacteria counts between 24 and 48 h incubation on MC-Media Pad A.C+ in salad

Total aerobic bacteria (log CFU/g)	MC-Media Pad A.C+ (Incubation for 24 h) (n=60)	MC-Media Pad A.C+ (Incubation for 48 h) (n=60)	*P*-value
	6.3±1.1	6.4±1.0	0.491

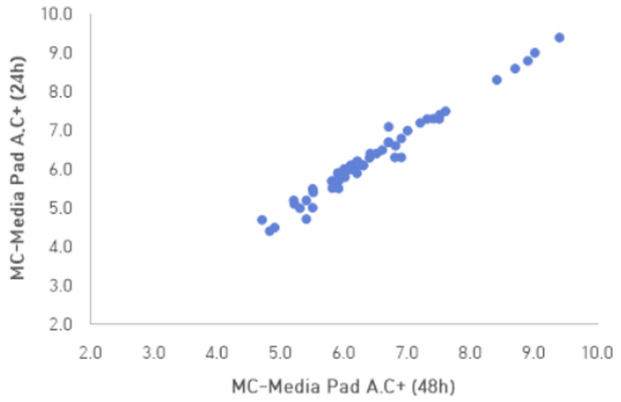

Fig. 1. Correlation coefficient of total aerobic bacteria count between 24 and 48 h incubation on MC-Media Pad A.C+ in salad.

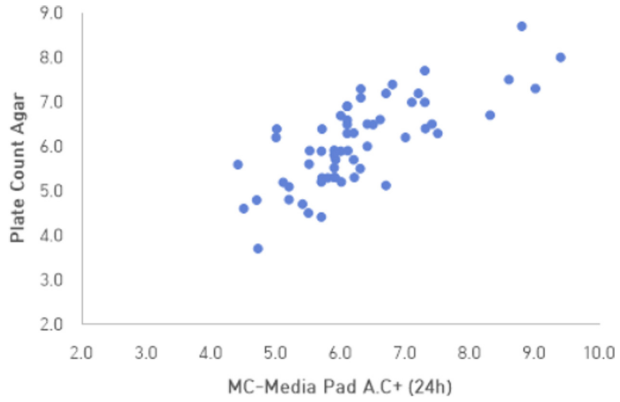

Fig. 2. Correlation coefficient of total aerobic bacteria count between Plate Count Agar (incubation for 48 h) and MC-Media Pad A.C+ (incubation for 24 h) in salad.

Table 2. Comparison of the total aerobic bacteria counts between Plate Count Agar and MC-Media Pad A.C+

Aerobic bacteria (log CFU/g)	Plate Count Agar (Incubation for 48 h) (n=60)	MC-Media Pad A.C+ (incubation for 24 h) (n=60)	*P*-value
	6.1±1.0	6.3±1.1	0.335

Table 3. Comparison of recovery cell count between Plate Count Agar and MC-Media Pad A.C+

Total aerobic bacteria	Mean±SD (log CFU/g)		*P*-value
	Plate Count Agar (incubation for 48 h)	MC-Media Pad A.C+ (incubation for 24 h)	
Low inoculation	3.3±0.1	3.4±0.1	0.251
High inoculation	8.9±0.2	9.0±0.3	0.561

균수 비교는 Table 2에 나타냈다. PCA의 일반세균 오염도는 6.1±1.0 log CFU/g, MMPAC+(24시간 배양)의 일반세균 오염도는 6.3±1.1 log CFU/g으로 검출되었다. PCA와 MMPAC+(24시간 배양)의 *P*-value는 0.335로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 상관계수(R^2)를 산출한 결과 0.5545로 나타나 PCA와 MMPAC+(24시간 배양)을 이용한 시험법은 상당한 상관관계를 나타내었다(Fig. 2).

일반적으로 상관계수(R^2)가 0.7-1.0이면 매우 강한 상관관계, 0.4-0.7이면 상당한 상관관계, 0.4 미만이면 약간의 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있다[22]. 또한 유의수준을 나타내는 *P*-value가 0.05보다 작은 경우 두 집단은 유의적인 차이가 있고 0.05보다 큰 경우에는 유의적인 차이가 없는 것으로 판정한다. 본 실험 결과, MMPAC+(24시간 배양)과 MMPAC+(48시간 배양)의 *P*-value는 0.491, 상관계수(R^2)는 0.9748로 산출되어 MMPAC+를 24시간 배양하여도 48시간 배양한 결과와 검출 효율 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 PCA(48시간 배양)와 MMPAC+(24시간 배양)의 *P*-value는 0.335, 상관계수(R^2)는 0.5545로 산출되어 MMPAC+ 24시간 배양과 PCA 48시간 배양간의 검출 효율 차이가 미미한 것으로 판단되었다.

일반세균 분리 배지의 정량 정확도 비교

샐러드 3건에 일반세균을 인위적으로 접종하여 PCA는 48시간, MMPAC+는 24시간 배양한 후 각각 분리 배지의 회수율을 비교하였다(Table 3). 샐러드에 일반세균을 저농도로 접종하였을 때 전체 회수율은 PCA 3.3±0.1 log CFU/g, MMPAC+ 3.4±0.1 log CFU/g으로 검출되었으며, *P*-value가 0.251로 나타나 PCA와 MMPAC+는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 샐러드에 일반세균을 고농도로 접종하였을 때 회수율은 PCA 8.9±0.2 log CFU/g, MMPAC+

9.0±0.3 log CFU/g으로 검출되었으며, *P*-value가 0.561로 나타나 PCA와 MMPAC+는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

이러한 결과를 종합하여 볼 때, PCA 배지 48시간 배양과 더불어 MMPAC+ 건조필름을 24시간 배양하여 일반세균 실험에 사용하여도 무방할 것으로 판단되었다.

국문요약

본 연구에서는 Plate Count Agar (PCA; 48시간 배양)와 MC-Media Pad A.C+ (MMPAC+; 24시간 배양)의 검출 효율과 정량 정확도를 비교하여 건조필름의 배양시간 단축 가능성을 평가하였다. 샐러드 60건에 대한 검출 효율 실험에서 PCA는 6.1±1.0 log CFU/g, MMPAC+은 6.3±1.1 log CFU/g의 결과를 나타냈다. PCA와 MMPAC+의 *P*-value는 0.335로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 상관계수(R^2)는 0.5545로 상당한 상관관계를 보였다. 샐러드에 일반세균을 저농도로 접종한 결과 PCA의 경우 3.3±0.1 log CFU/g, MMPAC+의 경우 3.4±0.1 log CFU/g로 나타났고 *P*-value는 0.251로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 고농도로 접종한 결과 PCA의 경우 8.9±0.2 log CFU/g, MMPAC+의 경우 9.0±0.3 log CFU/g로 나타났고, *P*-value는 0.561로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 따라서 PCA(48시간 배양)와 더불어 MMPAC+ 건조필름을 24시간 배양하여 일반세균 실험에 사용할 수 있을 것으로 판단되었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Ji-Yu Im https://orcid.org/0000-0002-0190-0604
Chae-young Kim https://orcid.org/0000-0002-7905-9798
Eun-yeong Kim https://orcid.org/0000-0002-8839-2509
Jung-Beom Kim https://orcid.org/0000-0002-0290-2687

References

1. Park, Y.B., Kang, J.B., Kim, J.B., Kim, J.C., Isolation and identification of pathogenic bacteria from salads of fast food restaurants. *Korean J. Sanitation.*, **20**, 23-31 (2005).
2. Ministry of Food and Drug Safety(MFDS), (2023, October 2). Food code. Standards and specifications for each food products. Prepared meals. Retrieved from https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC
3. Song, B,R., Kim, S.H., Kim, J.K., Han, J.A., Kwak, H.S., Chung, K.T., Heo, E.J., Establishment of microbial criteria by investigation of microbial contamination in ready-to-eat foods. *J. Food Hyg. Saf.*, **32,** 348-354 (2017).
4. Park, H.J., Lee, J.E., Kim, S.A., Shim, W.B., Microbial risk assessment for mixed vegetable salad and fresh and frozen fruits distributed in Korea. *J. Food Hyg. Saf.*, **36**, 324-330 (2021).
5. Baek, J.H., Correlation between environmental factors and microbial contamination of ready-to-eat salad in markets. MS thesis, Chung-Ang University, Seoul, Korea (2011).
6. Kang, T.M., Cho, S.K., Park, J.Y., Song, K.B., Chung, M.S., Park, J.H., Analysis of microbial contamination of sprouts and fresh-cut salads in a market. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 490-494 (2011).
7. Burnett, S.L., Beuchat, L.R., Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. *J. Ind. Microbiol. Biot.*, **27**, 104-110 (2001).
8. Itoh, Y., Sugita-Konishi, Y., Kasuage, F., Iwaki, M., Hara-Mudo, Y., Saito, N., Noguchi, Y., Konuma, H., Kumagai, S., Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 present in radish sprouts. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 1532-1535 (1998).
9. Hedberg, C.W., Angulo, F.J., White, K.E., Langkop, C.W., Schell, W.L., Stobierski, M.G., Schuchat, A., Besser, J.M., Dietrich, S., Helsel, L., Griffin, P.M., McFarland, J.W., Osterholm, M.T., Outbreaks of salmonellosis associated with eating uncooked tomatoes: the investigation team. *Epidemiol. Infect.*, **122**, 385-393 (1999).
10. Beuchat, L.R., Harris, L.J., Linda, J., Ward, T.E., Kajs, T.M., Development of a proposed standard method for assessing the efficacy of fresh produce sanitizers. *J. Food Prot.*, **64**, 1103-1109 (2001).
11. Harris, L.J., Beuchat, L.R., Kajs, T.M., Ward, T.E., Taylor, C.J., Efficacy and reproducibility of a produce wash in killing *Salmonella* on the surface of tomatoes assessed with a proposed standard method for produce santizers. *J. Food Prot.*, **64**, 1477-1482 (2001).
12. Seo, K.Y., Lee, M.J., Yeon, J.H., Kim, I.J., Ha, J.H., Ha, S.D., Microbiological contamination levels of in salad and side dishes distributed in markets. *J. Food Hyg. Saf.*, **21**, 263-268 (2020).
13. Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., Vinas, I., Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruitand vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int. J. Food Microbiol.*, **123**, 121-129 (2008).
14. Jo, M.J., Jeong, A.R., Kim, H.J., Lee, N.R., Oh, S.W., Kim, Y.J., Koo, M.S., Microbiological quality of fresh-cut produce and organic vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 91-97 (2011).
15. Lee, E.H., Koh, J.Y., Kim, J.S., Distribution and characteristics of heterotrophic plate count bacteria in water samples from drinking water dispensers. *Korean J. Microbiol.*, **44**, 244-250 (2008).
16. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, September 1). Food code. Microbiological test method. Retrieved from https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC

17. Park, H.K., Evaluation of dry rehydratable film method for detection of coliform bacteria and *Escherichia coli*. *Korean J. Food Nutr.*, **22**, 696-700 (2009).
18. Nelson, C.L., Fox, T.L., Busta, F.F., Evaluation of dry medium film (Petrifilm VRB) for coliform enumeration. *J Food Prot.*, **47**, 520-525 (1984).
19. Kang, J.Y., Jo, A.H., Park, E.J., Lee, H.C., Park, M.J., Han, J.S., Kang, S.G., Kim, J.B., Correlation between plate count agar and dry rehydratable film method for enumeration of total aerobic bacteria in water. *J. Korean Soc. Water Env.*, **36**, 148-152 (2020).
20. Lee, S.H., Mun, K.H., Kim, N.T.S., Kim, J.B., Isolation and identification of false positive and false negative strains on coliform dry rehydratable film. *Korean J. Food Preserv.*, **26**, 330-335 (2019).
21. Kim, K.S., Bae, E.K., Ha, S.D., Park, Y.S., Mok, C.K., Hong, K.P., Kim, S.P., Park, J.Y., Evaluation of dry rehydratable film method for enumeration of microorganisms in Korean traditional foods. *J. Food Hyg. Saf.*, **19**, 209-216 (2004).
22. KSI, (2023, September 1). Analysis of correlation. Retrieved from http://6025.co.kr/bbs/board.php?bo_table=cust_in&wr_id=13