J. Fd Hyg. Safety 19(4), 209–216 (2004)

한국 전통식품 중 미생물 분석을 위한 건조필름법 평가

김관식 · 배은경 · 하상도[1] · 박영서[2] · 목철균[2] · 홍관표[3] · 김상필[3] · 박지용[†]
연세대학교 생명공학과, [1]중앙대학교 식품공학과, [2]경원대학교 식품생물공학과, [3]한국쓰리엠주식회사

Evaluation of Dry Rehydratable Film Method for Enumeration of Microorganisms in Korean Traditional Foods

Kwan-Sik Kim, Eun-Kyung Bae, Sang Do Ha[1], Young Seo Park[2], Chul Kyoon Mok[2], Kwan Pyo Hong[3], Sang Phil Kim[3], and Jiyong Park[†]
Department of Biotechnology, Yonsei University, [1]Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, [2]Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University, [3]3M Korea Company

ABSTRACT – Dry rehydratable film methods were compared to conventional methods for the enumeration of microorganisms in Korean traditional foods. Kimchi, doenjang, kochujang, kanjang, takju, sujeongkwa and sikhe were used as Korean traditional foods. Petrifilm™ aerobic count plate, Petrifilm™ coliform count plate, Petrifilm™ *E. coli*/coliform count plate, Petrifilm™ yeast and mold count plate and Petrifilm™ staph express count plate were compared to plate count agar, most probable number (MPN) for coliform, MPN for *E. coli*, potato dextrose agar and coagulase test, respectively. Regression analysis indicated that correlation coefficient values were 0.974-0.998, 0.913-0.995, 0.955-0.978, 0.968-0.986 and 0.998-0.999 for total aerobic bacteria, yeast and mold, coliform, *E. coli* and *S. aureus*, respectively. There were no significant differences between two methods, suggesting that Petrifilm™ plates can be used as an alternative to conventional method for the determination of microorganisms in Korean traditional foods.

Key words: microbial isolation, dry rehydratable film method, conventional method, 3M Petrifilm™

서 론

식품에서 일반세균, 대장균군과 대장균, 황색포도상구균, 효모와 곰팡이 같은 여러 미생물에 대한 확인시험은 식품의 안전성을 평가하는데 있어 매우 중요하다.[1)] 식품 중의 일반세균을 확인하는 방법은 중온균의 수를 계수하는 표준 평판법이 전통적으로 이용되고 있으나 많은 시간과 노력이 소모된다는 단점을 가지고 있다. 이 방법에 비하여 분석이 용이하고 시험의 효율성을 높인 방법이 개발되었는데 Petrifilm™ aerobic count plate (PAC, 3M Center, St. Paul, MN, USA)법, Simplate™ TPC (Biocontrol Systems, Inc., Bellevue, WA, USA)법 등을 들 수 있다. Petrifilm™ 법은 사용 방법이 간단하며, 분석시간을 절약할 수 있고 식품 중에 존재하는 일반세균을 정량적으로 측정 할 수 있다. 대장균군과 대장균을 정량적으로 측정할 수 있는 방법은 현재 MPN법, Violet Red Bile Agar (VRBA)법,[2)] Anderson-Baird-Parker법[3)] 등이 있으며 일반적으로 MPN법이 가장 널리 사용되고 있다.[4,5)] 그러나 MPN법에 의한 대장균수의 측정은 6일이 소요되는 등 많은 시간과 노동력이 요구되기 때문에 신속한 결과를 요구하는 경우에는 실효성이 매우 낮은 방법이다. 대장균 분석을 위한 Petrifilm™ 법은 Association of Official Analytical Council (AOAC)에 의해 공인된 시험법으로 모든 식품을 대상으로 48시간 이내에 대장균과 대장균군을 확인할 수 있는 방법이다. 효모와 곰팡이를 분석하는 경우에는 이들의 균을 분리, 계수하기 위해 전통적으로 이용되는 시험법으로 산성 배지가 사용된다. 그러나 이 배지조건에서는 내산성 세균이 생육 할 수 있고, 생육력이 약한 효모는 정상적으로 검출되지 않는 문제점이 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해[3,6-8)] dichloran rose bengal chlortetracycline agar (DRBC),[9)] oxytetracycline glucose yeast extract agar (OGYE),[10)] molybdate agar[11)] 등의 배지가 개발되었다. 그러나 이들은 공통적으로 곰팡의의 생육을 저해시키는 물질들을 첨가하기 때문에 식품 중에 존재하는 효모와 곰팡이를 동시에 계수할 수 없는 단점을 지니고 있다. 3M의 Petrifilm™ yeast and mold count plate (PYM)는 효모와 곰팡이를 하나의 배지에서 동시에 측정할 수 있는 방법이다.

[†]Author to whom correspondence should be addressed.

황색포도상구균의 분석을 위해서 미국 FDA에서는 Baird-Parker (B-P) agar 배지를 사용하고 있으나,[12] B-P agar 배지는 특이성이 낮기 때문에 다른 세균의 오염으로 인하여 황색포도상구균의 콜로니를 계수하기가 상당히 어려운 문제점을 지니고 있다.[13] 또한 배지의 가격이 비교적 고가이고 여러 번의 확정시험이 필요하며 확정시험을 실시하여도 균주의 동정이 불가능한 경우가 빈번히 발생한다.[14] 이러한 B-P agar법을 대체할 수 있는 방법으로 Petrifilm™ Staph express count plate (STX, 3M Center, St. Paul, MN, USA)법이 있는데, 이 방법은 황색포도상구균이 생산하는 staphylococcal 핵산가수분해효소를 검출할 수 있도록 하여 특이성을 높이고 시험기간을 단축시킨 방법이다. 기존의 전통적인 미생물 시험이 가지고 있는 문제점을 해결하고 대체 시험법의 실용화를 위하여, 다양한 식품을 대상으로 Petrifilm™과 기존 시험방법을 비교 분석한 연구들이 국내외적으로 많이 수행되고 있지만,[15-17] 우리나라 전통식품을 대상으로 한 연구결과는 거의 전무하다. 현재 우리나라는 전통식품이 산업적으로 많이 생산되고 이용되고 있으므로 빠르고 정확한 미생물 확인실험 결과를 얻어야 할 필요성이 증가되었다. 따라서 시간과 노동력의 소모가 많은 기존의 시험방법을 대체하는 신속 정확한 분석방법이 산업현장에서 실질적으로 적용되기 위해서는 기존 시험방법과의 비교 평가가 요구된다. 이에 본 연구에서는 우리나라 전통식품을 대상으로 Petrifilm™을 이용한 건조필름 방법과 기존의 시험방법을 통하여 식품내의 미생물 확인시험을 수행하고 그 결과를 비교 분석함으로써 건조필름 방법의 유효성을 평가하였다.

재료 및 방법

실험 재료

식품 시료는 발효식품과 전통음료로 구분하였으며, 발효식품에는 김치(kimchi), 고추장(kochujang), 된장(doenjang), 간장(kanjang)을 사용하였고, 전통음료로는 식혜(sikhe), 수정과(sujeongkwa), 탁주(takju)를 사용하였다. 모든 식품 시료는 시중에서 구입하였다. 사용 균주로는 *E. coli* (ATCC 25922)와 *S. aureus* (ATCC 12600)를 선정하여 접종하였으며, 그 외의 시료들은 자체내의 자연균총을 이용하였다.

시료의 전처리

식품시료에 존재하는 일반세균과 효모, 곰팡이의 정량분석을 위해 식품시료를 37°C에서 일정 기간 동안 저장하면서 12시간 간격으로 채취하였다. 김치와 간장, 탁주, 식혜, 수정과 등의 액상식품은 Whatman No.2 filter membrane을 이용하여 여과한 후 고형성분이 제거된 액상성분을 시료로 사용하였다. 페이스트상인 된장, 고추장은 식품과 식품 중량의 9배가 되는 멸균 증류수를 stomacher bag에 넣고 stomacher를 사용하여 120초간 균질화한 후 액상부위를 수거하여 미생물시험을 실시하였다. 대장균군과 대장균, 황색포도상구균의 정량분석은 김치와 간장, 탁주, 식혜, 수정과 등의 액상식품의 경우 Whatman No.2 filter membrane을 이용하여 여과한 후, 고형성분이 제거된 액상성분을 수집하고, 페이스트상 식품과 고형식품은 상기 방법에 따라 stomacher를 사용하여 120초간 균질화한 다음 액상부위를 수집하여 각 시료에 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7 CFU/mL이 되도록 대장균(대장균군과 대장균의 정량분석)과 황색포도상구균(황색포도상구균 정량분석)을 접종한 후 1일간 37°C에서 저장한 다음 시료를 채취하여 실험에 사용하였다.

전통적인 방법에 의한 미생물 분석

식품 시료에 대한 미생물 분석은 식품공전[18]에 수록된 방법에 준하여 실시하였다. 일반세균수의 경우 PCA를 이용하여 37°C 에서 24시간 동안 배양한 후 일반세균수를 측정하였다. Coliform 측정에는 lactose broth (LB, Difco, MI, USA)배지를 사용하였고, 3-tube series MPN법을 이용하였다. LB broth tube에 시료를 접종하고, 35°C에서 48시간 동안 배양한 후 durham tube에 기포가 생성되는 시험관을 양성으로 판정하였다. 양성관으로 판정된 시험관의 결과를 가지고 식품공전[18]의 최확수표를 이용하여 coliform 수를 측정하였다. *E. coli* 측정에는 AOAC 공시법인 EC broth (EC, Difco, MI, USA)에 의한 MPN법을 이용하였다. EC broth법은 durham tube를 포함하고 있는 EC broth tube에 시료를 접종한 후 44.5°C에서 24시간 동안 배양하여 배지가 혼탁하게 변하고 durham tube에 기포가 포집되어 있는 것을 *E. coli* presumptive positive로 판정하였다. 효모 및 곰팡이의 측정방법은 총 세균수 측정방법에 준하여 시험하였다. 단, 배지는 멸균된 10% 주석산을 무균적으로 가하여 pH를 3.5로 조정한 PDA를 사용하여 25°C에서 5-7일간 배양한 후 발생한 집락수를 계산하였다. 황색포도상구균의 측정방법은 시료를 10% NaCl을 첨가한 tryptic soy broth에 37°C에서 16시간 증균배양 한 후, 난황첨가 만니톨 식염한천배지에 접종하여 37°C에서 16-24시간 배양하였다. 배양결과 난황 첨가 만니톨 식염한천배지에서 황색 불투명 집락(만니톨 분해)이 나타나고, 주변에 혼탁한 백색환(난황 반응 양성)이 있는 집락은 확인시험을 실시하였다.

건조필름법을 이용한 미생물 분석

일반세균 분석에는 PAC, 대장균군과 대장균의 분석에는 각각 PCC, PEC를 사용하였고, 효모와 곰팡이의 분석에는

PYM, 황색포도상구균의 분석에는 STX를 각각 사용하였다. 건조필름에 의한 미생물 분석은 제조사인 3M사의 사용설명서에 따라 실시하였다. 일반세균 수의 측정은 PAC 필름의 상위필름를 열고 내부에 시료를 접종한 다음 누름판으로 접종 부위를 눌러 펴 준 후 35°C에서 24-48시간 동안 배양 후 생성된 colony를 계수하였다. Coliform의 측정은 film내부에 시료를 접종한 후 35°C에서 24시간 배양 후 가스방울이 붙어 있는 적색 콜로니를 계수하였다. *E. coli*의 측정은 시료를 접종한 후, 35°C에서 24시간 배양하여 가스방울이 붙어 있는 청색 콜로니를 계수하였다. 효모 및 곰팡이의 측정은 PYM에 시료를 접종한 후 35°C에서 5-7일간 배양한 후 핑크에서 녹색의 빛깔을 띄며 작고 가장자리 부분이 명확히 구분되는 것을 효모균으로 계수하였고, 다양한 색상과 큰 공간을 차지하고 가장자리 부분이 명확히 구분되지 않는 것을 곰팡이균으로 계수하였다. 황색포도상구균의 정량분석은 STX에 배양액을 접종한 후 35°C에서 24시간 배양 한 후 Petrifilm™ staph express disk를 삽입하고 35°C에서 3시간 더 배양 한 후 핑크색환이 나타나는 콜로니를 계수하였다.

통계 분석

각 시료에 대한 미생물시험은 미생물당 3반복하여 평균을 구하고 CFU/mL을 log10값으로 전환하여 통계처리 하였다. 식품공전에 수록된 방법에 의한 결과와 Petrifilm™을 사용하여 얻은 결과와의 상관관계는 선형회귀분석을 이용하여 구하였다. 회귀직선은 Excel 2000 software package (Microsoft Corp., Redmond, USA)를 사용하여 작성하고 이로부터 얻은 상관계수(r), 기울기(slope), 절편(intercept)으로부터 실험군 간의 상관관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

일반세균수 분석

일반세균은 PCA를 이용한 표준한천법과 건조필름법인 PAC를 사용하여 비교 분석하였다. PCA를 이용한 표준한천법은 비선택배지인 표준한천배지 내에서 발육할 수 있는 중온균의 수를 계수하는 방법이며, PAC법은 2장의 film으로 구성되어 하부 film에는 수용성 겔과 탈수된 영양성분으로 덮여 있고, 상부 film에는 겔화 물질과 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC)로 덮여있는데, 배양액을 film 사이에 접종한 후 35°C에서 24-48시간 동안 배양한 후 생성된 적색 colony를 일반세균으로 계수하는 방법이다. 일반세균수 측정을 위한 시료는 식품 시료에 따라 27-46개를 사용하였다. PAC법에 의해 분리된 세균수의 log값을 x 축으로 하고 PCA법에 의해 분리된 세균수의 log 값을 y축으로 하여 두 방법에 의해 측정된 일반세균수를 plotting함으로써 구한 회귀직선의 기울기, 절편을 Table 1에 나타내었으며, 조사된 식품시료에서는 두 측정방법에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 두 방법 사이의 상관계수는 조사된 식품 시료에서 0.974-0.998의 매우 높은 범위 내에 존재하였는데 식혜가 0.974로 그 중 가장 낮았으며 수정과가 0.998로 가장 높았다. 그 이외의 식품에서 조사된 회귀직선의 기울기는 0.907-0.973으로 1.0에 근접하는 값을 나타내었다. 식품 전체에서 분리된 일반세균수의 log 평균값은 PAC법에서는 6.09, PCA는 6.07로 차이가 없음을 알 수 있었다. 간장에서는 모든 시료구에서 PAC법이 많은 균수를 분리할 수 있었고 김치와 탁주에서도 80% 정도의 시료구가 PAC법에서 더 많은 세균을 분리하였다. MacAllister 등[15]과 Ginn 등[16]은 PCA를 이용한 방법과 PAC방법이 우유제품으로부터 총균수를 분리해

Table 1. Comparison of Petrifilm™ aerobic count plate (PAC) and plate count agar (PCA) methods for the enumeration of total aerobic bacteria in Korean traditional foods

Sample	N[1]	r[2]	a[3]	b[4]	P[5]	Mean log (CFU/mL)±S.D.		PAC=PCA	PAC>PCA	PAC<PCA
						PAC	PCA	n (%)	n (%)	n (%)
Kimchi	46	0.996	0.942	0.401	0.711	8.18±1.01	8.10±0.96	0 (0.0)	37(80.4)	9(19.6)
Doenjang	39	0.996	0.971	0.216	0.959	7.23±0.76	7.23±0.74	1(2.5)	16(41.0)	22(56.5)
Kochujang	30	0.985	0.970	0.236	0.810	6.80±0.56	6.84±5.55	0 (0.0)	11(36.7)	19(63.3)
Kanjang	27	0.984	0.907	0.157	0.110	5.07±0.73	4.75±0.68	0 (0.0)	27 (100.0)	0 (0.0)
Takju	29	0.995	0.962	0.154	0.826	5.38±0.87	5.33±0.84	0 (0.0)	23(79.3)	6(20.7)
Sujeongkwa	29	0.998	0.913	0.510	0.845	5.50±0.61	5.53±0.57	1(3.4)	12(41.4)	16(55.2)
Sikhe	28	0.974	0.973	0.199	0.905	6.46±0.76	6.49±0.74	1(3.6)	14(50.0)	13(46.4)

[1]N: Sample size.
[2]r: Correlation coefficient.
[3]a: Slope.
[4]b: Intercept.
[5]P: P-value.

내는데 P<0.01 범위에서 유의적인 차이를 보이지 않는다고 보고하였으며, MacAllister 등[15]은 우유제품으로부터 총균수를 분리해 내는데 있어 PCA plate이용법과 PAC법 사이의 상관계수가 0.91에서 0.99로 상당한 상관성을 보인다고 보고하였다. Ha[17]는 우유, 소고기, 탁주, 밀가루, 어묵에 존재하는 총균수를 PCA plate를 이용한 방법과 Petrifilm™ aerobic count plate를 이용한 방법으로 측정한 결과 유의적인 차이가 없음을 밝혔는데 우유 중에 존재하는 총 균수 측정시 PCA plate를 이용할 경우에는 우유에 의해 혼탁해져 균수 측정이 어려웠지만 Petrifilm™ aerobic count plate는 흰색 배경 위에서 TTC에 의해 colony가 붉은 색으로 염색되어 쉽게 측정할 수 있었기 때문에 우유로부터 균수 측정을 위한 배지로는 PCA plate에 비하여 Petrifilm™ aerobic count plate가 보다 적당한 배지라고 제시하였다. 본 실험결과 다른 연구들에서의 실험결과를 종합해 봤을 때 PAC법에 의한 실험결과는 PCA에 의한 실험결과와 유의적인 차이가 없고 두 결과간의 상관계수가 매우 높기 때문에 PCA를 대체 할 수 있는 방법이라고 판단된다.

대장균군 분석

대장균군의 정량은 MPN법과 PCC법을 사용하여 두 결과를 비교 분석하였다. 식품 시료에 대장균을 10^2-10^7 CFU/mL되도록 접종한 다음 37°C에서 하루 저장한 후 시료를 채취하여 균수를 측정하였다. 대장균군수 측정을 위한 시료는 식품 시료에 따라 18-41개를 사용하였고 회귀직선의 기울기, 절편을 Table 2에 나타내었다. 조사된 모든 식품시료에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 두 방법 사이의 상관계수는 조사된 식품 시료에서 0.955-0.978의 매우 높은 범위 내에 존재하였으며 회귀직선의 기울기는 0.889-1.042로 1.0에 근접하는 값을 나타내었다. 두 검출방법으로 분리된 대장균군 수의 log 평균값과 분리 능력을 살펴보면 조사된 식품 전체에서 분리된 대장균군 수의 log 평균값은 PCC법에서는 3.92, MPN법에 의해서는 3.81로 PCC법에서 좀 더 많이 계수되었음을 알 수 있었다. 탁주에서는 모든 시료구에서 PCC법이 MPN법보다 많은 균수를 분리할 수 있었다. PCC와 MPN을 이용한 다른 연구결과를 살펴보면 밀가루와 버섯을 대상으로 하였을 때, MPN법보다 PCC법이 유의적으로 높은 수의 대장균군을 분리하였고, 쇠고기에서는 오히려 dryfilm에 비하여 MPN법으로부터 높은 수의 대장균군이 분리되었다는 보고가 있다.[19] 그러나 그들은 MPN법의 정확성 결여로 인해 분리된 대장균군 평균치 간의 통계학적 유의차는 구하기 어려웠으며 PCC법의 repeatability와 reproducibility variance는 MPN법보다 좋았다고 보고하였다. 이러한 결과들은 PCC법이 MPN법을 대체할 수 있는 좋고 편리한 방법임을 보여주는 것이다. 한편 Ha[17]는 육고기 시료를 사용하였을 때 VRBA (Difco)법과 PCC법 간의 상관성은 0.91로 상당히 높았으나 PCC법은 VRBA (Difco)법에 비하여 P<0.05의 범위에서 유의적으로 낮은 수의 대장균군을 분리해 내었으며, 우유로부터 분리된 대장균군 수는 BGLB (Difco)에 의한 MPN법과 PCC법을 사용하였을 때 유의적으로 차이가 없었으나 PCC법이 MPN법보다 약간 많은 수의 대장균군을 분리해 내었다고 보고하였는데 이는 본 연구결과와 유사한 결과이다. Nelson 등[20]은 가스 생성 능력이 낮은 대장균군의 경우 PCC에서는 대장균군으로 간주되지 않고 무시되므로 실제보다 낮게 평가된 수의 대장균군 수가 보고된다고 하였으나 본 연구에서는 전체 식품에서의 대장균군 수의 log 평균값이 오히려 PCC법에서 좀 더 많이 계수되었다. 한편 Park 등[21]은 돼지고기 쇠고기, 닭고기에 존재하는 대장균군의 분석에 PCC방법과 MPN법을 사용하였을 때 두 방법간의 상관계수가 돼지고기는 0.83, 쇠고기는 0.96, 닭고기는 0.81로 높은 상관관계를 나타내 PCC방법은 육류가공시 미생물 오염 측정 방법으로서 전통적인 MPN법을 대체할 수 있는 방법이라고 보고한 바 있다. 본 실험결과와 다른 연구들에서의 실험결과를 종합해 봤을 때 PCC법에 의한 실

Table 2. Comparison of Petrifilm™ coliform count plate (PCC) and most probable number (MPN) methods for the enumeration of coliform in Korean traditional foods

Sample	N[1]	r[2]	a[3]	b[4]	P[5]	Mean log (CFU/mL)±S.D.		PCC=MPN n (%)	PCC>MPN n (%)	PCC<MPN n (%)
						PCC	MPN			
Doenjang	18	0.972	0.918	-0.361	0.324	3.31±1.96	2.68±1.85	2(11.1)	16(88.9)	0(0.0)
Kanjang	41	0.973	1.042	-0.332	0.813	3.97±1.76	3.80±1.86	2(4.9)	31(75.6)	8(19.5)
Takju	27	0.978	1.028	-0.872	0.112	3.72±1.70	2.96±1.79	0 (0.0)	27 (100.0)	0(0.0)
Sikhe	21	0.955	0.889	0.548	0.845	4.09±1.57	4.19±1.44	1(4.8)	6(28.6)	14(66.6)

[1]N: Sample size.
[2]r: Correlation coefficient.
[3]a: Slope.
[4]b: Intercept.
[5]P: P-value.

험결과는 MPN법에 의한 실험결과와 유의적인 차이가 나타나지 않아 MPN법과 동일한 결과를 나타내는 방법임이 확인되었다. 따라서 PCC법은 측정에 많은 시간과 노동력이 요구되는 최확수법을 대체할 수 있는 좋은 방법이라고 판단된다.

대장균 분석

대장균 수 측정을 위한 시료는 식품 시료에 따라 17-38개를 사용하였고 회귀직선의 기울기, 절편을 Table 3에 나타내었다. 조사된 모든 식품에서 MPN법과 PEC법은 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 두 방법 사이의 상관계수는 조사된 식품 시료에서 0.968-0.986의 매우 높은 범위 내에 존재하였으며 회귀직선의 기울기는 0.861-1.028로 1.0에 근접하는 값을 나타내었다. 또한 조사된 식품 전체에서 분리된 대장균수의 log 평균값은 PEC법에서 4.06, MPN법에 의해서는 4.05로, 분리되는 균의 수가 PEC법과 MPN법이 거의 동일함을 알 수 있었다. Suwansonthichai 등[22]은 새우에 존재하는 대장균군과 대장균 분석에 MPN법과 여러 가지 신속법, 즉 chromocult coliform agar (CCA), Fluorocult LMX broth (LMX), PEC 등을 사용하여 전통적인 MPN법과 여러 가지 신속법들 간의 상관관계를 조사하였다. 그 결과 PEC방법에 의해 측정된 대장균수는 MPN법으로 계수된 대장균수의 95.7%로 나타났다. 이 연구에서 MPN법에 의해 분리된 대장균 중에서 4%는 생화학적 확인실험을 통하여 대장균이 아닌 것으로 확인된 반면 PEC법에 의해 분리된 대장균 중에는 1.7%만이 대장균이 아닌 것으로 확인되었다. 또한 LMX법과 CCA법에 의해 분리된 대장균은 각각 8.0%와 2.9%가 대장균이 아닌 것으로 확인되었다. 이들은 실험의 편리성에 있어 PEC>CCA=LMX>MPN 순으로 높다고 하였으며, 계수시간은 MPN>LMX=PEC=CCA순으로 길고, 노동력은 MPN>LMX=CCA>PEC 순으로 많이 든다고 보고하여 MPN법을 비롯한 다른 신속방법보다 PEC법이 좋은 분석방법임을 보여주었다. 이와 같이 본 실험결과와 다른 연구를 비교해봤을 때 PEC법은 MPN법과 유의적인 차이를 나타내지 않았으므로 효율성이 낮은 MPN법을 대체할 수 있는 방법인 것으로 판단하였다.

효모와 곰팡이 분석

효모와 곰팡이의 분석을 위한 시료는 식품 시료에 따라 23-27개를 사용하였고, 회귀직선의 기울기, 절편을 Table 4에 나타내었으며 모든 식품에서 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 두 방법 사이의 상관계수는 조사된 식품 시료에서 0.913-0.995의 매우 높은 범위 내에 존재하였고, 회귀직선의 기울기는 0.901-1.014로 1.0에 근접하는 값을 나타내었다. 조사된 각 식품재료는 PYM보다 PDA에서 더 많이 효모가 검출되었으며, 시료 전체에서 분리된 효모 수의 log 평균값은 PYM에서는 4.32, PDA법에 의해서는 4.41으로 PDA에서 약간 과평가 되었음을 알 수 있었다. 이는 PDA법이 PYM법보다 선택성이 낮아 진균류 이외의 일반세균이 생육했기 때문인 것으로 판단된다. Knight 등[23]은 핫도그, 옥수수, 케첩, 오랜지 주스, 요구르트, 케이크 믹스 등 6가지 식품에 4종류의 곰팡이와 2종류의 효모를 접종한 다음 두달 동안 저장하면서 식품 중에 존재하는 효모와 곰팡이 수를 PYM법과 Food and Drug Administration의 Bacteriological Analytical Manual에 공지된 방법을 사용하여 측정한 결과 두 방법 간에 통계적으로 유의적인 차이가 없는 동일한 결과를 얻었다고 보고하였다. 이상의 결과로부터 식품으로부터 효모 및 곰팡이를 분리하기 위한 배지인 PYM법과 PDA법은 결과에 유의적인 차이가 없으며, 두 방법간의 상관계수가 매우 높기 때문에 전통식품내의 미생물 분석에 있어서 보다 편리하고 선택성이 높은 배지인 PYM이 PDA를 대체하여 이용될 수 있다고 판단되었다.

황색포도상구균 분석

황색포도상구균 분석을 위한 시료는 식품 시료에 따라 30-

Table 3. Comparison of Petrifilm™ *E. coli* count plate (PEC) and most probable number (MPN) methods for the enumeration of *E. coli* in Korean traditional foods

Sample	N[1]	r[2]	a[3]	b[4]	P[5]	Mean log (CFU/mL)±S.D.		PEC=MPN n (%)	PEC>MPN n (%)	PEC<MPN n (%)
						PEC	MPN			
Doenjang	17	0.968	0.930	1.039	0.191	3.54±1.76	4.34±1.69	0 (0.0)	0 (0.0)	17(100.0)
Kanjang	38	0.984	0.861	0.236	0.403	4.00±1.76	3.68±1.54	2(5.3)	28(73.7)	8(21.0)
Sujeongkwa	36	0.986	1.028	0.116	0.579	4.39±1.77	4.62±1.88	0 (0.0)	9(25.0)	27(75.0)

[1]N: Sample size.
[2]r: Correlation coefficient.
[3]a: Slope.
[4]b: Intercept.
[5]P: P-value.

60개를 사용하였고 회귀직선의 기울기, 절편을 Table 5에 나타내었으며 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 두 방법 사이의 상관계수는 조사된 식품 시료에서 0.998-0.999의 매우 높은 범위 내에 존재하였고 회귀직선의 기울기는 0.996-1.050으로 1.0에 근접하는 값을 나타내었다. 조사된 각 식품재료의 58.3%는 coagulase 시험법보다 STX에서 더 많은 황색포도상구균이 검출되었으며, 시료 전체에서 분리된 황색포도상구균 수의 log 평균값은 STX에서는 3.32, coagulase 시험법에 의해서는 3.29로 STX에서 좀 더 많이 계수되었음을 알 수 있었다. Baird-Parker (B-P) 법은 미국 식품의약국(FDA)이 채택하고 있는 방법이지만 유제품을 비롯한 여러 종류의 식품에서 분리한 *S. aureus* 균주들이 B-P 배지에서 투명환을 생성하지 않기 때문에 추가적인 확인실험이 필요하며,[24] 확인실험에 의해서도 상당한 수의 분리균주를 동정하는 것이 종종 불가능하다는 보고도 있다.[14] 또한 De Buyser 등[13]은 B-P 배지가 선택성이 낮아 오염균주들이 다수 생육하기 때문에 *S. aureus* 균주를 계수하기 어렵다고 보고한 바 있다. Schoeller 등[24]은 다진 소고기와 치즈를 대상으로 B-P법과 STX를 사용하여 *S. aureus*를 계수함으로써 두 방법을 비교한 결과 B-P배지에서 분리한 84균주의 73%는 *S. aureus*가 아닌 것으로 확인하였으며 치즈에 *S. aureus* 를 접종한 후 저장 과정에서 분리한 균주를 두 방법으로 확인하였을 경우에는 동일한 결과를 얻어 STX법이 B-P법을 대체할 수 있는 방법이라고 제시한 바 있다. 이상의 결과를 종합해보면 식품으로부터 황색포도상구균을 분리하기 위한 배지인 STX법과 식품공전에 수록된 coagulase법은

Table 4. Comparison of Petrifilm™ yeast and mold count plate (PYM) and potato dextrose agar (PDA) methods for the enumeration of yeast and mold in Korean traditional foods

Sample	N[1]	r[2]	a[3]	b[4]	P[5]	Mean log (CFU/mL) ±S.D.		PYM=PDA n (%)	PYM>PDA n (%)	PYM<PDA n (%)
						PYM	PDA			
Kimchi	27	0.982	0.906	0.530	0.609	3.85±1.23	4.02±1.14	0 (0.0)	4(14.8)	23(85.2)
Doenjang	27	0.913	0.964	0.364	0.060	6.71±0.23	6.83±0.24	0 (0.0)	2(7.4)	25(92.6)
Kochujang	27	0.974	0.901	0.855	0.090	6.87±0.37	7.04±0.35	0 (0.0)	2(7.4)	25(92.6)
Kanjang	27	0.944	1.014	0.138	0.184	4.71±0.54	4.91±0.56	0 (0.0)	2(7.4)	25(92.6)
Takju	27	0.995	0.949	0.330	0.756	4.93±0.94	5.01±0.90	1(3.7)	5(18.5)	21(77.8)
Sujeongkwa	23	0.940	0.925	0.184	0.718	1.79±0.47	1.84±0.44	0 (0.0)	5(21.7)	18(78.3)
Sikhe	27	0.982	0.983	0.228	0.277	2.30±0.62	2.49±0.65	0 (0.0)	5(18.5)	22(81.5)

[1]N: Sample size.
[2]r: Correlation coefficient.
[3]a: Slope.
[4]b: Intercept.
[5]P: P-value.

Table 5. Comparison of Petrifilm™ staph express count plate (STX) and coagulase methods for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in Korean traditional foods

Sample	N[1]	r[2]	a[3]	b[4]	P[5]	Mean log (CFU/mL)±S.D.		STX =Coagulase n (%)	STX >Coagulase n (%)	STX <Coagulase n (%)
						STX	Coagulase			
Kimchi	60	0.998	1.015	-0.080	0.921	3.24±1.73	3.21±1.76	0(0.0)	41(68.3)	19(31.7)
Doenjang	30	0.999	0.999	0.014	0.982	3.23±1.74	3.25±1.74	3(10.0)	17(56.7)	10(33.3)
Kochujang	30	0.998	1.026	-0.047	0.935	3.23±1.72	3.27±1.77	2(6.7)	12(40.0)	16(53.3)
Kanjang	30	0.998	1.007	-0.065	0.928	3.29±1.75	3.25±1.77	0(0.0)	19(63.3)	11(36.7)
Takju	30	0.999	0.996	-0.101	0.961	3.06±1.76	3.04±1.76	4(13.3)	14(46.7)	12(40.0)
Sujeongkwa	30	0.998	1.050	-0.251	0.881	3.65±1.74	3.58±1.83	0(0.0)	19(63.3)	11(36.7)
Sikhe	30	0.999	1.040	-0.264	0.802	3.65±1.75	3.54±1.83	0(0.0)	27(90.0)	3(10.0)

[1]N: Sample size.
[2]r: Correlation coefficient.
[3]a: Slope.
[4]b: Intercept.
[5]P: P-value.

결과에 유의적인 차이가 없으며, 두 방법간의 상관계수가 매우 높기 때문에 보다 간편하고 신속한 결과를 얻을 수 있는 배지인 STX가 coagulase법을 대체할 수 있는 방법이라고 판단된다.

국문요약

우리나라 전통식품인 김치, 된장, 고추장, 간장, 탁주, 식혜, 수정과에 있는 미생물 분석을 위하여 건조필름법과 전통적인 미생물 분석법을 비교하였다. 일반세균 분석에는 plate count agar 법과 Petrifilm™ aerobic count plate 법을 비교하였고, 대장균군과 대장균의 분석에는 most probable number (MPN) 법과 Petrifilm™ coliform count plate 및 Petrifilm™ *E. coli*/coliform count plate 법을 각각 비교하였으며, 효모와 곰팡이의 분석에는 potato dextrose agar 법과 Petrifilm™ yeast and mold count plate 법을 비교하였다. 황색포도상구균의 분석에는 coagulase 시험법과 Petrifilm™ staph express count plate 법을 비교하였다. 두 방법간의 상관계수는 일반세균이 0.974-0.998, 대장균군이 0.955-0.978, 대장균이 0.968-0.986, 효모와 곰팡이가 0.913-0.995, 황색포도상구균이 0.998-0.999로 두 방법간의 상관성이 매우 높았으며, 평균 미생물수에 있어서도 유의적인 차이가 없었다($p>0.05$). 이러한 결과로부터 건조필름법이 기존의 전통적인 방법을 대체할 수 있는 미생물 분석법임이 확인되었다.

참고문헌

1. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) Microorganisms in Foods. 1. Their Significance and Methods of Enumeration, 2nd ed., University of Toronto Press, Toronto, Ontario (1986).
2. Hitchens A.D., Feng P., Watkins W.D., Rippey S.R. and Chandler L.A.: *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. AOAC International, Craithersburg, M.D. **64**, 669-673 (1995).
3. Anderson J.M. and Baird-Parker A.C.: A rapid and direct plate method for enumerating *Escherichia coli* biotype 1 in food. *J. Appl. Bacteriol.* **39**, 111-117 (1975).
4. Oblinger J.L. and Koburger J.A.: Understanding and teaching the most probable number technique. *J. Milk Food Technol.* **38**, 540-545 (1975).
5. Oblinger J.L. and Koburger J.A.: The most probable number technique, pp. 99-111. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food, 2nd ed., American Public Health Association, Washington, DC (1984).
6. Feng P.C.S. and Hartman P.A.: Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**, 1320-1329 (1982).
7. Firstenberg-Eden R. Electrical impedance method for determining microbial quality of foods, pp. 679-687. Rapid Methods and Automation in Microbiology and Immunology. Hobermehl, K.O. (ed.), Springer-Verlag, Berlin (1985).
8. Anonymous, Australian Standard 1095. Microbiological Methods for the Dairy Industry. Standard Association of Australia, Sydney, Australia (1987).
9. King A.D., Hocking A.D., and Pitt J.I.: Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Appl. Environ. Microbiol.* **37**, 959-964 (1979).
10. Mossel D.A.A., Kleynen-Semmeling A.M.C., Vincentie H.M., Beerens H., and Catsaras M.: Oxytetracyclineglucoseyeast extract agar for selective enumeration of moulds and yeasts in foods or clinical materials. *J. Appl. Bacteriol.* **33**, 454-457 (1970).
11. MacLaren J.A. and Armen D.: Pigmentation of Candida albicans by molybdenum. *Amer. J. Clin. Pathol.* **30**, 411-422 (1958).
12. Bennett R.W. and Lancette GA.: *Staphylococcus aureus*. pp. 12.01-12.05. In FDA Bacteriological Analytical Manual 8th ed. (revision A). Jackson GJ. (ed.), Gaithersburg, Maryland, USA, AOAC International (1998).
13. De-Buyser M.L., Audinet N., Delbart M.O., Maire M., and Francoise F.: Comparison of selective culture media to enumerate coagulase-positive *Staphylococci* in cheeses made from raw milk. *Food Microbiol.* **15**, 339-346 (1998).
14. Wilson I.G, Gilmour A., Cooper J.E., Bjourson A.J., and Harvey J.: A non-isotopic DNA hybridization assay for the identification of *Staphylococcus aureus* isolated from foods. *Int. J. Food Microbiol.* **22**, 43-54 (1994).
15. MaAllister J.S., Ramos M.S., and Fox T.L.: Evaluation of the 3M dry medium culture plate (Petrifilm™ 3M) method for enumerating bacteria in processed fluid milk samples. *Dairy and Food Sanitation* **7**, 632-635 (1987).
16. Ginn R.G., Packard V.S., and Fox T.L.: Enumeration of total bacteria and coliforms in milk by dry rehydratable film methods: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **69**,

527-531 (1986).
17. Ha S.D.: Evaluation of dry film method for isolation of microorganisms from foods. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**(2), 178-184 (1996).
18. KFDA Code of Food Law, Korea Food and Drug Administration (2000).
19. Beloti V., Barros M.A.F., Nero L.A., Pachemshy J.A.S., Santana E.H.W., and Franco B.D.G.M.: Quality of pasteurized milk influences the performance of ready-to-use systems for enumeration of aerobic microorganisms. *Intl. Dairy J.* **12**, 413-418 (2002).
20. Nelson C.L., Fox T.L., and Busta F.F.: Evaluatin of dry medium film (Petrifilm^{TM} VBR) for coliform enumeration. *J. Food Prot.* **47**, 520-525 (1984).
21. Park Y.H., Seo K.S., Ahn J.S., Yoo H.S., and Kim S.P.: Evaluation of the Petrifilm^{TM} plate method for the enumeration of aerobic microorganisms and coliform in retailed meat samples. *J. Food Prot.* **64**(11), 1841-1843 (2001).
22. Suwansonthichai S. and Rengpipat S.: Enumeration of coliforms and *Escherichia coli* in frozen black tiger shrimp *Penaeus monodon* by conventional and rapid methods. *Int. J. Food Microbiol.* **81**, 113-121 (2003).
23. Knight M.T., Newman M.C., Benzinger M.J., Neufang K.L., and Agin J.R.: Comparison of the Petrifilm^{TM} dry rehydratable film and conventional culture methods for enumeration of yeasts and molds in foods: Collaborative study. *J. AOAC Intl.* **80**(4), 806-811 (1997).
24. Schoeller N.P. and Ingham S.C.: Comparison of the Baird-Parker agar and 3M Petrifilm^{TM} rapid *S. aureus* count plate methods for detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiol.* **18**, 581-587 (2001).