pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 30, No. 2, pp. 178~188 (2015)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2015.30.2.178

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

즉석섭취 알 가공품의 미생물학적 품질 및 주요 식중독 균의 증식 · 생존 분석

조혜진 · 최범근 · 유엔 · 문진산[1] · 김영조[2] · 윤기선*

경희대학교 식품영양학과, [1]농림축산검역본부 동물약품관리과, [2]식품의약품안전처 규제개혁법무담당관

Microbiological Quality and Growth and Survival of Foodborne Pathogens in Ready-To-Eat Egg Products

Hye Jin Jo, Beom Geun Choi, Wu Yan, Jin San Moon[1], Young Jo Kim[2], and Ki Sun Yoon*

Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University
[1]Veterinary Pharmaceutical Management, Animal and Plant Quarantine Agency
[2]Regulatroy Reform & Legal Affairs Office, Ministry of Food and Drug Safety

(Received September 11, 2014/Revised December 6, 2014/Accepted May 27, 2015)

ABSTRACT - Microbial quality of baked egg products was evaluated by counting the levels of sanitary indicative bacteria (aerobic plate counts, coliforms, and *E. coli*), *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. at the critical control points (CCPs) of manufacturing process. In addition, the survival and growth of foodborne pathogens in various egg products (cheese, tuna, tteokgalbi, pizza omelets, baked egg, and steamed egg) were investigated at 4, 10, and 15°C. The contamination level of aerobic plate counts decreased from 4.67 log CFU/g at CCP 1 to 0.56 log CFU/g at CCP 3 in baked egg products. No coliforms and *E. coli* were detected at all CCPs. Although *L. innocua* and *Salmonella* spp. were identified at CCP 1, no *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. were detected in the final products. The contamination levels of aerobic plate counts and coliforms in egg strips and number of aerobic plate counts in Tteokgalbi omelet are higher than the microbiological standard of processed egg products. At 10°C, the growth of all pathogens was not prevented in omelet and baked egg, but the populations of *S.* Typhimurium and *E. coli* were reduced in steamed egg at 10°C, regardless of the presence of other pathogens. The growth of *L. monocytogenes* was faster than that of *S.* Typhimurium and *E. coli* in omelet. More rapid growth of *S.* Enteritidis than *S.* Typhimurium was observed in egg products, indicating the greater risk of *S.* Enteritidis than *S.* Typhimurium in egg products.

Key words: Processed egg products, Microbial quality, Sanitary indicative bacteria, *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium

최근 인구의 고령화, 여성의 경제활동 확대, 국민소득의 증가 및 식생활의 서구화 등의 영향에 의해 식품소비 패턴이 변화하고 있으며, 쌀 소비량은 감소하는 반면 축산식품의 소비량은 매년 꾸준히 증가하는 추세이다. 축산식품 중 비교적 저렴한 비용으로 양질의 동물성 단백질을 제공하는 완전식품인 계란은 소비자들에게 친숙한 축산식품으로서 최근 학교급식이 보편화되고 급식산업의 규모가 커짐에 따라 섭취 및 활용하기에 편리한 알 가공품의 수요가 증가하고 있다[1,2]. 농림수산식품부 통계 자료에 의하면 우리나라의 국민 1인당 계란 소비량은 2008년 224개, 2010년 236개, 2013년 245개로 매년 증가하고 있는 실정이다[3]. 알 가공품은 우수한 고단백 영양식품으로 사람에게는 중요한 영양원인 반면 수분 함량이 높고 영양물질도 풍부하여 미생물이 생장하기에 좋은 환경이므로 다른 식품보다 부패 및 변질이 용이하다. 따라서 알 가공품의 수요가 증가함과 동시에 알 가공품에 대한 안전성 확보가 주요 관심으로 등장하고 있으며 매년 축산식품에 의한 식중독이 꾸준히 발생하고 있어 지속적인 관리가 필요한 실정이다[4].

축산식품 중 계란의 난각에는 동물의 분변에 존재하는 식중독의 주요 원인 미생물인 *Salmonella* spp., *Campylobacter, Escherichia coli* 등이 분포하여 조리과정 중 교차오염의 위험도가 높고 가공 후에도 병원성미생물 등에 의한 오염 가능성이 크다[5,6,7]. 특히 살모넬라 식중독은 살모넬라에 오염되어 있는 육류나 계란을 원재료로 사용한 경우 감염의 원인이 되며 특히 생계란 장국, 오믈렛, 계란부침, 집에서 만든 마요네즈 등 계란을 원료로 하고, 충분한

*Correspondence to: Ki Sun Yoon, Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Kyung Hee University. Seoul 130-701, Korea
Tel: 82-2-961-0264, Fax: 82-2-961-0261
E-mail: ksyoon@khu.ac.kr

가열공정이 없는 식품이 감염 원인으로 알려져 있다[8]. 지난 4년간 국내 축산식품 관련 식중독 역학조사 결과 발생빈도가 높았던 주요 원인균은 *Salmonella* spp., *E. coli*, *Campylobacter jejuni* 순으로 조사되었으며, *Salmonella* spp. 식중독의 주요 원인 식품은 계란을 원료로 하는 식품인 계란말이, 계란찜 등에서 발생된 것으로 보고되었다[9]. 최근 '토마토 알찬지단채' 제품에서 *Salmonella* spp. 식중독균이 검출되어 판매가 중단 및 회수 조치되었다[10]. 또한 축산식품의 대량 생산과 냉장 및 냉동 기술의 발달로 인하여 냉장식품이 장기간 유통되고 소비량도 증가하고 있다. 특히 *L. monocytogenes*는 다른 병원성 식중독균과 달리 저온에서도 성장이 가능하여 냉장유통 식품에서도 식중독이 발생할 수 있으므로 이에 대한 관리가 필요하다[11,12].

축산식품의 안전관리를 위하여 국내 및 대부분의 국가에서는 도축 및 제품 공정과정에서 위해요소 관리를 위한 HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point, 식품안전관리인증기준) 시스템을 구축하여 식품안전 문제발생을 사전에 예방하기 위한 노력을 하고 있다[13]. 그러나 HACCP 인증 후 위생상태의 개선 여부를 검증하는 제도가 마련되어 있지 않아 식중독 발생을 통제하는데 있어 어려움이 있으며 계란의 생산과정 전체를 관리하는 체계적인 시스템이 마련되지 않아 축산식품 유래 식중독 발생을 효과적으로 통제하지 못하고 있는 실정이다[14].

최근 알 가공품 등 다양한 종류의 축산 가공품이 출시되며 축산식품에 대한 소비가 지속적으로 증가하고 있음에도 불구하고 새로운 축산 가공품 제조 공정의 표준화 연구가 부족한 상황에서 알 가공업체는 자체적인 제조 공정도를 이용하여 관리를 하고 있는 실정이다. 특히 편의점 등에서 즉석섭취 제품으로 난류를 이용한 다양한 제품이 개발되고 있는 가운데 알 가공품 중 계란 말이, 오믈렛 등이 즉석섭취 도시락 류에 주요반찬으로 사용되는 대중성을 고려할 때 유통과정에서 다양한 온도 변화에 따른 이들 알 가공품의 미생물학적 안전성에 대한 연구가 매우 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 즉석섭취 알 가공품에 대해 리스크(Risk)에 기본을 둔 과학적이고 근본적인 유통관리를 위해 알 가공품의 공정단계별 위해요소 분석 및 현재 식품접객업소 등으로 유통되고 있는 알 가공품에서 고위험군 병원성 식중독 균의 증식 및 생존 특성을 분석하여 유통과정에서 기준 규격 설정 및 안전한 관리방안을 위한 자료를 확보하고자 한다.

Materials and Methods

즉석섭취 알 가공품의 공정 별 시료 채취

본 연구에서는 즉석섭취 알 가공품의 공정 별 미생물학적 위해 요소를 분석하기 위하여 2013년 2월 경기 지역에 위치한 계란가공 전문업체의 작업시간에 방문하여 작업장에서 생산되는 즉석섭취 알 가공품 중 계란구이 제품의 공정도(Fig. 1)를 기준으로 중요관리점(CCP)에서 샘플을 수거하여 미생물 분석에 사용하였다. 또한 계란 가공 전문업체에서 생산하는 다른 알 가공품의 미생물학적 오염도를 분석하기 위하여 제품의 제조 공정이 끝나는 시점에서 7종의 최종제품 (참치・치즈・피자・떡갈비오믈렛, 계란구이, 계란 찜, 지단 채)을 채취하여 아이스박스에 보관 샘플 채취 2시간 이내에 실험장소로 운반하여 즉시 미생물 분석을 실시하였다. 계란가공전문업체는 HACCP 인증을 받았으며, 많은 제빵회사와 단체급식소 및 외식업체에 제품을 공급하는 업체로 선정하였다.

미생물 오염도 분석

알 가공품 시료는 식품공전[15]의 미생물 시험법에 의거하여 분석을 실시하였다. 일반세균, 대장균군 및 대장균을 분석하기 위하여 고체 시료에서 25 g을 채취하고 동일 무게의 0.1% 멸균된 peptone water (Difco, USA)와 함께 멸균백에 넣어 Stomacher (BAGMIXER 400, Interscience, France)로 2분간 균질화한 것을 시험액으로 하였다. 시험액은 aerobic plate counts(일반세균), coliforms(대장균군), *E. coli*(대장균) 측정을 위해 각각 3M Petrifilm aerobic count plate, 3M Petrifilm E. coli/coliform count plate에 무균적으로 분주한 후 36 ± 1ºC에서 24시간 배양하였다. aerobic plate counts는 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 계산하였으며, *E. coli*는 가스방울을 생성하는 푸른색 균체, coliforms은 가스방울을 생성하는 붉은색 균체의 콜로니를 계수하여 log CFU/g으로 각각 표시하였다.

Salmonella spp.의 분석은 시료 25 g에 225 mL의 buffered peptone water (Difco, USA)를 첨가하여 35 ± 1ºC에서 18~24시간 배양한 후, 이 배양액을 10 mL의 TT broth (Tetrathionate broth) (OXOID, UK)에 1 mL 첨가함과 동시에 RV broth (Rappaport-Vassiliadis broth) (OXOID, UK)에 0.1 mL를 첨가하여 각각 36 ± 1ºC 및 42 ± 0.5ºC에서 20~24시간 증균 배양하였다. 각 증균액을 XLD agar (Xylose-Lysine deoxycholate agar) (OXOID, UK)에 획선 도말하여 36 ± 1ºC에서 20~24시간 배양한 후 분리된 의심 집락을 선택하여 자동 미생물 동정 장비 Micronaut ID systems E kit (MERLIN, Bornheim-Hersel, Germany)를 이용하여 분석하였다.

*L. monocytogenes*의 분석 또한 시료 25 g에 Listeria Enrichment Broth (OXOID, UK) 225 mL를 첨가하여 균질화한 후 35 ± 1ºC에서 24~48시간 1 차 증균 배양하였으며, 이를 0.1 mL 취하여 Fraser broth (OXOID, UK)에 접종하여 35 ± 1ºC에서 24시간 동안 2 차 증균 배양을 실시하였다. 2 차 증균배지로부터 Palcam agar (OXOID, UK)에 획선도말하여 35 ± 1ºC에서 48시간 배양한 후 분리된 의심

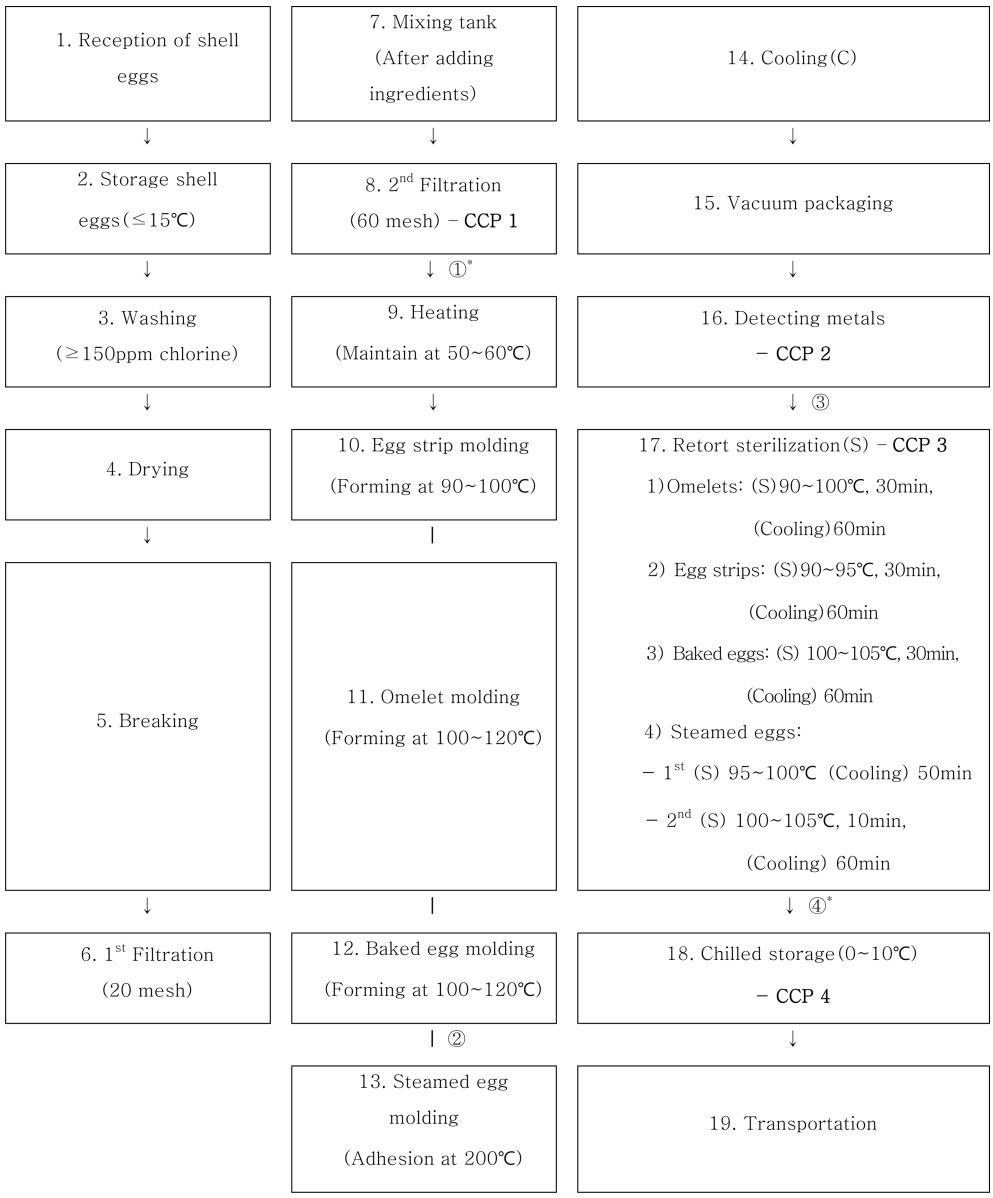

Fig. 1. Process flow diagram of ready-to-eat egg products (① - ④ : analysis of sanitary indicative bacteria, * analysis of *Salmonella* and *Listeria*).

집락을 선택하여 자동 미생물 동정 장비 Micronaut ID systems RPO kit (MERLIN, Bornheim-Hersel, Germany)를 이용하여 분석하였다.

즉석섭취 알 가공품에서 고 위험 병원성 균의 증식 및 생존

시험 균주 준비

본 연구에서 알 가공품에서 고위험 병원성균의 증식 및 생존에 대한 연구를 위해 시험 균주 *S.* Typhimurium (ATCC 13311)과 *S.* Enteritidis (KCCM 12021), *E. coli* (ATCC 25922)는 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM)에서, *L. monocytogenes* (ATCC 15313)는 한국생명공학연구원(Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KRIBB)에서 분양 받아 사용하였다. *Salmonella* 균주는 BHI (Brain heart infusion), *E.coli* 는 TSB (Tryptic soy broth) (BD, Sparks, MD, USA), *L. monocytogenes*는 yeast extract 0.6%가 첨가된 TSB를 멸균한 후 20% glycerol를 첨가한 액체배지에 각각 현탁하여 −80°C에 보관하며 stock culture로 사용하였다. 매 실험 시 stock culture를 상온에서 해동하여 10 µl의 *S.* Typimurium과 *S.* Enteritidis는 10 ml의 BHI, *E. coli*는 10 ml의 TSB, *L. monocytogenes*는 10 ml의 0.6% yeast extract가 첨가된 TSB에 각각 접종하였다. 각각의 배지를 36°C에서 24시간 동안 140 rpm 진탕 배양한 후, 각각의 현탁액을 1 ml

취하여 *L. monocytogenes, E. coli, S.* Typhimurium 혼합 균액(L+E+ST)을 준비하였다. 또한 알 가공품에서 *S.* Typhimurium과 *S.* Enteritidis의 성장특성을 비교하기 위하여 *L. monocytogenes* 와 *E. coli* 혼합액에 *S.* Typhimurium 대신 *S.* Enteritidis가 포함된 혼합 균액(L+E+SE)를 준비하였다.

시료 접종 및 저장

실험에 사용된 알 가공품은 경기 지역에 위치한 계란가공전문업체에서 지원을 받아 사용하였다. 오믈렛 (치즈, 참치, 떡갈비, 피자), 계란구이, 계란찜의 유통기한은 14일이며, 본 연구의 시료 저장 기간은 14일까지의 계획으로 시료의 양 및 보관기간을 결정하였다. 시료는 제조일자로부터 1~2일 이내의 완제품 시료를 받았으며 아이스박스에 보관하여 실험실로 이동하여 사용하였다. 4종의 오믈렛 (치즈, 참치, 떡갈비, 피자), 계란구이와 계란 찜은 petridish에 10 g씩 무균적으로 담아 미리 준비된 *L. monocytogenes, E. coli, S.* Typhimurium 혼합 균액(L+E+ST)를 각 샘플 표면에 100 μl씩 접종하여 초기 오염 농도가 각각 3.0 ± 0.5 log CFU/g 수준이 되도록 하였다. 오믈렛과 계란구이 샘플은 실제 유통/판매되는 상태에 따라 진공 포장하여 4, 10, 15°C의 온도에 각각 저장하였으며, 계란 찜은 살균 처리한 폴리에틸렌 zip lock bag에 호기 포장하여 4, 10, 15°C 온도에 저장하며 식중독균의 증식 및 생존가능성을 조사하였다.

또한 계란구이 및 계란찜에서 *S.* Typhimurium과 *S.* Enteritidis의 성장을 비교하기 위하여 준비된 *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S.* Enteritidis 혼합 균액(L+E+SE)을 준비하여 위와 동일한 방법으로 각 샘플 표면에 100 μl씩 접종하여 계란구이는 진공포장을 계란 찜은 호기포장 후 4, 10, 15°C 온도에 저장하며 *S.* Enteritidis를 포함한 식중독균의 증식 및 생존가능성을 조사하였다.

미생물 증식 및 생존 분석

*L. monocytogenes, E. coli*와 *S.* Typhimurium가 포함된 혼합균주(L+E+ST)와 *L. monocytogenes, E. coli*와 *S.* Enteritidis (L+E+SE)가 포함된 혼합균주에 대한 생육변화 측정은 저장 온도에 따라 주어진 시간에 샘플링한 각 시료를 10 ml의 멸균된 0.1% peptone water와 함께 멸균백에 넣어 stomacher로 2분간 균질화한 후, 9 ml의 0.1% peptone water로 단계별 희석하여 사용하였다. 적당한 농도의 희석액을 Xylose-Lysine deoxycholate (XLD), PALCAM, EMB (Eosin Methylene Blue) 한천배지에 spiral plater (Don Whitley Scientific, West Yorkshire, UK)를 이용하여 각각 분주하였다. 각각의 배지는 36°C에서 1~2일간 배양한 후, 형성된 집락수를 colony counter (Scan 1200; Interscience, Saint Nom, France)로 계수하여 log CFU/g으로 표시하였으며 모든 실험은 2회 반복 실시하였다.

Results and Discussion

알 가공품의 공정별 미생물 오염도 분석

즉석섭취 알 가공품의 가공 공정도는 Fig. 1과 같다. 약 100°C 이상의 온도에서 가열 및 성형과정을 거치는 즉석섭취 알 가공품 중 계란구이의 경우 액란 공정의 1 차 여과 단계 이후, 부재료 배합, 60 mesh 2 차 여과, 가온, 가열 성형, 냉각, 진공포장, 금속검출, 레토르트 살균, 보관의 과정을 거쳐 완제품이 출하된다. 또한 즉석섭취 알 가공품 중 지단채의 경우에는 가열 성형 단계 이후 절단 및 포장되어 레토르트 살균과정이 생략되었으며, 오믈렛, 계란구이, 계란 찜은 각 제품의 특성에 따라 가열 성형과 레토르트 살균 단계에서의 온도 및 시간이 설정되었으며, 계란 찜의 경우에는 레토르트 살균에서 2 차 살균과정이 추가적으로 수행되었다. 본 연구에서 알 가공품의 공정단계별 미생물 오염도 분석은 공정과정 중 CCP 인 60 mesh 2 차 여과 후, 성형 후, 포장 후, 레토르트 후 단계에서 실시하였다. 즉석섭취 알 가공품 HACCP 계획서에는 60 mesh 2 차 여과, 금속검출, 레토르트 살균과 제품보관 단계를 CCP로 지정하여 관리하고 있었다(Fig. 1).

알 가공품의 공정단계에서 미생물 오염도 분석 결과는 다음 Table 1과 같다. 첫 번째 CCP인 2 차 여과 후 경우, aerobic plate counts는 4.67 ± 0.13 log CFU/g이였으며 coliforms 및 *E. coli* 는 모두 음성이었다. 100~120°C 고온의 가열과정을 거치는 성형 후에는 aerobic plate counts, coliforms, *E. coli* 모두 음성이었으나 포장 후 aerobic plate counts는 0.23 ± 0.15 log CFU/g로 다시 증가하였으며 coliforms 과 *E. coli* 는 모두 음성이었다. 세 번째 CCP 단계인 레토르트 공정 과정을 거친 계란구이 제품은 aerobic plate counts의 경우 0.56 ± 0.24 log CFU/g, coliforms와 *E. coli*는 모두 음성으로 나타났으며, 최종 완제품인 계란구이에서 알 가공품의 미생물학적 기준인[15] aerobic plate counts 10,000 CFU/g 이하, coliforms 10 CFU/g 이하로 기준을 모

Table 1. Microbial levels of baked egg products at the processing stage

Samples (n = 4)	Processing step	Microbial counts (log CFU/ g)		
		Aerobic plate counts	Coliforms	*E. coli*
ready-to-eat baked egg product	After 2nd filtration	4.67 ± 0.13	ND*	ND
	After molding	ND	ND	ND
	After packaging	0.23 ± 0.15	ND	ND
	After sterilization	0.56 ± 0.24	ND	ND

[1)]Mean (n = 4) ± SD
*ND, not detected

두 만족하였다. CCP 첫 단계에서는 aerobic plate counts 오염 수준은 높았으나 가열 및 성형 공정 이후 급격하게 감소하여 공정 과정을 거치는 동안 낮은 수준으로 유지되어 즉석섭취 알 가공품의 HACCP 공정에서의 CCP 관리는 적절하게 수행되고 있는 것으로 판단된다.

또한 즉석섭취 알 가공품의 가공 공정 중 첫 번째 중요관리점 단계인 60 mesh 2 차 여과 후의 시료에서 검출된 *Listeria* 의심집락은 동정결과 *L. innocua*로 확인되었으며, *Salmonella* 의심 집락은 *Salmonella* spp.인 것으로 확인되었다. 그러나 제조 공정 이후 최종 완제품에서 *L. monocytogenes*와 *Salmonella* spp.는 모두 음성으로 나타나 병원성 식중독균에 의한 위험은 크지 않은 것으로 보인다. 이와 같은 결과는 국내 축산물 가공품에 대한 *Salmonella* spp.와 *L. monocytogenes* 관리기준이 모두 불검출로 국내에서 유통되는 알 가공품 대부분은 살균 또는 멸균 처리를 통해 기준을 만족시키려는 노력 때문인 것으로 사료된다.

알 가공품 완제품에서 미생물학적 오염도 정량분석

즉석섭취 알 가공품의 위생상태 및 제조 공정에서의 식품의 위생수준과 안전성을 간접적으로 측정할 수 있는 위생지표 세균으로 aerobic plate counts, coliforms, *E. coli*를 검사한 결과는 Table 2 와 같다. 최종완제품에서 aerobic plate counts 및 coliforms의 오염수준은 각각 0.15~4.66 log CFU/g과 0~3.10 log CFU/g의 범위로 제품의 종류에 따른 오염수준의 차이가 매우 큰 것으로 나타났다. 분석결과에 따르면 aerobic plate counts는 지단채와 떡갈비 오믈렛에서 각각 4.66 log CFU/g, 4.11 log CFU/g, 치즈오믈렛에서 1.47 log CFU/g, 참치오믈렛, 피자오믈렛, 계란구이에서 각각 0.75 log CFU/g, 0.65 log CFU/g, 0.56 log CFU/g 수준으로 검출되었다. Coliforms은 지단채에서만 3.10 log CFU/g 검출되었으며, *E. coli* 는 모든 제품에서 검출되지 않았다. 식품공전에 따르면 알 가공품 품목별 세균수 기준을 보면 살균제품에서 aerobic plate counts는 10,000 CFU/g 이하, coliforms은 10 CFU/g 이하로 규정되어 있다[15]. 본 연구에서 지단채의 경우에는 aerobic plate counts 및 coliforms의 미생물 기준을 모두 초과하여 부적합한 것으로 나타났다. 이는 가열 성형 공정과정이 있음에도 불구하고 오염도가 매우 높았던 것으로 보아 성형 공정 이후 제품을 절단하는 과정에서 기계 및 기구에 의한 교차오염이 발생하였을 가능성이 있으므로 알 가공품의 제조 공정 단계에서 사용되는 기계 및 기구 관리가 중요하며, 특히 지단채의 제품 특성에 따라 레토르트 공정이 생략되므로 이를 보완할 수 있는 관리 방안이 필요할 것으로 보인다 (Fig. 1).

Table 2. Microbial levels of ready-to-eat egg products

Samples	Microbial counts (log CFU/g)		
	Aerobic plate counts	Coliforms	*E. coli*
Egg strips	4.66 ± 0.06[1)]	3.10 ± 0.03	ND
Tteokgalbi omelets	4.11 ± 0.02	ND	ND
Cheese omelets	1.47 ± 0.19	ND	ND
Tuna omelets	0.75 ± 0.36	ND	ND
Pizza omelets	0.65 ± 0.09	ND	ND
Baked egg	0.56 ± 0.24	ND	ND
Steamed egg	0.15 ± 0.30	ND	ND

[1)]Mean (n = 4) ± SD
*ND, not detected

또한 오믈렛의 경우는 떡갈비오믈렛에서 coliforms 및 *E. coli*는 알 가공품의 미생물학적 기준을 충족하는 것으로 나타났으나, aerobic plate counts는 미생물학적 기준인 10,000 CFU/g를 초과하여 허용 불가능한 수준인 것으로 나타났는데 오믈렛은 계란 이외의 내용물이 추가 주입되므로 부 재료의 관리도 중요할 것으로 판단되며, 각 제품의 제조 공정 과정에서의 관리 방법의 개선이 필요한 것으로 사료된다. 그러나 치즈, 참치, 피자오믈렛과 계란구이, 계란 찜은 공전에서 제시하는 미생물학적 기준에 모두 부합하였다. 특히 계란 찜의 경우 레토르트 살균 단계가 두 차례에 걸쳐 이루어지기 때문에 다른 시료에 비해 미생물의 관리가 잘 수행되고 있는 것으로 나타났다. 계란가공품의 보관 중 품질 변화 선행연구에서 계란구이와 계란말이 완제품에서의 aerobic plate counts는 30 CFU/g 이하인 것으로 보고되었다[16]. 최근 계란 말이, 지단채 등과 같은 제품에서 식중독 균이 오염 되어 회수 조치되는 사례 등을 고려할 때 알 가공품의 제조공정 및 유통단계에서 안전관리에 주의가 요망된다.

알 가공품에서 고위험군 병원성 식중독균의 증식 및 생존

참치, 치즈, 피자, 떡갈비 오믈렛

국내・외 식용란의 위생실태 연구에 따르면 *Salmonella* spp.와 *E. coli*를 비롯한 다양한 미생물들이 계란 유통상의 품질에 영향을 주는 것으로 나타났다[17,18,19]. 본 연구에서는 유통단계에서 알 가공품의 안전관리를 위해 식중독 균으로 *L. monocytogenes, S.* Typhimurium, *E. coli* 를 인위적으로 오염시킨 알 가공품을 4, 10, 15ºC에 저장하면서 알 가공품의 종류에 따라 식중독 균의 증식 및 생존 패턴을 분석하였다.

4ºC에서 저장한 4종의 오믈렛 (참치, 치즈, 피자, 떡갈비 오믈렛)에서 *L. monocytogenes, S.* Typhimurium, *E. coli* 의 증식/생존 경향은 다음 Fig. 2 와 같다. 4ºC에서 *L. monocytogenes*는 4종의 오믈렛에서 서서히 증가하여 저장 12일 이내에 약 5.3~6.3 log CFU/g까지 성장한 반면 *E. coli*와 *S.* Typhimurium은 매우 느린 속도로 감소하여 저장 12

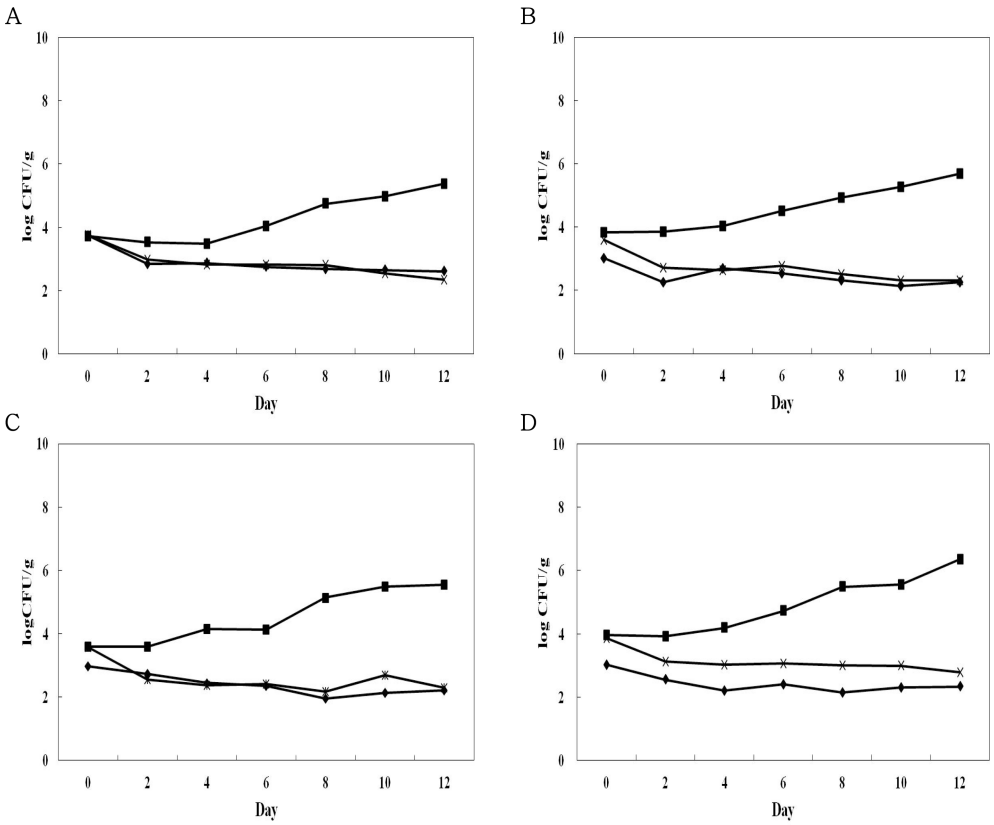

Fig. 2. Growth and survival of pathogens in omelets at 4°C (A) Cheese omelet, (B) Tuna omelet, (C) Pizza omelet, (D) Tteokgalbi omelet (◆ : *S.* Typhimurium, ■ : *L.monocytogenes*, ×: *E. coli*).

일 이후에도 약 2 log CFU/g 수준에서 생존하는 경향을 나타내었으며, 두 균의 감소 속도는 큰 차이를 보이지 않았다. 10°C에 저장한 4종의 오믈렛은 균주의 성장 속도에는 차이가 있었으나, 세 균주 모두 저장 기간 내에 증식하는 경향을 보였으며 그 중 *L. monocytogenes*가 가장 빠르게 성장하는 것으로 나타났다. *E. coli* 는 참치(Fig. 3B), 피자(Fig. 3C)오믈렛에서 약 2 log CFU/g 이상 증가하였으나, 치즈(Fig. 3A)와 떡갈비(Fig. 3D)오믈렛에서는 초기 오염 수준보다 약간 증가하는 경향을 보였으며, *E. coli* 의 성장률은 피자오믈렛에서 가장 큰 것으로 나타났다. 10°C에서 *S.* Typhimurium의 성장은 세가지 균 중에서 가장 느린 것으로 나타났다. 15°C에서는 모든 균주가 비슷한 속도로 증식하는 경향을 보였으며 저장 9일 이내에 모두 약 6 log CFU/g이상 성장하여 최대증식수준에 이르는 것으로 나타났다(Fig. 4), 치즈, 참치 오믈렛보다 피자오믈렛(Fig. 4C)과 떡갈비오믈렛(Fig. 4D)에서 세 균주는 저장기간 동안 좀 더 빠른 속도로 증가하여 저장 4일 이내에 약 8 log CFU/g까지 성장하는 것으로 나타났다. Kang 등[20]의 연구에서 알 가공품은 아니나 4°C 냉장저장 중 액란 에서의 세균수는 저장기간이 증가하더라도 직선적으로 증가하지 않는 것으로 보고되었다. 본 연구결과에서도 4°C에서 *E. coli*와 *S.* Typhimurium은 증가하지 않았으나, *L. monocytogenes*는 냉장 온도에서도 증식이 가능한 균으로 알 가공품에서도 오염되지 않도록 제조 과정에서의 안전관리가 매우 중요할 것으로 사료된다.

계란구이, 계란 찜

4, 10, 15°C 저장온도에서 계란구이, 계란찜의 *L. monocytogenes, S.* Typhimurium, *E. coli* 의 증식 및 생존 양상 결과는 Fig. 5 와 같다. *L. monocytogenes*의 경우 저장온도에 상관없이 계란구이, 계란 찜 모두에서 증식 하는 것을 보이며, *S.* Typhimurium, *E. coli*와 차이를 보였다.

계란구이의 경우 10°C (Fig. 5B)에서 *S.* Typhimurium, *E. coli*는 초기수준을 유지하다 저장 7일부터 증식하기 시작하였으나 15°C (Fig. 5C)에는 세 균주들 간의 성장 양상의 차이는 크지 않은 것으로 나타났다. 계란 찜에서 *S.* Typhimurium과 *E. coli*는 4°C (Fig. 5D)와 10°C (Fig. 5E) 저장조건에서 사멸하는 경향을 보였으며 4°C보다 10°C에서 더 빠른 속도로 사멸하였다. 반면 15°C (Fig. 5F) 저장조건에서는 동일한 저장기간 동안에 모든 균이 급격하게 성장하는 것으로 나타나, 유통/판매 조건에서 온도 관리 또한 철저하게 수행되어야 할 것으로 판단된다. 제품의 종류에 상관없이 15°C에서는 균주들 간의 성장패턴의 차이는 크지 않은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 aerobic

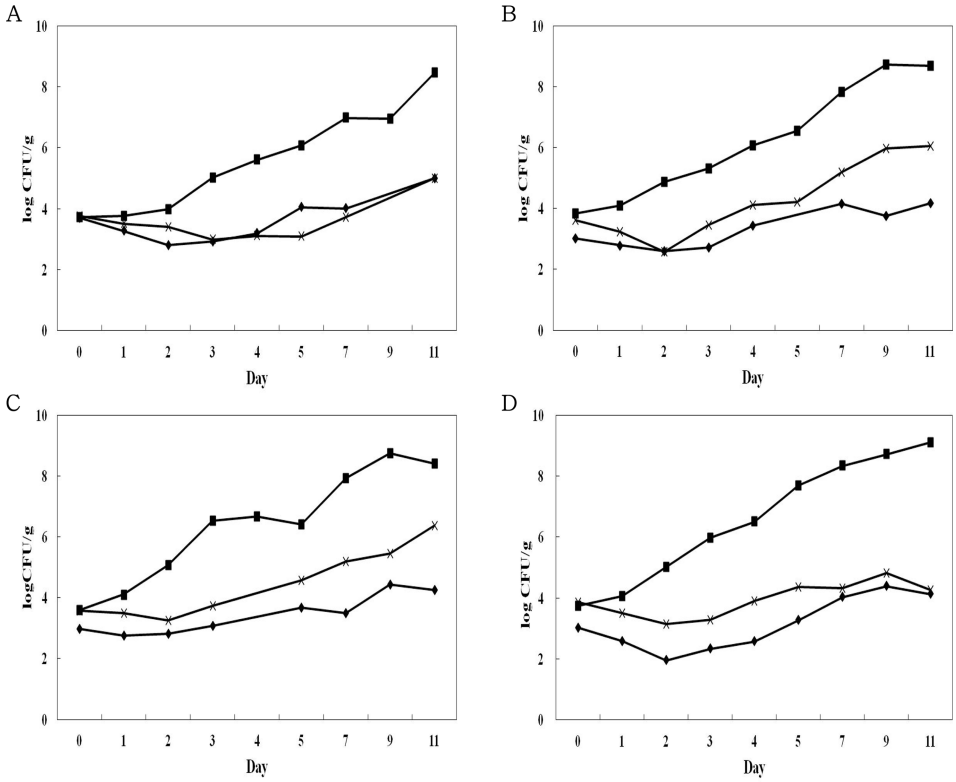

Fig. 3. Growth and survival of pathogens in omelets at 10°C (A) Cheese omelet, (B) Tuna omelet, (C) Pizza omelet, (D) Tteokgalbi omelet (◆ : *S.* Typhimurium, ■ : *L. monocytogenes*, ×: *E. coli*).

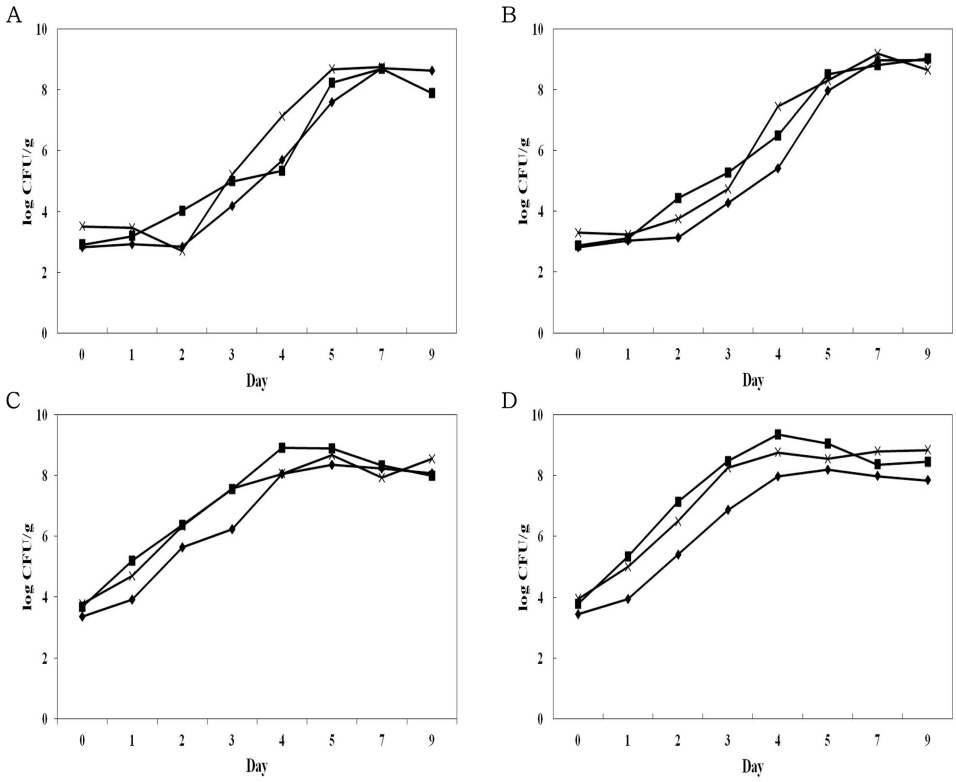

Fig. 4. Growth of pathogens in omelets at 15°C (A) Cheese omelet, (B) Tuna omelet, (C) Pizza omelet, (D) Tteokgalbi omelet (◆ : *S.* Typhimurium, ■ : *L. monocytogenes*, ×: *E. coli*).

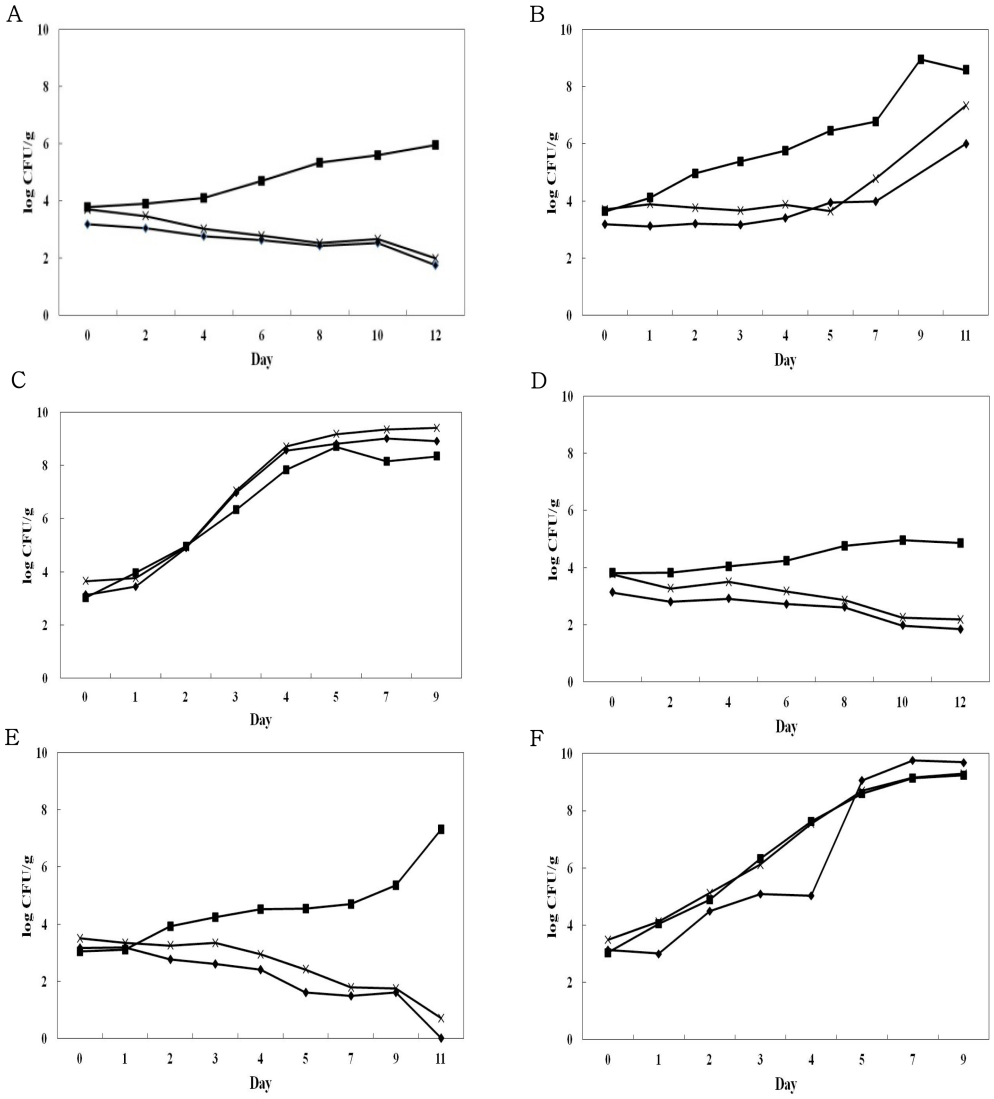

Fig. 5. Growth and survival of pathogens in baked egg and steamed egg at 4,10,15°C (A) baked egg/4°C, (B) baked egg/10°C, (C) baked egg/15°C, (D) steamed egg/4°C, (E) steamed egg/10°C, (F) steamed egg/15°C (◆ : *S.* Typhimurium, ■ : *L. monocytogenes*, ×: *E. coli*).

plate counts의 초기 오염수준이 30 CFU/g 이하인 계란구이와 계란말이를 5°C와 10°C에 보관할 경우 13일까지도 양호한 상태를 유지하였으나, 15°C에 보존 시에는 24시간 후에 균의 증식이 급격하게 일어났다는 Kim 등(1998)의 연구와 유사한 결과를 보였다[16]. 본 연구에 사용된 즉석섭취 알 가공품은 단순 가열처리 후 섭취할 것을 권장하고 있으나, 김밥의 원료로 사용되는 계란구이의 경우에는 데우지 않고 냉장상태 그대로 사용해도 무방한 것으로 제시하고 있어 최종 제품에서의 미생물학적 위생관리가 매우 중요할 것으로 사료된다. 본 연구결과에 따르면 계란 찜을 제외한 5종의 알 가공품에서 *S.* Typhimurium, *L. monocytogenes*, *E. coli* 세 균주의 증식 및 생존 양상은 매우 유사한 경향으로 나타나, 미생물의 증식 및 생존특성에 계란 제품의 종류는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 계란 찜의 경우 다른 제품과 달리 호기포장 상태로 유통되는 것이 식중독균의 증식에 영향을 다르게 미쳤을 것으로 사료된다. 또한 추후 저장기간 및 저장온도에 따른 이화학적·관능적 특성 연구를 추가적으로 실시하여 즉석섭취 알 가공품의 유통기한 설정 및 관련 법개정 시 참고자료로 활용 가능할 것으로 사료된다.

계란구이 및 계란 찜에서 *S.* Typhimurium 과 *S.* Enteritidis 의 성장 및 생존 비교

본 연구에서는 즉석섭취 알 가공품 중 계란구이에 접종된 *S.* Typhimurium과 *S.* Enteritidis 단일 균주의 성장을 10°C 저장온도에서 비교한 결과는 다음 Fig. 6 과 같다. 10°C에 저장한 계란구이에서 *S.* Typhimurium과 *S.* Enteritidis 모두 증가하였으나, *S.* Typhimurium에 비해 *S.* Enteritidis 의 증식 속도는 빠르고 최대증식수준이 더 높은 것으로 나타났다. *S.* Typhimurium은 저장 4 일 동안

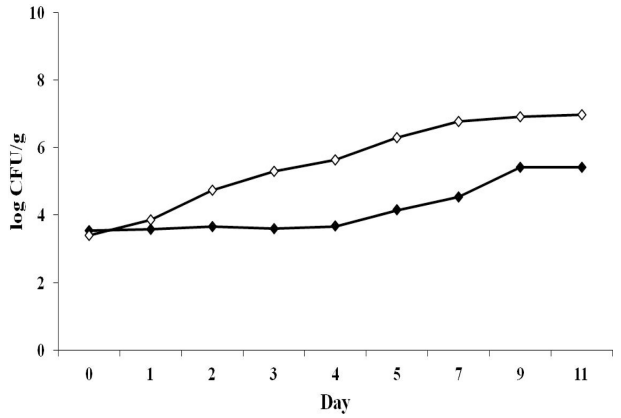

Fig. 6. Comparison of the growth of *S.* Typhimurium and *S.* Enteritidis in baked egg (◆ : *S.* Typhimurium, ◇ : *S.* Enteritidis).

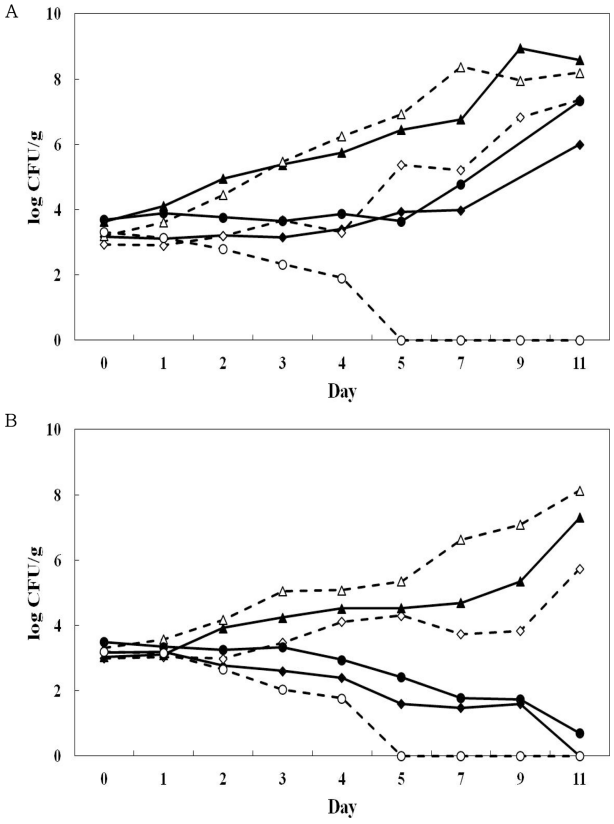

Fig. 7. Comparison of the growth of various pathogens in (A) baked egg and (B) steamed egg at 10°C (◆ : *S.* Typhimurium, ◇ : *S.* Enteritidis, ▲: *L. monocytogenes* (L-E-ST), △: *L. monocytogenes* (L-E-SE) ● : *E. coli* (L-E-ST), ○ : *E. coli* (L-E-SE).

최초 농도를 유지하다가 5 일째부터 증식하기 시작하여 저장 11 일 후 5.42 log CFU/g으로 약 1.88 log CFU/g 가 증가하는 것으로 관찰되었으며, *S.* Enteritidis는 저장 1일부터 일정 속도로 증식하여 6.97 log CFU/g 까지 성장하여 저장 11일 동안 약 3.57 log CFU/g가 증가하였다. *Salmonella* 는 사람·동물 및 가금류의 장내에 존재하며 자연계에 널리 분포하는 식중독 균으로써 *S.* Typhimurium과 *S.* Enteritidis는 식품 유래의 대표적인 *Salmonella* 식중독 균으로 알려져 있다. *S.* Typhimurium과 *S.* Enteritidis가 계란구이에 동일한 농도로 오염이 되었을 때 *S.* Enteritidis의 성장이 우세하다는 결과는 *S.* Enteritidis가 계란에 의한 식중독의 대표적인 원인 균임을 뒷받침하는 근거가 될 수 있을 것으로 판단된다.

또한 계란구이와 계란찜에서 *S.* Typhimurium과 *S.* Enteritidis가 다른 균주와 혼합되어 있을 때 성장 특성을 비교하기 위해 *L. monocytogenes, E. coli*와 *S.* Typhimurium 가 포함된 혼합균주(L+E+ST)와 *L. monocytogenes, E. coli* 와 *S.* Enteritidis (L+E+SE)를 각각 접종하여 혼합 미생물의 성장 및 생존 양상을 분석한 결과는 다음 Fig. 7 과 같다.

계란구이에서 L+E+ST 와 L+E+SE 의 혼합균주가 접종되었을 때 *E. coli* 의 경우에는 어떤 균들과 함께 있는가에 따라 증식에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 즉 *S.* Typhimurium 과 함께 오염되었을 경우에는 *E. coli* 는 저장기간 중 증식한 반면 *S.* Enteritidis과 함께 오염이 되었을 경우 *E. coli* 는 감소하여 5일 이후 사멸하는 것으로 나타나 *E. coli* 증식에 *S.* Enteritidis 존재가 영향을 주는 것으로 나타났다. 또한 *L. monocytogenes*와 *E. coli*의 혼합균주로 접종된 *S.* Typhimurium과 *S.* Enteritidis는 저장 4일까지는 동일한 양상을 보이며 일정한 수준으로 유지하다가 *S.* Enteritidis는 5일 이후, *S.* Typhimurium는 7일 이후 각각 급격하게 증가하였다. 이는 계란구이에 *S.* Typhimurium 및 *S.* Enteritidis 단일 균주 접종 시 저장기간 중 *S.* Typhimurium보다 *S.* Enteritidis의 증식이 더 빨랐다는 결과와 동일한 결과였다. 반면 계란 찜에서는 계란구이와는 달리 혼합균주가 무엇인가에 상관없이 저장기간 중 *L. monocytogenes* 는 증식하였으나, *E. coli* 는 모두 감소하였다. 또한 *S.* Enteritidis 는 5.74 log CFU/g수준까지 성장하여 초기 오염농도에 비해 약 2.74 log CFU/g 증가하였으나, *S.* Typhimurium 는 서서히 감소하여 저장 11일 후 완전 사멸하는 대조적인 결과가 나타났다.

결론적으로 계란구이와 계란찜에서 모두 *S.* Enteritidis와 *E. coli*가 함께 증식할 경우, *E. coli* 는 사멸하는 것으로 나타나, *S.* Enteritidis 에 비해 *E. coli* 의 경쟁력이 낮은 것으로 판단된다. 그러나 *S.* Typhimurium 의 경우, 계란구이에서 증식하였으나 계란 찜에서는 사멸하는 결과는 계란구이와 계란 찜의 성분조성 및 포장방법에 따른 산소 노출 정도 등이 이들 균의 성장에 영향을 미친 것으로 사료된다. 실제 두 제품의 성분 중 계란의 함량이 계란구이에서는 87.2~94.4%, 계란찜에서는 수분량의 증가로 계란의 함량이 50%로 감소하여 *S.* Typhimurium 이 증식하기에는 계란 찜보다 계란구이에서 충분한 단백질 영양공급이 이루어진 결과로 보이며, *S.* Enteritidis는 두 제품에서 모두 잘 증식한 것으로 보아 *S.* Enteritidis 가 증식하기에

두 제품의 성분 함량 차이는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. *L. monocytogenes*의 경우 또한 식품의 종류에 따라 증식 양상에는 큰 차이가 없는 것으로 보아 *L. monocytogenes*는 제품의 종류 및 다른 균주에 의해 크게 영향을 받지 않는 것으로 판단된다. 따라서 본 연구결과는 국내 축산식품 관련 식중독 사고 역학조사 결과 계란을 원료로 하는 식품에서 *S.* Enteritidis에 의한 식중독 발생률이 가장 높다는 결과를 뒷받침하는 근거자료가 될 수 있을 것으로 판단된다. 현재 알 가공품의 유통/보관 시 10°C 이하의 냉장온도에서 보관할 것으로 규정하고 있으나, *Salmonella* 와 *Listeria* 등과 같은 고위험군 병원성 식중독 균에 오염시 10°C 보관에서도 증식 가능하므로 철저한 온도관리가 수행되어야 하며, 제조 시설에서의 위생적인 제품 생산뿐만 아니라 조리 시 적절한 가열, 가열 후 재오염 방지, 조기섭취 등 유통/보관 후 섭취시점까지의 안전한 관리 방안이 필요하다.

Acknowledgement

본 연구는 대한민국 농림축산검역본부의 2013년 용역연구사업에 의하여 이루어진 결과이며, 이에 감사 드립니다.

국문요약

본 연구는 계란가공전문업체에서 생산하는 즉석섭취 알 가공품의 미생물학적 안전성을 분석한 연구로 제품의 종류에 따라 일반세균 및 coliforms의 오염수준의 차이가 매우 크며 식중독균의 증식/생존 양상에도 영향을 미치는 것으로 나타났다. 즉석섭취 알 가공품 중 계란구이의 가공공정단계에서 미생물 오염도를 조사한 결과에 따르면 공정 초기단계에서 aerobic plate counts 오염 수준은 높았으나 가열 성형 공정 이후 급격하게 감소하여 공정 과정 이후 낮은 수준으로 유지하는 것으로 보아 HACCP 공정에서의 CCP 관리는 적절하게 수행되고 있는 것으로 나타났다. 완제품의 경우 치즈, 참치, 피자오믈렛과 계란구이, 계란 찜은 미생물 규격 기준에 부합하였으나 떡갈비오믈렛과 지단채는 허용 불가능한 수준으로 확인되었다. 특히 지단채의 경우 레토르트 공정을 거치지 않는 제조 공정에 따른 특성 때문인 것으로 판단되어 이를 보완할 수 있는 관리 방안이 필요할 것으로 보이며, 오믈렛의 경우 계란 이외의 내용물이 추가 주입되므로 부 재료의 관리도 중요한 것으로 나타났다. 또한 병원성 식중독균을 인위적으로 오염시킨 즉석섭취 알 가공품을 4, 10, 15°C에 저장하면서 미생물의 증식 및 생존을 관찰한 결과, *L. monocytogenes*는 저장 기간 내 모든 온도에서 증식하였다. 특히 계란구이에서 *S.* Typhimurium과 *E. coli*는 4°C와 10°C 저장조건에서 사멸하였으나, 15°C 저장조건에서는 동일한 저장기간 동안에 급격하게 성장하는 것으로 나타나, 유통/판매 조건에서 온도 관리 또한 철저하게 수행되어야 할 것으로 판단된다. 또한 계란구이에서 *S.* Typhimurium에 비해 *S.* Enteritidis의 증식 속도가 더 빠른 것으로 나타났으며 계란 찜에서도 *S.* Typhimurium는 사멸하는 반면 *S.* Enteritidis 증식은 잘 이루어 져 알 가공품에서의 *S.* Enteritidis의 증식 위험성이 더 큰 것으로 나타나 식용란이 생산되는 과정에서도 *S.* Enteritidis 오염예방이 매우 중요한 것으로 판단된다. 또한 알 가공품의 경우 제조 시설에서의 위생적인 제품 생산뿐만 아니라 조리 시 적절한 가열, 가열 후 교차오염 방지, 조기섭취 등 유통/보관 후 소비자 섭취시점까지의 안전관리 방안이 필요하다.

References

1. Lee K.I., Han H.S., Son E.Y.: Agricultural Outlook 2008. Korea Rural Economic Institute, (2008).
2. Ststistics Korea: 2012 Food grain consumption survey report. (2013).
3. MIAFF(Minstry of food, agriculture, forestry and fisheries): Statistics of food, agriculture, forestry and fisheries 2013. (2014).
4. MFDS (Ministry of Food and Drug Safety) Food poisoning statistics system. Available from: http://www.mfds.go.kr/e-stat/index.do. Accessed on Jul. **25**, 2014 (2014).
5. Jang K.I., Park J.H., Kim K.Y.: Studies on *Salmonella* Enteritidis contamination in chicken egg using confocal scanning laser microscopy. Korean J. Food Sci. Technol., **31**, 771-777 (1999).
6. Jones F.T., Rives D.V., Carey J.B.: *Salmonella* contamination in commercial eggs and an egg production facility. Poult. sci., **74**, 753-757 (1995).
7. Lund B., Baird-Parker, Anthony C., Gould, Grahame W.: The microbiological safety and quality of food. Aspen Publishers, Inc., Frederick, MD, USA, (2000).
8. MFDS (Ministry of Food and Drug Safety) *Salmonella* RISK PROFILE. (2010).
9. Yoon K.S.: Development of tool for determination of risk ranking of the combination of pathogen and livestock product. Animal and Plant Quarantine Agency, Suwon, Korea, (2013).
10. MFDS (Ministry of Food and Drug Safety) Recall for ‘egg gidan products’. Available from: www.mfds.go.kr/index.do?searchkey=title:contents&mid=675&searchword=계란지단&pageNo=1&seq=23641&cmd=v. Accessed on Jul. **29**, 2014 (2014).
11. Oravcova K., Trncikova T., Kuchta T., Kaclikova E.: Limitation in the detection of *Listeria monocytogenes* in food in the presence of competing *Listeria innocua*. J. Appl. microbiol., **104**, 429-437 (2008).
12. Ramaswamy V., Cresence V.M., Rejitha J.S., Lekshmi M.U., Dharsana K.S., Prasad S.P., Vijila H.M.: *Listeria*-review of epidemiology and pathogenesis. J. microbiol., immunol. infect.,

40, 4-13 (2007).
13. National Veterinary Research and Quarantine Service: Veterinary research and quarantine information. (2001).
14. Song C.S.: Control strategy of Paratyphoid in poultry farm and slaughterhouse. Safe Food, **8**, 10-15 (2013).
15. MFDS (Ministry of Food and Drug Safety): Food code. (2013).
16. Kim J.W., Kim H.C., Hur J.W.: Quality changes of egg products during storage. Korean J. Food Sci. Technol., **30**, 1480-1483 (1998).
17. Chun M.S., Hong S.H.: Identification of microorganisms from eggs in hypermarket in the northern Gyeonggi area. The Korean Journal of Food and Nnutrition, **22**, 396-401 (2009).
18. Cox N.A., Bailey J.S., Thomson J.E., MO Carson M.O.,: Lactose preenrichment versus direct enrichment for recovering *Salmonella* from deep-chilled broilers and frozen meat products. Poult. science, **59**, 2431-2436 (1980).
19. Humphrey T.J., Martin K.W., Whitehead A.: Contamination of hands and work surfaces with Salmonella enteritidis PT4 during the preparation of egg dishes. Epidemiol. infect., **113**, 403-9 (1994).
20. Kang G.H., Cho S.H., Seong P.N., Park B.Y., Ham J.S., Jeong S.G., Kim D.H., Chae H.S.: Microbial and physicochemical properties of liquid egg during cold storage. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, **31**, 557-562 (2011).