



Pseudomonas spp.에 의한 부패

김경미¹ · 이희영¹ · 이수민¹ · 박범영² · 오미화² · 윤요한^{1*}

¹숙명여자대학교 식품영양학과, ²농촌진흥청 국립축산과학원

Food Spoilage by *Pseudomonas* spp.

Kyungmi Kim¹, Heeyoung Lee¹, Soomin Lee¹, Beom-Young Park², Mi-Hwa Oh² and Yohan Yoon^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

²National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-350, Korea

Abstract

Pseudomonas spp. are Gram-negative psychrophilic bacteria, which can proliferate at refrigeration temperature. The bacteria produce heat-stable enzymes that can degrade fat and protein in foods. Hence, *Pseudomonas* spp. are related to the spoilage of milk, dairy products, and meat products under cold storage, causing economic loss. In the food industry, various methods have been used to remove bacteria including *Pseudomonas* spp. in food-related conditions, but they can be resistant to antimicrobials and sanitizers because they form biofilms regulated by quorum sensing (cell density-dependent cell-to-cell signaling). Since *Pseudomonas* cells in biofilms can cross-contaminate foods resulting in food spoilage and the survival of food-borne pathogens in food-related conditions, efficient decontamination technology and microbiological criteria should be established to reduce the occurrence of food spoilage by *Pseudomonas* spp.

Keywords: Food spoilage, *Pseudomonas*, biofilm, milk

서론

미생물에 의한 식품의 부패는 경제적 손실의 주요한 원인이 된다. 특히, 저온성 미생물 생장에 의한 부패는 식품산업에서 매우 우려하고 있는 부분이다(Dogan and Boor, 2003). 저온성 세균의 경우, 일반적으로 열처리 공정 후에 식품에 오염이 되고, 저온저장 조건에서 다른 세균들은 생장이 어렵기 때문에 저온성 세균이 우점종이 되어 식품의 부패의 원인이 된다(Ralyea *et al.*, 1998; Moseley, 1980). 이러한 저온 조건에서 식품 부패는 주로 *Pseudomonas* spp.가 관여를 한다(Cousin and Bramley, 1981).

Pseudomonas spp.는 그람음성의 간균이며, 저온성 미생물로 7°C 이하의 저온에서도 균체의 증식이 가능한 저온성

세균이며, 호기성 세균으로 주로 식품 부패의 원인이 되는 세균이다(Jay, 2000). 유가공 산업에서 우유와 유제품의 품질 유지의 목적으로 cold-chain을 오래 전부터 운영하고 있으나, 여전히 식품의 부패가 발생하는 원인은 우유에 존재하고 있는 저온성 미생물 때문인데, 그 중에서 *Pseudomonas* spp.가 가장 대표적인 것으로 알려져 있다(정 등, 1986). *Pseudomonas* spp.는 주로 토양이나 물에 존재하고, 식품에서 푸른색의 색소를 생산하며, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, and *Pseudomonas fragi*가 *Pseudomonas* spp. 중 식품 부패에 가장 밀접하게 관련이 되어 있는 종들이다(Arnaut-Rollier *et al.*, 1999; Bajpai *et al.*, 2008; Jay, 2000).

Pseudomonas spp.는 저온에 저장된 우유의 부패에 관여할 뿐만 아니라, 육제품의 저장 기간 동안에도 부패와 관련된 우점종으로 알려져 있다(Jay *et al.*, 2003; Ternstrom *et al.*, 1993). *Pseudomonas* spp.가 우유와 유제품에 오염이 되

* Corresponding author: Yohan Yoon, Dept. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea. Tel: +82-2-2077-7585, Fax: +82-2-710-9479, E-mail: yyoon@sookmyung.ac.kr

면 단백질과 지방분해 작용을 통해 제품의 품질을 저하시킨다. 특히 *P. fluorescens*는 내열성 protease를 생산하여 우유의 카제인을 분해하여 쓴맛을 발생시키거나 멸균된 우유의 경우는 겔(gel)화의 원인이 되기도 한다(박 등, 2006). 이 protease들은 120~149°C의 살균온도에서도 파괴되지 않기 때문에 *Pseudomonas* spp.가 우유에 오염되었을 때 살균과정을 거치면서 세균의 세포들은 파괴되지만, 효소들은 파괴되지 않고 존재하다가 식품, 특히 우유의 부패를 유도한다(Mayerhofer et al., 1973). 이러한 효소들은 식품에 칼슘이 존재하는 경우, 내열성이 더욱 증가한다(Feder et al., 1971). 또한 *P. fluorescens*는 자연치즈에서 pyoverdine이라고 하는 푸른 색소를 생산하여 치즈를 부패시키는 원인세균이다(Martin et al., 2011). *P. fragi*가 식품에 오염되면 딸기향과 같은 부패취를 발생시키는데, 이는 ethyl esters 그룹인 butyric, hexanoic, ethyl hexanoate, 3-methylbutanic acid에 의해 발생된다(Cormier et al., 1991; Morgan, 1970; Pereira and Morgan, 1958; Reddy et al., 1968). *Pseudomonas* spp. 중 *P. aeruginosa*는 녹농균으로 알려져 있는 기회성 감염균으로 창상 등을 통해 인체에 감염되면 형광성 색소인 pyocyanin을 생성할 뿐만 아니라, *P. aeruginosa*를 제어할 수 있는 항생물질이 몇 종류에 불과하여 이 세균을 제어하기 위한 연구도 현재 활발히 진행되고 있는 실정이다(음지성, 2012).

세균들은 식품의 표면이나 식품의 접촉하는 표면에 생물막(biofilm)을 생성한다. 생물막은 항균제나 살균제에 대한 저항성을 증가시켜 생존한 후에 식품에 교차오염되어 질병이나 식품 부패의 원인이 될 수 있다(Chmielewski and Frank, 2003). *Pseudomonas* spp.도 extracellular polymeric substance (EPS)를 생산하여 생물막을 형성하여 자신을 보호하면서 생존하고, 생물막 안에 *Listeria*나 *Salmonella*와 같은 다른 세균들과 공존한다(Barnes et al., 1999). 이러한 생물막에 존재하는 *Pseudomonas* spp.가 우유나 유가공품 또는 다른 가공식품에 오염되어 식품 부패의 원인이 된다. *Pseudomonas* spp.의 생물막을 제거하기 위해 산성과 염기성 세척제의 효과를 시험한 결과, 1 log 정도의 세균 수만 감소하였다(Gibson et al., 1999). 이외에도 다양한 물리적 처리, 화학적 처리, 생물학적 처리 등 다양한 방법을 이용하여 생물막을 제거하기 위한 연구가 진행되고 있다(이영덕, 2013). 하지만 *Pseudomonas* spp.에 의한 식품 부패 특히 유가공 분야에서 식품 부패가 여전히 발생하고 있다.

이에 본 총설에서는 *Pseudomonas* spp.에 의한 식품 부패에 대해 전반적으로 고찰해 보고자 한다.

본 론

1. *Pseudomonas* spp.의 부패기작

저온성 미생물은 원유에 존재하는 세균의 상당한 비중을 차지하며, 전형적으로 원유에서 분리되는 저온 세균 중 65~70%를 차지하는 그룹은 *Pseudomonas* spp.이다(Griffiths et al., 1987). *Pseudomonas* spp.의 특징은 저온(3~7°C)에서도 성장할 수 있으며, 큰 분자의 단백질과 지질을 가수분해하여 이용하여 성장한다(Ledenbach and Marshall, 2010). 저온 세균은 일반적으로 우유 가공 공장에서 살균 후에 오염이 되어 가공된 유제품에 들어가게 된다. 이러한 세균들은 가공유의 초기 미생물의 작은 부분을 차지하지만, 냉장 저장 동안 생장 조건이 맞추어지면서 저온 세균들이 증식하게 되고, 점차 우점하게 된다(Ralyea et al., 1998). *Pseudomonas* spp.는 버터밀크와 사워크림의 diacetyl의 함량을 줄여서 acetaldehyde에 대한 diacetyl의 비율의 불균형을 초래해 우유가 녹색을 띠거나 혹은 요거트와 같은 냄새를 나게 한다(Cousin, 1982; Wang and Frank, 1981). 커티지 치즈의 경우, 일반적인 pH가 4.5~4.7로, 그람 음성의 저온 세균 생장에 유리한 범위이며(Cousin, 1982), 크림화된 커드의 pH는 5.0~5.3으로 위 세균의 생장에 더욱 적합한 범위를 갖는다. 또한, 커티지 치즈의 일반적인 소금 함량은 오염된 세균의 생장을 제한하는 데에는 불충분하여 저온 세균이 커티지 치즈의 유통기한을 설정하는 데 있어 중요한 요인으로 간주된다(Ledenbach and Marshall, 2010).

냉장 저장동안 *Pseudomonas* spp.가 높은 수로 증식하는 것에 더불어 이들 중 많은 strain들에서 우유의 부패에 영향을 주게 되는 열안정성 세포의 lipase, protease, lecithinase 등을 생성하게 된다(Champagne et al., 1994; Sorhaug and Stepaniak, 1997). 이러한 효소들은 효소 생성 세균을 사멸시키는 가열 공정 단계 이후에도 여전히 남아서 활성을 나타내면서 우유의 품질 저하를 일으켜 가공 우유의 유통기한을 감축시킨다(Dogan and Boor, 2003). 예를 들어, protease에 의한 casein의 분해는 우유의 쓴맛과 응집반응, 겔화 반응을 초래한다. Lipase는 tributyrin과 지질을 가수분해하여 유리지방산을 생성함으로써 우유의 산패미, 쓴맛, 비누향을 일으키며, lecithinase는 우유의 지질 구상체 막을 분해하고, lipase에 대한 우유 지질의 감수성을 증가시킨다. 우유의 지질과 단백질의 가수분해 생성물은 가공 우유 제품의 관능성을 감소시킨다. 식품에 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL수준 저온 세균은 관능검사로 감지 가능할 만큼 우유에 결함을 일으키는 세포의 효소를 생성한다(Fairbairn and Law, 1987). 일부 연구는 시험된 원유 시료 중 70~90%에서 149°C에서 10초간 열을 가한 후에도 proteinase를 생성 가능한 저온 세균들을 가지고 있었다(Adams et al., 1975). 세포의 protease는 다양한 방법으로 우유의 품질에 영향을 미치지만, 큰 영향은 쓴

맛 펩타이드를 생성하는 것이다. 내열성을 갖는 protease는 초고온 살균(UHT) 우유의 부패를 일으키는 원인이 된다(Shah, 1994). 더욱이, phospholipase 또한 열에 안정하다. 원유에서 phospholipase 생성은 우유에 본래 있는 lipase에 의해 유리지방산 증가로 인해 이취 발생을 초래하기도 한다(Fox et al., 1976). 또한 세균의 열안정성 lipase는 UHT 우유에서 산패미와 관련돼 있다. *P. fluorescens*는 우유와 유제품에서 lipase 생성을 하는 가장 흔한 저온 세균이다. 중쇄유리지방산은 비누향미를 내는 반면, 단쇄유리지방산의 증가는 산패취와 이취를 발생시킨다(Deeth and Fitz-Gerald, 1983). 불포화 유리지방산의 aldehyde와 ketone으로의 산화는 산화냄새를 초래하고, 과일 신맛 향은 *P. fragi*에 의한 단쇄유리지방산의 지질 분해 후 알콜과의 에스테르화에 따른 것이다(Reddy et al., 1968).

버터의 생산에 있어, 지질 분해는 크림을 휘젓는 동안 과도한 거품을 일으켜서 휘젓는 시간을 증가시키게 된다. 버터의 산패는 원유에서의 미생물의 lipase 활성화 혹은 버터 완제품에서 잔존해 있던 열안정성을 갖는 미생물의 lipase 때문에 초래된다. 산패된 크림의 단쇄유리지방산이 버터밀크에서 부분적으로 소실되었다고 하더라도 미생물의 lipase는 버터에 남아 냉동 보관 중에도 지방을 가수분해할 수 있다(Nashif and Nelson, 1953). 낮은 pH는 lipase의 활성을 제한하나, 브리와 까망베르와 같은 일부 치즈에서는 숙성하는 과정 중 pH가 중성 부근으로 높아짐에 따라 지질 분해가 잘 이루어지게 되고, 전지분유와 같은 제품은 잔존해 있는 열에 안정한 미생물의 lipase에 의해 영향을 받는다.

2. *Pseudomonas* spp. 오염 분포

Pseudomonas spp.는 원유에서 발견되는 그람 음성 세균 중 하나로, 원유에서 가장 빈번하게 검출되는 저온성 세균이며, 총 세균 중 50% 이상을 차지한다(Champagne et al., 1994). *Pseudomonas* spp. 중에서도 특히 *P. fluorescens*와 *P. fragi*가 주로 발견되며, 원유에서 다른 저온성 세균보다 *Pseudomonas* spp.가 많이 발견되는 이유는 성장속도가 비교적 크기 때문으로 사료된다(Touch and Deeth, 2009).

Lee 등(1990b)은 우리나라 경기지방의 농장에서 채취한 원유의 미생물 분포를 확인하였으며, 저온성 세균 중에 *Pseudomonas* spp.가 44.1%의 높은 비율로 검출되었다. 또한 So 등(1992)은 우리나라 원유에서 분리해 낸 300개의 저온성 세균 중에 49%가 *Pseudomonas* spp.으로 확인되었다고 발표하였으며, Shin 등(1993)은 200개의 분리된 저온성 세균의 64%가 *Pseudomonas* spp.로 동정되었다고 발표하였다. 국외의 경우, 일본에서 1년 간 원유를 채취하여 미생물 분석을 시행한 결과, 원유의 저온성 세균 중 *Pseudomonas*

spp.가 82.1%의 비율을 차지하였다는 연구 결과가 있었으며(Kikuchi and Matsui, 1974), Martins 등(2006)은 *Pseudomonas* spp.가 브라질에서 원유 미생물 분석 시 가장 많이 검출되었다고 보고하였다. 호주와 미국의 경우에도 Wiedmann 등(2000)과 Gunasekera 등(2003)은 연구결과를 통해 원유에서 검출되는 저온성 세균 중 *Pseudomonas* spp.가 가장 높은 비율을 차지하였음을 확인할 수 있었다.

원유에서 발견되는 *Pseudomonas* spp.의 검출 정도는 계절별 차이를 보이는데, 여름철은 미생물 더 잘 오염될 수 있는 환경이기에 위생관리에 심혈을 기울이지만, 겨울철에서는 위생관리가 비교적 소홀해져 원유의 *Pseudomonas* spp.의 검출률이 더 높다는 연구결과가 있다. 반면, 여름철이 일반적으로 미생물의 생장이 잘 일어나는 온도이므로 여름철에 겨울철보다 저온성 세균이 많이 검출된다는 연구결과도 있다.

우리나라의 경상남도 북부지역에서 계절별로 원유를 채취하여 저온성 미생물의 분포를 확인한 결과, 겨울철에 채취한 시료의 세균수가 가장 높게 나타났다(Lee et al., 1990a). 또한 Shin 등(2013)이 우리나라 경기 동부·동남부·동북부·서부·남부·북부·중부, 안산, 경인지역 총 9지역의 목장에서 계절별(1, 4, 7, 10월)로 원유를 수집하여 저온성 세균의 균수를 확인한 결과, 봄철 원유에서 저온성 세균수는 3.9×10^3 CFU/mL가 검출되어 가장 낮았고, 여름철과 가을철에는 각각 8.7×10^3 , 5.9×10^3 CFU/mL가 검출되었으며, 겨울철 원유에서 검출된 저온성 세균의 수는 30×10^4 CFU/mL로 가장 높았다. 이스라엘에서도 계절별(1, 4, 7, 9월)로 원유를 채취하여 *Pseudomonas* spp.가 속하는 *Gammaproteobacteria*의 세균수를 분석한 연구를 진행하였고, 우리나라의 연구결과와 유사하게 여름철보다 겨울철에 더 높은 세균수가 검출되었다(Elionora and Malka, 2007). 브라질 남부의 가공공장에서 원유를 채취하여 저온성 세균의 균수를 측정된 결과도 여름철에 비하여 겨울철에 채취한 원유에서 저온성 세균의 균수가 더 많았으며, $2.0 \times 10^5 \sim 1.6 \times 10^7$ CFU/mL범위로 확인되어 Shin 등(2013)의 연구결과보다 더 많은 균수가 확인되었다. 일본에서 진행된 연구결과도 마찬가지로 겨울철 원유가 여름철 원유보다 검출된 저온성 세균이 많았으며, 이는 여름철에 원유 착유 시 사용되는 기구를 철저히 세척, 살균하기 때문으로 사료된다(Kikuchi and Matsui, 1974). 반면, 영국에서는 여름철 원유가 겨울철 원유보다 저온성 세균이 더 많이 검출되었으며, 여름철에 중온성 미생물의 생장이 감소함에 따라 저온성 세균의 생장이 더 활발해졌기 때문으로 사료된다. 이와 같이 나라별로 저온성 미생물의 계절별 검출 정도 차이를 보이며, 경우에 따라 상반되는 결과를 보이기도 한다. 또한 원유를 바탕으로 제조

된 유제품 Kareish cheese, ice cream, processed cheese에서는 각각 12.5% 22.5%, 0%의 시료에서 *P. aeruginosa*가 검출되었다는 보고가 있다(Nazem *et al.*, 2010).

Pseudomonas spp.는 육류의 표면에서 호기적 부패를 일으키는 원인균이기도 하다(Ayres, 1950). Jung과 Cho(1991)는 우리나라 냉장우유에 존재하는 세균의 분리 및 동정 시 검출된 49.0%의 저온성 세균 중 *P. putida*가 44.7%, *P. stutzeri* 18.1%, *P. picketti* 11.7%, *P. fluorescens* 9.6%로 *Pseudomonas* spp.가 96.8%를 차지하였다고 발표하였다. 저온성 세균 중 *Pseudomonas* spp.의 비율이 압도적으로 높은 이유는 도살 해체 직후의 우유 표면은 수분이 많아서 *Pseudomonas* spp.가 편모를 활용하여 다른 세균보다 훨씬 빠르고 견고하게 부착하기 때문으로 사료된다(Gill and Newton, 1982).

3. 생물막(Biofilm)

세균들은 물질 표면에 부착하여 생육하면서 polysaccharide 등의 EPS를 생산하여 자신을 보호하면서 어려운 조건에서도 생존이 가능하다(Costerton *et al.*, 1987). 또한 생물막은 식품공장에서 세균을 제거하기 위해 사용하는 세척제에 대해 저항성을 가지고 있어 세균을 제거하는데 어려움이 있다. 세척과정 동안 제거되지 않은 세균은 식품에 교차 오염되어 식중독이나 식품 부패의 원인이 된다(Gibson *et al.*, 1999). *Pseudomonas* spp.도 물질의 표면에 생물막을 형성하고, 이로 인해 식품 부패를 발생시킬 수 있다(Barnes *et al.*, 1999). *Pseudomonas* spp.는 편모, 섬모, 부착단백질 또는 표면 전하를 이용하여 물질 표면에 부착을 하고 EPS를 생산하면서 미세집락(microcolony)을 형성한 후 성숙(maturation) 단계를 거치면서 생물막을 형성한다(Davey and O'Toole, 2000; Kumar and Anand, 1998). 이러한 생물막을 형성하기 위해 *Pseudomonas* spp.는 AHL(N-acylhomoserine lactone)을 신호전달물질로 사용하는 신호전달체계인 퀴럼센싱을 이용하는 것으로 알려져 있다(Smith and Ahmer, 2003).

물질표면에 형성된 *Pseudomonas* spp.의 생물막은 세척과정에서 잘 제거되기가 어려워, 식품산업에서 향후 적극적으로 해결해야 할 문제점이다. 식품산업에서 사용하고 있는 세척제의 대부분은 지방이나 단백질을 제거하기 위한 알칼리 성분이 대부분을 이루고 있다. Wirtanen 등(1993)이 알칼리성세제와 산성세제의 생물막 제거능 효과를 비교한 결과, 알칼리성세제가 생물막을 제거시키는데 더 효과적인 것으로 나타났다. 스테인레스 표면에 형성된 *Pseudomonas* spp. 생물막에 대해 Gibson 등(1999)이 산성과 알칼리성 세척제의 생물막 제거능 실험을 한 결과, 약 1 log 정도의 효과만 나타났다. 하지만, Wirtanen 등(1993)은 높은 온도(125℃)와 세척제를 혼합하여 적용한 경우, 생물막이 약 3 log 정도까

지 감소하였다. 이 결과로 볼 때 *Pseudomonas* spp.의 생물막을 제거하기 위해서는 세척제만 사용하기 보다는 다른 물리적 또는 화학적인 방법을 병용하여 사용해야 할 것으로 사료된다.

4. *Pseudomonas*로 인한 부패 방지 방법

우유는 일반적으로 가열·살균 처리를 통하여 변패미생물을 사멸시키는데, 가열 살균은 효과적이고 경제적인 반면, 우유의 성분을 파괴하고 변화시키는 등의 품질 저하를 유발한다. 우유의 살균 및 멸균법은 다양하며, 일반적으로 저온 장기간 살균법(low temperature long time, LTLT), 고온 단기간 살균법(high temperature short time pasteurization, HTST), 초고온 멸균법(ultra high temperature sterilization, UHT) 세 가지를 이용한다. 또한 열처리에 고전압 펄스 이용을 추가한 고전압 펄스 전기장(pulsed electronic field, PEF)을 이용하기도 하는데, 액상식품을 1초 이내에 살균 가능하고 연속처리가 가능하여 경제성이 높다는 특징을 가진다(Qin *et al.*, 1998).

지방 함량 3.4%인 우유에 PEF를 가했을 때 *P. fluorescens*가 비교적 낮은 온도 범위에서 처리 온도가 증가함에 따라 사멸 효과가 눈에 띄게 증가하였고, 전기장 세기 60 kV/cm, 50℃에서 210 μ s 동안 우유에 적용한 8 log cycle의 세균이 모두 멸균되었다고 보고하여 우유 살균에 대한 PEF의 효과를 입증하였다(정, 2000). 살균과정을 거친 우유라 할지라도 2차 오염의 가능성이 있으며, 이는 열교환기의 냉각부, 완충탱크, 충전기에 의한 원유 혼입, 부적절하게 세척 또는 살균된 기계에 의한 세균의 혼입 및 포장라인에서 대기 중 세균의 혼입에 의해 발생 가능하다. 2차 오염을 통해 유입된 세균은 초기에는 미량일지라도 부적절한 유통온도에 노출되면 급속히 성장하여 우유의 부패로 이어질 수 있으며, *Pseudomonas* spp.의 경우 우유의 냉장 유통과정에서 총 세균수에 대한 비율이 상당히 높아지기 때문에 2차 오염되는 세균 중에서 가장 중요하다(Durr, 1975; LaGrange, 1961). 따라서 *Pseudomonas* spp.의 2차 오염을 완벽히 방지할 경우 우유의 냉장 유통기한이 상당히 연장될 것으로 사료되기에(Choi, 2001) HACCP 시스템에 대한 연구가 많이 이루어졌으며, 무균포장 방법의 응용을 통한 살균유의 저온성 세균 오염 차단 효과 또한 제시되었다. 2차 오염 방지를 위한 방안 중 하나로 ESL(extended self life) 시스템에 대한 연구가 이루어졌는데, ESL 시스템을 거치는 우유는 열처리 과정까지는 다른 우유와 동일하지만, 수유라인부터 충전에 이르기까지 2차 오염원의 유입을 최소화함으로써 전통 살균법에 의한 제품보다 유통기한을 연장할 수 있다는 특징을 가진다. 우리나라에서는 PL법(제조물책임법)이 2002년

부터 시행되고, 우유에 대한 안전성에 대한 요구가 높아짐에 따라 매일유업이 최초로 ESL 우유를 생산하였으며(Kim et al., 2003), 미국과 캐나다에서는 이 시스템을 이용한 우유를 일반적으로 45~60일 동안 냉장 유통하였다(Debra, 1999).

더 나아가 우유와 유제품의 살균과정에서 이산화탄소를 첨가하는 방법도 있으며, 이를 통해 많은 세균의 생장률이 감소되고 원유의 품질 유지가 좋아질 수 있다(Dixon and Kell, 1989; King and Mabbit, 1982). 최대 36 mM의 이산화탄소를 함유한 우유를 가열하였을 때 *P. fluorescens*의 생존률이 감소하였으며(Loss and Hotchkiss, 2002), 689 kPa의 압력과 6.1 °C의 환경에서 이산화탄소를 함유한 우유를 살균하였을 때 세균수가 감소하여 고품질 상태의 우유의 지속상태가 길어졌다는 연구가 보고되었다(Rajagopal et al., 2005). 하지만 본 방법은 이산화탄소가 우유에 용해되면서 pH가 낮아져서 산미가 날 수 있으며, CO₂를 다시 제거한다고 해도 이전의 pH로 돌아가지 않는다는 단점이 있다(Ruas-Madiedo et al., 1998; Ma et al., 2001). 이 외의 우유 살균의 방법으로는 통전가열(ohmic heating), 극초단파 가열(microwave heating), 자외선 복사(UV radiation), 전자빔 복사(electron beam radiation), 적외선 조사(infrared processing), 고압 아크방전(high voltage arc discharge) 등이 있다.

우유는 대개 가열과 조사를 통해 *Pseudomonas* spp.를 제어하고 있지만, 다른 식품의 경우에는 천연 살균제를 첨가하여 이를 제어하기도 한다. Ryu 등(2007)은 클로버 오일을 이용하여 생마 신선편의식품 중의 *Pseudomonas rhodesiae*를 제어하는 연구를 진행한 결과, 무처리 또는 멸균수 및 NaOCl 처리를 한 시료의 경우 초기농도 10³ CFU/g이었던 *P. rhodesiae*가 14일 저장 후 10⁸ CFU/g 이상으로 성장한 반면, 클로버 오일에 침지한 시료는 14일 저장 후 10⁴ CFU/g로 거의 세균수의 증가는 보이지 않아 클로버 오일의 효능을 확인하였다. *P. aeruginosa*는 대부분의 천연물에 대해 항균반응을 나타내지 않는데(Hooi et al., 2004; Ryu et al., 2007), 산사자(crap apple)의 methanol 추출물은 항생제 내성을 보이는 *P. aeruginosa* 균주에 대하여 8.0~8.5 mm 정도의 생육활성을 나타내었으며, ethylacetate 및 buthanol 분획이 가장 우수한 항균활성을 보였다(Ryu and Ahn., 2010). 이와 같이 *Pseudomonas* spp.으로 인한 식품 부패를 방지하기 위한 많은 기술들이 연구·개발되었고, 현재 잘 적용되고 있으며, 더 좋은 방법을 위한 연구들이 진행되고 있다.

5. 국내 우유의 유형 분류 및 미생물 관리 기준

우리나라 축산물 가공기준 및 성분 규격에서는 유가공품을 원유 또는 유가공품을 원료로 하여 가공한 우유류, 저지방우유류, 유당분해우유, 가공우유, 산양유, 발효우유, 버터

우유, 농축우유, 유크림류, 버터류, 치즈류, 분유류, 유청류, 유당, 유단백 가수분해식품, 조제우유, 아이스크림류, 아이스크림분말류, 아이스크림믹스류 등의 제품을 말한다. 미생물 관리 기준은 세균수(우유류, 저지방 우유류, 유당분해우유, 가공우유, 산양유의 경우 1 mL당 20,000 이하)와 대장균군(우유류, 저지방 우유류, 유당분해우유, 가공우유, 산양유의 경우 n=5, c=2, m=0, M=10, 멸균 제품은 음성)에 한하여 정량 기준이 마련되어 있고, 주요 식중독 세균(*Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7)은 축산물의 공동기준으로 적용되어 n=5, c=0, m=0/25 g으로 관리되고 있다(식품의약품안전처, 2013). 그러나, *Pseudomonas* spp.의 경우 우유류와 같은 축산물 등에서 쉽게 분리되나, *Pseudomonas* spp.에 대한 미생물 관리 기준은 아직 마련되어 있지 않다.

유가공품의 제외국 미생물 관리기준은 세균수와 대장균군 등의 기준으로 관리되고 있어 국내의 경우와 비슷하나, EU에서는 세균수와 대장균군뿐만 아니라, Enterobacteriaceae도 유가공품의 분류에 따라 정량 기준으로 관리되고 있다(Ledenbach and Marshall, 2010). 그러나, 국내와 마찬가지로 미국, EU, 호주, 뉴질랜드 등의 유가공품의 소비가 많은 나라에서도 *Pseudomonas* spp.에 대한 미생물 관리 기준은 마련되어 있지 않고, 부패 세균의 미생물 기준은 세균수(aerobic colony count)로 함께 관리되고 있다. *Pseudomonas* spp.는 냉장 온도에서도 충분히 식품의 부패를 일으킬 수 있고(Mead, 2004), 생성한 생물막은 *Listeria*와 같은 다른 유해 세균들이 서식 가능한 환경을 조성해준다는 점을 고려한다면, 유가공품의 미생물 관리 기준에서 부패 세균에 대한 기준을 세균수로 일괄 관리하는 것보다는 *Pseudomonas* spp.와 같이 위해 가능성을 가지고 있는 부패 세균에 대한 개별 기준 마련을 고려해 보아야 할 것으로 사료된다.

결론

Pseudomonas spp.는 토양이나 물에 존재하면서 식품에 오염되어 내열성이 강한 효소를 생산하여 단백질이나 지방을 분해하고, 부패를 발생시키는 부패세균이며, 저온성 미생물로서 7°C 이하에서 증식이 가능하기 때문에 저온에 주로 저장되는 우유, 유가공품, 육제품 등에서 흔하게 발견되는 부패세균이다. 식품이 생산되는 환경에서는 물질 표면에 부착하여 생물막을 생성하고, 세척제에 사멸되지 않아 식품에 교차오염되어 식품을 부패시킨다. 또한 *Pseudomonas* spp.는 식품에서 성장하면서 생물막을 형성시키거나, 아질산염 환원 등을 통해 병원성 세균들이 생존할 수 있는 조건을 형성시킬 수 있는 세균임에도 불구하고 관리기준이 마련되어

있지 않다. 따라서 *Pseudomonas* spp.를 효과적으로 제어하기 위해 효과적인 물리적, 화학적 방법을 적용해야 하고, 관리기준 또한 마련되어야 할 것이다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ00923702)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Adams, D. M., Barach, J. T. and Speck, M. L. 1975. Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. *J. Dairy Sci.* 58:828-834.
- Arnaut-Rollier, I., Vauterin, L., De Vos, P., Massart, D. L., Devriese, L. A., De Zutter, L. and Van Hoof, J. 1999. A numerical taxonomic study of the *Pseudomonas* flora isolated from poultry meat. *J. Appl. Microbiol.* 87: 15-28.
- Ayres, J. C., Oglivy, W. S. and Stewart, G. F. 1950. Post-mortem changes in stored meats. I. Microorganism associated with the development of slim on eviscerated cut up poultry. *Food Technol.* 4:199-205.
- Bajpai, V. K., Rahman, A., Dung, N. T., Huh, M. K. and Kang, S. C. 2008. *In vitro* inhibition of food spoilage and foodborne pathogenic bacteria by essential oil and leaf extracts of *Magnolia liliflora* Desr. *J. Food Sci.* 73: M314-M320.
- Barnes, L. M., Lo, M. F., Adsams, M. R. and Chamberlain, A. H. 1999. Effect of milk proteins on adhesion of bacteria to stainless steel surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4543-4548.
- Champagne, C. P., Laing, R. R., Roy, D. and Mafu, A. A. 1994. Psychrotrophs in dairy products: Their effects and their control. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34:1-30.
- Chmielewski, R. A. N. and Frank, J. F. 2003. Biofilm formation and control in food processing facilities. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety* 2:22-32.
- Choi, S. H. 2001. Microbiological quality and detection method of post-pasteurization contamination of milk. *J. Korean Dairy Technol. Sci.* 19:116-124.
- Cormier, F., Raymond, Y., Champagne, C. P. and Morin, A. 1991. Analysis of odor-active volatiles from *Pseudomonas fragi* grown in milk. *J. Agric. Food Chem.* 39:159-161.
- Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M. and Marrie, T. J. 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* 41:435-664.
- Cousin, C. M. and Bramley, A. J. 1981. The microbiology of raw milk. pp. 119-163. In: Robinson, R. K. (Ed.), *Dairy microbiology*. Applied Science Publishers, Englewood, NJ. USA.
- Cousin, M. A. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *J. Food Prot.* 45:172-207.
- Davey, M. E. and O'Toole, G. A. 2000. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64:847-867.
- Debra, K. H. 1999. Extended shelf-life milks in North America: a perspective. *Int. J. Dairy Technol.* 52:95-101.
- Deeth, H. C. and Fitz-Gerald, C. H. 1983. Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity in milk and milk products. pp.195-239. In: Fox P. F. (Ed.) *Developments in dairy chemistry, Part II*. Applied Science. London. UK.
- Dixon, N. M. and Kell, D. B. 1989. A review - the inhibition by CO₂ of the growth and metabolism of microorganisms. *J. Appl. Bacteriol.* 67:109-136.
- Dogan, B. and Boor, K. J. 2003. Genetic diversity and spoilage potentials among *Pseudomonas* spp. isolated from fluid milk products and dairy processing plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:130-138.
- Durr, R. 1975. Development of psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. at French dairy farms. *Dairy Sci. Abst.* 31:7195.
- Elionora, H. and Malka, H. 2007. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:7162-7168.
- Fairbairn, D. J. and Law, B. A. 1987. The effect of nitrogen and carbon sources on proteinase production by *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Bacteriol.* 62:105-113.
- Feder, J., Garrett, L. R. and Wildi, B. S. 1971. Studies on the role of calcium in thermolysin. *Biochemistry.* 10:4552-4555.
- Fox, C. W., Chrisope, G. L. and Marshall, R. T. 1976. Incidence and identification of phospholipase C-producing bacteria in fresh and spoiled homogenized milk. *J. Dairy Sci.* 59:1857-1864.

23. Gibson, H., Taylor, J. H., Hall, K. E. and Holah, J. T. 1999. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. *J. Appl. Microbiol.* 87:41-48.
24. Gill, C. O. and Newton, K. G. 1982. Effect of lactic acid concentration on growth on meat of gram-negative psychrotrophs from a meatworks. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:284-288.
25. Griffiths, M. W., Phillips, J. D. and Muir, D. D. 1987. Effect of low temperature storage on the bacteriological quality of raw milk. *Food Microbiol.* 4:285-291.
26. Gunasekera, T. S., Dorsch, M. R., Slade, M. B. and Veal, D. A. 2003. Specific detection of *Pseudomonas* spp. in milk by fluorescence *in situ* hybridization using ribosomal RNA directed probes. *J. Appl. Microbiol.* 94:936-945.
27. Hooi, D. S. W., Bycroft, B. W., Chhabra, S. R., Williams, P. and Pritchard, D. I. 2004. Differential immune modulatory activity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing signal molecules. *Infect. Immun.* 72:6463-6470.
28. Jay, J. M. 2000. Taxonomy, role, and significance of microorganisms in foods. pp.13-34. In: *Modern food microbiology*. Apac Publishers Services, Singapore.
29. Jay, J. M., Vilai, J. P. and Hughes, M. E. 2003. Profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5~7°C. *Int. J. Food Microbiol.* 81:105-111.
30. Jung, H-M. and Cho, K-P. 1991. Microbial distribution in refrigerated beef. *Korean Jour. Microbiol.* 29:195-198.
31. Kikuchi, M. and Matsui, Y. 1974. Transition of the number of bacteria and bacterial flora in bulk-cooled milk. *Japanese J. Dairy Sci.* 45:592-596.
32. Kim, E. R., Jung, B. M., Yu, B. H., Jung, H. K., Kang, K. H. and Chun, H. N. 2003. Comparative characterization of the bacteria isolated from market milk treated with ESL and conventional system. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 23:327-332.
33. King, J. S. and Mabbitt, L. A. 1982. Preservation of raw milk by the addition of carbon dioxide. *J. Dairy Sci.* 49:439-447.
34. Kumar, C. G. and Anand, S. K. 1998. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 42:9-27.
35. LaGrange, W. S. and Nelsom, F. E. 1961. Identification of psychrotrophic bacteria of raw milk in bulk tank. *J. Dairy Sci.* 44:1440-1445.
36. Ledenbach, L. H. and Marshall, R. T. 2010. Microbiological spoilage of dairy products. pp. 41-67. In: *Sperber, W. H. and Doyle, M. P. (Ed.). Food microbiology and food safety*. Springer, New York, NY, USA.
37. Lee, K. C., Shon, S. K. and Ahn, D. W. 1990a. A study on the microbiological quality of raw milk in the north of Kyungnam area. *Korean J. Vet. Ser.* 13:27-31.
38. Lee, Y. Y., So, Y. M., Yoon, S. S. and Oh, D. H. 1990b. Occurrence of psychrotrophic bacteria and isolation of protease producing psychrotrophs in raw milk. *Korean J. Dairy Sci.* 12:342-349.
39. Loss, C. R. and Hotchkiss, J. H. 2002. Effect of dissolved carbon dioxide on thermal inactivation of microorganisms in milk. *J. Food Prot.* 65:1924-1929.
40. Ma, Y., Barbano, D. M., Hotchkiss, J. H., Murphy, S. and Lynch, J. M. 2001. Impact of CO₂ addition to milk on selected analytical testing methods. *J. Dairy Sci.* 84:1959-1968.
41. Martin, N. H., Murphy, S. C., Ralyea, R. D., Wiedmann, M. and Boor, K. J. 2011. When cheese gets the blues: *Pseudomonas fluorescens* as the causative agent of cheese spoilage. *J. Dairy Sci.* 94:3176-3183.
42. Martins, M. L., Pinto, C. L., Rocha, R. B., Araujo, E. F. and Vanetti, M. C. 2006. Genetic diversity of gram-negative, proteolytic, psychrotropic bacteria isolated from refrigerated raw milk. *Int. J. Food Microbiol.* 111:144-148.
43. Mayerhofer, H. J., Mrshall, R. T., White, C. H. and Lu, M. 1973. Characterization of a heat-stable protease of *Pseudomonas fluorescens* P26. *Appl. Microbiol.* 25:44-48.
44. Mead, G. C. 2004. Microbiological quality of poultry meat: a review. *Braz. J. Poult. Sci.* 6:135-142.
45. Morgan, M. E. 1970. Microbial flavor defects in dairy products and methods for their simulation. II. Fruity flavor. *J. Dairy Sci.* 53:273-275.
46. Moseley, W. K. 1980. Pinpointing post-pasteurization contamination. *J. Food Prot.* 43:414.
47. Nashif, S. A. and Nelson, F. E. 1953. The lipase of *Pseudomonas fragi*. III. Enzyme action in cream and butter. *J. Dairy Sci.* 36:81-488.
48. Nazem, A. M., Amer, A. A. and Soukayna, A. E-A. 2010. Prevalence of some food poisoning microorganisms in some dairy products. *Alex. J. Vet. Science.* 30:1-6.

49. Pereira, J. N. and Morgan, M. E. 1958. Identity of esters produced in milk cultures of *Pseudomonas fragi*. J. Dairy Sci. 41:1201-1205.
50. Qin, B. L., Barbosa-Canovas, G. and Swanson, B. G. 1998. Inactivating microorganisms using a pulsed electric field continuous treatment system. J. IEEE. 34:43-50.
51. Rajagopal, M., Werner, B. G. and Hotchkiss, J. H. 2005. Low pressure CO₂ storage of raw milk: microbiological effects. J. Dairy Sci. 88:3130-3138.
52. Ralyea, R. D., Wiedmann, M. and Boor, K. J. 1998. Bacterial tracking in a dairy production system using phenotypic and ribotyping methods. J. Food Prot. 61: 1336-1340.
53. Reddy, M. C., Bills, D. D., Lindsay, R. C., Libbey, L. M., Miler, A., III and Morgan, M. E. 1968. Ester production by *Pseudomonas fragi*. I. Identification and quantification of some esters produced in milk cultures. J. Dairy Sci. 51:656-659.
54. Ruas-Madiedo, P., Bascaran, V., Brana, A., Bada-Gancedo, J. C. and Reyes-Gavilan, de los, C. J. 1998. Influence of carbon dioxide addition to raw milk on microbial levels and some fat-soluble vitamin contents of raw and pasteurized milk. J. Agric. Food Chem. 46:1552-1555.
55. Ryu, H-Y. and Ahn, S-M. 2010. Antimicrobial activity of fruit of *Crataegus pinnatifida* Bunge against multi-drug resistant pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida* sp. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 38:77-83.
56. Ryu, H-Y., Park, S-J., Lee, B-H. and Sohn, H-Y. 2007. Control of Yam-putrefactive psychrotrophic bacterium using clove oil and preparation of functional fresh-cut. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 35:66-72.
57. Shah, N. P. 1994. Psychrotrophs in milk: a review. Milchwissenschaft 49:432-437.
58. Shin, Y. K., Kwak, H. S. and Kim, J. W. 1993. Identification of psychrotrophic bacteria in raw milk. Korean J. Dairy Science. 15:87-94.
59. Shin, Y. K., Lee, H. A., Oh, N. S. and Nam, M. S. 2013. Seasonal, regional distribution and identification of psychrotrophic bacteria in milk. CNU J. Ag. Sci. 40:27-34.
60. Smith, J. L. and Ahmer, B. M. 2003. Detection of other microbial species by *Salmonella*: expression of the SdiA regulon. J. Bacteriol. 185:1357-1366.
61. So, M. H., Yoon, S. S. and Kim, Y. B. 1992. Psychrotrophic microflora in raw milk and their proteolytic and lipolytic ability. Korean J. Dairy Sci. 14:43-51.
62. Sorhaug, T. and Stepaniak, L. 1997. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. Trends Food Sci. Technol. 8:35-40.
63. Ternstrom, A., Lindberg, A-M. and Molin, G. 1993. Classification of the spoilage flora of raw and pasteurized bovine milk, with special reference to *Pseudomonas* and *Bacillus*. J. Appl. Microbiology. 75:25-34.
64. Touch, V. and Deeth, H. C. 2009. Microbiology of raw and market milks. pp. 50-58. In: Adnan Y. (Ed.) Milk processing and quality management. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.
65. Wang, J. J. and Frank, J. F. 1981. Characterization of psychrotrophic bacterial contamination of commercial buttermilk. J. Dairy Sci. 64:2154-2160.
66. Wiedmann, M., Weilmeier, D., Dineen, S. S., Ralyea, R. and Boor, K. J. 2000. Molecular and phenotypic characterization of *Pseudomonas* spp. isolated from milk. Appl. Environ. Microbiol. 66:2085-2095.
67. Wirtanen, G. and Matilla-Sandholm, T. 1993. Epifluorescence image analysis and cultivation of foodborne biofilm bacteria grown on stainless steel surfaces. J. Food Prot. 56:678-683.
68. 박승용, 백영진, 정충일, 조진국, 김기일, 배귀식. 2006. 응용축산미생물학. 유한문화사.
69. 식품의약품안전처. 2013. 축산물의 가공기준 및 성분규격.
70. 음지성. 2012. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27835에 대한 약용식물 추출물들의 활성. 한국정보통신학회논문지. 16:1799-1804.
71. 이영덕, 유혜림, 박종현. 2013. 생물막 형성 *Bacillus cereus*에 대한 유기산, 에탄올 및 NaCl의 제어효과. 한국식품과학회지. 45:120-125.
72. 정관재. 2000. 고전압 펄스 전기장을 이용한 우유의 살균. 연세대학교 대학원 석사학위논문.
73. 정충일, 강국희, 이재영. 1986. 원유의 저온성 세균의 증식에 의한 유질변화에 관한 연구. 한국식품위생안전성학회지. 1:151-156.