

乳牛源 大腸菌群細菌의 致死熱에 관한 연구

서울대학교 農科大學

鄭 吉 澤 · 韓 弘 栗

結 言

大腸菌群細菌(Coliform bacteria)은 음식물의 衛生的인 質과 病原性細菌의 존재가능성을 나타내는 尺度이다¹⁾. 牛乳衛生學에서도 大腸菌群細菌은 우유의 생산, 취급, 제조 및 수송의 전반적인 과정에 있어서의 衛生度를 결정짓는 중요한 기준이 되고 있다.

低溫殺菌乳에 大腸菌群細菌이 함유되는 경우는 低溫殺菌處理가 불완전하든가 또는 低溫殺菌處理후의 제조업에 인한 경우가 주요원인이 되겠지만 그밖에도 大腸菌群細菌 자체가 저온살균처리온도에 耐性을 가졌거나^{2,3,4,5)} 저온살균처리 이전의 生乳속에 함유된 大腸菌群細菌의 농도가 너무 높은 경우에도 저온살균처리 후에 生存할 수 있다^{6,7)}.

이 실험에서는 우리나라에 분포되어 있는 乳牛由來 大腸菌群細菌 가운데 低溫殺菌處理溫度에 耐性을 가진 菌株이 있는지의 여부와 大腸菌群細菌의 농도가 熱處理後의 生存率에 미치는 영향을 추구하고자 한다.

材料 및 方法

檢査코자하는 菌株을 분리하기 위하여 젖소의 糞便은 水原近郊의 三個牧場에서 착유하기 전 이른 아침에 排糞한지 오래되지 않은 것을 멸균시험관에 채취하였다. 菌株의 分離는 糞이 들은 시험관에 약간의 멸균생리식염수를 넣고 잘 혼합한 뒤에 Violet red bile agar(Difco)에 접종하여 37°C에서 18~24시간 배양하여, 직경이 1~2mm 쯤 되는 적자색의 大腸菌群細菌 특유의 형태를 보이는 集落에서 순수분리하여 그람음성의 桿菌으로서 芽胞를 형성치 않고 乳糖을 분해하여 酸과 가스를 산출하는 菌株을 實驗用菌株로 사용하였다.

각 균주의 열처리온도는 保溫式低溫殺菌溫度⁸⁾인 143°F를 택하였으며 열처리시간은 10分, 20分, 30分の 세 가지로 선정하였다.

熱處理用接種菌은 Nutrient broth(Difco)에 24시간 배양한 것을 사용하였으며 접종방법은 2ml 용량의 Nutrient broth가 분注된 스크류캡시험관에 接種菌液을 각각

1.0 ml, 0.1 ml, 0.01 ml, 0.001 ml, 등의 네가지 接種量을 접종하였다 100.01 ml의 정중은 배양원액을 10배로 희석하여 0.01 ml를 마이크로피펫을 사용하여 접종하였다. 菌液의 희석제로는 멸균한 Phosphate buffer saline (pH 7.0)을 사용하였다.

熱處理方法은 각 농도별로 접종한 시험관을 약 200°F의 물에 20~30초간 미리 가열하여 시험관 속의 온도가 135°F 쯤에 이르면 다시 143°F의 恒溫水槽에 沈漬하여 시험관 속의 온도가 143°F에 도달한 시간부터 측정하였다. 대체로 예비가열을 거쳐 처리온도에 이르게에 소요된 시간은 약 1分間 쯤 걸렸다. 시험관 속의 온도측정은 試驗區와 동일량의 배지를 넣은 對照試驗管속에 온도계를 넣어서 측정하였다. 열처리시간이 끝나면 시험관을 바로 꺼내서 50~60°F의 冷水槽에 옮겨서 온도를 급히 냉각시킨 다음에 37°C에 48시간 배양하였다.

열처리 후의 결과판정은 시험관의 혼탁도를 검사하여 균의 증식여부를 측정하고 증식한 시험관은 Violet red bile agar에 재접종하여 大腸菌群細菌을 재확인하였다.

菌數의 계산은 Chung 및 Frost⁹⁾의 Surface plating method에 의거하였다.

實 驗 結 果

三個牧場의 젖소에서 분리한 27株의 大腸菌群細菌을 각 농도별로 143°F에서 10分, 20分, 30分間씩 각각 열처리를 하여 每菌株의 生存 및 致死相을 관찰한 성적은 表 1과 같다.

各 菌株의 열에 대한 感受性의 차이는 뚜렷하여서 B9株는 다른 菌株들 보다 열에 대한 감수성이 컸지만 A2, A4, A5, C5, C7株 등은 비교적 감수성이 낮았다.

143°F에서 30分間의 低溫殺菌熱處理에 대한 耐熱性 菌株가 있는지를 밝히기 위하여 接種菌量 0.001ml群을 기준으로 관찰하였던 바 27株 모두 死滅하였고 生存한 菌株는 없었다.

接種菌의 농도가 열처리 후의 生存能力에 미치는 영향을 관찰한 바 그 성적은 表 2와 같다.

Table 1. Effect of Heat Treatment at 143°F on the Survival of Coliform Bacteria

Strain	Size of inoculum												Organisms per ml in the original inoculum
	1.0 ml			0.1 ml			0.01 ml			0.001 ml			
	Time (in minutes) of heat treatment												
	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	
A 1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1.7×10 ⁹
A 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	1.2×10 ⁹
A 3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	3.8×10 ⁹
A 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	5.7×10 ⁸
A 5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	1.9×10 ⁹
A 6	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	6.3×10 ⁸
A 7	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	2.4×10 ⁹
A 8	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	4.8×10 ⁸
A 9	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	8.4×10 ⁸
B 1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	2.9×10 ⁹
B 2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	3.7×10 ⁹
B 3	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	8.3×10 ⁸
B 4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.4×10 ⁹
B 5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	6.4×10 ⁸
B 6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.6×10 ⁸
B 7	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3×10 ¹⁰
B 8	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.2×10 ⁹
B 9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.0×10 ⁸
B 10	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.3×10 ⁸
C 1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	4.1×10 ⁹
C 2	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	6.7×10 ⁸
C 3	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	3.0×10 ⁸
C 4	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	1.2×10 ⁹
C 5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	1.8×10 ⁹
C 6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	4.8×10 ⁹
C 7	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	8.0×10 ⁸
C 8	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	1.2×10 ⁹

Table 2. Survival Rates of Coliform Bacteria after the Heat Treatment at 143°F

Time of heat treatment	Percentage of strains survived			
	Size of inoculum			
	0.001ml	0.01ml	0.1ml	1.0ml
30 min.	0	7.4	44.4	85.1
20 min.	0	18.5	70.4	92.6
10 min.	3.7	37.0	81.5	100

열처리시간의 길이에 관계없이 모두 接種菌數가 커질에 따라 生存率은 힘지히 증가하였다. 10分間의 熱處理群에서는 接種菌數를 1,000倍로 증가시킬때 따라 生存率이 3.7%에서 100%로 상승했으며 20分과 30分間의 熱處理群에서는 각각 0%에서 92.6%와 85.1%로 증가

하였다.

考 察

우유의 저온살균온도에 耐熱性을 가진 大腸菌細菌에 관한 보고는 많이 소개된 바 있다. Ayres 및 Johnson²⁾은 검사한 균주의 54.5%가 140°F에서 30분간의 열처리에 耐性이 있었고 6.89%는 145°F의 열처리에도 생존했다고 보고하였다. Tanner 및 Windsor³⁾에 의하면 62°C (143.6°F)에서 30분간의 열처리실험에서 耐熱性을 가진 大腸菌이 있었다고 발표하였다. Beaven⁴⁾과 Stark 및 Patterson⁵⁾ 등이 역시 저온살균처리에 耐性이 있는 大腸菌群細菌에 관하여 보고한 바 있다.

耐熱性細菌에 관한 보고는 大腸菌群細菌 이외에도

Lactobacillus¹⁰⁾, Staphylococcus aureus^{11,12)}, Mycobacterium¹⁰⁾ 등의 세균에 관한 연구가 보고된 바 있다.

본 실험에서는 우유의 저온살균처리도에 耐熱性을 가진 균주는 하나도 없었다. 김시균주의 수급이 증가하면 내열성균주가 밀진됨이 보였으나 저급처리의 심직으로는 다행스러운 일이다. 耐熱性菌을 관찰할 때에 接種菌量을 0.001ml 群만을 선제한 이유는 본실험에서도 밝혀졌듯이 세균의 농도가 증가되면 본래의 열에 대한 감수성과는 관계없이 생존율이 증가되기 때문⁷⁾에 접종균량을 제한하였다.

세균의 농도가 熱處理 후의 生存率에 현저한 영향을 끼친다는 것은 본 실험에서도 명백히 밝혀졌다. 따라서 生乳속에 耐熱性大腸菌群細菌이 없다고 할지라도 非衛生的인 生乳의 취급에 인한 汚染度가 높든지 또는 生乳의 보존온도가 충분히 낮지 못하여 大腸菌群細菌의 증식이 활발히 진행된다면 균의 농도가 커져서 저온살균처리 후에 生存率이 높아져서 살아남을 가능성이 더욱 커지는 것이다. 바로 이론제는 酪農場에서 生乳의 위생적인 취급이 얼마나 중요한 것인가를 보여주는 것이다.

結 論

保溫式低溫殺菌溫度인 143°F에 대한 大腸菌群細菌 27株의 致死時間 및 菌의 농도가 生存率에 미치는 영향을 추궁하였던 일어진 결론은 다음과 같다.

1. 각 균주간의 熱에 대한 感受性의 차이는 현저하였다.
2. 143°F에서 30分間의 일처리에 耐性을 가진 균주는 없었다.
3. 菌의 농도가 열처리 후의 生存率에 미치는 영향은 뚜렷하였으며 열처리 시간의 길이에 관계없이 菌의 농도를 증가시켜주면 生存率이 크게 상승하였다.

參 考 文 獻

1. Peabody, F. R. (1963): "Microbiological Quality of Foods." Academic Press. pp. 113-118.

2. Ayres, S.H. and Johnson, W.T. (1915): Ability of colon bacilli to survive pasteurization. J. Agr. Res. 3, 401-410.
3. Tanner, F. W. and Windsor, M. F. (1929): The ability of Escherichia coli and Serratia marcescens to survive 62.8°C for thirty minutes in milk. J. Dairy Sci. 12, 202-210.
4. Beavens, E.A. (1930): The Escherichia-Aerobacter group as an index to proper pasteurization. J. Dairy Sci. 13, 94-101.
5. Stark, C. N. and Patterson, M.C. (1936): The heat resistance of colon organisms in milk. J. Dairy Sci. 19, 495-496.
6. Craigie, J.E. (1946): Significance of concentration of coliform organisms in raw milk upon survival of pasteurization. J. Milk Tech. 9, 191-196.
7. Frazier, W. C. (1958): "Food Microbiology." McGraw-Hill Book Co. p. 90.
8. Tiedeman, W. (1956): "Preventive Medicine and Public Health." Appleton-Century-Crofts. pp. 802-936.
9. Chung, G.T. and Frost, A.J. (1970): The growth of Salmonella choleraesuis in various enrichment broths. J.appl. Bact. 33, 449-453.
10. Fernandez-Diez, M. J. and Gonzalez-Cancho, F. (1964): Heat resistance of lactobacilli and yeasts. Microbiologia esp. 17, 225-237. Abstract in Dairy Sci. Abstr. 27 (1965), 2531.
11. Stiles, M. E. and Winter, L.D. (1965) Thermal inactivation, heat injury, and recovery of Staphylococcus aureus. J. Dairy Sci. 48, 676-681.
12. Zottola, E.A. (1965): Diss.Abstr. 25, 4915-4916. Abstract in Dairy Sci. Abstr. 27, (1965), 2863.
13. Harrington, R., Jr and Karlson, A.G. (1965): Destruction of various kinds of mycobacteria in milk by pasteurization. Appl. Microbiol. 13, 494-495.

Survival and Thermal Inactivation of Coliform Bacteria after the Heat Treatment at 143°F

G.T. Chung, D.V.M., M.S., Ph.D. and H. R. Han, D.V.M., M.P.H.

College of Agriculture, Seoul National University

Survival and thermal inactivation after heat treatment at 143°F were observed among 27 strains of coliform bacteria isolated from dairy cattle. The results obtained were as follows.

1. The obvious differences in heat-sensitivity were observed among the strains tested.
2. No strain was found resistant to the heat treatment of 143°F for 30 minutes.
3. A marked effect of density of coliform bacteria on the survival after the heat treatment was observed. As the density of coliform bacteria was increased, the rate of survival was increased markedly regardless of the length of heat treatment.