

학교급식에서 제공되는 숙주나물의 *Staphylococcus aureus* 성장에측모델 개발 및 섭취유효기간 설정

박형수¹ · 김민영¹ · 정현숙² · 박기환¹ · 류 경^{2*}

¹중앙대학교 식품공학과

²영남대학교 식품영양학과

Development of a Predictive Growth Model of *Staphylococcus aureus* and Shelf-life Estimation of Cooked Mung Bean Sprouts Served in School Foodservice Operations

Hyoung-Su Park¹, Min-Young Kim¹, Hyun-Suk Jeong², Ki-Hwan Park¹, and Kyung Ryu^{2*}

¹Dept. of Food Science & Technology, Chung-Ang University, Gyeonggi 456-756, Korea

²Dept. of Food & Nutrition, Yeungnam University, Gyeongbuk 712-749, Korea

Abstract

This study was conducted to estimate the shelf-life of cooked mung bean sprouts contaminated with *Staphylococcus aureus* according to storage temperatures after cooking in school foodservice operations. A predictive growth model of *S. aureus* in cooked mung bean sprouts prepared using a standard recipe was developed at 4 storage temperatures (5, 15, 25, and 35°C). To determine the effect of vinegar on the shelf-life of cooked mung bean sprouts, the growth of *S. aureus* in sprouts prepared using vinegar and the standard recipe were compared. The R² values of the specific growth rate (SGR) and lag time (LT) determined using the Gompertz model were greater than 0.90 at all temperatures except 5°C, which confirmed that it would be appropriate to use these parameters for a secondary model. The secondary model, which indicates changes in LT and SGR values according to storage temperatures, was calculated using response surface models. The compatibility of the developed model was confirmed by calculating R², B_f, A_f and MSE values as statistic parameters. The R² values of LT and SGR were 0.94 or higher, and the MSE, B_f and A_f values were 0.02 and 0.002, 0.97 and 1.03, and 1.31 and 1.10, respectively, with high statistical compatibility. The growth rate of *S. aureus* was higher when the standard recipe was used than when vinegar was used at all temperatures. Indeed, no growth of *S. aureus* was observed in mung bean sprouts prepared using vinegar. Based on the model developed, cooked mung bean sprouts prepared using the standard recipe for school foodservice should be stored at 10°C or less. Additionally, sprouts stored at 25 or 35°C should be consumed within 6 or 12 hours after cooking. Finally, the addition of vinegar will prevent the growth of *S. aureus* in cooked mung bean sprouts.

Key words: cooked mung bean sprout, *Staphylococcus aureus*, predictive model, shelf-life, school foodservice

서 론

우리나라는 학교급식 운영의 한 방법으로 공동조리방식을 도입하여 시행하고 있다. 공동조리 급식체계란 둘 이상의 학교가 인접하여 있을 경우 한 단위로 묶어 중앙의 시설·설비를 갖춘 조리교에서 조리한 후 비조리교(satellite)로 운반하여 급식하는 방식으로 시설비, 인건비, 식재료비 등이 절감된다(1). 이러한 이점으로 학교급식의 빠른 확대에 일조하여 2006년 말 직영급식 학교 중 공동조리교가 24.3%의 높은 비율을 차지하였다(2). 그러나 공동조리교는 운반과정에서 적정온도 유지, 운반차량의 청결상태, 식품용기의 밀폐로 인

한 교차오염방지, 2시간 이내 배식완료 등의 적절한 관리가 이루어지지 못할 경우 식중독 발생률이 단독 조리교에 비해 가중된다. 일반적으로 학교급식의 식중독 발생건수는 높지 않지만, 일시에 다수에게 급식하므로 환자수는 높은 비율을 차지하고 있다(3). 학교급식의 조리공정별 미생물 오염도 조사 결과 생채류 및 숙채류의 일반세균 및 대장균군은 기준치보다 높게 나타났다. 특히 숙채류는 뜨거운 물에 데치거나 삶는 조리공정을 거치지만 원부재료의 미생물이 조리된 음식에 상당수 전이되었다(4). 이는 조리 시 사용되는 양념, 용기, 조리원의 손 등으로부터 재 오염될 수 있는 확률이 높음을 보여주는 것이다. 사람과 동물의 피부, 점막 등에 존

*Corresponding author. E-mail: akryu@ynu.ac.kr
Phone: 82-53-810-2876, Fax: 82-53-810-4768

제하는 *S. aureus*는 육류, 육제품, 우유, 유제품, 닭고기, 채소 등에서 식중독을 유발시킬 수 있다(5). 더욱이 조리원이 피부 감염 질환으로 enterotoxin을 대량으로 보유하게 되면, 손을 많이 사용하는 숙채류 및 생채류는 쉽게 오염될 수 있다(6). *Staphylococcus aureus* 식중독 발병률은 우리나라에서 *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus*와 더불어 빈도가 높고, 2008년도 학교급식 식중독 발생 환자수도 *E. coli* O157:H7, *Bacillus cereus*에 이어 3위를 차지하였다(7). 따라서 식품취급 시 조리종사자의 비위생적 행동과 조리 후 부적절한 보관온도가 원인이 되어 *S. aureus* 식중독이 발생할 가능성이 높다고 할 수 있다. 이러한 식중독 발생을 유발할 수 있는 미생물을 안전하게 관리할 수 있는 방법에는 수분활성도 관리, 고염, 고당, 발효, 가열, 보존료 사용 등이 있다. 또한 부패균의 생육을 억제하는 초산을 함유하고 있는 식초를 식품의 부패방지에 이용하기도 한다(8).

최근 식품 안전성을 보장하기 위한 위해분석 방법으로 예측 식품미생물학이 이용되고 있다. 이는 특정 환경조건하에서, 식품 중 병원성 미생물의 성장과 사멸을 통계적으로 기술하고 예측할 수 있는 기법이다(9). 식품의 안전성에 관여하는 위해 미생물을 대상으로 하므로 기존의 미생물 검사에 비해 신속한 예측이 가능하고, 식중독 예방에 높은 효과를 가져 온다(10). 이러한 예측미생물학을 이용하여 많은 식품에 대하여 병원성 미생물의 성장예측모델 개발에 관한 연구가 수행되었다. 그 중 채소류에서는 상추에서 산소에 의한 *Pseudomonas fluorescens* 및 *Listeria innocua* 성장예측모델 확인(11), 양상추에서 *Listeria monocytogenes*(9,12)의 성장예측모델개발, 시금치에서 *L. monocytogenes*의 성장예측모델개발(10) 등의 연구가 이루어졌다. 또한 유통기한 및 보관기간 설정에 관한 연구로는 Bahk 등(13)의 김밥에서의 *S. aureus*에 대한 정량적 미생물 위해평가, Heo 등(14,15)의 시중에서 유통되고 있는 미강 식이섬유 함유 떡갈비와 프랑크푸르트 소시지의 유통기한 설정, Food MicroModel을 이용하여 김밥 중 황색포도상구균에 의한 식중독이 발생하지 않도록 유효 기간을 산정한 연구(16) 등이 있다. 그러나 학교급식에 제공되는 조리식품에 대한 연구는 Kim(17)의 연구를 제외하고 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 학교급식에서 제공되는 숙주나물의 안전성을 확보하기 위하여 표준레시피를 이용하여 조리한 숙주나물에서 보관온도에 따른 성장예측 모델을 개발하였다. 또한 섭취유효기간을 연장하기 위하여 식초를 첨가하여 조리한 숙주나물과 *S. aureus* 성장 특성을 비교하였다.

재료 및 방법

숙주나물 조리 및 시료 채취

본 실험에 사용된 숙주, 실파, 다진 마늘, 소금, 참깨, 참기름, 식초는 서울에 위치한 H 마트에서 구입하였고, 학교급식

에서 일반적으로 사용되는 표준레시피를 이용하여 조리하였다. 숙주는 흐르는 수돗물로 깨끗이 씻어 끓는 물에 약 1분 데친 후 찬물에 헹궈 물기를 짜고 다진 파(1.62%), 다진 마늘(1.35%), 참깨(1.35%), 참기름(1.88%), 소금(1.35%)을 넣어 잘 버무렸다. 준비된 시료는 2차 오염을 방지하기 위해 실험실에서 조리한 직후 무균적으로 멸균된 Petri dish에 25 g씩 채취하여 실험에 이용하였다.

pH 측정

S. aureus 성장 조건을 알아보기 위하여 조리 직후 숙주나물의 pH를 측정하였다. pH 측정은 숙주나물 10 g에 증류수 90 mL를 멸균팩에 넣어 1분간 stomacher(Elmex SH-II, Tokyo, Japan)로 균질화한 후 pH meter(PB-11, Sartorius, Goettingen, Germany)를 이용하였다(18).

미생물 분석

숙주나물의 미생물 수준을 평가하기 위하여 일반세균, 대장균군 및 대장균은 식품공전(19)의 방법을 이용하여 분석하였다. 25 g씩 채취한 시료는 0.1% peptone water 225 mL를 부어 stomacher로 1분간 균질화한 후, 0.1% peptone water를 이용하여 단계 희석하여 사용하였다. 일반세균수의 측정을 위해서는 Plate Count Agar(PCA, Difco, USA)에 각 단계 희석액 1 mL를 도말하여 35°C의 incubator(BI-600M, GiEO Tech, Kimpo, Korea)에서 24~48시간 배양하여 생성된 집락을 계수하였다. 대장균군 및 대장균은 Petrifilm™ coli/coliform count plate(PCC, 3M, USA)의 두 장 필름 사이에 각 단계 희석액 1 mL를 접종하고 35°C로 설정한 incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 대장균군은 생성된 붉은 colony 중 주위에 기포를 형성하고 있는 colony, 대장균은 청색 colony 중 주위에 기포를 형성하고 있는 colony를 계수하였다.

균액 제조

표준균주인 *S. aureus* ATCC 6538은 본 실험을 위하여 5°C 이하에서 냉장 보관하였다. 보관된 균을 백금으로 1~2 colony를 따서 0.1% peptone water에 희석시킨 후 5.0 log CFU/g로 조절하여 시험균액으로 사용하였다.

접종 및 실험 계획

균은 조리 후의 오염 수준을 고려하여 숙주나물 무게의 1/10인 2.5 mL씩 숙주나물 표면에 골고루 뿌려 초기균의 농도가 3.0 log CFU/g가 되도록 하였다(20). 학교급식에서 음식을 섭취하기 전까지 *S. aureus* 균의 성장과 관련한 중요한 환경인자 중 하나는 보관온도이므로 이를 주요 변수로 설정하였다. 배양온도는 숙주나물을 조리한 후 배식하기 전까지 보관하는 온도를 고려하여 5, 15, 25, 35°C로 정하였다. 각 실험은 3회 반복 실시하였다.

균수 측정

각 조건별로 배양한 숙주나물을 멸균팩에 넣고 10배의

0.1% peptone water로 희석한 후 stomacher로 1분간 균질화하였다. 각각의 균질화된 시료를 Baird Parker RPF agar (Biomérieux, France) 표면에 100 µL씩 분주하고 spread한 후 37°C에서 24~48시간 배양하였다. 배양 후 회색빛을 띠는 검은색 colony를 계수하였다.

Gompertz model 적용

실험을 통해 얻어진 데이터는 modified Gompertz equation을 적용할 수 있는 GraphPad Prism 4.0 Software(San Diego, USA)를 사용하여 각 배양 온도의 유도기(lag time; LT)와 증식속도(specific growth rate log CFU/g/hr; SGR)를 결정하였다(21).

$\log(N) = N_0 + C(\exp(\exp((2.718 \times \mu_{\max}/C) \times (\text{lag} - X) + 1)))$
 $\log(N, \log \text{CFU/g})$: log count of bacteria at time (in hours)
 N_0 (log CFU/g): log count of bacteria at initial count
 C (log CFU/g): difference between initial and final cell numbers

μ_{\max} (log CFU/h): maximum specific growth rate

lag (h): lag time (LT)

X (h): time

Response surface model 적용

온도의 영향에 따른 LT, SGR값을 예측하기 위하여 Minitab program Ver. 15의 response surface model을 적용하였다. Response surface model식은 다변수함수분석인 partial least squares regression을 통해 유도되며, 그 방정식은 다음과 같다(22).

$$LT_{\text{prd}} \text{ or } SGR_{\text{prd}} = A_0 + A_1(N_0) + A_2(T) + A_3(S_t) + A_4(T)^2 + A_5(S_t)^2 + A_6(N_0 \times T) + A_7(N_0 \times S_t) + A_8(T \times S_t)$$

$A_0 \sim A_8$: different constant coefficients of the model

N_0 : initial inoculum (log CFU/g)

T: temp. (°C)

S_t : storage time (hr)

성장예측곡선의 적합성 평가

실험을 통해 얻은 관측값과 2차모델식에 적용하여 얻은 예측값의 적합성을 확인하기 위하여 coefficient of determination(R^2), mean square error(MSE), bias factor(B_f), accuracy factor(A_f)값을 사용하였다. GraphPad(GraphPad Software)에 의해 제공되는 R^2 는 전체적으로 예측값을 측정하는데 자주 사용되고(10), 0에서 1사이의 값을 나타낸다(23,24).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum e_i^2}{\sum (y_i - \hat{y})^2}$$

e_i : the error of predictive data

y_i : the predictive data

\hat{y} : the average of predictive data

MSE는 자유도의 수에 의해 유도된 잔차 제곱합을 나타내는데, 관측값과 예측값의 차이를 이용하여 얻어지는 수치이다(24).

$$MSE = \frac{[\sum \log(LT_{\text{predicted}}/LT_{\text{observed}})]^2/n}{[\sum \log(SGR_{\text{predicted}}/SGR_{\text{observed}})]^2/n}$$

n: number of observation

B_f 는 관측값과 예측값과의 상대적 편차를 측정하는 것으로 0.7보다 작거나 1.5보다 큰 값을 나타내면 모델이 적합하지 않아 사용이 불가능하다(25).

$$B_f = 10^{(\sum \log(LT_{\text{predicted}}/LT_{\text{observed}})/n)} = 10^{(\sum \log(SGR_{\text{predicted}}/SGR_{\text{observed}})/n)}$$

n: number of observation

A_f 는 예측값이 얼마나 관측값에 가까운가를 측정하는 것으로 1.3~1.5일 때가 가장 적합성이 높다(26).

$$A_f = 10^{(\sum |\log(LT_{\text{predicted}}/LT_{\text{observed}})|/n)} = 10^{(\sum |\log(SGR_{\text{predicted}}/SGR_{\text{observed}})|/n)}$$

n: number of observation

숙주나물의 섭취유효기간 설정

숙주나물의 섭취유효기간은 *S. aureus*의 성장조건과 Lindqvist 등(27)이 제시한 독소가 생성되는 6.0 log CFU/g 이상 되는 시점에 근거하여 설정하였다. *S. aureus*의 생육온도 범위는 7~48°C로 비교적 넓지만 식중독의 원인이 되는 enterotoxin은 생육최적온도인 35~38°C에서 가장 잘 생산된다. pH 범위는 4.2~9.3이고, 최적 pH는 6.8~7.2로 이보다 산성측이나 알칼리성측으로 이행됨에 따라 독소 생산능력은 나빠지며, pH 5 이하 또는 9 이상이 되면 enterotoxin 합성이 저지된다(28,29).

식초 첨가 숙주나물의 *S. aureus* 성장 특성

학교급식 표준레시피를 이용하여 조리한 숙주나물을 대조군으로 하고, 미생물학적 안전성을 높이기 위해 식초를 첨가하여 조리한 숙주나물을 실험군으로 하여 pH 및 *S. aureus* 성장 특성을 비교하였다. 실험군은 대조군에서 참기름을 넣지 않고, 식초를 첨가하였다. 식초농도는 학교급식소에서 실제 사용하고 있는 레시피를 토대로 적정 농도를 산정하기 위해 식초 첨가량을 3회의 예비 조리를 거쳐 가장 적정 농도인 4.0%v/w로 결정하였다. 예비조리는 숙주나물에 식초를 각각 1.3(0.5 g), 2.6(1.0 g), 4.0(1.5 g), 5.0(2.0 g)%v/w 농도로 첨가하여 이중 맛이 가장 적절하면서 *S. aureus* 성장에 영향을 줄 수 있는 pH 농도를 찾기 위해 이루어졌다. pH 측정, 미생물 분석 및 *S. aureus* 균수 측정은 대조군과 동일한 방법으로 수행되었다.

통계처리

표준레시피를 이용한 숙주나물과 식초 첨가 숙주나물의

군수 차이에 대한 유의성 검증은 SPSS Win(ver. 12.0)의 General Linear Models(GLM)를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

pH 측정 및 미생물 분석

숙주나물의 pH 측정 결과 6.32로 나타나 *S. aureus*가 성장하기에 적합한 조건이었다. 미생물 분석 결과 일반세균과 대장균군은 각각 3.00, 1.63 log CFU/g로 검출되었고, 대장균은 검출되지 않았다. 이러한 결과는 보육시설급식소에서 숙주나물에 대한 미생물 오염도 조사결과 중 Min과 Lee(30)의 연구와 Seo 등(31)의 연구에서 조리직후 일반세균수가 각각 4.28, 2.8 log CFU/g로, 대장균군이 각각 2.78, 2.4 log CFU/g로 나타났다는 결과와 비슷한 수준이었다.

보관기간 중 *S. aureus*의 증식

5, 15, 25, 35°C의 보관온도에서 72시간 동안 *S. aureus*의 증식을 관찰하였다. 그 결과 5, 15°C에서는 72시간 동안 모두 3.0 log CFU/g의 초기균수 수준으로 거의 일정하게 유지되었으나, 25°C에서는 12시간 이후 5.0 log CFU/g 수준으로 증가하였고, 72시간까지 거의 일정하게 유지되었다. 35°C에서는 3시간 이후부터 12시간까지 균수가 급격히 증가하여 약 7.0 log CFU/g 수준으로 유지되었다. 이러한 결과는 멸균한 콩나물무침에 초기균수 2.0 log CFU/g의 *S. aureus*를 접종했을 때 10°C 이하에서는 초기균수 수준을 유지하거나 감소되었고, 25°C에서는 12시간 이상 경과 시 약 5.0 log CFU/g 수준으로 증가하였으며, 35°C에서는 3시간을 기준으로 균 증식이 빠르게 나타났다는 결과(17)와 유사하였다.

Gompertz model 적용과 생육 지표 측정

각 온도조건(5, 15, 25, 35°C)에서 *S. aureus* 증식을 예측하기 위한 생육 지표인 LT와 SGR은 modified Gompertz equation을 적용하여 구하였다. 예측된 생육지표의 통계적 적합성을 나타내는 R²값들은 Table 1과 같이 5, 15, 25, 35°C에서 각각 0.79, 0.90, 0.90, 0.93으로 나타나 대부분 1에 근접하였다(23,24). 이러한 결과는 TSB medium을 이용하여 *S.*

Table 1. For the primary modeling, best-fit lag time (LT), and specific growth rate (SGR) of *S. aureus* in cooked mung bean sprout obtained from the modified Gompertz equation

Temperature (°C)	Growth parameters		Statistical analysis
	SGR ¹⁾	LT (hr) ²⁾	R ^{2 3)}
5	0.07	19.26	0.79
15	0.34	4.98	0.90
25	0.81	4.80	0.90
35	1.74	4.92	0.93

¹⁾SGR: specific growth rate.

²⁾LT: lag time.

³⁾R²: coefficient of determination.

*aureus*의 성장예측모델을 개발하는데 사용된 LT, SGR의 R²값(0.90~0.99)(32)과 깻잎에서 *L. monocytogenes* 예측모델의 R²값이 대부분 0.93 이상 나타났다는 결과(10)와 유사하였다. 따라서 본 연구 결과의 LT와 SGR값은 숙주나물에서의 *S. aureus* 생육예측을 위한 이차모델의 변수 값으로 사용하기에 적합한 것으로 확인되었다.

Response surface model

Response surface model식에 의해 개발된 예측모델을 이용하여 온도변화에 따른 LT와 SGR의 예측값을 구하고 관측값과 비교한 그래프를 Fig. 1에 나타내었다. LT값은 관측값, 예측값 모두 5°C에서만 약 19시간으로 나타났고, 15, 25, 35°C에서는 약 5시간으로 나타나 LT값은 온도 증가에 반비례하여 감소하는 경향을 나타내었다. SGR의 관측값과 예측값은 5°C에서 각각 0.07, 0.08 log CFU/g로 매우 작았고 15°C에서 급격히 증가하여 35°C에서 모두 1.73 log CFU/g로 나타났다. 이러한 결과로 생육최적 온도에 가까워질수록 SGR값은 기하급수적으로 증가하고, 낮은 온도일수록 SGR값이 거의 0에 가깝게 나타나 증식에 불리하다는 것을 확인할 수 있었다. 김밥과 샌드위치의 *S. aureus* 성장예측모델을 square root model에 적용한 연구(33)에서도 SGR값은 온도가 높아질수록 기하급수적으로 증가하였고, LT값은 온도가 높아질수록 낮아져 본 연구의 결과와 일치하였다. 따라서 온도는 *S. aureus*의 생육변화에 주된 환경요인으로 작용한다는 것을 알 수 있었다.

Fig. 1. Values of lag time and specific growth rate of *S. aureus* obtained from predicted equation in cooked mung bean sprout.

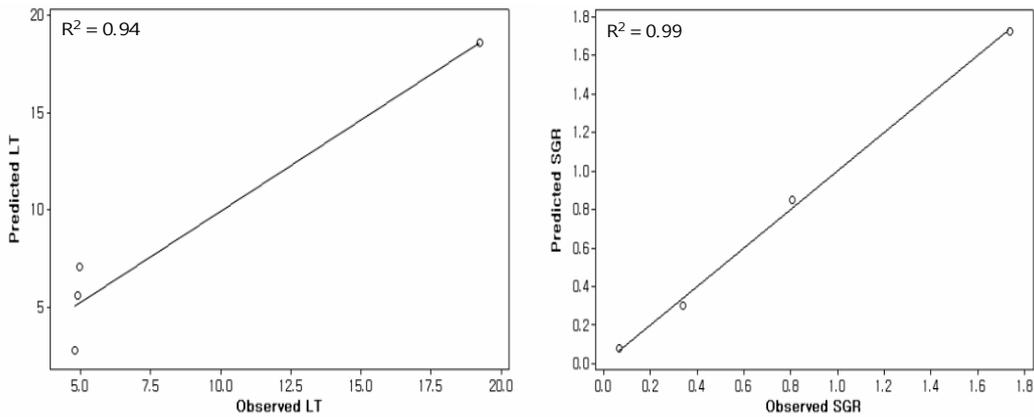


Fig. 2. Observed vs. predicted specific growth rates (SGR) and lag times (LT) of *S. aureus* in cooked mung bean sprout.

모델 적합성 평가

실험에 의해 관측된 값과 response surface model에 의해 얻어진 예측값의 상관관계를 살펴본 결과 R^2 값이 각각 0.94, 0.99로 밀접하게 나타났고(Fig. 2), 1에 가까운 값으로 나타나 적합도가 높았다(23,24).

예측모델의 수행을 평가하기 위하여 통계적 지표가 되는 MSE, B_f , A_f 값은 Table 2에 나타내었다. LT, SRG의 MSE값은 각각 0.020, 0.002로 0에 근접하여 높은 적합성을 보였다(24). B_f 값과 A_f 값은 이상적인 값이 1이고, 두 값 모두 1에 가까울수록 관측값과 예측값의 차이가 적다는 것을 나타낸다(25,34). 본 연구에서 B_f 값은 각각 0.97, 1.03으로 나타나 적합성이 높았고, A_f 값도 각각 1.31, 1.10을 나타내어 높은 정확도를 보였다. Seo 등(32)이 TSB medium에서 response surface model에 적용하여 개발한 *S. aureus*의 예측모델에서도 R^2 값이 0.94, MSE이 0.02, A_f , B_f 값이 각각 1.26, 1.02로 나타나 본 연구의 결과와 유사하였다. 이러한 결과를 근거로 숙주나물에 대한 *S. aureus*의 성장예측모델은 통계적으로 적합성이 높다고 할 수 있으며, 사용 가능한 모델로 판단된다. 따라서 숙주나물의 안전성 평가에 있어서 미생물의 정량적 위험성을 판단하는 기초 자료로 활용될 수 있을 것이다.

숙주나물의 섭취유효기간 설정

5°C는 *S. aureus*가 성장하기에 적합하지 않은 온도로 균

의 증식이 거의 나타나지 않았다. 15°C의 온도는 *S. aureus*의 발육온도 범위(7~48°C)에는 포함되나, 표준레시피 이용 및 식초 첨가 나물에서 72시간까지 약간의 *S. aureus* 증식만 나타나 5°C와 마찬가지로 성장하는데 어려움이 있다는 것을 알 수 있었다. 표준레시피 이용 나물은 *S. aureus*의 발육온도에 근접한 25°C에서 3시간부터 빠르게 성장하여 12시간에는 약 5.0 log CFU/g로 나타나 식중독의 위험성을 나타내었다. 35°C에서는 3시간부터 빠르게 성장하여 약 8시간에는 6.0 log CFU/g를 초과하여 독소생성 가능성을 보였다. 조리된 계란의 경우 18°C에서는 *S. aureus*가 6.0 log CFU/g 이상 증식하여도 독소가 생성되지 않았지만 22, 30°C에서는 8.0 log CFU/g 이상으로 증식하여야 독소가 생성되었다(20). 우유에서는 25, 32°C에서만 7.0 log CFU/g 이상으로 증식하였을 때 독소가 생성된다고 보고하였다(35). 따라서 숙주나물은 조리 후 약 10°C 이하의 낮은 온도에서 보관해야 하고, 25°C 이상에서 보관할 경우에는 12시간 이전, 35°C 이상에서는 6시간 이전에 섭취하여야 할 것이다.

식초 첨가 숙주나물의 *S. aureus* 성장 특성

식초를 첨가한 숙주나물(실험군)은 pH 측정 결과 4.78로 나타나 *S. aureus*의 성장에 부적절한 조건이었다(29). 일반세균과 대장균군은 각각 1.36, 0.62 log CFU/g로 검출되었고, 대장균은 검출되지 않았다. Table 3과 같이 표준레시피 이용 숙주나물(대조군)과 비교해 본 결과 pH($p < 0.001$)와 일반세균($p < 0.01$)에서 유의적인 차이를 보였다. *S. aureus*의

Table 2. Statistical indices of the secondary modeling step for lag time (LT) and specific growth rate (SGR) of *S. aureus* in cooked mung bean sprout

Growth parameters	R^2 (3)	MSE (4)	B_f (5)	A_f (6)
LT (1)	0.94	0.020	0.97	1.31
SGR (2)	0.99	0.002	1.03	1.10

¹⁾LT: lag time.

²⁾SGR: specific growth rate.

³⁾ R^2 : coefficient of determination.

⁴⁾MSE: mean square error.

⁵⁾ B_f : bias factor.

⁶⁾ A_f : accuracy factor.

Table 3. pH measurement and microbiological contamination level in cooked mung bean sprout

	pH	Type		F-value
		Control	Experimental	
		6.32 ± 0.17 (1)	4.78 ± 0.99	192.95***
Microbial count	Aerobic plate count	3.00 ± 0.17	1.36 ± 1.06	14.04**
	Coliforms (log CFU/g)	1.63 ± 1.27	0.62 ± 0.96	2.42

¹⁾Three times trail. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Table 4. Growth of *S. aureus* in cooked mung bean sprout at different temperatures

Temperature (°C)	Type	Microbial count		F-value
		Mean±SD (log CFU/g)		
		y ₀ ¹⁾	y _{max} ²⁾	
5	Control	3.12±0.68 ³⁾	3.34±0.55	17.65**
	Experimental	3.02±0.00	2.00±0.00	
15	Control	3.20±0.54	3.58±0.10	36.12***
	Experimental	3.02±0.73	2.54±0.42	
25	Control	3.20±0.38	5.00±0.43	16.44**
	Experimental	3.02±0.00	2.54±0.00	
35	Control	3.21±0.39	7.01±0.80	18.55**
	Experimental	3.31±0.26	2.00±0.00	

¹⁾y₀: initial cell count.

²⁾y_{max}: final cell count.

³⁾Three times trail.

p<0.01 *p<0.001

증식은 온도 변화에 상관없이 3.0 log CFU/g 수준으로 일정하게 유지되었고, 약간 감소하는 경향도 보여 5°C(p<0.01), 15°C(p<0.001), 25°C(p<0.01), 35°C(p<0.01)에서 대조군과 유의적인 차이를 나타내었다(Table 4). 이러한 결과는 김밥과 김초밥을 대상으로 한 연구에서 식초가 첨가된 김초밥에서는 일반세균, 대장균군이 10, 20°C에서 보관할 경우 48시간까지 거의 증식하지 않았고, 30°C에서는 약간의 증식만 보인 것(36)과 유사하였다. 식초는 숙주나물의 pH를 낮춰 *S. aureus* 성장조건에 불리한 조건으로 작용할 뿐만 아니라 다른 미생물의 생육도 억제하는 효과가 있었다. 따라서 기온이 높은 하절기에 숙주나물을 조리할 경우 섭취 기간을 연장하기 위하여 식초를 이용한 조리방법을 사용하는 것을 권장한다. 그러나 본 연구는 *S. aureus*의 성장을 기초로 섭취유효기간을 설정하였기 때문에, 정확한 섭취유효기간 설정을 위해서는 독소생성 및 일반세균, 대장균군, 대장균 등의 오염 지표균에 대한 추가 검증 연구가 수행되어야 할 것이다.

요 약

본 연구는 학교급식에서 제공되는 숙주나물의 안전성을 확보하기 위하여 수행되었다. 표준레시피를 이용하여 조리한 숙주나물에 대하여 예측 미생물학을 이용하여 숙주나물의 성장예측 모델을 개발한 후 보관기간을 설정하였고, 식초를 첨가하여 조리한 숙주나물의 *S. aureus* 성장과 비교하였다. 표준레시피를 이용하여 조리한 *S. aureus*는 성장하기에 적절한 pH(6.32)로 측정되었고, 온도 변화(5, 15, 25, 35°C)에 따라 빠르게 증식하였다. 성장예측모델을 개발하기 위하여 Gompertz model을 적용하여 생육 지표(LT, SGR)를 구한 결과 5°C를 제외하고 0.90 이상의 높은 R²값을 나타내어 이차모델의 변수 값으로 사용하기에 적합성이 높았다. Response surface model을 이용한 2차 모델에서는 LT, SGR의 R²값이 모두 0.94 이상으로 나타나 관측값과 예측값의 상관관계가

밀접하였다. MSE는 각각 0.020, 0.002로 나타났고, B_r와 A_r의 경우에도 이상적인 값인 1에 가까운 값으로 나타나 관측값과 예측값 간의 높은 정확성을 나타내었다. 따라서 본 연구의 *S. aureus* 성장예측모델은 통계적으로 적합성이 높다고 할 수 있으며, 사용 가능한 모델로 판단된다. 숙주나물의 보관기간은 *S. aureus*의 성장조건과 독소가 생성되는 6.0 log CFU/g을 근거로 설정하였다. 그 결과 10°C 이하의 낮은 온도에서 보관할 것을 권장한다. 25°C 이상에서 보관할 경우에는 12시간 이전, 35°C 이상에서는 6시간 이전에 섭취하여야 할 것이다. 숙주나물에 식초를 첨가한 결과 pH는 4.78로 나타나 *S. aureus*의 증식에 불리한 조건이었고, 균의 증식도 온도 변화와 상관없이 일정한 수준을 유지하거나 감소하였다. 따라서 기온이 높은 계절에는 식초를 이용하면 *S. aureus*에 대한 증식억제 효과를 나타내 숙주나물의 안전성을 높일 수 있을 것이다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구 조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음((KRF-2008-531-F00017)

문 헌

1. Park JK. 1990. The status of school food service program and its improvement proposal in Korea. *Korean J Nutr* 23: 213-218.
2. Ministry of Education Science & Technology. 2009. 2008 School Foodservices Statistics. Available at www.mest.go.kr. Accessed Aug 1, 2009.
3. Kim YH, Ryu K, Lee YK. 2009. Microbiological safety during delivering of food ingredients supplied to elementary school food services in Daegu and Gyeongbuk provinces - seafood, meat and frozen processing food-. *Korean J Food Preserv* 16: 276-285.
4. Yoo WC, Park HK, Kim KL. 2000. Microbiological hazard analysis for prepared foods and raw materials of foodservice operation. *Korean J Dietary Culture* 15: 123-137.
5. Tamarapu S, Mckillip JL, Drake M. 2001. Development of a multiplex polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *J Food Prot* 64: 664-668.
6. Pereira ML, Carmo do LS, Santos dos EJ, Bergdoll MS. 1994. Staphylococcus food poisoning from cream-filled cake in metropolitan area of south-eastern Brazil. *Rev Saude Publica* 28: 406-409.
7. Korea Food & Drug Administration. 2009. 2008 Foodborne Illness Statistics. Available at <http://www.kfda.go.kr>. Accessed August 1, 2009.
8. Woo SM, Jang SY, Kim OM, Youn KS, Jeong YJ. 2004. Antimicrobial effects of vinegar on the harmful food-borne organisms. *Korean J Food Preserv* 11: 117-121.
9. Koseki S, Isobe S. 2005. Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. *Int J Food Microbiol* 104:

- 239-248.
10. Park SY, Choi JW, Chung DH, Kim MG, Lee KH, Kim KS, Bahk GJ, Bae DH, Park SK, Kim KY, Kim CH, Ha SD. 2007. Development of a predictive mathematical model for the growth kinetics of *Listeria monocytogenes* in sesame leaves. *Food Sci Biotechnol* 16: 238-242.
 11. Geysen S, Escalona VH, Verlinden BE, Aertsen A, Geeraerd AH, Michiels CW, Van Impe JF, Nicolai BM. 2006. Validation of predictive growth models describing super-atmospheric oxygen effects on *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* on fresh-cut lettuce. *Int J Food Microbiol* 111: 48-58.
 12. Carrasco E, Perez-Rodríguez F, Valero A, Garcia-Gimeno RM, Zurera G. 2008. Growth of *Listeria monocytogenes* on shredded, ready-to-eat iceberg lettuce. *Food Control* 19: 487-494.
 13. Bahk GJ, Oh DH, Ha SD, Park KH, Joung MS, Chun SJ, Park JS, Woo GJ, Hong CH. 2005. Quantitative microbial risk assessment model for *Staphylococcus aureus* in Kimbab. *Korean J Food Sci Technol* 37: 484-491.
 14. Heo C, Kim WK, Choi YS, Kim CJ, Paik HD. 2008. Application of predictive microbiology for shelf-life estimation of Tteokgalbi containing dietary fiber from rice bran. *Korean J Food Sci Ani Resour* 28: 232-239.
 15. Heo C, Kim WK, Choi YS, Kim CJ, Paik HD. 2009. Shelf-life estimation of frankfurter sausage containing dietary fiber from rice bran using predictive modeling. *Korean J Food Sci Ani Resour* 29: 47-54.
 16. Lee HM, Lee GY, Yoon EK, Kim HJ, Kang YS, Lee DH, Park JS, Lee SH, Woo GJ, Kang SH, Yang JS, Yang KH. 2004. Computation of maximum edible time using monitoring data of *Staphylococcus aureus* in Kimbab and Food Micro Model. *J Fd Hyg Safety* 19: 49-51.
 17. Kim EJ. 2004. Analysis of microbiological hazards and quantitative microbial risk assessment of *Staphylococcus aureus* inoculated onto potentially hazardous foods in school foodservice operations. *MS Thesis*. Yonsei University, Seoul, Korea.
 18. Dahl CA, Matthews ME, Marth EH. 1981. Survival of *Streptococcus faecium* in beef loaf and potatoes of after microwave-heating in a simulated cook/chill foodservice system. *J Food Prot* 44: 128-132.
 19. KFDA. 2007. *Food Code*. Korea Food and Drug Administration.
 20. Yang SE, Yu RC, Chou CC. 2001. Influence of holding temperature on the growth and survival of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* and the production of *Staphylococcus* enterotoxin in egg products. *Int J Food Microbiol* 63: 99-107.
 21. Gibson AM, Bratchell N, Roberts TA. 1988. Predicting microbial growth: growth response of *Salmonella* in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. *Int J Food Microbiol* 6: 155-178.
 22. Bechmann IE, Jensen HS, Bøknase N, Warm K, Nielsen J. 1998. Prediction of chemical, physical and sensory data from process parameters for frozen cod using multivariate analysis. *J Sci Food Agric* 78: 329-336.
 23. Duffy LL, Vanderline PB, Grau FH. 1994. Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, Aw, nitrite and sodium ascorbate. *Int J Food Microbiol* 23: 377-390.
 24. Sutherland JP, Bayliss AJ, Robert TA. 1994. Predictive modelling of growth *Staphylococcus aureus*: the effects of temperature, pH and sodium chloride. *Int J Food Microbiol* 21: 217-236.
 25. Ross T. 1996. Indices for performance evaluation of predictive model in food microbiology. *J Appl Bacteriol* 81: 201-508.
 26. Ross T. 1999. *Predictive food microbiology models in the meat industry*. Meat and Livestock Australia, Sydney, Australia. p 196.
 27. Lindqvist R, Sylven S, Vagsholm I. 2002. Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. *Int J Food Microbiol* 78: 144-170.
 28. Atanassova V, Meindl A, Ring C. 2001. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal* enterotoxin in raw pork and uncooked smoked ham—a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. *Int J Food Microbiol* 68: 105-113.
 29. Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, Decastelli L, Mioni R, Scuota S, Bolzoni G, Di Giannatale E, Salinetti AP, La Salandra G, Bartoli M, Zuccon F, Pirino T, Sias S, Parisi A, Quaglia NC, Celano GV. 2005. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int J Food Microbiol* 98: 73-79.
 30. Min JH, Lee YK. 2004. Microbiological quality evaluation for implementation of a HACCP system in day-care center foodservice operations. I. Focus on heating process and after-heating process. *Korean J Nutr* 37: 712-721.
 31. Seol HR, Park HS, Park KH, Park AK, Ryu K. 2009. Microbiological evaluation of foods and kitchen environments in childcare center and kindergarten foodservice operations. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 252-260.
 32. Seo KY, Heo SK, Lee C, Chung DH, Kim MG, Lee KH, Kim KS, Bahk GJ, Bae DH, Kim KY, Kim CH, Ha SD. 2007. Development predictive mathematical model for the growth kinetics of *Staphylococcus aureus* by response surface model. *J Microbiol Biotechnol* 17: 1437-1444.
 33. Chung MS. 2007. Study on the risk management for risk reduction of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat foods (II). The final report of Korea Food and Drug Administration research project. Korea Health Industry Development Institute. Seoul, Korea.
 34. Skandamis PN, Nychas GE. 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTT 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pH and oregano essential oil concentrations. *Appl Environ Microbiol* 66: 1646-1653.
 35. Fujikawa H, Morozumi S. 2006. Modeling *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk. *Food Microbiol* 23: 260-267.
 36. Kim EJ, Kang SJ, Hahn YS. 2008. Storage characteristic comparison of laver-wrapped rice and laver-wrapped rice with vinegar. *Korean J Food Cookery Sci* 24: 99-105.