

● 연구속보

국내 원유의 미생물 품질 실태와 RRT법을 응용한 신속 미생물검사에 관한 연구

임상동, 김기성, 박우문
(축산물이용연구부)

I. 서 론

원유는 모든 유제품의 원료가 되는 것으로 그 품질은 유제품의 품질을 좌우한다고 해도 과언이 아니다. 그동안 우리나라의 낙농업은 우유생산량 증대와 유제품의 소비촉진에 관심이 집중되어온 과정에서 원유의 품질향상은 크게 이루어지지 못하였다. 양질의 원유를 생산하기 위해 농가에서의 초기오염을 최소화하고, 농가에서 착유직후의 온도를 4°C 또는 그 이하로 냉각하여 농가저장기간을 제한 또는 단축해야 하며, 목장으로부터 공장까지의 원유수송시에 세균의 기준치에 따라 이동여부를 결정하는 등의 조치가 필요하다.

원유의 미생물학적 품질에 대하여는 金과 金(1980)이 청주지방을 중심으로, 姜等(1983)은 서울 근교 목장유의 세균오염상태를 조사하였으며, 李等(1983), 鄭等(1984)과 鄭(1986)은 경기지역에서 수유된 원유의 세균수를 조사하였고, 李等(1987)은 제주지역의 원유품질을 계절별로 조사하였다.

한편, 원유 중 미생물 함량을 검사하기 위한 신속하고 효과적인 방법은 원유의 질을 개선할 수 있을 뿐만 아니라, 원유 생산의 위생기준이 되고 농가에서의 원유저장, 유가공공장에서의 가공 적합성 판정 및 고품질의 유제품 생산을 유도한다는

점에서 매우 절실하다 할 것이다. 미생물의 함량을 측정하는 방법으로는 세계적으로 공인된 plate count method(평판법)이 표준방법으로서, 원유중 미생물 수가 10만/ml 수준에서 가장 적절한 것으로 알려져 있다. 그러나 이 방법은 48~72시간동안 배양하기 때문에 원유를 제품생산에 투입한 다음 결과를 알 수 있어 사후검사로 밖에 활용되지 못하고 있어 원유품질에 따라 필요한 제품에 즉시 투입할 수 없는 제약이 따르며, 많은 노동력을 필요로 하여 다량의 시료검사에는 한계가 있다(IDF, 1991). 따라서 최근에는 원유의 미생물 품질을 평가하는 방법(표 1)이 개발되어 활용되고 있는데 이들을 나열해 보면 임피던스법(Bactometer), 콘덕텐스법(Malthus), 화학발광법(ATP Photometer, Luminescence Biometer), 형광염색법(Bactoscan) 등 여러 방법들이 있으나 기종에 따라서 기기장치비, 운영비, 처리속도, SPC법과의 상관관계 등에서 차이가 있다(IDF, 1989; O'Connor 등, 1991; Suhren 등, 1985; Suhren等, 1992; 横山浩, 1992). 따라서 본 연구는 국내 원유의 미생물 품질실태를 알아보고, 또한 실험방법이 간단하고 분석비용이 저렴하며, 1시간만에 세균수 측정가능한 RRT검사법을 응용하여 SPC법과의 상관관계를 알아본 다음 RRT 검사결과를 색차계로 수치화하여 현장적용 가능한 방법을 확립함으로써

〈표 1〉 미생물검사영역에 있어서 새로운 검사방법

방 법 (원 리)		기계·장치 명칭	주 요 특 징
光學的測定	光散乱法 透過光法 Laser 光法	Autobac, Automicrobic system MS-2 Differential I, II, III	약제감수성시험 및 세균동정 가능
電氣的測定	Impedance法 Conductance法 微粒子測定法	Bactometer, Bactobridge Malthus system Coulter counter	약제감수성시험 및 세균동정 가능
放射分析	放射性物質測定法	Bactec	세균의 균수측정과 신속검출 가능
微量熱分析	微小熱量測定法	LKB Microcaloric meter	세균수 수준 추정 가능
發光分析	生物發光法 化學發光法	Vitatec, Pico-lite ATP photometer, Luminescence Biometer	소량의 미생물수 측정 가능
螢光分析	螢光染色法 螢光發色法	Bactoscan Biorapid, Colilert test	특정효소에 의한 검출 및 균수 측정 가능
免疫學的方法	螢光抗体法	Aerojet Medical & Biological system	형광색소로 특이항원의 검출 가능
	Radioimmunoassay法	Radioimmunoassay system	방사성동위원소로 라벨된 항체 또는 항원을 사용
	酵素抗体法	Microtiter system	방사성동위원소 대신에 효소를 사용
化學分析	Gas Chromatogra- phy 法	Bacterial ID system, Anaerobe ID system	특히 미량의 대사산물 동정 가능

간편하게 원유의 미생물검사를 실시하기 위하여 시도되었다.

II. 재료 및 방법

1. 원유의 수집

전국 일원의 미생물 분포는 각 유업체의 자료를 인용하였고, SPC와 RRT결과의 상관관계는 1992년 3월부터 9월까지 경기도 지역에서 생산되는 목장에서 수집하였다.

2. 미생물 검사

1) 총균수

○ FDA법(1978) : 원유를 무균적으로 1ml 채취하여 0.1% pepton 용액에 10진법으로 희석하고

standard plate count agar 평판에 희석시료를 접종한 후 35℃에서 48시간 동안 배양하여 산정하였다.

○ IDF법 : 원유를 무균적으로 1ml 채취하여 0.1% pepton 용액에 10진법으로 희석하고 standard plate count agar 평판에 희석시료를 접종한 후 30℃에서 72시간 동안 배양하여 산정하였다.

2) 저온성 미생물

시료의 저온성 미생물수는 APHA방법(1985)에 의해 standard plate count agar 평판에 희석시료를 접종하고 7℃에서 10일 동안 배양하여 산정하였다.

3. Resazurin reduction test

1) FDA법

차광된 250ml 플라스크에 멸균증류수 200ml와 resazurin 11mg을 넣어 완전히 용해시킨 후 냉각하여 원유 10ml에 조제 resazurin액 1ml비율로 넣어 35°C에서 1시간동안 배양한 후 색조판과 color difference meter를 이용하여 L.a.b값을 측정하였다.

2) IDF법

FDA법과 동일한 조건에서 준비하여 30°C에서 1시간 동안 배양하고 그 결과를 같은 방법으로 측정하였다.

4. 색도의 측정

원유의 색도 변화는 색차계(Color Difference Meter, Model No. UC600-IV, 일본)로 측정하였으며 CIE system에 따라 밝기정도(lightness, L), 적색정도(redness, a), 노란정도(yellowness, b)로 나타내었다. 표준배색판의 L, a, b 값은 각각 89.2, 0.921, 0.78이었다.

III. 결과 및 고찰

1. 국내 원유의 미생물 품질 실태

1) RRT법에 의한 미생물 검사결과

국내 원유의 미생물 분포를 종전 축산물 위생 처리법에 따라 지역별로 낙농가 원유에 RRT검사를 실시하여 구분한 결과는 표 2와 같다.

표 2에서보면 A지역의 원유가 가장 양호한 반면

〈표 2〉 지역별 국내 원유의 세균수 분포표 (RRT법) (단위 : %)

지역별 RRT 위생등급	A	B	C	D	평균
1 급	87.9	80.8	69.6	82.0	80.1
2 급	8.7	16.5	26.3	14.9	16.6
3 급	3.4	2.7	4.1	3.1	3.3

* 상기 결과는 92년 1월~8월까지 낙농가별 원유검사 평균치임.

C지역의 원유가 가장 나쁜 경향을 보이고 있는데 전국적으로 1급이 약 80%, 2급이 약 17%, 3급이 약 3%의 분포를 보이고 있다. 이는 지역별로 젖소 사육조건, 냉각설비, 집유차량의 운행시간 및 거리에 따라서 원유의 미생물 함량이 달라지게 된 것으로 사료되며 원유 미생물 함량에 따른 차등 유가제도를 실시하면 그 품질은 곧 개선될 것으로 예측된다.

2) SPC법에 의한 미생물 검사결과

경기지역 원유의 세균수검사를 SPC법(표준편판법)으로 실시한 결과는 표 3에서와 같다.

〈표 3〉 경기지역 원유의 세균수 분포표 (SPC법) (단위 : %)

세 균 수	송유관설치	송유관 미설치	평 균
10만 이하/ml	25.5	10.6	12.1
10만~50만이하/ml	23.6	24.2	24.2
50만~100만이하/ml	16.4	18.3	18.1
100만 이상/ml	34.5	46.9	45.6

표 3에서 보면 송유관을 설치한 농가는 미설치한 농가에 비해서 세균수가 적고 특히 50만 이하가 50%를 차지하고 있는 반면 미설치한 농가는 35% 정도로 분포되어 있음을 알 수 있다. 그러나 100만 이상/ml의 농가에서는 송유관 설치 원유가 미설치한 원유보다 우수하였지만 35%를 차지함으로써, 농가에서 착유기를 충분히 세척 또는 멸균하지 않은 상태로 착유를 한 것으로 보이며, 그러한 경우 착유기 자체가 미생물 오염원이 되고 있음을 강조한 김과 김(1980)이 보고한 것과 일치한다고 보인다.

한편, 원유의 세균수가 10만 이하/ml인 경우는 전체농가의 12%이고, 100만 이상/ml 경우는 45.5%를 차지함으로써 선진낙농국에 비해 아직까지 원유의 품질 개선이 요구된다. 그러나 개정된 축산물 위생처리법에서는 세균수를 100만 이하/ml로 정하고 있으므로 앞으로 원유의 세균수는 급격히 감소되어 품질향상을 이룰 수 있을 것으로 예측된다.

2. SPC와 RRT결과의 상관관계

RRT법이 표준방법인 SPC법에 어느 정도의 상관관계가 있느냐에 따라 현장적용 가능성이 결정된다 할 수 있다. SPC와 RRT와의 회귀방정식과 상관계수를 보면 표 4와 같다.

아래 표 4와 그림 1, 2에서 보는 바와 같이 상관계수(r)가 각각 0.72와 0.70으로 나타나, IDF (1991)에서 보고한 수치보다 비교적 높은 상관관계를 보였는데, 이 수치는 Bactoscan(r=0.84~0.90)보다는 낮지만 현장적용의 가능성에 접근되고 있다. 다만, 중온성 미생물이 국내원유에 높게 차지함으로써 레지주린의 환원이 비교적 민감하기 때문으로 보여지는데 집유체계가 농가에서부터 공장에 이르기까지 저온상태로 잘 유지될 경우 저온성 미생물이 상대적으로 증가하게 되면 환원검사인 RRT 검사법으로는 상관계수가 다소 감소되리라

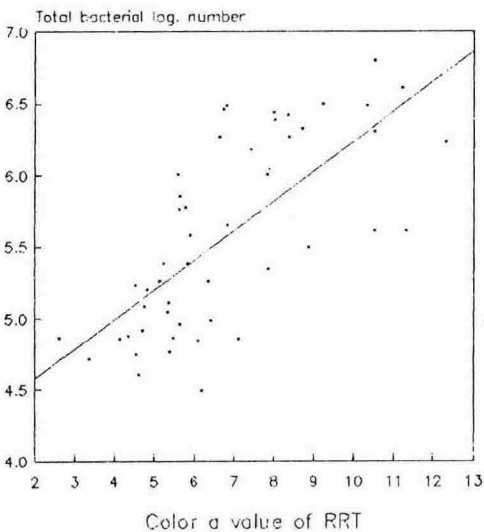
예측된다.

한편, FDA법의 배양조건인 35°C에서 48시간 배양한 미생물 결과와 IDF법의 30°C에서 72시간 배양한 결과를 비교했을 때 IDF법이 평균 1.49배 높게 나타났는데, 荻原博和等(1984)이 실험한 결과와 비슷한 양상을 보였다. 이는 원유가 냉각상태에서 저장됨으로써 원유 중 미생물 분포가 저온성 미생물로 우점되기 때문인데, 앞으로는 총균수의 배양조건을 원유의 경우는 IDF법으로 정하는 것이 합리적이라 생각한다. 또한 동일시료(n=14)로 했을 때 IDF법은 총균수중 저온성균의 비율이 23.22%를 차지한 반면 FDA법은 32.06%를 나타내었다. 본 결과는 앞서 서술한 바와 같이 FDA법보다 IDF법의 총균수 출현율이 높기 때문에 상대적으로 IDF법의 저온성균 비율이 적게 나타난 것으로 사료되며, 전체적으로 저온성균의 분포가 鄭(1986)이 보고한 17.5% 보다 높게 나타났는데, 이는 Cold

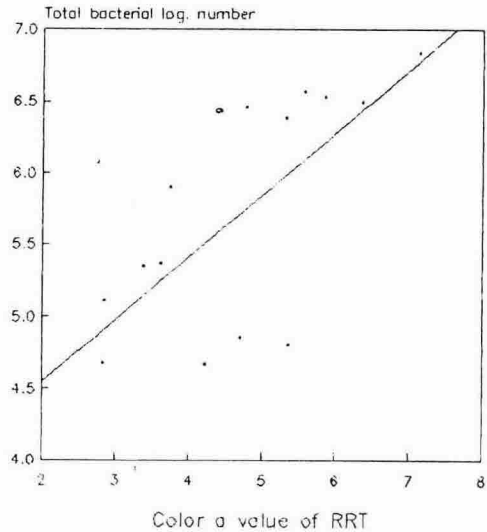
〈 표 4 〉 SPC와 RRT와의 회귀방정식 및 상관관계

RRT / SPC	시료수(n)	회귀방정식	상관관계(r)
35°C에서 1시간 환원/35°C에서 48시간 배양	49	$Y=0.207X + 4.167$	0.72
30°C에서 1시간 환원/30°C에서 72시간 배양	14	$Y=0.453X + 3.674$	0.70

* 주) Y는 초기 미생물 log수, X는 1시간 환원후 색차계의 a 값.



〈 그림 1 〉 RRT(35°C, 1h) 색차계 a값과 SPC(35°C, 48h)와의 회귀직선 및 분포도



〈 그림 2 〉 RRT(30°C, 1h) 색차계 a값과 SPC(30°C, 72h)와의 회귀직선 및 분포도

Chain System의 도입으로 점차 저온성균의 증가 경향은 지속될 것으로 예측한 것과 일치하고 있다.

IV. 요약

본 연구는 국내 원유의 미생물 품질 실태와 1시간만에 세균수 측정가능한 RRT검사법을 응용하여 SPC법과의 상관관계를 알아본 다음 RRT검사결과를 색차계로 수치화하여 현장적용 가능한 방법을 확립하므로써 신속하게 원유의 미생물검사를 실시하기 위하여 시도되었다. 국내원유의 미생물품질을 보면 RRT법으로 했을때 1급이 80.1%, 2급이 16.6%, 3급이 3.3%의 분포를 나타내었으며, 경기지역에서의 SPC결과는 10만 이하가 평균 12.1%, 10만~50만 이하가 24.2%, 50만~100만 이하가 18.1%, 10만 이상이 45.6%였다. 특히, 송유관을 설치한 농가의 원유가 미설치한 농가의 원유보다 전체적으로 우수하였다. SPC와 RRT와의 상관관계(r)를 보면 35°C에서 1시간 환원후 35°C에서 48시간 배양한 것과 30°C에서 1시간 환원후 30°C에서 72시간 배양한 것을 비교했을때 각각 0.72와 0.70이었다.

한편, 동일시료로 35°C에서 48시간 배양한 것과 30°C에서 72시간 배양한 것을 비교했을 때 후자가 평균 1.49배 높게 나타났다. 따라서 본 연구 결과는 총균수의 배양조건을 원유의 경우는 30°C에서 72시간 배양하는 것이 합리적이라 사료된다.

참고 문헌

1. A. P. H. A. 1985. Standard methods for the examination of dairy products. 15th Ed, American Public Health Association, Washington, D. C.
2. F. D. A. 1978. Bacteriology analytical manual. Food and Drug Administration Bureau of Foods. Division of Microbiology.
3. International Dairy Federation. 1989. Modern microbiological methods for dairy products. Special Issue 8901
4. International Dairy Federation. 1991. Methods for assessing the bacteriological quality of raw milk from the farm. Bulletin No. 256.
5. O'Connor, F. and C. O'Riordan. 1991. Use of the Bactoscan 8000 in quality grading of supplier milks. Scandinavian Dairy Information 3:57~60.
6. Suhren, G., J. Reichmuth and W. Heeschen. 1992. Relative detection of pure cultures by various methods relating to macrocolony count as reference method. Milchwissenschaft 47(4): 231~236.
7. Suhren, G. and W. Heeschen. 1985. Counting of bacteria in milk with the direct epi-fluorescent filter technique(DEFIT). Milchwissenschaft 40(5):283~287.
8. 荻原博和, 佐藤啓子, 清水苗一, 春田三佐夫. 1984. 乳·乳製品の 生菌数測定法, 特異IDF標準法と国内法との 比較検討. 食衛誌 25(4):366~370.
9. 横山浩. 1992. 微生物検査の 簡易迅速法の現況. 食品と開発. 5:2~6.
10. 姜國熙, 尹炳, 朴茂榮. 1983. 生乳의 細菌汚染과 過酸化水素處理에 의한 豫防法. 韓畜誌. 25(4):269~302.
11. 金鍾旭, 金乃壽. 1980. 原乳의 乳質改善에 관한 研究-清州近郊의 乳質을 中心으로-韓畜誌. 22(6):477~486.
12. 李鍾澤, 朴勝容, 權一慶, 金顯旭. 1983. 韓國產 納乳 原乳의 品質에 관한 研究. 韓酪誌. 5(1): 22~28.
13. 李賢種, 梁昇柱, 朴喜錫, 尹瑛斌. 1987. 濟州產 原乳의 乳質改善에 관한 研究(1)I. 原乳의 化學的, 微生物學的 品質. 韓酪誌. 9(2):65~72.
14. 鄭忠一. 1986. 牛乳의 冷却貯藏中 低溫細菌增殖과 加熱處理에 의한 生化學的 乳質變化에 관한 研究. 博士學位論文. 成均館大學校 大學院.
15. 鄭忠一, 裴仁傑, 姜國熙, 李載英. 1984. 生乳의 취급조건에 따른 細菌數의 變化. 韓酪誌. 6(1): 53~61.