

냉장 우육내의 미생물의 분포

정해만·조광필

조선대학교 치과대학 동물학교실

Microbial Distribution in Refrigerated Beef

Jung, Hae-Man and Kwang-Phil Cho

Department of Zoology, College of Dentistry, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

ABSTRACT: Isolation and identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria distributed in Korean refrigerated beef were attempted. Total isolated colonies were 192, and identified as 5 genera and 10 species. Among them, mesophilic bacteria were *Enterobacter aerogenes*, *E. agglomerans*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis*, and "psychrotrophic" bacteria were *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. pickettii*, *P. mendocina*, *P. stutzeri*, *Alcaligenes faecalis*. Dominant species was *Serratia liquefaciens* as mesophiles, and *Pseudomonas putida* as psychrotroph.

KEY WORDS □ Refrigerated beef, Mesophilic bacteria, Psychrotrophic bacteria

우육은 부패성이 높은 식품이므로 도축 과정에서 부터 유통단계에 이르기까지 품질 보존에 유의하여 저장 기간과 식품으로서의 안정성을 높여야 한다. 근래 우육의 미생물에 의한 부패와 물리화학적 작용에 의한 품질저하를 방지하기 위하여 냉동, 냉장, 건조염장(salting), 훈연(smoking), 자외선조사(irradiation)와 가열처리 등의 방법이 이용되고 있다(송, 1982). 이들 방법 중 냉동 또는 냉장 저장은 식품의 화학반응 속도와 식품의 효소 활성화 속도를 지연시키고 식품에 존재하는 미생물의 증식을 억제하거나 정지시키고 아울러 식품 고유의 성분과 신선도를 유지시킬 수 있는 장점이 있다. 그러나 냉장온도에서는 저온성 세균(psychrophiles 또는 psychrotrophic bacteria)의 번식에 의하여 부패취(off odor)와 우육의 표면에 점질물(slime)을 생성하여 변질될 수 있다. 저온성 세균은 자연계의 토양, 하수, 오수 등 다른 서식지에서도 널리 발견되고 있어 식품을 쉽게 오염시킬 수 있다(Kraft and Rey., 1979; Gordon and Jerehmiah, 1980).

우육의 주요 오염은 육의 표면에서 발생하며 오염은 도축장이외에 각 유통과정(수송과정, 도매점, 소매점)에서도 일어나고 가정에서도 일어나고 있으며 이들 대부분의 미생물은 저온에서 잠재하거나 성장하며 냉장육을 부패시킬 수 있다. 우육에 있어서 호기성 부패의 가장 보편적인 양상은 육의 표면에 *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Micrococcus* 등의 세균과 효모, 곰팡이등이 성장해서 표면에 점질물을 생성하는 것이다(Ayres, 1960). 최근 우리나라는 급속한 경제성장과 식생활

문화의 변화에 따라 우육의 소비증가와 함께 냉동 냉장육의 시판이 날로 확대되어가고 있으며 가정에서도 가전제품에 의해 육류를 냉동, 냉장하여 상식하는 가구가 증가추세에 있다. 그럼에도 불구하고 육질의 변화에 관계되는 조직학적, 이화학적 연구는 비교적 활발하게 진행되고 있으나 우육의 부패에 따른 미생물학적 연구는 외국에 비해 국내에서는 극히 미미한 실정으로 비교할 만한 자료가 충분하지 못한 실정이다. 따라서 냉장우육을 상온으로 저장 하였을 때와 냉장저장하였을때의 미생물의 분포를 알아보기 위하여 중온성 배양과 저온성 배양을 병행하여 세균을 분리 동정함으로써 우육의 부패와 연관된 육류 미생물학의 기초적 자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

광주직할시 도축장에서 도살 해체하여 예냉실에 옮겨져 0℃에서 24시간 예냉시킨 후 수퍼마켓으로 운반되어 -5℃에서 24시간 냉동시킨 48시간된 냉동 우육 중 안심부위를 1990년 5월, 6월, 7월 셋째주 토요일에 광주직할시 소재 수퍼 마켓으로 부터 3kg (육의 표면에 약 3cm 두께의 육) 씩 구입하여 가스살균된 비닐용기에 넣어 0℃ 내외의 얼음 상자로 30분 이내에 실험실로 운반 하였다.

시료처리 방법

구입한 시료는 clean bench내에서 멸균해부칼로 5등분하여 각 절편의 중앙에 1 cm² 공간크기의 멸균된 stainless templet를 놓고 loop로 육의 표면을 긁어

모은 후 다시 면봉으로 닦아내어(scraping & swabbing method) 0.1% peptone 수 10 ml가 들어있는 시험관에 넣어 vortex mixer (Dong Yang Co.)로 1분간 균질화 한 후 10^{-1} 부터 10^{-8} 까지 계단희석 하였다. 각 농도별 희석액 0.1 ml와 50°C 수조에 방치된 brain heart infusion(BHI) agar와 plate count agar (Difco Co.) 20 ml를 petri dish에 잘 혼합하여 실온에서 굳혔다. 이 평판 2매는 중온성 세균을 분리하기 위하여 37°C에서 24시간 배양하였고 또 다른 2매는 저온성 세균수를 산정하기 위하여 4°C에서 7일간 배양하였다(Kitchell *et al.*, 1973; Patterson, 1972; Miller, 1963).

세균의 분리 및 동정

중온성 세균

냉장 우육에서 중온성 세균의 동정은 배양된 평판 배지중 집락수가 100~300개의 평판배지를 선택하여 이들로부터 각각의 집락을 무균적으로 분리하여 BHI agar에 계대하여 37°C에서 24 시간 동안 배양하였다. 배양된 집락은 그람 염색하여 그람음성 간균만을 선택 분리 배지에 계대 배양한 후 triple sugar iron (TSI) agar에 접종하여 TSI 반응을 관찰하고 API 20E Kit (API International U.S.A.)를 사용하여 동정하였으며 최종판독은 API Index와 Profile Recognition System (SPI #2015)에 따랐으며 종을 확인하기 위하여 Bergey's manual을 적용하였다.

저온성 세균

냉장 우육의 저온성 세균의 동정은 4°C에서 7일간 배양한 평판배지에서 집락을 BHI agar에 계대하여 배양하고 배양된 집락은 TSI agar에 접종하여 그 반응을 판독하였다. 동정은 API 20NE Kit (API International U.S.A.)를 사용하였다. 즉 TSI agar상에서 포도당 비발효성 간균을 동정하기 위한 API 20 NE Kit는 8가지 생화학적 검사와 12가지 assimilation 검사를 포함한 micromethod이다. 단일 집락으로 식염수 부유액을 만들어 API 20NE에 접종 한 후 30°C에 48시간 배양 후 판독하였다. 판독 후 최종 세균의 동정은 Analytical Profile Index를 사용하였으며 종을 확인하기 위하여 Bergey's manual을 적용하였다.

결과 및 고찰

결 과

본 실험에서는 육류의 냉장보존시 점질물의 형성과 부패를 일으키는 데 중요한 그람음성간균을 냉장보존 우육에서 192개의 집락을 분리하여 5속 10종을 동정하였다. 그 중 *Pseudomonas putida*가 42주로 가장 높게 분리되었고 *Serratia liquefaciens* 36주, *Pseudomonas stutzeri*와 *Enterobacter agglomerans* 17주, *Pseudomonas mendocina* 12주, *Pseudomonas picketti* 11주, *Pseudomonas fluorescens* 9주, *Proteus mirabilis*

6주, *Enterobacter aerogenes* 5주, *Alcaligenes faecalis* 3주 등의 순이었으며 종이 확인되지 않은 *Pseudomonas* spp.도 34주가 분리되었다.

중온성 세균

총 192개 집락의 세균 중 중온성 세균 4속 4종을 분리한 결과는 표 1과 같다. 중온성 세균중 *Serratia liquefaciens*가 36주 (36.7%)로 가장 높은 분포를 나타냈고, *Enterobacter agglomerans*가 17주 (17.3%), *Proteus mirabilis* 6주 (6.1%), *Enterobacter aerogenes*, 5주 (5.1%) 순이었으며 종이 밝혀지지 않은 *Pseudomonas* spp.가 34주 (34.7%)로 총 98균주를 분리하였다.

저온성 세균

총 192개 집락의 세균중 저온성세균 2속 6종을 분리한 결과는 표 2와 같다. 즉 *Pseudomonas putida* 42주 (44.7%), *Pseudomonas stutzeri* 17주 (18.1%), *Pseudomonas mendocina* 12주 (12.7%), *Pseudomonas picketti* 11주 (11.7%), *Pseudomonas fluorescens* 9주 (9.6%), *Alcaligenes faecalis* 3주 (3.2%) 순으로 분리되었으며 그 중 *Pseudomonas* 속이 91균주 (96.8%)로 주종을 이루었다.

고 찰

우육에 널리 오염되는 주요 세균은 *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium* 등이며, 효모, 곰팡이 (*Sporotrichum*, *Thamnidium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Monilia*) 등의 여러 종류가 오염되고 있다고 하였다 (Nottingham, 1982; Jay, 1986). 우육의 주요 오염은 표면에서 발생하며 오염은 도축장이외에 각 유통과정(수송과정, 도매점, 소매점)에서도 일어나고 가정에서도 일어나고 있으며 이들 대부분의 미생물은 저온에서 잠재하거나 성장하며 냉장육을 부패시킬 수 있다 (Firstenberg-Eden, 1981; Gill, 1979; Maxy, 1981; Newton *et al.*, 1978).

Mossel과 Ingram (1955)은 10°C 이하의 온도에서 우육의 부패는 *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* 이었다고 보고하였다. Sulzbacher (1950)는 냉동보존된 돈육에서도 *Pseudomonas* 속이 가장 우세한 저온성 세균이었다고 보고하였으며, 냉장보존된 우육과 가공육에서도 이와같은 보고가 있었다 (Ayres, 1950). Brown과 Weidemann (1958)은 냉장보존육에서 분리된 저온성 세균의 93%가 *Pseudomonas* 속이었다고 보고하였다.

Ingram과 Dainty (1971)는 냉장우육의 부패에 관여하는 미생물은 *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Lactobacillus*, *Brochothrix thermosphacta*와 *Enterobacteriaceae*로 대부분 저온성이며 *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Aeromonas*와 *Arthrobacter*는 자주 분리되지 않았다고 하였으며, Ingra-

Table 1. The mesophilic bacteria isolated from the refrigerated beef

Species name	Number of isolates	Frequency (%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5	5.1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	17	17.3
<i>Serratia liquefaciens</i>	36	36.7
<i>Proteus mirabilis</i>	6	6.1
<i>Pseudomonas</i> spp.	34	34.7
Total	98	100

ham (1958)은 1°C에서 잘 성장하는 54주의 균주를 순수분리배양한 결과 *Salmonella* 32균주, *Proteus* 6균주, *Aerobacter* 3균주, *Pseudomonas* 3균주, *Bacillus*, *Lactobacillus*와 *Streptococcus*가 각각 2균주, *Paracolonobacterium*, *Escherichia*, *Micrococcus*가 각각 1균주씩 분리되었으나, 그 중 저온성 세균은 *Pseudomonas fluorescens* 2균주 뿐 이었다고 하였다.

Butelr등 (1982)은 *Pseudomonas*가 다른 세균보다 훨씬 빨리 육의 표면에 부착하는데, 그 이유는 도살 해체 한 뒤의 우육의 표면은 신선하고 축축하여 편모를 이용하여 보다 견고하게 부착하기 때문이라고 하였다(Gill and Newton, 1982).

Table 2. The psychrotrophic bacteria isolated from the refrigerated beef

Species name	Number of isolates	Frequency (%)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	9	9.6
<i>Pseudomonas putida</i>	42	44.7
<i>Pseudomonas pickettii</i>	11	11.7
<i>Pseudomonas mendocina</i>	12	12.7
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	17	18.1
<i>Alcaligenes faecalis</i>	3	3.2
Total	94	100

본 실험에서는 *Pseudomonas* 속이 125주 (65.1%)로 가장 높게 분리되어 외국의 연구 보고와 큰 차이가 없는 것으로 나타났으며 *Serratia*가 36균주, *Enterobacter* 22균주, *Proteus* 6균주, *Alcaligenes* 3균주 등이 분리되어 외국의 연구보고와는 약간의 차이를 볼 수 있었다. 한편 *E. coli*나 *Achromobacter*, *Flavobacterium*등이 분리 되지 않은점이 주목할만한 것이었다 (Table 1, 2). 장차 우육에 대한 더욱 많은 미생물학적 연구가 계속되어 보다 확실한 육의 세균학적 기준이 제정되어야 할 것으로 사료된다.

적 요

한국산 냉장우육에 분포된 중온성과 저온성균의 분리 및 동정을 시도하였다. 냉장우육에서 분리된 총 집락수는 192개였으며, 이들은 5속 10종으로 동정되었다. 이 중에서 중온성세균은 *Enterobacter aerogenes*, *E. agglomerans*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis* 이었으며, 저온성세균은 *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. pickettii*, *P. mendocina*, *P. stutzeri*, *Alcaligenes faecalis*이었다. 냉장우육에 분포된 우점종은 중온성세균으로 *Serratia liquefaciens* 이었고, 저온성세균으로는 *Pseudomonas putida*이었다.

참고문헌

1. 송계원, 1982. 식육과 육제품의 과학, 선진문화사, pp. 261-274.
2. Ayres, J.C., W.S. Ogilvy and G.F. Stewart, 1950. Post-mortem changes in stored meats. I. Microorganisms associated with the development of slime on eviscerated cut up poultry. *Food Technol.*, **4**, 199-205.
3. Ayres, J.C., 1960. Temperature relationships and some other characteristics of the microbial flora developing on refrigerated beef. *Food Res.*, **25**, 1-18.
4. Brown, A.D. and J.F. Weidemann, 1958. The taxonomy of the psychrophilic meat spoilage bacteria. A reassessment. *J. Appl. Bacteriol.*, **21**, 11-17.
5. Butelr, J.L., J.C. Stewart, Vanderzant, C, Z.L. Carpenter and G.C. Smith, 1982. Bacterial attachment to meat surfaces. In *Meat Microbiology*. Brown, M.H. (ed.), Applied Science Publishers. Ltd., London, pp. 235-36.
6. Firstenberg-Eden, R., 1981. Attachment of bacteria to meat surfaces: A review. *J. Food Prot.*, **44**, 602-607.
7. Gill, C.O., 1979. A review: Intrinsic bacteria in meat. *J. Appl. Bacteriol.*, **47**, 367-379.
8. Gill, C.O. and K.G. Newton, 1982. Effect of lactic acid concentration on growth on meat of gram-negative psychrotrophs from a meatworks. *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 284.
9. Gordon, G. and L.E. Jerenmiah, 1980. Effect of retail sanitation on the bacterial load and shelf life of beef. *J. Food Prot.*, **43**, 277-281.
10. Haines, R.B., 1931. The growth of microorganisms on chilled and frozen meat. *J. Soc. Chem. Ind. (London)*, **50**, 223-227.
11. Ingraham, J.L., 1958. Growth of psychrophilic bacteria. *J. Bacteriol.*, **76**, 75-80.
12. Ingram, M. and R.H. Dainty, 1971. Changes caused by microbes in spoilage of meats. *J. Appl. Bacteriol.*, **34**, 21-39.

13. **Jay, J.M.**, 1986. Spoilage of fresh and processed meat. In *Modern Food Microbiology*. Van Nostrand Reinhold Co., New York. pp. 205-16.
14. **Kitchell, A.G., G.C. Ingram and W.R. Hudson**, 1973. Microbiological sampling in abattoirs. In *Sampling-Microbiological Monitoring of Environments*. Board, R.G. and Lovelock D.W. (eds.). Society of Applied Bacteriology Technical Series No. 7., Academic Press, London.
15. **Kraft, A.A. and C.R. Rey**, 1979. Psychrotrophic bacteria in foods: an update. *Food Technol.*, **33**, 66-71.
16. **Maxy, R.B.**, 1981. Surface microenvironment and penetration of bacteria into meat. *J. Food Prot.*, **44**, 550-552.
17. **Miller, A.R.**, 1963. Meat Hygiene. pp. 389-400.
18. **Mossel, D.A.A. and M. Ingram**, 1955. The physiology of the microbial spoilage of food. *J. Appl. Bacteriol.*, **18**, 232-268.
19. **Newton, K.G., J.C.L. Harrison and A.M. Wauters**, 1978. Sources of psychrotropic bacteria on meat at the abattoir. *J. Appl. Bacteriol.*, **45**, 75-82.
20. **Nottingham, P.M.**, 1982. Microbiology of carcass meat. In *Meat Microbiology*. Brown, M.H. (ed.). Applied Science Publishers, Ltd., London. pp. 13-56.
21. **Patterson, J.T.**, 1972. Microbiological Sampling of poultry carcasses. *J. Appl. Bacteriol.*, **35**, 569-75.
22. **Sulzbacher, W.L.**, 1950. Survival of microorganisms in frozen meat. *Food Technol.*, **4**, 386-390.

(Received April 15, 1991)

(Accepted June 13, 1991)