

몬테카를로 시뮬레이션을 이용한 돈육 생산공정에서의 *Listeria monocytogenes* 및 *Yersinia enterocolitica*의 오염수준 예측

노민정* · 정명섭 · 박지용¹
한국보건산업진흥원, ¹연세대학교 생명공학과

Predicting the Contamination of *Listeria Monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in Pork Production Using Monte Carlo Simulation

Min-Jeong Rho*, Myung-Sub Chung and Jiyong Park¹
Korea Health Industry Development Institute
¹Department of Biotechnology, Yonsei University

Monte Carlo simulation was used to predict the contamination levels of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in final pork products. Mean values of the estimated log contaminated levels of *L. monocytogenes* on carcasses, cut meats, and cut meats after storage were -4.59, -4.46 and -4.45 log₁₀CFU/cm², respectively. The mean values of estimated log contaminated levels of *Y. enterocolitica* on carcasses, cut meats, and cut meats after storage were -3.44, -4.00 and -3.97 log₁₀CFU/cm², respectively. Sensitivity analysis showed that *L. monocytogenes* and *Y. enterocolitica* in pork was most sensitive to the prevalence of *L. monocytogenes* and *Y. enterocolitica* in the equipment used.

Key words: pork, Monte Carlo simulation, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*

서 론

식육제품의 안전성을 확보하기 위해서는 생축이 식육으로 전환되는 도축장에서의 식육의 안전성 확보가 특히 중요하다⁽¹⁾. 우리 나라에서도 식육에서는 병원성 미생물이 검출되지 않아야 한다고 법으로 규정하고 있으나 제도가공용 원료로 사용되는 식육의 경우는 예외로 하고 있으며⁽²⁾, 실제 도축장에서의 돈육 생산은 노출된 상태에서 이루어지므로⁽³⁾ 병원성 미생물에 의한 오염의 우려는 많고 이러한 위해를 완전히 제거할 만한 제조 공정은 없기 때문에 돈육에서의 병원성 미생물 오염이 불가피한 실정이다^(1,4).

도축공정에서의 냉각, 성형⁽⁵⁾, 세척⁽⁶⁾, 박피⁽⁷⁾ 등 제조공정의 개선에 의해 미생물 오염을 감소시키려는 연구가 계속되고 있으며, 돈육 생산공정에서의 철저한 위생 관리를 통하여 병원성 미생물의 오염 확산을 방지하는 것 또한 안전성 확보에 중요하다. 따라서 우리 나라에서는 도축장에 대하여 위해요소 중점관리기준제도(HACCP)의 의무적인 적용을 요구하고 있다⁽⁸⁾.

최근에는 위해 평가(risk assessment)를 통하여 식품의 안전성을 확보하고자 하는 노력이 증가하고 있는데 위해 평가란 위험한 물질이나 상황에 노출되어 받는 위험이나 손상의 정도 또는 가능성을 평가하는 것을 말하며 특히 양적인 면에서의 평가를 수행하는 것을 정량적 위해 평가라고 한다^(9,10). 미생물의 정량적 위해 평가는 특정 식품에서 어떤 병원균이 문제가 될 수 있는지를 결정하는 위해 요소 확정(hazard identification), 개인이나 집단이 미생물학적 위해 요소에 얼마나 노출되며 얼마만큼의 미생물을 섭취하는지 예측하는 노출평가(exposure assessment), 섭취량과 건강상의 부작용 발생 사이의 관계를 기술하는 위해 요소 특성화(hazard characterization), 위해로 인해 나쁜 영향을 받을 가능성에 대한 종합적 평가를 하기 위해 노출과 양반응 평가를 통합하는 위해 특성화(risk characterization)의 네 단계로 구성된다^(11,12). 이 중 노출평가를 수행하기 위해서는 해당 식품에서 위해의 우려가 있는 병원성 미생물의 오염수준을 예측하는 것이 필수적이나 미생물 위해의 경우는 증식과 사멸 가능성으로 인해 화학적 위해보다 훨씬 더 동적인 특성을 갖는다^(13,14). 이러한 다양성과 불확실성을 갖는 각 단계와 요인들을 이용한 정량적 위해 평가의 정확성 향상을 위해서는, 오염수준의 평균값을 이용하는 것보다 확률적 접근방법을 이용하는 것이 요구되며⁽¹⁵⁾, 따라서 몬테카를로 분석과 같은 시뮬레이션 모델링 방법의 사용이 증가되고 있다⁽¹⁶⁾.

*Corresponding author : Min-Jeong Rho, Korea Health Industry Development Institute, 57-1, Noryangjin-Dong, Dongjak-Gu, Seoul 156-800, Korea
Tel: 82-2-2194-7434
Fax: 82-2-824-1767
E-mail: rhomj@khidi.or.kr

하지만 아직까지는 이용 가능한 자료가 충분치 않으며⁽¹⁷⁾ 위해 평가의 방법을 제안하는 정도의 한정된 연구만이 이루어지고 있을 뿐이다^(18,19). 따라서 본 연구는 돈육 생산공정에서 오염의 우려가 높으며 저온에서도 증식이 가능하여 위해가 큰 *Listeria monocytogenes*와 *Yersinia enterocolitica*⁽⁴⁾에 대하여 몬테카를로 시뮬레이션을 이용하여 돈육 생산공정에서의 오염수준을 예측하고 오염에 영향을 미치는 인자를 확인함으로써, 노출평가에 대한 방법론을 제시하고 기초자료로 활용하고자 수행되었다.

실험 방법

이분도체에서의 오염 확인

내장제거 후의 이분도체, 작업대, 운송벨트에서는 멸균 template(10 cm×10 cm)를 사용하여 멸균 펩톤수 10 mL를 미리 채운 멸균 면봉(Difco Laboratories, Detroit, USA)으로 시료를 채취하였다. 작업칼에서는 멸균 펩톤수 10 mL를 미리 채운 멸균 면봉을 사용하여 양면 전체에서 시료를 채취하였다. *Listeria monocytogenes*의 확인은 식품공전의 방법⁽²⁾으로 *Listeria* spp.임을 확인하였고 Vitek(Vitek Jr. System, bioMerieux Vitek, Inc., Hazelwood, USA)을 이용하여 *Listeria* spp.임을 최종적으로 결정한 후 CAMP 시험을 하여 *Staphylococcus aureus*에 대해 양성, *Rhodococcus equi*에 음성인 균주를 선정하여 purple broth(Difco)에서 carbohydrate utilization test를 하여 rhamnose 양성, xylose, mannitol 음성인 것을 *L. monocytogenes*로 확정하였다. *Yersinia enterocolitica*는 Bacteriological Analytical Manual⁽²⁰⁾의 방법에 준하여 *Y. enterocolitica*임을 확인하였으며 Vitek과 그람염색을 이용하여 최종적으로 *Y. enterocolitica*임을 결정하였다.

세척 전후의 총균수 변화는 세척 전후의 이분도체에서 멸균 template와 면봉으로 시료를 채취하여 식품공전⁽²⁾의 표준평판법에 준하여 집락을 확인하였다.

돈육의 pH 측정 및 NaCl 정량

돈육 표면의 pH는 flat surface electrode를 장치한 portable pH meter(Hanna Instruments, Inc., Vila do Conde, Portugal)로 측정하였다.

NaCl은 식품공전⁽²⁾의 방법을 변형하여 정량하였다. 돈육 20 g을 취하여 2시간 정도 예비 탄화시킨 후 550~600°C의 회화로에서 회백색이 될 때까지 약 7시간 동안 회화시켰다. 방냉 후 물 100 mL를 가하여 여과하고 여액 10 mL에 크롬산 칼륨시액 2~3방울을 가한 후 0.02 N 질산은 용액으로 적정하였다.

$$\text{NaCl}(\%) = (b/a) \times f \times 1.17$$

a = 시료 채취량(g)

b = 적정에 소비된 0.02 N 질산은용액의 양(mL)

f = 0.02 N 질산은용액의 역가(1.01)

Maximum population density의 측정

Greer 등⁽²¹⁾의 방법에 따라 잘라낸 무균 상태의 돈육을 두께 5 mm, 중량 8±0.5 g이 되도록 절단한 후 *L. monocytogenes*

ATCC 19111과 *Y. enterocolitica* ATCC 27729의 배양 희석액에 1분 동안 담근 후 꺼내어 여액을 멸균한 면직물로 제거하고 멸균 petri dish에 3 개씩 넣은 후 산소투과율이 약 35,000 cc/m²/24 h/atm인 PE film으로 덮어 건조되는 것을 방지하였다. 돈육 조각이 든 petri dish를 5, 10, 15°C의 incubator(Sanyo Electric Corp., Osaka, Japan)에 보관하면서 적당한 시간 간격으로 꺼내어 균수를 측정하여 maximum population density(MPD)를 구하였다. 균수의 측정은 각 돈육 조각을 자동중량희석기(IUL Inc., Barcelona, Spain)와 Stomacher(IUL Inc.)를 이용하여 희석하고 0.1% 펩톤수로 단계적으로 희석한 후 100 µL씩을 *L. monocytogenes*의 경우는 oxford agar(Difco)에 *Y. enterocolitica*의 경우는 Yersinia selective agar(Merck KGaA, Darmstadt, Germany)에 도말하여 30°C에서 각각 48시간, 24시간을 배양한 후 생성 집락을 계수하였다.

입력 변수 및 확률 분포

돈육 생산공정에서의 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염정도 및 분포를 확인하기 위하여 simulation을 실시하였으며 simulation model의 개발을 위한 입력변수는 실험 결과 및 문헌 고찰 등에 의해 선정하였다.

L. monocytogenes 및 *Y. enterocolitica*의 prevalence에 대한 분포는 두 균의 검출 결과로부터 계산하였다. prevalence는 beta 분포로, 검출 결과는 binomial random variable로 가정하고 moments method⁽²²⁾에 의해 분포 parameter를 구하였다. beta 분포란 어떠한 사건이 일어날 확률을 결정하는 데 사용되며 format은 Beta(α , β)이다. 시행 횟수 n 가운데 성공으로 기록된 횟수를 r로 나타내며 α 는 r+1이고 β 는 n-r+1이다.

Moments method란 각각의 검출 결과를 (y_i , n_i)라고 할 때 (y_i 는 positive 수, n_i 는 전체 sample 수)

$$\text{Mean} = \bar{\pi} = Y/N, \text{ where } Y = \sum_{i=1}^k y_i \text{ and } N = \sum_{i=1}^k n_i$$

$$u_i^2 = n_i [\pi_i - \bar{\pi}]^2 / [\bar{\pi}(1 - \bar{\pi})], \text{ where } \pi_i = y_i/n_i$$

$$\theta = [N - \sum_{i=1}^k u_i^2] / [\sum_{i=1}^k u_i^2 - k]$$

이 때 분포 parameter $\alpha = \bar{\pi}\theta$, $\beta = \theta - \alpha = (1 - \bar{\pi})\theta$ 이다.

정확한 수치를 입력하기 어려운 경우는 uniform 분포 및 triang 분포를 사용하였다. uniform 분포란 이용 가능한 자료가 아주 적거나 없는 경우일 때 대략적인 모델로 사용할 수 있는 확률 분포로서 format은 Uniform(min, max)이다. triang 분포란 분포 범위와 범위 내의 most likely value가 추정될 수 있는 경우에 대략적인 모델로 사용할 수 있는 확률 분포로서 format은 Triang(min, most likely, max)이다⁽²³⁾.

Simulation

Simulation 구동은 @RISK 4.0(Palisade Corp., Newfield, USA)을 사용하였으며 Latin Hypercube sampling으로 25000 iteration을 시행하였다⁽²⁴⁾. Simulation 결과를 바탕으로 sensitivity analysis를 실시하여 생산공정에서 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염에 가장 크게 영향을 미치는 인자(입

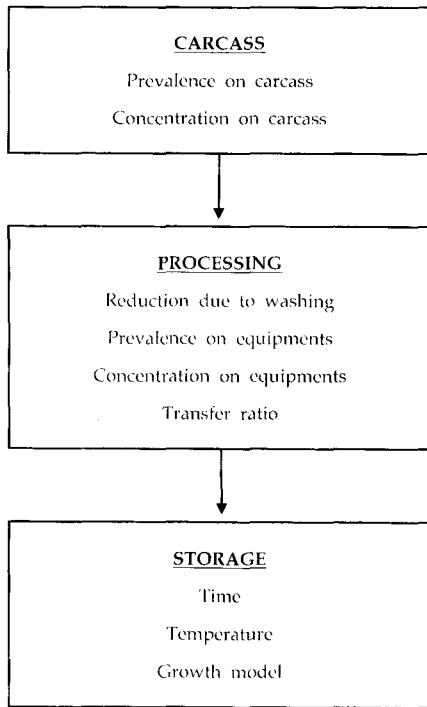


Fig. 1. Flow diagram of the risk assessment for *L. monocytogenes* and *Y. enterocolitica* in pork production.

력변수)를 확인하였으며 세척 효과 및 저장 온도의 영향을 알아보기 위하여 이들 인자의 인위적 변화에 따른 영향을 분석하였다.

결과 및 고찰

Simulation model

이분도체로부터 부분육 생산까지의 flow diagram은 Fig. 1과 같다. 여기에는 도축장 및 가공장에서 이분도체를 세척하고 가공하여 부분육을 생산한 후 보관하는 것까지를 포함하며 유통이후의 단계는 포함하지 않았다.

국내 도축장에서 가공중인 이분도체에서의 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica* 검출 결과는 Table 1과 같으며 이러한 결과로부터 prevalence 분포는 *L. monocytogenes*의 경우는 $\text{beta}(0.39, 17.24)$, *Y. enterocolitica*의 경우는 $\text{beta}(1.25, 12.81)$ 로 계산되었다. 오염된 이분도체에서의 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 concentration은 실제 실험에서 100 cm² 내지 300 cm²의 면적에서 시료를 채취하였으므로 이 면적에 1 cell이 존재한다고 가정하여 $\text{uniform}(0.003, 0.01)$ 을 이용하였다.

가공 중의 변화를 보면 세척에 의해 오염을 줄일 수 있으나 세척 방법에 따라 효과가 달라지며 약 0.5 내지 2 log 만큼의 균수의 감소가 보고되어 있다⁽²⁵⁻²⁷⁾. 또한 실제 도축장에서의 세척 효과를 확인하기 위하여 세척 전후의 이분도체에서 총균수를 측정된 결과 평균 0.54 log 만큼의 감소가 확인되었다. 따라서 세척에 의한 감소는 $\text{triang}(0.5, 0.54, 2)$ 를 사용하였다.

가공에 사용하는 장비로 인한 cross contamination은 장비에서의 *L. monocytogenes*와 *Y. enterocolitica*의 prevalence 및

Table 1. Detection of *L. monocytogenes* and *Y. enterocolitica* on carcass

	No. of samples tested	No. of positive samples	
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
1	18	1	0
2	6	0	1
3	6	0	2
4	15	0	1

Table 2. Detection of *L. monocytogenes* and *Y. enterocolitica* on equipments

Equipments	No. of samples tested	No. of positive samples		
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	
Working table	1	18	7	0
	2	9	0	0
	3	7	0	0
	4	22	0	2
Knife	1	9	0	0
	2	8	0	0
	3	20	0	0
Conveyor belt	1	9	0	0
	2	2	0	0

concentration, 장비로부터 돈육으로의 transfer ratio에 의해 계산되었다. prevalence의 계산을 위한 칼, 작업대, 운송벨트에서의 두 균의 검출 결과는 Table 2와 같으며 이러한 결과로부터 prevalence 분포는 *L. monocytogenes*의 경우는 $\text{beta}(0.17, 2.37)$, *Y. enterocolitica*의 경우는 $\text{beta}(1.32, 67.57)$ 로 계산되었다. 오염된 장비에서의 concentration은 작업대와 운송벨트의 경우는 100 cm²의 면적에서 시료를 채취하였고 칼의 경우만 전체 면적에서 시료를 채취하였으나 면적이 일정하지 않으므로 0~100 cm²에 균이 1 cell 있는 것으로 가정하여 $\text{triang}(0, 0.01, 0.01)$ 을 사용하였다.

생산된 도체를 가공하여 부분육을 생산할 때는 작업시 사용하는 장비의 오염이 돈육으로 전이되는데 Marples 등⁽²⁸⁾은 *Staphylococcus saprophyticus*의 경우 젖은 천에서 손으로는 10%가, 젖은 손에서 천으로는 85%가 전이된다고 하였으며 Mackintosh 등⁽²⁹⁾에 의하면 손에서 천으로의 전이 비율이 미생물 종류에 따라 17% 내지 88%의 분포를 보인다고 하였다. 가공중인 돈육은 수분이 많은 상태이므로 미생물의 전이율이 비교적 높을 것으로 판단되며 따라서 본 연구에서는 장비의 오염으로 인한 transfer ratio의 분포로 $\text{uniform}(0.17, 0.88)$ 을 사용하였다.

저장 중의 오염수준의 변화에 대하여는 *L. monocytogenes*와 *Y. enterocolitica*는 저온에서도 비교적 잘 자라는 저온성 병원균이므로^(30,31) 가공한 돈육을 출고할 때까지 냉장 보관하는 동안에도 어느 정도의 증식이 예상되므로 Gompertz function⁽³²⁾을 사용하여 증식 정도를 계산하였다. 이를 위하여 돈육의 pH 및 NaCl 농도를 측정된 결과 각각 5.8과 0.026%로 측정되었다. MPD는 *L. monocytogenes* ATCC 19111의 경우 5, 10, 15°C에서 각각 8.38, 8.74, 8.67 log₁₀CFU/g, *Y.*

Table 3. Simulation model to estimate the distribution of *L. monocytogenes* in pork production

A. Carcass			
Variables	Description	Unit	Distribution/Model
P_C	Prevalence of <i>L. monocytogenes</i> on carcass	-	Beta (0.39, 17.24) Fit from data in Table 1
C_C	Concentration of <i>L. monocytogenes</i> on contaminated carcass	CFU/cm ²	Uniform (0.003, 0.01)
L_C	Log contaminated level of <i>L. monocytogenes</i> on carcass	log ₁₀ CFU/cm ²	log ₁₀ ($P_C \times C_C$)
B. Processing			
Variables	Description	Unit	Distribution/Model
R_{WASH}	Log reduction in counts due to washing	log ₁₀ CFU/cm ²	Triang (0.5, 0.54, 2)
P_{EQ}	Prevalence of <i>L. monocytogenes</i> on equipments	-	Beta (0.17, 2.37) Fit from data in Table 2
C_{EQ}	Concentration of <i>L. monocytogenes</i> on contaminated equipments	CFU/cm ²	Triang (0, 0.01, 0.01)
R_{EQ}	Transfer ratio of <i>L. monocytogenes</i> by contaminated equipments	-	Uniform (0.17, 0.88)
L_{CM}	Log contaminated level of <i>L. monocytogenes</i> on cut meat	log ₁₀ CFU/cm ²	log ₁₀ ($10^{L_C - R_{WASH}} + P_{EQ} \times C_{EQ} \times R_{EQ}$)
C. Storage			
Variables	Description	Unit	Distribution/Model
t_s	Storage time	h	Uniform (12, 24)
T_s	Storage temperature	°C	Uniform (1, 5)
pH	pH of pork meat	-	Fixed 5.8
C_{NaCl}	NaCl concentration of pork meat	%	Fixed 0.026
MPD	Maximum population density	log ₁₀ CFU/cm ²	Fixed 8.60
C	Number of log cycles of growth	log ₁₀ CFU/cm ²	MPD- L_{CM}
M	Time at which the absolute growth rate is maximal	h	Buchanan <i>et al.</i> ⁽³⁴⁾ Estimated from T_s , pH and C_{NaCl} ⁽¹⁾
B	Relative growth rate at M	log ₁₀ CFU/cm ² h	Buchanan <i>et al.</i> Estimated from T_s , pH and C_{NaCl} ⁽²⁾
L_{CMS}	Log contaminated level of <i>L. monocytogenes</i> on cut meat after storage	log ₁₀ CFU/cm ²	$L_{CM} + C \times \exp[-\exp\{-B \times (t_s - M)\}]$

¹⁾Ln(M)=37.657+0.0135 T_s -13.7331(pH)+4.013 C_{NaCl} +0.00375 T_s^2 +1.9759(pH)²-0.0667 C_{NaCl}^2 -0.083 T_s (pH)+0.00842 $T_s C_{NaCl}$ -1.155(pH) C_{NaCl} +0.0000292 T_s^3 -0.0935(pH)³+0.00328 C_{NaCl}^3 +0.00286 T_s (pH) C_{NaCl} -0.000384 T_s^2 (pH)-0.0000855 $T_s^2 C_{NaCl}$ +0.00731 T_s (pH)²-0.00441 $T_s C_{NaCl}^2$ +0.0672(pH)² C_{NaCl} +0.0294(pH) C_{NaCl}^2

²⁾Ln(B)=-47.709+0.1631 T_s +18.6861(pH)-3.609 C_{NaCl} -0.00161 T_s^2 -2.7074(pH)²+0.623 C_{NaCl}^2 +0.242 T_s (pH) C_{NaCl} -0.00906 $T_s C_{NaCl}$ +0.671(pH) C_{NaCl} -0.0000648 T_s^3 +0.1276(pH)³-0.029 C_{NaCl}^3 -0.00551 T_s (pH) C_{NaCl} +0.000189 T_s^2 (pH)+0.000549 $T_s^2 C_{NaCl}$ -0.00222 T_s (pH)²+0.00459 $T_s C_{NaCl}^2$ -0.00781(pH)² C_{NaCl} -0.0872(pH) C_{NaCl}^2

enterocolitica ATCC 27729의 경우 각각 9.84, 9.79, 9.96 log₁₀CFU/g으로 추정되어 평균값인 8.60, 9.86 log₁₀CFU/g을 사용하였다. 일반적으로 도축장에서 생산한 돈육은 1 내지 5°C의 온도에서 저장하고 있었으므로 저장 온도의 분포로는 uniform(1, 5)를 사용하였다. 또한 하루 동안 생산한 것을 다음날 오전에 출고하고 있었으므로 저장 기간은 uniform(12, 24)로 계산하였다.

이러한 내용에 따라서 *L. monocytogenes*와 *Y. enterocolitica*의 오염 분포를 계산하기 위하여 작성한 simulation model은 각각 Table 3, 4와 같다.

돈육 생산공정에서의 오염수준 예측

이분도체에서의 *L. monocytogenes* 검출 결과로부터 simu-

lation한 결과 이분도체 및 가공한 부분육, 냉장 저장 후 출고 시점의 돈육에서의 *L. monocytogenes*의 오염 분포는 Fig. 2와 같다. 이분도체에서의 *L. monocytogenes*의 오염 평균값은 -4.59, 오염의 범위는 -11.87에서 -2.46 log₁₀CFU/cm²이었으며 5%, 95%의 값은 각각 -6.91, -3.21 log₁₀CFU/cm²이었다. 가공한 부분육에서의 *L. monocytogenes*의 오염 평균값은 -4.46, 오염의 범위는 -10.59에서 -2.15 log₁₀CFU/cm²이었으며 5%, 95%의 값은 각각 -6.41, -2.89 log₁₀CFU/cm²이었다. 부분육의 오염 평균값을 이분도체의 오염 평균값과 비교해 보면 거의 유사한 값을 나타내어 세척에 의한 오염의 감소와 오염된 장비로부터의 교차오염으로 인한 오염의 증가가 거의 유사한 것을 알 수 있었다. 가공한 부분육을 냉장 저장하였다가 출고하는 시점에서의 돈육의 *L. monocytogenes*

Table 4. Simulation model to estimate the distribution of *Y. enterocolitica* in pork production

A. Carcass			
Variables	Description	Unit	Distribution/Model
P_C	Prevalence of <i>Y. enterocolitica</i> on carcass	-	Beta (1.25, 12.81) Fit from data in Table 1
C_C	Concentration of <i>Y. enterocolitica</i> on contaminated carcass	CFU/cm ²	Uniform (0.003, 0.01)
L_C	Log contaminated level of <i>Y. enterocolitica</i> on carcass	log ₁₀ CFU/cm ²	log ₁₀ ($P_C \times C_C$)
B. Processing			
Variables	Description	Unit	Distribution/Model
R_{WASH}	Log reduction in counts due to washing	log ₁₀ CFU/cm ²	Triang (0.5, 0.54, 2)
P_{EQ}	Prevalence of <i>Y. enterocolitica</i> on equipments	-	Beta (1.32, 67.57) Fit from data in Table 2
C_{EQ}	Concentration of <i>Y. enterocolitica</i> on contaminated equipments	CFU/cm ²	Triang (0, 0.01, 0.01)
R_{EQ}	Transfer ratio of <i>Y. enterocolitica</i> by contaminated equipments	-	Uniform (0.17, 0.88)
L_{CM}	Log contaminated level of <i>Y. enterocolitica</i> on cut meat	log ₁₀ CFU/cm ²	log ₁₀ ($10^{L_C - R_{WASH}} + P_{EQ} \times C_{EQ} \times R_{EQ}$)
C. Storage			
Variables	Description	Unit	Distribution/Model
t_s	Storage time	h	Uniform (12, 24)
T_s	Storage temperature	°C	Uniform (1, 5)
pH	pH of pork meat	-	Fixed 5.8
C_{NaCl}	NaCl concentration of pork meat	%	Fixed 0.026
MPD	Maximum population density	log ₁₀ CFU/cm ²	Fixed 9.86
C	Number of log cycles of growth	log ₁₀ CFU/cm ²	MPD- L_{CM}
M	Time at which the absolute growth rate is maximal	h	Bhaduri <i>et al.</i> ⁽³¹⁾ Estimated from T_s , pH and C_{NaCl} ⁽¹⁾
B	Relative growth rate at M	log ₁₀ CFU/cm ² h	Bhaduri <i>et al.</i> Estimated from T_s , pH and C_{NaCl} ⁽²⁾
L_{CMS}	Log contaminated level of <i>Y. enterocolitica</i> on cut meat after storage	log ₁₀ CFU/cm ²	$L_{CM} + C \times \exp[-\exp\{-B \times (t_s - M)\}]$

¹⁾Ln(M)=22.7381-0.3846T_s-4.9289(pH)-0.0058C_{NaCl}+0.0348T_s(pH)+0.0047T_sC_{NaCl}+0.0596(pH)C_{NaCl}+0.0010T_s²+0.3398(pH)²-0.0426C_{NaCl}²
²⁾Ln(B)=-15.2641+0.1569T_s+3.1817(pH)+0.0310C_{NaCl}-0.0136T_s(pH)-0.104T_sC_{NaCl}-0.0479(pH)C_{NaCl}+0.0028T_s²-0.2297(pH)²+0.0681C_{NaCl}²

오염 평균값은 -4.45, 오염의 범위는 -10.58에서 -2.14 log₁₀CFU/cm²이었으며 5%, 95%의 값은 각각 -6.39, -2.88 log₁₀CFU/cm²로 육가공장에서의 저장 동안에는 *L. monocytogenes*가 증식되지 않는 것으로 나타났다.

또한 이분도체에서의 *Y. enterocolitica* 검출 결과로부터 simulation한 결과 이분도체 및 가공한 부분육, 냉장 저장 후 출고 시점의 돈육에서의 *Y. enterocolitica*의 오염 분포는 Fig. 3과 같으며 이분도체에서의 *Y. enterocolitica*의 오염 평균값은 -3.44, 오염의 범위는 -6.95에서 -2.28 log₁₀CFU/cm²이었으며 5%, 95%의 값은 각각 -4.32, -2.78 log₁₀CFU/cm²이었다. 가공한 부분육에서의 *Y. enterocolitica*의 오염 평균값은 -4.00 log₁₀CFU/cm²로 이분도체에서의 오염 평균값보다 다소 낮은 값을 나타내었다. 오염의 범위는 -6.19에서 -2.84 log₁₀CFU/cm²이었으며 5%, 95%의 값은 각각 -4.68, -3.43 log₁₀CFU/cm²이었다. 냉장 저장 후 출고시의 돈육에서의 *Y. enterocolitica*

오염 평균값은 -3.97, 오염의 범위는 -6.10에서 -2.71 log₁₀CFU/cm²이었으며 5%, 95%의 값은 각각 -4.64, -3.39 log₁₀CFU/cm²로 육가공장에서의 저장 동안에는 증식이 거의 되지 않는 것으로 판단되었다.

돈육의 오염에 영향이 큰 요인의 확인

돈육의 생산공정 중에서 최종 제품의 오염에 영향이 큰 요인을 확인하기 위하여 sensitivity analysis를 하였다. Correlation coefficient는 -1에서 1 사이의 값을 가지며 1에 가까운 값을 가질수록 영향이 큰 것으로 볼 수 있다⁽³³⁾. 이분도체를 세척하고 가공한 후 저장하였다가 출고하는 시점에서의 돈육의 *L. monocytogenes* 오염에 영향이 큰 요인은 장비에서의 *L. monocytogenes*의 prevalence, 이분도체에서의 prevalence, 세척, 오염된 장비에서의 *L. monocytogenes*의 concentration, 장비에서 돈육으로의 transfer ratio, 오염된 이분도체에서의

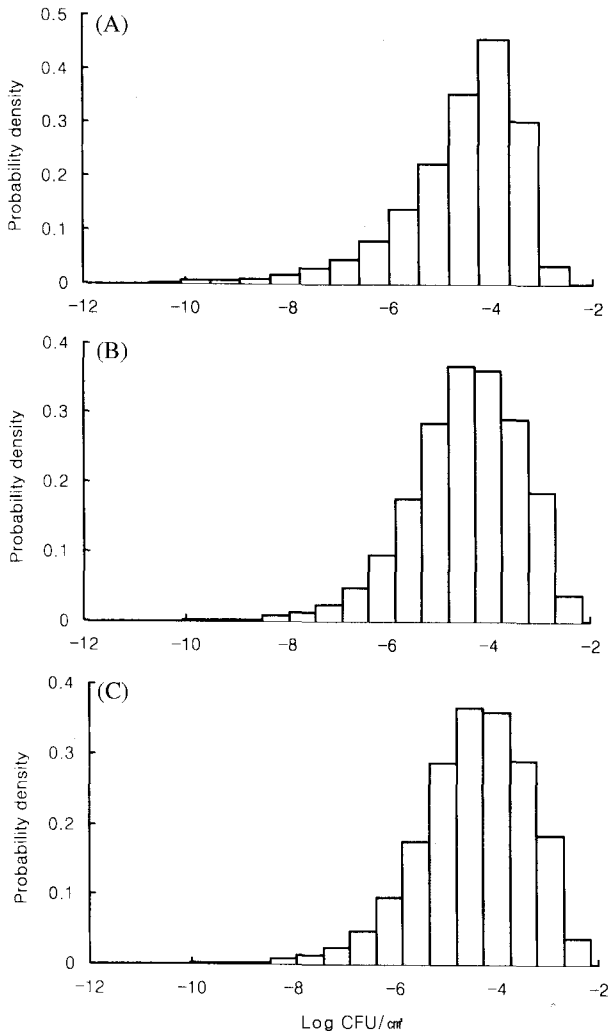


Fig. 2. Simulated distribution for the contaminated level of *L. monocytogenes* on carcass (A) and cut meat before (B) and after storage (C).

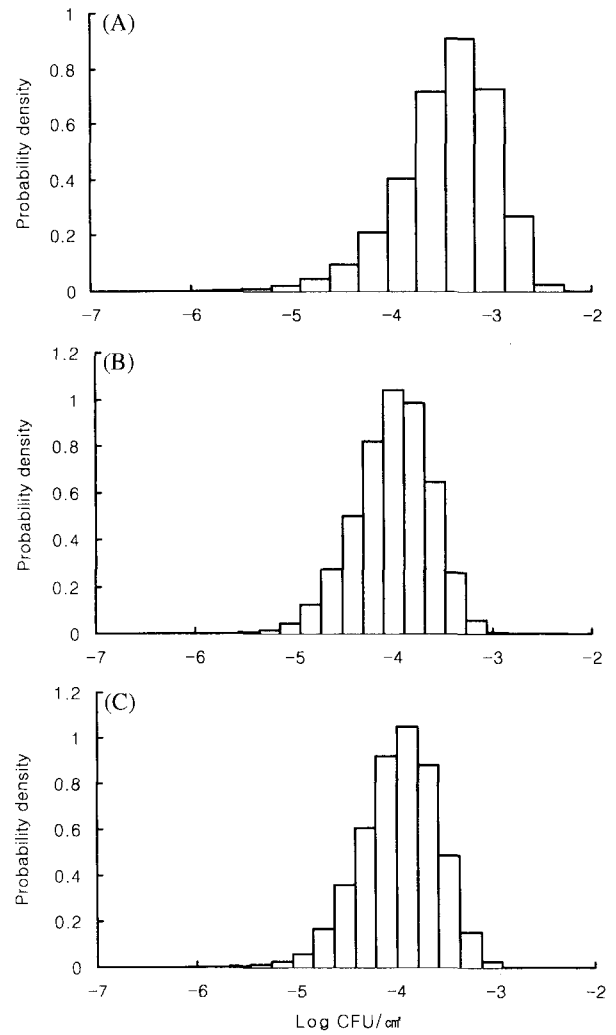


Fig. 3. Simulated distribution for the contaminated level of *Y. enterocolitica* on carcass (A) and cut meat before (B) and after storage (C).

concentration의 순이었다(Fig. 4). *Y. enterocolitica*의 경우는 장비에서의 prevalence, 이분도체에서의 prevalence, 세척, transfer ratio, 오염된 장비에서의 concentration, 오염된 이분도체에서의 concentration, 돈육의 저장 온도, 돈육의 저장 시간의 순이었다(Fig. 5).

따라서 돈육에서의 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염을 줄이기 위해서는 장비 및 이분도체의 오염을 방지하는 것이 가장 중요한 것으로 분석되었다. 저장의 영향이 작은 것으로 나타난 이유는 저장 시간이 12 내지 24시간으로 짧기 때문이며 실제 유통의 경우까지를 고려한다면 저장의 영향이 훨씬 더 커질 것으로 생각된다. *Y. enterocolitica*의 경우는 저장 온도와 시간이 약간의 영향이 있는 것으로 나타났으나 *L. monocytogenes*의 경우에는 저장 온도와 시간이 영향이 없는 것으로 나타났는데 그 이유는 저온에서 *L. monocytogenes*보다 *Y. enterocolitica*의 증식 속도가 빠르기 때문에 단시간의 저장 중에도 *Y. enterocolitica*가 증식했기 때문으로 판단된다.

오염에 미치는 세척 및 온도의 영향

돈육에서의 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염에 미치는 세척 및 온도의 영향을 알아보기 위하여 세척의 효과 및 저장 온도를 변화시키면서 simulation을 수행하여 이에 따른 돈육에서의 오염 분포를 비교하였다.

세척 방법에 따라 세척으로 인한 균수의 감소 효과가 달라지며 약 0.5 내지 2 log 만큼의 감소가 보고되어 있으므로 세척으로 인하여 각각 0.5, 1, 1.5, 2 log 만큼의 감소 효과가 있을 경우의 출고 전 돈육에서의 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염 분포를 Fig. 6에서 비교하였다. 도체를 최종 세척할 때 균수를 0.5 log 만큼 감소시킨 경우에는 출고하는 돈육의 *L. monocytogenes* 오염 평균값이 $-4.23 \log_{10} \text{CFU}/\text{cm}^2$ 이었으며 1, 1.5, 2 log 만큼 감소시킨 경우에는 오염 평균값이 각각 -4.46 , -4.65 , $-4.80 \log_{10} \text{CFU}/\text{cm}^2$ 로 세척의 효과가 클수록 오염이 감소하는 것으로 나타났다. *Y. enterocolitica*의 경우에는 도체를 최종 세척할 때 균수를 0.5, 1, 1.5, 2 log 만큼 감소시킨 경우 출고하는 돈육의 오염 평

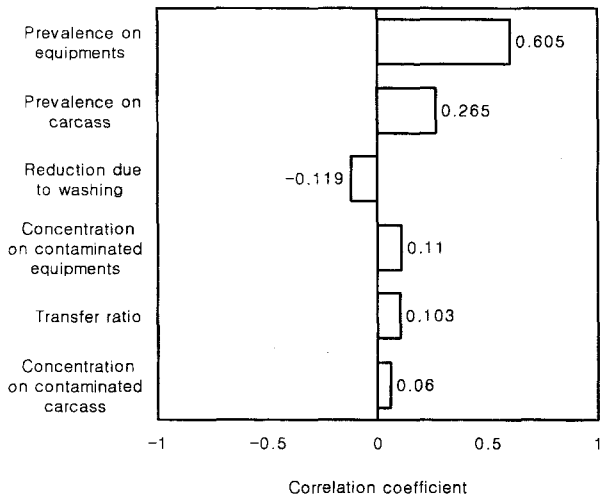


Fig. 4. Correlation between the pork contamination with *L. monocytogenes* and the factors of the simulation model.

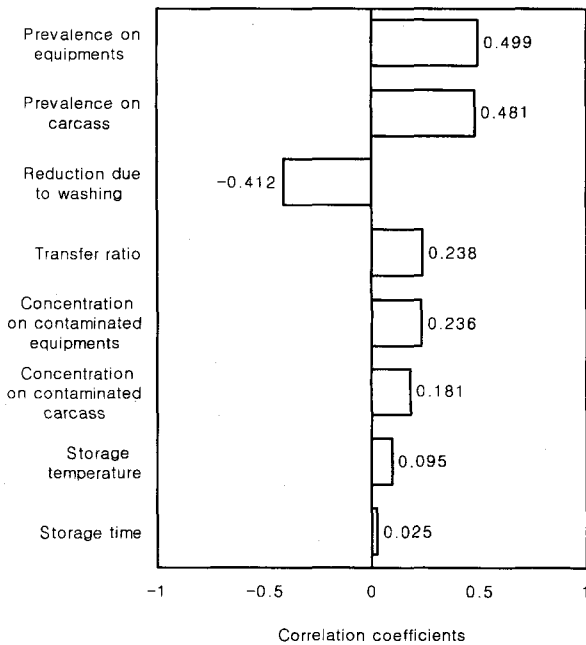


Fig. 5. Correlation between the pork contamination with *Y. enterocolitica* and the factors of the simulation model.

균값은 각각 -3.69, -3.98, -4.18, -4.30 \log_{10} CFU/cm²이었으며 세척의 효과가 클수록 돈육의 오염이 감소하는 것으로 나타났다.

부분육을 저장할 때의 온도의 영향을 알기 위하여 저장 온도를 1, 5, 10, 15°C로 가정했을 때의 출고 전 돈육에서의 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염 분포를 Fig. 7에서 비교하였다. *L. monocytogenes*의 경우 저장 온도를 1, 5, 10°C로 가정하였을 때 돈육에서의 *L. monocytogenes* 오염 평균값이 각각 -4.45, -4.45, -4.40 \log_{10} CFU/cm²이었으며 15°C로 가정하였을 때는 오염 평균값이 -3.19 \log_{10} CFU/cm²이었다. 따라서 도축장에서 부분육의 *L. monocytogenes* 오염을 억제하기 위해서는 저장 온도가 10°C 이하이면 충분한 것으

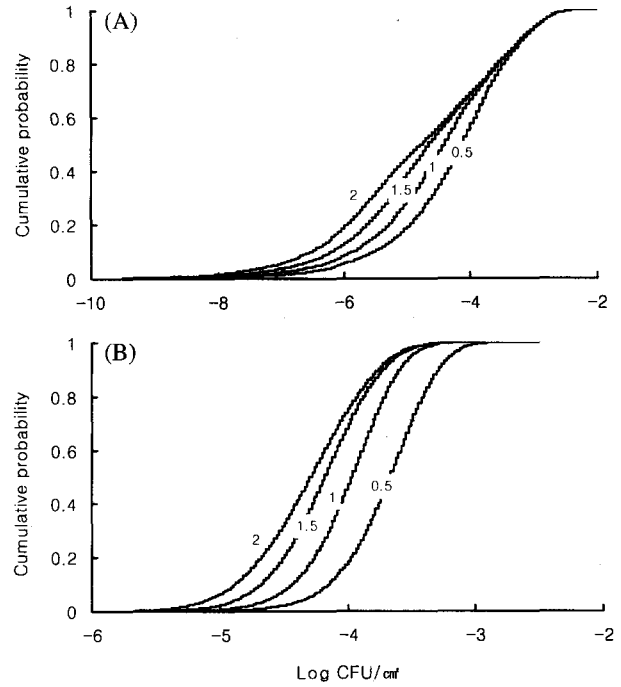


Fig. 6. Effect of washing on the simulated distribution for the contaminated level of *L. monocytogenes* (A) and *Y. enterocolitica* (B) on cut meat after storage. Log reduction in counts due to washing: 0.5, 0.5 \log_{10} CFU/cm²; 1, 1 \log_{10} CFU/cm²; 1.5, 1.5 \log_{10} CFU/cm²; 2, 2 \log_{10} CFU/cm².

로 판단된다. *Y. enterocolitica*의 경우 저장온도를 1 또는 5°C로 가정하였을 때 돈육에서의 오염 평균값이 각각 -4.00, -3.86 \log_{10} CFU/cm²로 거의 유사한 결과가 나타났으나 10 또는 15°C에서 저장하는 것으로 가정하였을 때는 오염 평균값이 각각 -2.75, -0.0172 \log_{10} CFU/cm²로 크게 증가하였다. 따라서 도축장에서 부분육의 *Y. enterocolitica* 오염을 억제하기 위해서는 저장 온도를 5°C 이하로 유지할 필요가 있는 것으로 분석되었다.

실제 국내의 도축장에서는 생산한 부분육의 저장 온도를 5°C 이하로 유지하고 있으므로 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염을 억제하기에 충분하며 저장 온도를 5°C보다 더 낮게 유지하는 것은 *L. monocytogenes*와 *Y. enterocolitica*의 오염에는 그다지 큰 영향이 없는 것으로 판단된다.

이러한 결과로부터 돈육에서 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염수준을 감소시키기 위해서는 가공에 사용하는 장비의 세척, 소독 등의 위생관리를 철저히 함으로써 이러한 병원성 미생물이 검출되지 않도록 하는 것이 가장 중요한 것으로 나타났으며, 세척으로 도체의 오염을 많이 감소시킬 수 있지만 그것보다는 세척 전부터 도체가 오염되지 않도록 하는 것이 더 중요한 것으로 분석되었다.

우리 나라에서도 정량적 위해 평가를 통한 돈육의 위생안전성 확보가 시급하다고 보나 현재까지는 거의 이에 대한 연구가 이루어지지 않고 있다. 위해 평가를 하기 위해서는 노출평가가 우선적으로 이루어져야 할 것이며 본 연구에서 제시한 확률적 접근방법이 이러한 노출평가에 유용하게 활용될 것으로 판단된다.

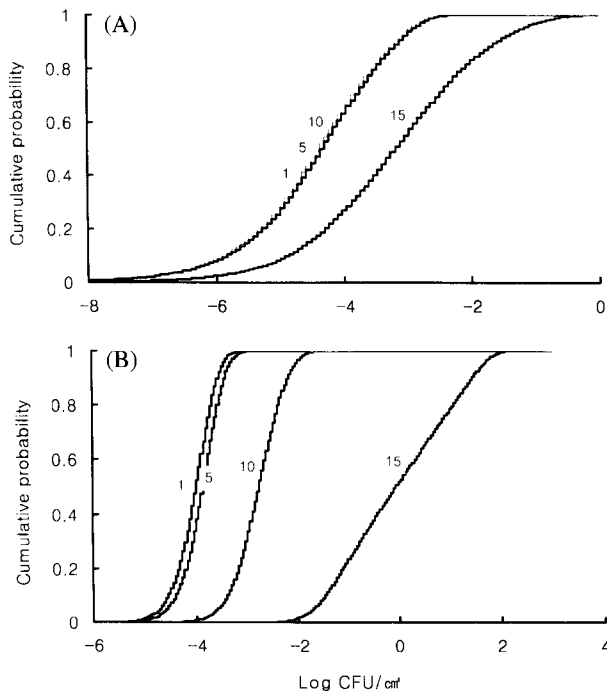


Fig. 7. Effect of storage temperature on the simulated distribution for the contaminated level of *L. monocytogenes* (A) and *Y. enterocolitica* (B) on cut meat after storage. Storage temperature: 1, 1°C; 5, 5°C; 10, 10°C; 15, 15°C.

요 약

본 연구는 돈육의 생산공정에서 발생 가능성이 높은 병원성 미생물인 *L. monocytogenes*와 *Y. enterocolitica*의 돈육 생산공정에서의 위해를 평가하기 위하여 확률적 접근방법을 통하여 오염수준을 예측하여 보았다. 몬테카를로 simulation을 이용하여 simulation을 한 결과 이분도체, 가공한 부분육, 저장 후 출고 전의 부분육에서의 *L. monocytogenes*의 오염 평균값은 각각 -4.59, -4.46, -4.45 \log_{10} CFU/cm²이었으며 *Y. enterocolitica*의 경우는 오염 평균값이 각각 -3.44, -4.00, -3.97 \log_{10} CFU/cm²의 값을 나타내었다. Sensitivity analysis 결과 생산된 돈육의 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica* 오염 정도에 영향이 가장 큰 요인은 장비에서의 이들 병원성 미생물의 prevalence였다. 최종 세척의 경우는 세척의 효과가 클수록 돈육의 오염수준이 감소하는 것으로 나타났으며, 육가공장에서의 부분육 저장 온도는 5°C 이하로만 유지한다면 *L. monocytogenes* 및 *Y. enterocolitica*의 오염을 억제하기에 충분한 것으로 분석되었다.

문 헌

1. Chung, M.S., Lee, S.W., Park, G.Y., Lee, J.H., Lee, C.S. and Lee, J.H. Analysis of microbiological hazards at pork processing plants in Korea. Korean J. Food Sci. Anim. Resour. 19: 36-40 (1999)
2. Korea Food and Drug Administration. Food Code. Moonyoung Sa, Seoul, Korea (2000)
3. Huis-in't-Veld, J.H.J., Mulder, R.W.A.W. and Snijders, J.M.A.

Impact of animal husbandry and slaughter technologies on microbial contamination of meat: monitoring and control. Meat Sci. 36: 123-154 (1994)

4. Rho, M.J., Chung, M.S., Lee, J.H. and Park, J. Monitoring of microbial hazards at farms, slaughterhouses, and processing lines of swine in Korea. J. Food Prot. 64: 1388-1391 (2001)
5. Carr, M.A., Thompson, L.D., Miller, M.F., Ramsey, C.B. and Kaster, C.S. Chilling and trimming effects on the microbial populations of pork carcasses. J. Food Prot. 61: 487-489 (1998)
6. Dickson, J.S. and Anderson, M.E. Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems: a review. J. Food Prot. 55: 133-140 (1992)
7. Gill, C.O. and McGinnis, J.C. Improvement of the hygienic performance of the hindquarters skinning operations at a beef packing plant. Int. J. Food Microbiol. 51: 123-132 (1999)
8. Korea Ministry of Agriculture and Forestry. Manual for Hazard Analysis and Critical Control Point System of Livestock and Livestock Products. Official Notification 2000-15, Seoul, Korea (2000)
9. Potter, M.E. Risk assessment terms and definitions. J. Food Prot. Supplement: 6-9 (1996)
10. Codex Alimentarius. Guidelines on the Applications of the Principles of Risk Assessment and Risk Management to Food Hygiene Including Strategies for Their Application. CX/FH 95/8 (1995)
11. Codex Alimentarius. Risk Analysis in Codex Work. CX/EXEC 96/43/6 (1996)
12. Notermans, S. and Teunis, P. Quantitative risk analysis and the production of microbiologically safe food: an introduction. Int. J. Food Microbiol. 30: 3-7 (1996)
13. Jaykus, L. The application of quantitative risk assessment to microbial food safety risks. Crit. Rev. Microbiol. 22: 279-293 (1996)
14. ICMSF. Potential application of risk assessment techniques to microbiological issues related to international trade in food and food products. J. Food Prot. 61: 1075-1086 (1998)
15. Lammerding, A.M. and Fazil, A. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. Int. J. Food Microbiol. 58: 147-157 (2000)
16. Buchanan, R.L., Smith, J.L. and Long, W. Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. Int. J. Food Microbiol. 58: 159-172 (2000)
17. Mayes, T. Risk analysis in HACCP: burden or benefit? Food Control 9: 171-176 (1998)
18. Cassin, M.H., Lammerding, A.M., Todd, E.C.D., Ross, W. and McColl, R.S. Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. Int. J. Food Microbiol. 41: 21-44 (1998)
19. Whiting, R.C. and Buchanan, R.L. Development of a quantitative risk assessment model for *Salmonella enteritidis* in pasteurized liquid eggs. Int. J. Food Microbiol. 36: 111-125 (1997)
20. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual, 8th ed., rev. A. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA (1998)
21. Greer, G.G. and Jones, S.D.M. Effects of lactic acid and vacuum packaging on beef processed in a research abattoir. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 24: 161-168 (1991)
22. Joint FAO/WHO. Risk Assessment: *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Foods. Preliminary Report, Rome, Italy (2000)
23. Vose, D. Quantitative Risk Analysis: A Guide to Monte Carlo Simulation Modelling. John Wiley & Sons, Chichester, England (1996)
24. Palisade. Guide to Using @RISK: Risk Analysis and Simulation Add-in for Microsoft Excel, vers. 4. Palisade Corp., Newfield, USA (2000)
25. Skelly, G.C., Fandino, G.E., Haigler, J.H. and Sherard, R.C. Bacteriology and weight loss of pork carcasses treated with a sodium hypochlorite solution. J. Food Prot. 48: 578-581 (1985)
26. Reynolds, A.E. and Carpenter, J.A. Bactericidal properties of ace-

- tic and propionic acids on pork carcasses. *J. Anim. Sci.* 38: 515-519 (1974)
27. Netten, P.van., Mossel, D.A.A. and Huis-in't-Veld, J.H.J. Microbial changes on freshly slaughtered pork carcasses due to "hot" lactic acid decontamination. *J. Food Saf.* 17: 89-111 (1997)
28. Marples, R.R. and Towers, A.G. A laboratory model for the investigation of contact transfer of micro-organism. *J. Hyg.* 82: 237-248 (1979)
29. Mackintosh, C.A. and Hoffman, P.N. An extended model for transfer of microorganisms via the hands: differences between organisms and the effect of alcohol disinfection. *J. Hyg.* 92: 345-355 (1984)
30. McClure, P.J., Beaumont, A.L., Sutherland, J.P. and Roberts, T.A. Predictive modelling of growth of *Listeria monocytogenes*: the effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO₂. *Int. J. Food Microbiol.* 34: 221-232 (1997)
31. Bhaduri, S., Turner-Jones, C.O., Buchanan, R.L. and Phillips, J.G. Response surface model of the effect of pH, sodium chloride and sodium nitrite on growth of *Yersinia enterocolitica* at low temperatures. *Int. J. Food Microbiol.* 23: 333-343 (1994)
32. Gibson, A.M., Bratchell, N. and Roberts, T.A. The effect of pH, sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *J. Appl. Bacteriol.* 62: 479-490 (1987)
33. Zweitering, M.H. and van Gerwen, S.J.C. Sensitivity analysis in quantitative microbial risk assessment. *Int. J. Food Microbiol.* 58: 213-221 (2000)
34. Buchanan, R.L. and Phillips, J.G. Response surface model for predicting the effects of temperature pH, sodium chloride content, sodium nitrite concentration and atmosphere on the growth of *L. monocytogenes*. *J. Food Prot.* 53: 370-376 (1990)

(2003년 6월 7일 접수; 2003년 8월 11일 채택)