



## 우유의 저장 온도가 황색포도상구균의 성장과 독소 생성에 미치는 영향

김기환 · 박범영 · 오미화 · 김현욱\*

농촌진흥청 국립축산과학원

### Effect of Storage Temperature on Growth and Toxin Production of *Staphylococcus aureus* in Milk

Ki-Hwan Kim, Beam Young Park, Mi-Hwa Oh and Hyoun Wook Kim\*

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

#### Abstract

Food borne pathogens are a growing concern for human health and food safety throughout the world. Milk and dairy products are commonly associated with spoilage or contamination from a wide variety of physical, microbial, and chemical hazards. Milk was inoculated with *Staphylococcus aureus* and stored at 5, 10, 15, 25, and 35°C for 7 days, and we monitored the growth change and the variance of toxin production. The growth rate of *S. aureus* was suppressed in low temperature. We confirmed that growth rate and toxin production were accelerated when the storage temperature was increased. *S. aureus* began to produce toxins when the number of bacteria was higher than 10<sup>5</sup> CFU/mL. Therefore, managing the storage temperature of milk is important to inhibit the growth and the toxin production of *S. aureus*.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, enterotoxin, milk, storage

#### 서 론

우유는 우수한 영양성분으로 인하여 가장 완벽한 식품으로 평가 받고 있지만, 우수한 영양성분으로 인하여 미생물의 증식에 좋은 환경을 제공할 수 있기 때문에 병원성 미생물 등 미생물의 오염에 주의하여야 한다(Kim, 2000; Lee *et al.*, 2011). 우유 및 유제품은 생산으로부터 최종제품까지 외부환경의 노출, 이물의 혼입 등에 의해 생물학적 위해요소에 노출될 가능성이 높기 때문에, 적절한 위생관리방법이 중요하며, 모든 과정에서 미생물의 오염 및 증식을 막기 위하여 낮은 온도에서 저장하여야 한다.

CODEX의 ‘Code of hygienic practice for milk and milk

products’ 중 5.2 위생 제어 체제의 중요 사항들, 5.2.1 온도와 시간의 제어에서는 안전하고 위생적인 제품의 생산을 위하여 우유 생산에서부터 최종제품까지 온도관리가 중요하다고 강조하고 있으며, ‘축산물의 가공기준 및 성분규격’에서는 “식육 또는 살균 또는 멸균처리 하였거나 더 이상 가공, 가열조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 가공품에서는 특성에 따라 살모넬라(*Salmonella* spp.), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*), 장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*), 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*), 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*), 대장균 O157:H7(*Escherichia coli* O157:H7) 등 식중독균이 검출되어서는 아니된다.”라고 명시하고 있다.

*Staphylococcus aureus*는 화농성질환 및 식중독의 원인균으로서(Ryu *et al.*, 1995; Yi and Hong, 1999) 식품 위생산중요하게 다루어지고 있는 세균이며, 이 세균은 저항성이 강

\* Corresponding author: Hyoun Wook Kim, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-350, Korea. Tel: +82-31-290-1220, Fax: +82-31-290-1697, E-mail: woogi78@korea.kr

하여 공기, 토양 등 자연계에 광범위하게 분포하고 있으며, 식품에 쉽게 오염된다(Cho, 1995). *S. aureus*에 의한 식중독은 *Clostridium botulinum* 식중독과 마찬가지로 균이 식품 내에서 증식하면서 생성된 독소를 섭취함으로써 발생하는 독소형 식중독이다(Cho, 1995; Yi and Hong, 1999). 이 균이 생산한 독소는 내열성이 강하기 때문에 가공과정 중 파괴되지 않고 우유 중에 잔류하여 식중독을 유발할 수 있기 때문에 우유의 생산 및 유통과정 중에 오염이 될 경우 대형 식중독 사고로 이어질 수 있다. 따라서 우유의 생산 및 유통과정 중에 적절한 온도관리가 필요하다.

따라서 본 연구는 우유의 저장 중 *S. aureus*에 대한 안전성을 확보하기 위한 기초자료로서 우유의 저장온도 및 시간에 따른 성장의 정도와 독소생성량을 조사하였다.

## 본 론

본 실험에 사용한 *Staphylococcus aureus* KCCM 12103 균주는 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양받아 사용하였다. *S. aureus*는 실험 전 Tryptic Soy Broth(TSB, Difco, Detroit, MI, USA)에 접종한 후 30°C에서 24시간동안 배양한 후 사용하였으며, 균주의 활성을 높이기 위하여 3회 반복하여 전배양한 후 사용하였다. 실험에 사용한 시료는 제조 2일 이내의 시유를 시중에서 구입하여 사용하였다. 시료 200 mL *S. aureus*의 최종 농도  $1 \times 10^3$  CFU/mL가 되도록 접종한 후, 5, 10, 15, 25, 35°C에서 저장하면서 최초 24시간

동안은 1시간 간격으로 시료를 채취하였고, 이후 28, 36, 72, 96, 120, 144, 168시간 간격으로 시료를 채취하여 실험에 사용하였다.

각 시간별로 채취한 시료 10 mL를 0.1% 멸균 펩톤수를 이용하여 단계 희석한 다음, Tryptic Soy Agar에 도말하여 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 모든 시료는 밀리리터당 콜로니형성단위(CFU/mL)로 측정된 후 Log CFU/mL로 전환하였으며, 모든 실험은 2개 시료를 1개 세트로 하여 3회 반복 실험하였다. 우유의 저장 온도 및 시간에 따라 *S. aureus*이 생산하는 장독소(enterotoxin)를 검사하였다. 독소 생성은 Tecra® Staph Enterotoxin Visual Immunoassay kit를 사용하여 측정하였으며, 414 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 결과를 확인하였다.

우유의 저장온도에 따른 *S. aureus*의 성장 변화를 확인하기 위하여 *S. aureus*를 접종한 우유를 각각 5, 10, 15, 25, 35°C에서 저장하면서 7일 동안 성장 변화를 측정하였다. 실험결과, 5°C 시료의 경우 균 증식이 일어나지 않았으며, 저장 72시간 이후 소폭 감소하기 시작하였다(Fig. 1).

*S. aureus*의 최저증식온도는 약 8°C인 것으로 알려져 있으며, Fujikawa 등(2006)은 *S. aureus*의 증식을 예측할 수 있는 최저온도는 5.4°C라고 보고하였는데, 본 실험에서는 5°C에서 저장하였을 경우 *S. aureus*의 증식이 억제됨을 확인하였다.

10°C 시료의 경우, 저장 48시간까지 증식이 일어나지 않았으나, 저장 72시간 이후 증가하기 시작하였다(Fig. 2). Moon

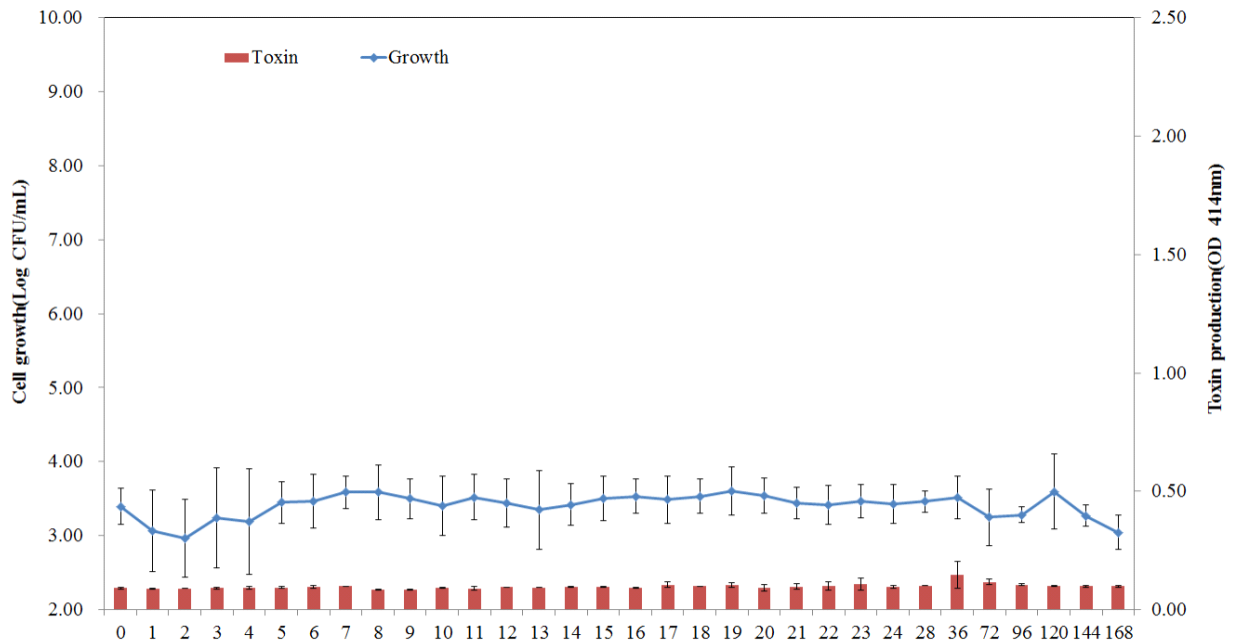


Fig. 1. Growth and toxin patterns of *S. aureus* at 5°C in milk.

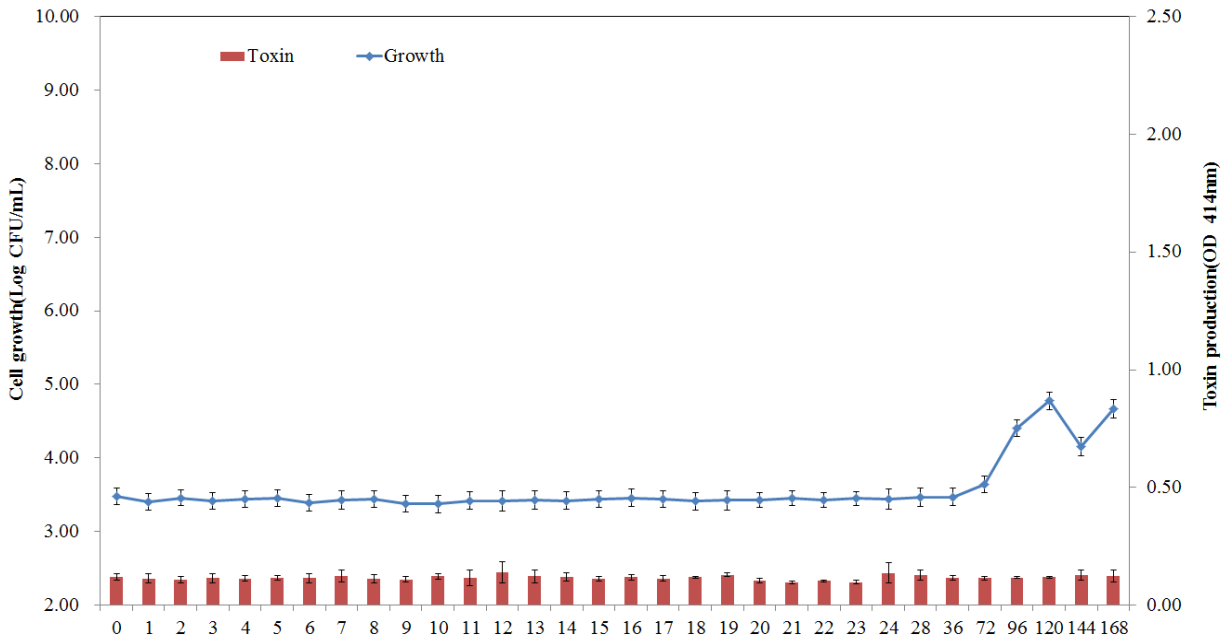


Fig. 2. Growth and toxin patterns of *S. aureus* at 10°C in milk.

등(2005)은 균의 성장속도는 초기균수보다는 온도에 지배적인 영향을 받는다고 하였는데, 5°C 시료와 10°C 시료의 실험결과를 저장온도의 영향으로 초기에 환경에 적응하는 과정에서 성장이 지연되었기 때문이라고 판단된다.

15°C에 저장한 시료는 저장 3시간째부터 증가하기 시작하여 저장이 종료시점까지 꾸준히 증가하였다. 25°C 및 35°C에

저장한 시료는 저장 3시간째부터 증가하기 시작하였으며, 25°C 시료의 경우, 저장 72시간 꾸준한 증식을 나타내었으며 이후 일정한 균수를 유지하였다. 35°C 시료의 경우, 저장 18시간까지 급격한 증식을 나타내다가 이후 일정한 균수를 유지하였으며, 저장 96시간 이후 감소하기 시작하였다(Fig. 3~5).

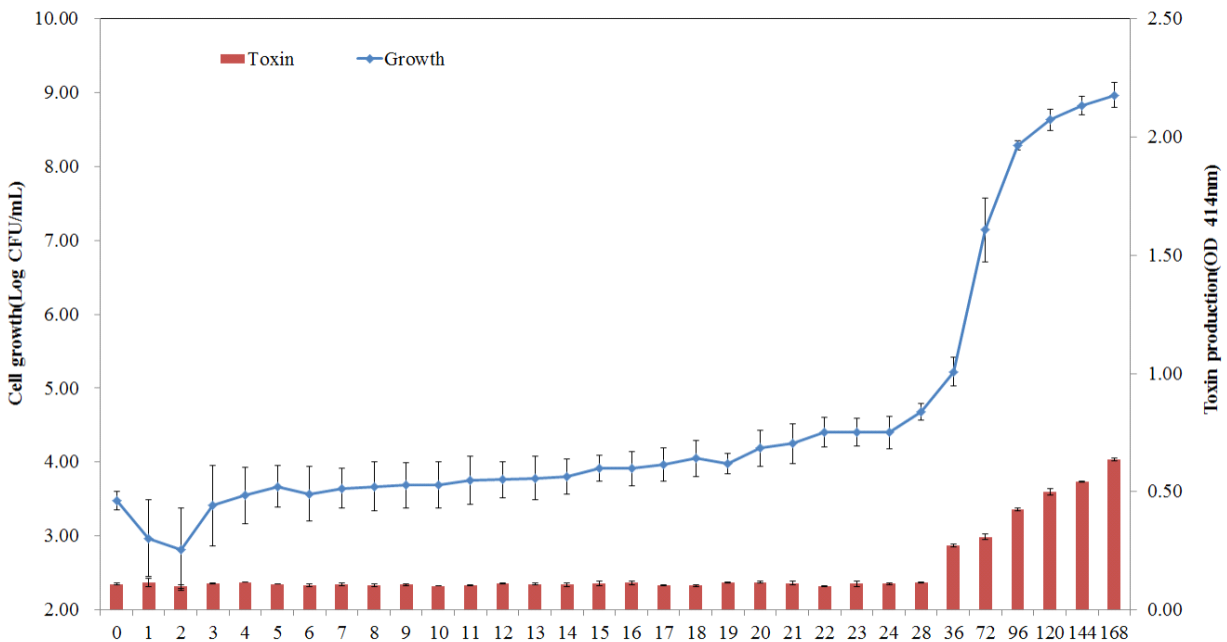


Fig. 3. Growth and toxin patterns of *S. aureus* at 15°C in milk.

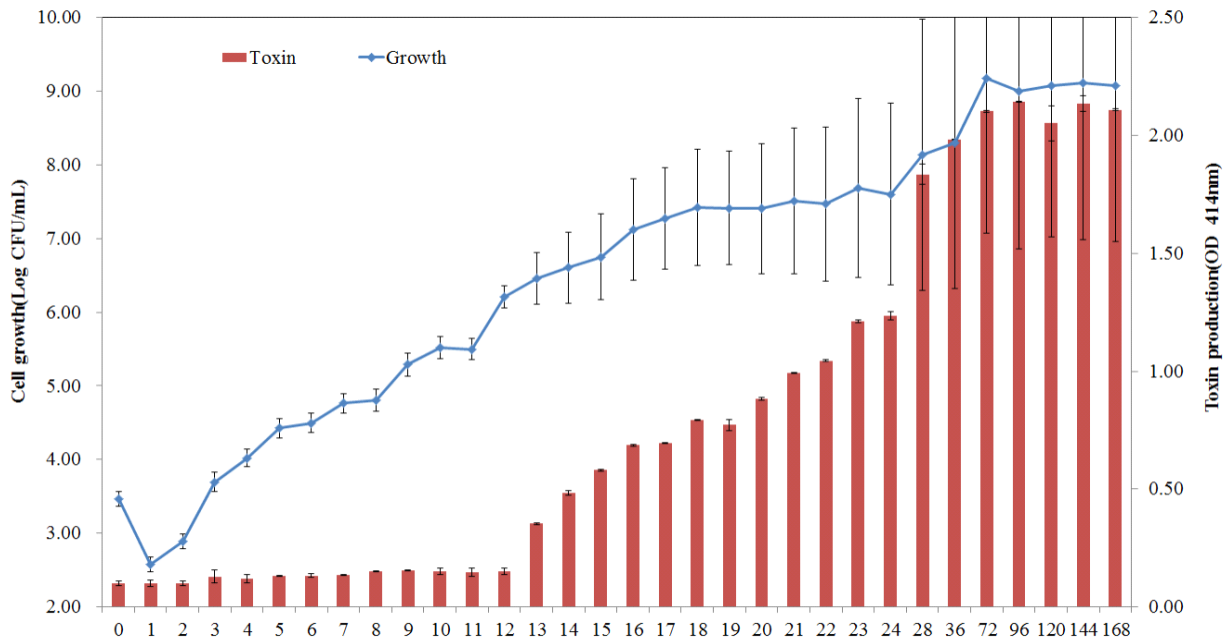


Fig. 4. Growth and toxin patterns of *S. aureus* at 25°C in milk.

우유 등 식품에 오염된 *S. aureus*는 식품 중에서 증식하면서 장독소를 생성하고, 이 독서를 식품과 함께 섭취하면서 식중독이 발병하게 된다. 우유의 저장 온도 및 시간에 따른 *S. aureus*의 장독소(enterotoxin) 생성량의 변화를 확인한 결과, 5°C와 10°C 저장 시료의 경우 독소를 생성하지 않는 것으로 나타났다. 15°C 시료의 경우, 저장 28시간까지 독

소를 생성하지 않았으나, 저장 36시간 이후 독소를 생성하기 시작하였으며, 25°C 시료의 경우 저장 13시간부터 독소를 생성하기 시작하여 저장 종료시점까지 꾸준히 독소생성량이 증가하였다. 35°C 시료는 저장 6시간째부터 독소생성이 시작하여 이후 *S. aureus*의 증식에 따라 급격히 증가하였다(Fig. 5). *S. aureus*는  $10^5 \sim 10^6$  이상이 되었을 때 독소를

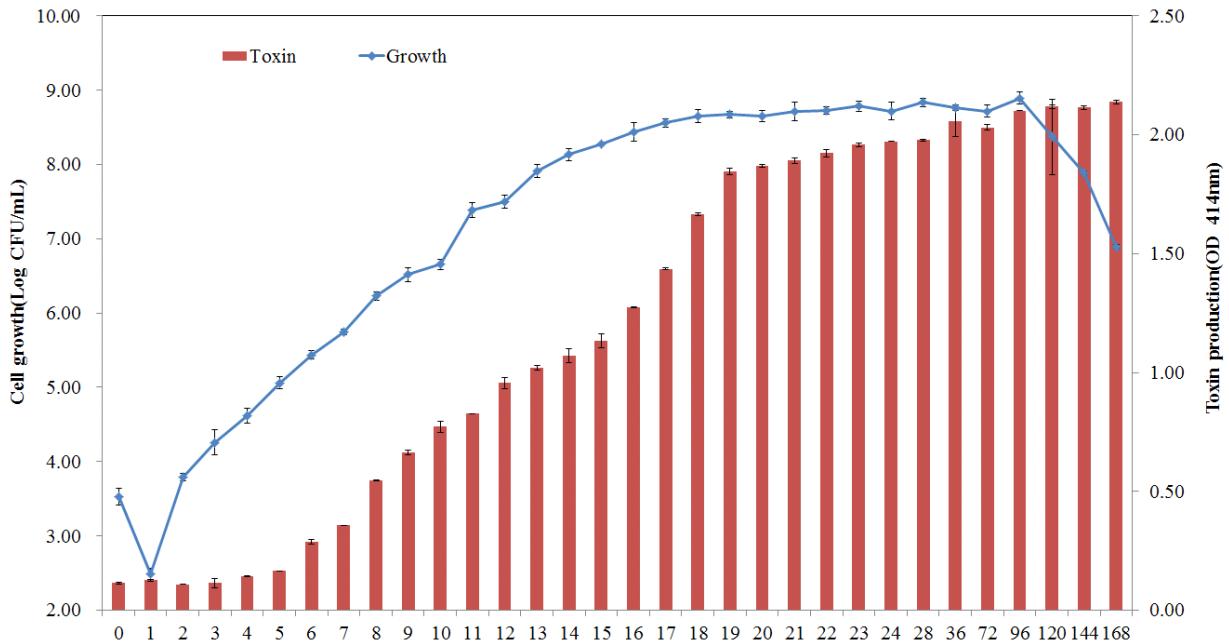


Fig. 5. Growth and toxin patterns of *S. aureus* at 35°C in milk.

생성하기 시작한다고 알려져 있다. Jablonski와 Bohage(2001)은 *S. aureus*는  $10^3 \sim 10^5$  CFU/g에서부터 인체에 유해한 장독소를 생성한다고 보고하였는데, 본 실험의 결과, 각 저장 온도에서 *S. aureus*의 균수가  $10^5$  CFU/mL 이상 되는 시점부터 독소를 생성하는 것으로 나타났는데, 이 결과는 Jablonski와 Bohage(2001)의 보고와 유사한 것으로 판단된다.

축산물의 가공기준 및 성분규격에서는 우유 등 축산식품의 저장·유통온도는 4~10°C로 설정하고 있다. 시판 우유의 유통기간은 일반적으로 14일 정도로 알려져 있는데, 본 실험의 결과, 우유의 저장·유통과정에서 *S. aureus*의 증식을 억제하기 위해서는 5°C 이하로 저장할 필요가 있는 것으로 판단된다.

## 결론

자연계에 널리 분포되어 있는 세균의 하나인 *S. aureus*는 식중독뿐만 아니라, 화농·중이염·방광염 등 화농성 질환을 일으키는 원인균으로서, 우리나라에서는 살모넬라균과 장염비브리오균과 함께 대표적인 식중독 원인균이다. *S. aureus*는 증식온도 8~45°C, 수분활성도 0.84~0.86, pH 4.5~9.3의 환경에서도 생존할 수 있는 것으로 알려져 있으며, 동결제품에서는 수년동안, 건조제품에서는 수주에서 수개월 동안 생존할 수 있는 것으로 알려져 있다. *S. aureus*는 80°C에서 30분 동안 가열하면 사멸하지만, 이 균이 생성한 장독소는 100°C에서 30분간 가열하여도 파괴되지 않기 때문에, 우유 및 유제품의 가공·유통과정 중 주의를 기울여야 한다.

*S. aureus* 균을 접종한 우유를 온도별(5, 10, 15, 25, 35°C)에서 7일 동안 배양하면서 균의 성장 변화와 독소 생성능을 확인한 결과, 균수가 5 log CFU/mL 정도로 성장하였을 때 독소를 생성하기 시작하는 것으로 나타났으며, 35°C의 경우 약 6시간 경과 후, 25°C는 약 13시간 후부터 독소를 생성하는 것으로 나타났다.

본 연구의 결과, 우유 및 유제품에 오염된 *S. aureus*가 독소를 생성하기 위해서는 균수와 온도가 미치는 영향이 큰 것으로 판단되었으며, 우유 및 유제품의 원재료의 오염과 제조과정 중의 교차오염을 최소화해야 하고, 가공·유통과정 중 온도의 관리를 통해 세균의 성장을 저해하는 것이 *S. aureus*에 의한 식품안전사고 예방과 식품안전관리에 중요한 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 퀴놀론계 항

생물질의 ELISA 활용 진단기술 개발, 과제번호: PJ00932902)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

## 참고문헌

1. Cho, D. T. 1995. Significance of methicillin-resistant *S. aureus* as a nosocomial pathogen. *J. Infection* 27:11-13.
2. CODEX ALIMENTARIUS. 2009. Code of hygienic practice for milk and milk products. CAC/RCP 56-2004.
3. Food Doctors. 2008. The food safety file: *Staphylococcus aureus*. a: [http://www.fooddoctors.com/fsf/s\\_aureus.pdf](http://www.fooddoctors.com/fsf/s_aureus.pdf)
4. Fujikawa, H. and Morozumi, S. 2006. Modeling *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk. *Food Microbiol.* 23:260-267.
5. Granum, P. E. and Lund, T. 1997. *Bacillus cereus* enterotoxins. *FEMS Microbiol. Lett.* 157:223-228.
6. Jablonski, L. M. and Bohach, G. 2001. *Staphylococcus aureus*. In: Doyle M. P., Beuchat, L. R., Montville, T. J. (ed): *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. Washington: ASM Press, 411-434. ISBN 15-558-11175.
7. Kim, O. K. 2000. Implementation of HACCP system of dairy products for safety and hygienic quality in Korea. *J. Korean Dairy Techno. Sci.* 18:9-21.
8. Lee, K. H., Ahn, J. H., Park, J. S. and Jeong, S. H. 2011. The influence of food-and mouth disease on dairy industries and safety management of dairy products. *Food Sci. Indust.* 44:16-28.
9. Moon, S. Y., Woo, G. J. and Shin, I. S. 2005. Development of predictive growth model of *Listeria monocytogenes* using mathematical quantitative assessment model. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37:194-198.
10. Ryu, P. Y., Kim, Y. I., Rhee, J. H., Chung, S. S., Ahn, T. H., Shin, J. H., Ryang, D. W., and Kim, Y. H. 1995. Antimicrobial resistance and plasmid profile of methicillin-resustrant *S. aureus*. *J. Infection* 27:15-29.
11. Yi, D. H. and Hong, H. S. 1999. Isolation and cultural conditions of *Actinomycetes* strain producing effective antibiotic for MRSA. *건국기술연구논문집*, 24
12. 식품의약품안전처. 2014. 축산물의 가공기준 및 성분규격. 식약처 고시 제2011-43호.

(Received 25 November, 2014 / Accepted 2 December, 2014)