

식품 오염 미생물 분석을 위한 콤팩트 드라이법 평가

정수진^{1*} · 한상하^{1*} · 강준구² · 송민수² · 송혜원² · 이하림¹ · 유지수^{2,3} · 이경옥^{1,4} · 하상도^{1,2*}

¹중앙대학교 일반대학원 식품공학부 식품생명공학과

²중앙대학교 일반대학원 식품공학부 식품안전규제과학과

³롯데중앙연구소

⁴현대그린푸드 식품안전실 식품위생연구소

Evaluation of a Compact Dry Method for Enumerating Bacteria in Contaminated Foods

Soo-Jin Jung^{1*}, Sangha Han^{1*}, June Gu Kang², Min Su Song², Hyewon Song²,
Harim Lee¹, Jisu Yu^{2,3}, Kyung Ok Lee^{1,4}, Sang-Do Ha^{1,2*}

¹Department of Food Science and Biotechnology, Chung-Ang University, Anseong, Korea

²Department of Food Safety and Regulatory Science, Chung-Ang University, Anseong, Korea

³Lotte R&D Center, Seoul, Republic of Korea

⁴Food Safety Division Research Institute of Food Hygiene, Hyundai green food, Yongin, Korea

(Received July 8, 2024/Revised August 20, 2024/Accepted August 20, 2024)

ABSTRACT - The present study aimed to compare the accuracy of the compact dry and culture plate methods for natural flora (yeasts/molds, coliforms, and total bacterial count) and artificial inoculum (*Escherichia coli*) in *dosirak* (meat-based), meal kits (seafood-based), and *Doenjang* (traditional food). Compact dry TC, EC, CF, and YMR were compared with culture plate methods using a suitable medium for each bacterium. The total bacterial count, coliforms, yeasts/molds, and *E. coli* were assessed with 3M Petrifilm (aerobic bacterial, coliform, yeast/mold, and *E. coli* count plates) using culture plate methods. Analysis of the recovery rates of target microorganisms in the three food samples showed that the compact dry method for total bacteria, coliforms, and *E. coli* exhibited recovery capabilities equivalent to those of the culture plate and Petrifilm methods, with no significant differences ($P>0.05$). Overall, compact dry TC, CF, and EC showed a good correlation between the methods used in this study, indicating rapid and convenient microbial enumeration by saving time and requiring less space.

Key words: Compact Dry method, Ready-to-use medium, Culture plate method, Microbial analysis, Recovery test, Food safety

식품위생의 향상과 함께 식품수출 경쟁력을 강화하여 무역산업의 진흥을 도모하기 위하여 국가별 식품공정서는 국제화되고 있는 추세이며, 미국, 일본, 캐나다, 호주, 뉴질랜드 등의 주요선진국은 선진화된 공정서 운영체제로

식품안전관리의 효율성을 확보하고 있다¹⁾.

현대의 식품산업에서 식품의 안전과 품질관리를 위해 식품 중 존재하는 미생물을 신속하고 정확하게 확인하는 것은 매우 중요하다. 식품공전 시험법은 식품 기준 및 규격 적부 판정, 수거검사의 적부판정, 수입식품의 적부 판정 등의 판단 근거가 되기 때문에 식품산업에서 매우 중요하다. 현재까지 식품으로부터 다양한 식중독 세균 및 위생 지표균의 분리 및 정량적 계수는 식품공전법에 따라 선택 배지를 사용해왔다. 이 방법은 전통적인 미생물의 계수방법으로 배지 준비 시간이 소모적이고, 노동집약적이며, 비용 측면에서 단점을 가지고 있다. 특히 대부분의 분리 과정에서 추가적인 확인시험이 필요하며²⁾, 배지를 autoclave 한 후 추가적인 항생제 사용으로 인한 고비용 및 제조시

[‡]These authors contributed equally to this work.

*Correspondence to: Sang-Do Ha, Advanced Food Safety Research group, Chung-Ang University, Anseong, Gyunggido, 17546, Korea

Tel: +82-31-670-4831, Fax: +82-31-675-4853

E-mail: sangdoha@cau.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

간이 긴 단점이 존재한다. 이를 극복하기 위해 식품공전에서 식품에서 미생물을 빠르고 간편하게 정량하기 위해 건조필름(Petrifilm법)의 사용을 승인하였으며, 이 건조필름은 미생물의 성장에 필요한 영양성분과 cold water soluble gel, 염색지시약 등을 필름에 코팅하여 배지의 준비시간을 단축하였고, 배양 시 차지하는 공간을 줄일 수 있는 장점이 있다. 이 방법은 현재 전세계적으로 Association of Official Analytical Chemists (AOAC), International Organization for Standardization (ISO) 등 국제적 시험기관에서 공인된 시험법으로 등재돼 사용되고 있다. 국내에서도 식품의 미생물 정량을 위한 신속성 및 효율성을 높이기 위해 식품의약품안전청 고시 제2004-41호에 의거하여 일반세균과 대장균군, 대장균에 대해 건조필름법이 허가되었으나, 다른 미생물에 대한 건조필름은 아직 식품공전에 등재되지 못하고 있는 실정이다³⁾. 식품 공전에 명시된 건조필름법 I, II법은 각각 효소 반응과 기포형성을 통한 분석원리와 특정 대사 산물로 인해 색 변화가 일어나는 원리로 두 방법 모두 신속한 미생물 검출을 가능하게 하며, 대상 균주와 식품에 따라 선택할 수 있다^{4,5)}.

Compact Dry (NISSUI Pharma. Co.)는 세균의 정량적인 계수를 위해 개발된 시스템으로, 배양 배지가 포함된 특수 스프레드 시트와 냉수용성 겔화제가 건조 상태로 시트에 코팅되어 있고, 이를 독특한 접시 구조가 담고 있어 휴대성과 간편성이 증대되었다⁴⁾. 특히, Compact Dry는 사전 멸균된 제품으로 즉시 사용 가능하고, 접종 시 자가 확산이 가능하며, 배양 시간 단축 및 긴 보존 기간의 장점을 가지고 있다. 또한 일반세균, 대장균군, 대장균, 효모/곰팡이, 황색포도상구균 등에 대한 Compact Dry법은 AOAC의 PTM 인증, EU의 MicroVal 인증, 북유럽의 NordVal 인증 등을 획득했다⁶⁾.

Mizuochi 등⁶⁾은 광범위한 식품을 대상으로 Compact Dry TC와 표준 플레이트 카운트 방법(SPC), Petrifilm TM Aerobic Count Plates를 비교하여 세균 분리능을 평가하였다. 그 결과 Compact Dry TC는 ISO 4833 방법과 비교하여 닭고기, 양상추, 냉동 생선, 분유 및 저온살균 우유 중 분리된 총균수를 비교하였을 때 유의적 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 또한 이들 식품 중 대장균 및 대장균군 계수를 위해 Compact Dry EC 방법과 ISO 방법(16649-2 및 4832)을 비교한 결과, 대장균군의 경우 두 방법 간의 차이는 미미했으며, ($<0.5 \log_{10}$) 모든 식품 매트릭스에 대해 두 방법 사이의 상관계수는(R^2) 0.92 이상으로 조사된 사례가 있었다⁷⁾. Mizuochi 와 Nelson⁸⁾의 보고에 따르면, Compact Dry YM은 조리된 델리 칠면조, 토마토, 치즈(Wensleydale), 빵, 마요네즈 및 오렌지 주스의 효모 및 곰팡이 수의 정량적 분리를 위해 ISO (21527-1)방법을 대체 가능하며, 배양 및 보관이 용이한 편리한 방법이라고 보고하였다.

따라서 본 연구는 Compact Dry의 미생물 검사용 분석법으로써 활용 가능성을 조사하기 위해 시판중인 도시락(축산물 베이스), 밀키트(수산물 베이스), 전통식품(된장)으로부터 일반세균, 대장균군, 대장균, 효모/곰팡이 등 식품 위생의 지표가 되는 균을 분리하기 위해 평판배지법과, 식품공전에 등재된 3M Petrifilm법, 그리고 Compact Dry법을 비교하여 상관관계를 분석하였다.

Materials and Methods

연구대상

본 연구는 미생물 검사용 간이배지(Compact Dry; Nissui Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan)의 식품미생물 검사용 분석법으로 활용 가능성을 탐색하기 위해 식품공전에 등재 되어있는 평판배지법⁸⁾과 건조필름(3M PetrifilmTM; 3M Microbiology Products, 3M, St. Paul, MN, USA)의 미생물 회수율을 비교하였다. 대장균은 EMB배지를 이용한 평판배지법 및 건조필름법을 사용하여 Compact Dry 방법과 비교하였다.

재료

식품 시료는 수산물 밀키트, 고기가 주 재료인 축산물 도시락, 전통식품은 된장을 선택하여 사용하였다. 시료는 2024년 1월부터 5월까지 안성시 로컬 마트에서 같은 제품을 2개씩 구입하였고 총 3회 반복 실험하였다. 각 시료는 모든 재료를 멸균백(Nasco, Whirl-pak, Fort Atkinson, WI, USA)에 소분하여 균질화 한 후 10 g씩 채취하여 사용하였다.

사용 균주

일반세균, 효모/곰팡이, 대장균군은 식품시료 내에 존재하는 자연 균총을 검출하였고, *Escherichia coli* (ATCC 10536)는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 분양 받아 30% (w/v) glycerol (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 함유한 용액에 각 균주를 -80°C에 보관하여 인위접종에 사용하였다.

식품 시료준비 및 균액 접종

*E. coli*는 Luria-Bertani broth (LB; Difco, Becton Dickinson, Detroit, MI, USA) 10 mL에 현탁하여 37°C 조건에서 24시간 배양 후 10,000rpm 4°C에서 10분 동안 원심분리하고 Phosphate-Buffered Saline (PBS; Oxoid, Basingstoke, UK) 용액으로 세척하여 균액을 준비하였다. 3종의 식품 시료(도시락, 밀키트, 된장)를 멸균백에 10 g씩 담은 후 초기접종 농도 5 log CFU/g가 되도록 균액 0.1 mL을 접종한 후, 30번씩 문질러 균질화시켰다. 15분의 부착 시간을 가진 후 90 mL의 0.1% PW를 첨가하여 1분간 균

질화(BagMixer400VW; Interscience, St. Nom, France)한 다음, 1 mL 채취하여 diluent saline (3M, Saint Paul, MN, USA) 9 mL로 10배씩 연속적으로 희석하여 각 배지에 접종하였다.

식품 내 자연균총 (일반세균, 효모/곰팡이, 대장균군) 검출능 평가

일반세균

평판배지법의 경우, 멸균 페트리 접시에 희석된 시험용액 1 mL와 Plate count agar (PCA; OXOID, Basingstoke, UK) 약 15 mL를 혼합하여 응고시킨 후 확산 집락의 발생을 억제하기 위해 다시 PCA 3 mL를 가하여 중첩시켰다. 응고시킨 페트리 접시는 뒤집어 35°C에서 48시간 배양하였다. 건조필름법의 경우, 시험용액 1 mL씩을 Petrifilm™ Aerobic Count (Petrifilm AC; 3M)에 분주하고 35°C에서 48시간 배양 후 붉은 집락을 계수하였다. Compact Dry법의 경우, 시험용액 1 mL씩을 Compact Dry TC에 분주하고 뒤집어 35°C에서 48시간 배양 후 형성된 모든 집락을 계수하였다.

대장균군(Coliform)

평판배지법의 경우, 멸균 페트리접시에 희석된 시험용액 1 mL와 Desoxycholate Lactose Agar (DCLA; Oxoid) 약 15 mL를 혼합하여 응고시킨 후 확산집락의 발생을 억제하기 위해 다시 DCLA 3 mL를 가하여 중첩시켰다. 응고시킨 페트리접시는 뒤집어 37°C에서 24시간 배양하였다. 건조필름법의 경우, 시험용액 1 mL씩을 Petrifilm™ Coliform count (Petrifilm CC; 3M)에 분주하고 37°C에서 24시간 배양 후 기포가 형성된 붉은색 집락을 계수하였다. Compact Dry 법의 경우, 시험용액 1 mL씩을 Compact Dry CF에 분주하고 뒤집어 37°C에서 24시간 배양 후 형성된 청색 또는 청록색 집락을 계수하였다.

효모/곰팡이(Yeast/mold)

평판배지법의 경우, 멸균 페트리 접시에 희석된 시험용액 1 mL와 Potato Dextrose Agar(PDA; Oxoid) 약 15 mL를 혼합하여 응고시킨 후 확산 집락의 발생을 억제하기 위해 다시 PDA 3 mL를 가하여 중첩시켰다. 응고시킨 페트리 접시는 뒤집어 25°C에서 5일간 배양하였다. 건조필름법의 경우, 시험용액 1 mL씩을 Petrifilm™ yeast and mold (Petrifilm YM, 3M)에 분주하고 25°C에서 5일간 배양 후 자란 모든 집락을 계수하였다. Compact Dry법의 경우, 시험용액 1 mL씩을 Compact Dry YMR에 분주하고 뒤집어 25°C에서 72시간 배양 후 형성된 효모의 경우 파란색 또는 흰색, 곰팡이의 경우 코튼 모양의 집락을 계수하였다.

식품 내 인위 접종균주 검출능 평가

대장균(*E. coli*)

평판배지법의 경우 *E. coli* 식별이 우수하고 신속 계수에 사용 가능하며, 식품에 인위 접종된 *E. coli*의 계수에 사용되었던 선택 배지인 Eosin-Methylene Blue agar (EMB; Oxoid)를 선정하였다⁹⁻¹¹⁾. 시료 1 mL를 무균적으로 분주하고 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 전형적인 청록색 금속성 광택의 집락을 계수하였다. 건조필름법의 경우, 시험용액 1 mL를 Petrifilm™ *E. coli* Count Plate (Petrifilm EC, 3M)에 분주하고 37°C에서 24시간 배양 후 기포를 수반하는 청색 집락을 계수하였다. Compact Dry법의 경우 Compact Dry EC에 균질화된 시료 1 mL를 접종 후 37°C에서 24시간 배양한 뒤 청색, 청자색의 총 집락을 계수하였다.

통계처리

3회 반복을 실시하여 얻어진 bacterial count 값은 평균 ±표준편차를 구해 Log CFU/g으로 전환하였다. 통계 처리는 Graphpad Prism ver. 9.5.1프로그램(GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)을 이용하여 One-way ANOVA 분석을 진행하였고, 사후분석은 Tukey test를 실시하였으며, 통계적 유의수준은 $P < 0.05$ 로 평가하였다. 회귀분석 그래프를 생성하기 위해 구글 코랩(Google colab)을 이용하였다. 회귀 모델의 계산 및 시각화에는 Python 프로그래밍 언어가 사용되었으며, 주요 라이브러리는 Pandas, Seaborn, Matplotlib, Statsmodels가 포함되었다. 데이터는 연구에 적합하게 구성된 후, 회귀선 및 95% 신뢰구간이 포함된 그래프를 생성하기 위해 Statsmodels 라이브러리의 Ordinary Least Squares (OLS) 방법을 적용하였다.

Results and Discussion

일반세균수(total plate count) 분석

밀키트, 도시락, 된장 세 가지 식품 내의 자연적으로 내재된 일반세균을 분리하기 위한 평판배지인 PCA와 Petrifilm AC, Compact Dry TC의 회수성능을 비교하였으며, 그 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. PCA, Petrifilm AC, Compact Dry TC법에 의해 분리된 밀키트 제품의 일반세균수는 각각 6.62 ± 0.13 , 6.56 ± 0.08 , 6.49 ± 0.12 log CFU/g이었으며, 도시락 제품은 3.58 ± 0.10 , 3.46 ± 0.08 , 3.45 ± 0.17 log CFU/g, 그리고 된장 제품은 7.03 ± 0.04 , 6.96 ± 0.12 , 7.09 ± 0.06 log CFU/g으로 나타났다. 결과적으로 세 가지의 식품으로부터 분리된 일반세균수는 3가지 방법들 간에 유의적인 차이가 없었다($P > 0.05$). 또한, Compact Dry TC법의 일반세균 log값과 PCA법에 의해 분리된 일반세균수의 log 값 또는 Petrifilm AC법에 의해 분리된 일반세균수의 log값을 비교해 회귀직선을 구한 후

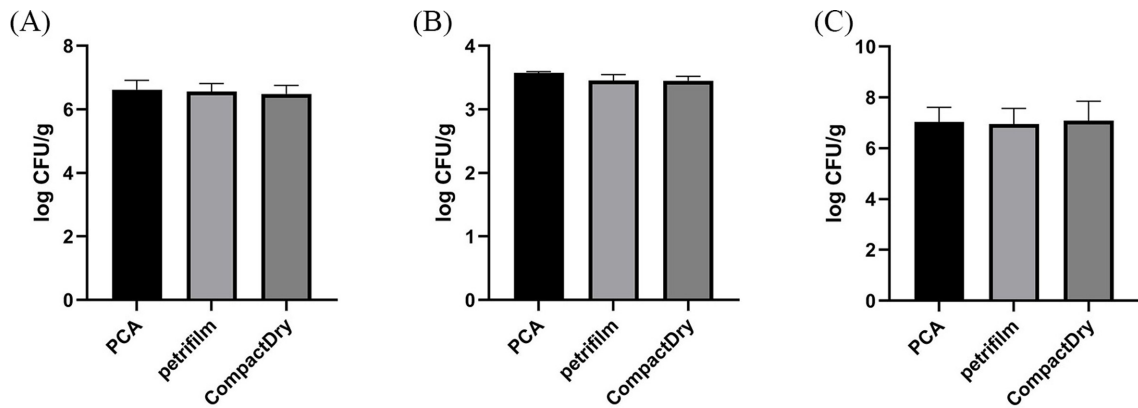


Fig. 1. Comparison of PCA, Petrifilm AC, and Compact Dry TC for total bacterial enumeration in foods. (A) meal kits, (B) *dosirak*, and (C) *doenjang*. There were no significant differences in all samples ($P>0.05$).

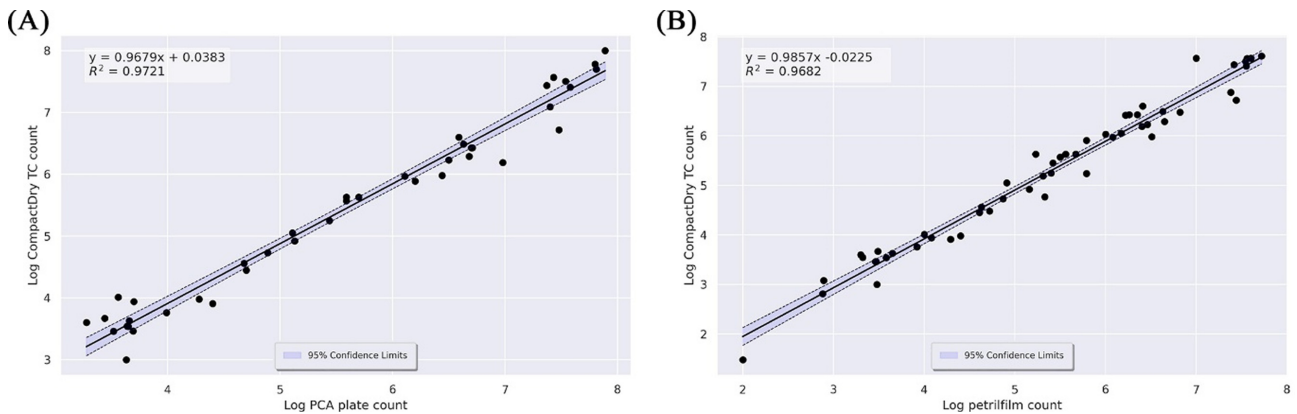


Fig. 2. Scatterplot of colony counts (log CFU/g) by three analysis methods from *dosirak*, meal kits, and *doenjang* samples. (A) Compact Dry TC and PCA, and (B) Compact Dry TC and Petrifilm AC.

상관계수를 Fig. 2에 나타내었다. Compact Dry TC법과 PCA 법 사이의 상관계수(R^2)는 0.9721, Compact Dry TC와 Petrifilm은 0.9682로 높은 상관성을 보였다. 이전의 연구에 따르면, 다양한 식품(우유, 간 쇠고기, 탁주, 밀가루, 어묵)에서 PCA와 Petrifilm AC법을 비교한 결과, 모든 식품군에서 상관계수가 0.96 이상으로 $P>0.05$ 범위에서 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다¹²⁾. Ginn 등¹³⁾의 연구에서도 우유를 시료로 하여 PCA법과 Petrifilm AC법을 비교 평가한 결과 일반세균수의 평균값은 $P>0.05$ 범위에서 유의적인 차이 없어 두 분석방법 간의 차이가 없는 것으로 나타났다. Mizuochi 등¹⁴⁾의 연구에서 97가지 식품시료에서 일반세균을 검출하는 방법으로 PCA법, Petrifilm법, Compact Dry TC의 성능을 비교한 결과 세 가지 방법 간의 유의적인 차이($P>0.05$)는 없었으며, 각 방법간의 상관계수 역시 0.97이상으로 1에 가까운 값을 확인하였다. Compact Dry TC는 Petrifilm법에 비해 분석 단가가 건당 약 30% 저렴하였고, 사용의 간편하여 분석시간 절감과 인효율비가 증대되는 이점을 가지며, 일반세균수 분리능이 기존 방법과 동일하기 때문에 대체 방법으로 활용될 수 있음을 시사한다.

대장균군(coliform) 수 분석

밀키트, 도시락, 된장 세 가지 식품 내의 자연적으로 내재된 대장균군을 분리하기 위해 평판배지인 DCLA와 Compact Dry CF, Petrifilm CC의 회수성능을 비교하였으며, 그 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같다. DCLA, Petrifilm CC, Compact Dry CF법에 의해 분리된 밀키트 제품의 대장균군 수는 각각 4.96 ± 0.11 , 4.92 ± 0.03 , 4.95 ± 0.04 log CFU/g, 도시락 제품의 경우 1.52 ± 0.10 , 1.51 ± 0.13 , 1.43 ± 0.19 log CFU/g, 그리고 된장제품의 경우 2.17 ± 0.09 , 2.20 ± 0.10 , 2.24 ± 0.12 log CFU/g으로 나타났다. 결론적으로 세 가지 식품 시료 모두에서 분석 방법 간에 통계적으로 유의미한 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 이후 Compact Dry CF법의 대장균군 log값과 DCLA법에 의해 분리된 대장균군 수의 log 값 또는 Petrifilm CC법에 의해 분리된 대장균군 수의 log값을 비교해 회귀직선을 구한 후 상관계수를 Fig. 4에 나타내었다. Compact Dry CF와 공전법(DCLA) 사이의 상관계수는 0.9856, Compact Dry CF와 Petrifilm은 0.9475로 높은 상관성을 보였다. Park¹⁵⁾은 대장균군인 *E. qerogenes*와 *K. pneumonia*을 이용하여 Petrifilm CC 와

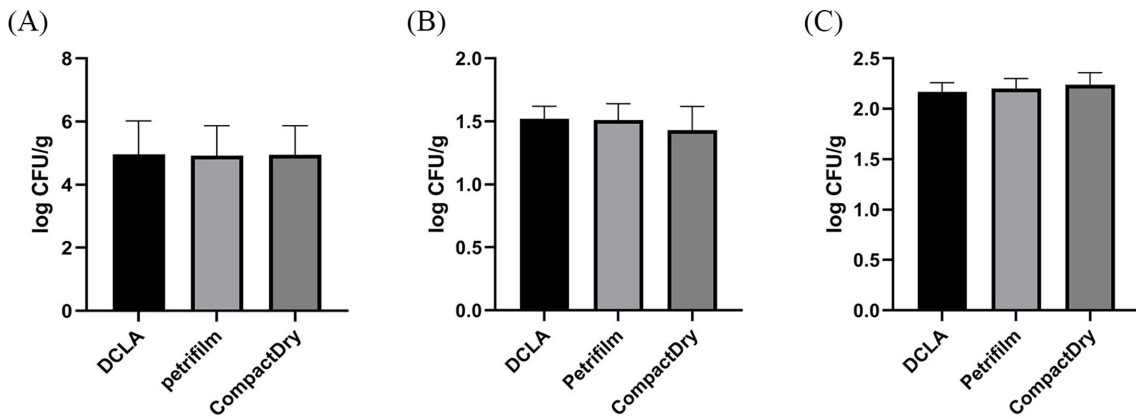


Fig. 3. Comparison of DCLA, Petrifilm CC, and Compact Dry CF for coliform enumeration in foods. (A) meal kits, (B) *dosirak*, and (C) *doenjang*. There were no significant differences in all samples ($P>0.05$).

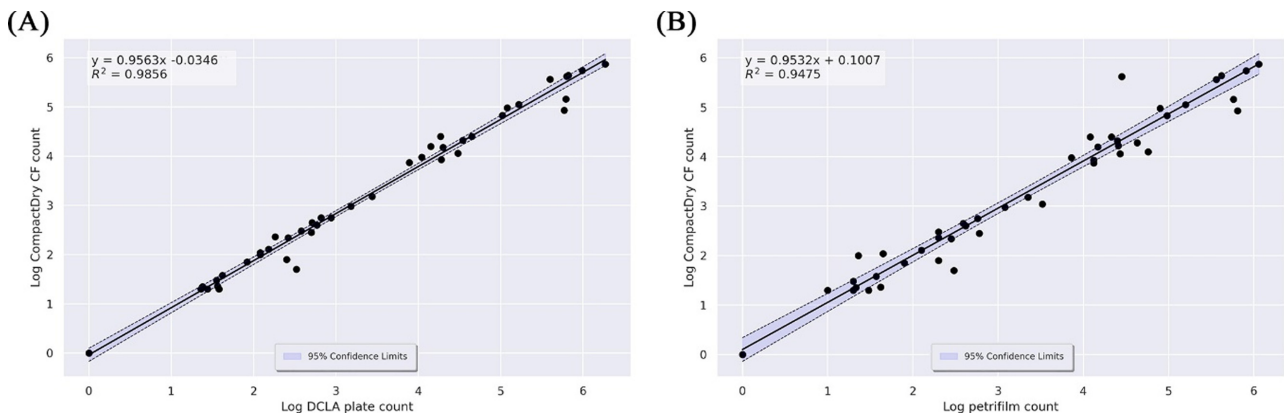


Fig. 4. Scatterplot of colony counts (log CFU/g) by three analysis methods from *dosirak*, meal kits, and *doenjang* samples. (A) Compact Dry CF and DCLA, and (B) Compact Dry CF and Petrifilm CC.

DCLA법의 검출 성능을 비교 평가하였다. 그 결과 두 방법 간의 차이는 통계적으로 유의적 차이가 없었으며($P>0.05$), 이러한 결과는 Petrifilm CC가 대장균군 및 대장균 검출을 위한 실험실 및 현장 실험에서 효과적인 대안임을 시사한다. Compact Dry CF 역시 Petrifilm과 거의 동일한 성능과 분리능을 가지고 있어 기존 공전법과 Petrifilm CC법을 대체할 수 있는 유용한 방법임을 확인할 수 있다. Compact Dry CF는 대장균군 검출에 있어 높은 선택성과 간편한 사용을 제공하며, 비교적 짧은 시간 내에 결과를 얻을 수 있어 실험실뿐만 아니라 현장에서의 실용성을 높인다. 이러한 장점들은 Compact Dry CF가 기존의 DCLA 평판배양법과 Petrifilm CC법을 대체하여 식품 안전성 검사를 보다 효율적으로 수행할 수 있는 방법으로 널리 활용될 수 있음을 시사한다.

효모 및 곰팡이(yeast and molds) 수 분석

밀키트, 도시락, 된장 세 가지 식품내 자연적으로 내재된 효모, 곰팡이를 분리하기 위해 평판배지인 PDA와

Compact Dry YMR, Petrifilm YM의 회수성능을 비교하였으며, 그 결과는 Fig. 5에 나타난 바와 같다. 밀키트 시료에서 효모, 곰팡이 분리능은 PDA와 Compact Dry YMR, Petrifilm YM 사이에 유의적 차이가 없었다($P>0.05$). 하지만 도시락과 된장시료에서는 Compact Dry YMR의 분리능과 Petrifilm YM의 분리능은 동등한 반면 ($P>0.05$), PDA법에 비해 두 분석 방법의 회수율이 유의적으로 낮게 나타났다($P<0.05$). 이러한 차이는 식품 시료의 입자 방해(food particle interference)와 곰팡이 균사체의 크기, 배지의 크기 등 여러 요인에 기인하는 것으로 보인다¹⁶. 특히, 도시락과 된장에서 Compact Dry YMR의 분리능이 공전법에 비해 유의미하게 낮은 것으로 나타났는데($P<0.05$), 이는 식품 시료 내에 포함된 다양한 입자가 배지 표면에 고르게 분포되지 않거나 배지와와의 상호작용에서 방해를 받을 수 있기 때문일 수 있다. 이러한 입자 방해는 미생물의 균일한 검출을 어렵게 만들어, 분리능에 영향을 미칠 수 있다. 또한, 곰팡이 균사체의 크기가 큰 경우, Compact Dry YMR 배지의 크기가 상대적으로 작아 충분한 검출

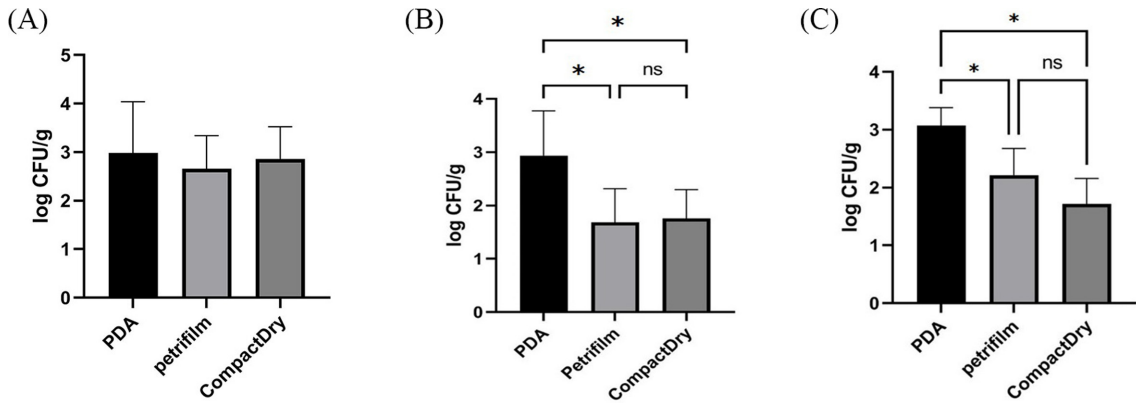


Fig. 5. Comparison of PDA, Petrifilm YM, and Compact Dry YMR for yeast and mold enumeration in foods. (A) meal kits, (B) *dosirak*, and (C) *doenjang*. The mark (*) on the bars within three different methods is significantly different at $P < 0.05$.

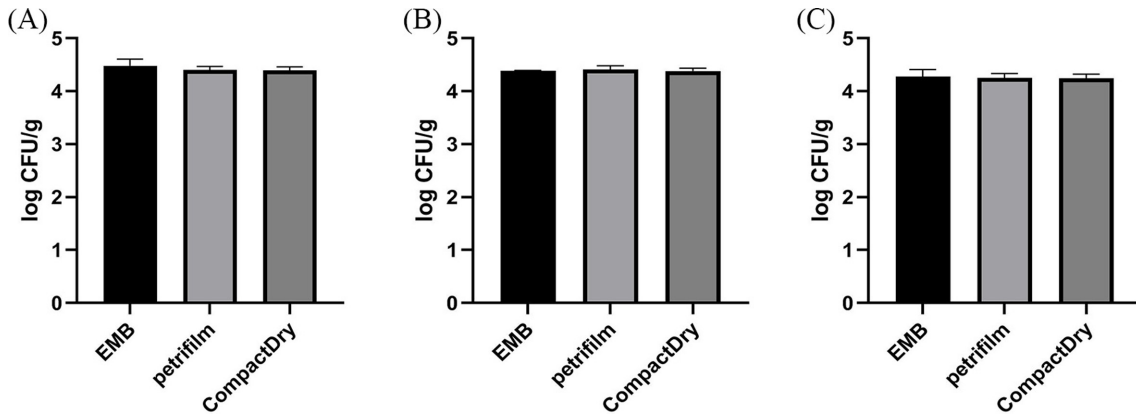


Fig. 6. Comparison of EMB, Petrifilm EC, and Compact Dry EC for *E. coli* enumeration in foods at 5 Log CFU/g inoculation level. (A) meal kits, (B) *dosirak*, and (C) *doenjang*. There were no significant differences in all samples ($P > 0.05$).

표면적을 제공하지 못해 검출 효율에 차이가 생길 수 있다. 또한 Kim¹⁷⁾ 등의 연구에서도 된장, 탁주 등을 포함한 우리 전통식품에서 건조필름법과 PDA법의 분리능을 분석한 결과, 전체 시료에서 분리된 효모 수의 log 평균값은 Petrifilm YM법이 4.32 Log CFU/ml, PDA 방법이 4.41 CFU/mL를 보였으며, 이러한 결과는 PDA법의 낮은 선택성으로 인해 진균류 이외의 일반세균이 함께 생육했기 때문으로 판단하였다¹⁷⁾. 특히 PDA와 Petrifilm YM의 경우 5일간 배양시간이 필요함에 비해 Compact Dry YM은 72시간 배양으로 대폭적인 시간 절약이 가능하다. 따라서, Compact Dry YMR을 사용할 때에는 이러한 요인을 고려하여 특정 식품에 적합한 방법을 선택한다면, 사용이 간편하고 분석 시간을 절약할 수 있는 대안으로 유용하게 활용될 수 있을 것이라 사료된다.

대장균(*E. coli*) 수 분석

밀키트, 도시락, 된장에 대장균(*E. coli*)을 인위적으로 접종한 후 EMB 평판배지와 Compact Dry EC, Petrifilm EC

법을 통해 회수율을 비교하였으며, 그 결과는 Fig. 6와 같다. 세 가지 식품의 초기 접종 농도는 5 log CFU/g이었으며, 이후 각 방법으로 분리된 대장균(*E. coli*) 수는 다음과 같았다. 밀키트의 경우, EMB 4.48±0.09, Petrifilm EC법 4.40±0.05, CompactDry EC법 4.40±0.05 log CFU/g으로 측정되었으며, 이들 간의 유의적인 차이는 없었다($P > 0.05$). 도시락 샘플의 경우에도 EMB 4.39±0.01, Petrifilm EC법 4.41±0.05, CompactDry EC법 4.38±0.04 log CFU/g으로 유의적인 차이가 없었다($P > 0.05$). 마지막으로, 된장 샘플에서는 EMB 4.28±0.10, Petrifilm EC법 4.25±0.06, CompactDry EC법 4.25±0.05 log CFU/g으로 역시 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P > 0.05$). Compact Dry EC법의 대장균(*E. coli*) 수의 log 값과 EMB법에 의해 분리된 대장균(*E. coli*) 수의 log 값 또는 Petrifilm EC법에 의해 분리된 대장균(*E. coli*) 수의 log 값을 비교해 회귀직선을 구한 후 상관계수를 Fig. 7에 나타내었다. CompactDry EC와 평판배지법(EMB) 사이의 상관계수는 0.9719, CompactDry EC와 Petrifilm은 0.9503로 높은 상관성을 보였다.

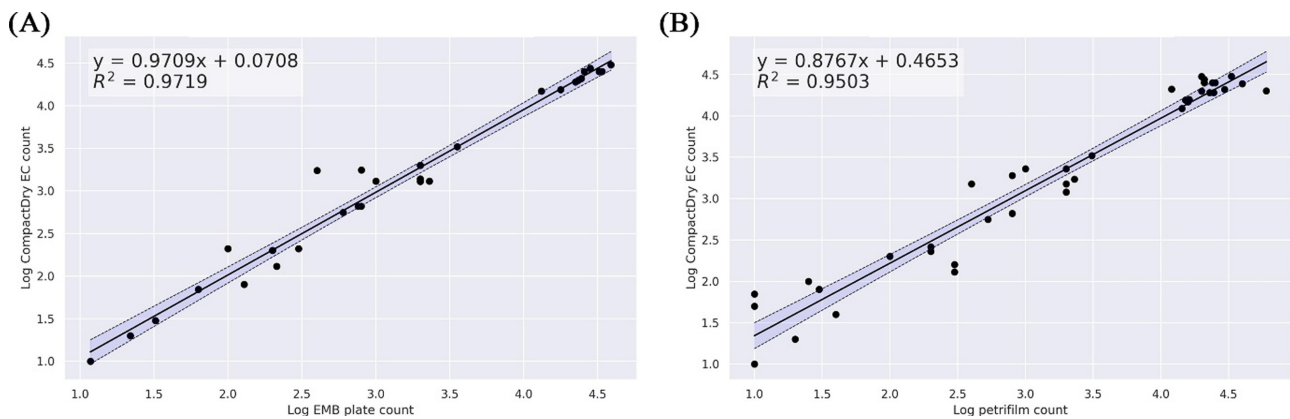


Fig. 7. Scatterplot of colony counts (log CFU/g) by three analysis methods from *dosirak*, meal kits, and *doenjang* samples. (A) Compact Dry EC and EMB, and (B) Compact Dry EC and Petrifilm EC.

EMB 배지의 경우 유당, 에오신, 메틸렌블루가 첨가되어 lactose 또는 sucrose를 이용하는 대장균과 대장균군은 특유의 청록색 금속성 광택의 콜로니를 띄게 하지만, *Enterobacter aerogenes*와 같은 유사한 균 역시 EMB 배지에서 생육이 가능하기 때문에 추가적인 구별 단계가 필요하다. 하지만 Petrifilm EC의 경우 beta-glucuronidase와 beta-galactosidase라는 특이기를 사용하여 대장균군과 대장균 구분이 가능하며, Compact Dry EC 역시 대장균의 성장을 위한 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-D-glucuronic acid (X-Gluc)와 대장균군의 선택적 성장을 위한 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl-beta-D-galactopyranoside (Magenta-Gal)가 첨가되어 있어 rapid growth를 가능하게 한다. 이전 연구에 따르면 Compact Dry EC 선택성이 Petrifilm EC보다 높아 대장균(*E. coli*)과 대장균군에 회수율이 높다고 보고하였다¹⁸⁾. 특히, Petrifilm EC의 경우 집락 주변에 발생하는 가스로 인한 기포 형성 유무에 따라 결과 판독이 결정되며, 주변 집락 밀집한 경우 결과 판독의 어려움이 있다. 하지만 Compact Dry EC의 경우 전형적인 청색-청자색, 적색-분홍색의 집락 색깔로 각각 대장균 및 대장균군을 구별할 수 있기 때문에, 종합적으로 식품으로부터 대장균 수를 측정하기 위한 배지로서 정확하고 편리한 Compact Dry법이 대체 방법으로 이용될 수 있을 것이라 사료된다.

국문요약

식품공전 시험법은 식품기초규격 적부 판정, 수거검사의 적부판정, 수입식품의 적부판정 등의 판단근거가 되기 때문에 식품산업에서 매우 중요하다. 본 연구는 도시락, 밀키트, 된장에 오염된 일반세균, 대장균군, 효모, 곰팡이, 대장균을 분리하기 방법으로 사용되는 평판배지법, Petrifilm법, Compact Dry법을 이용해 각각의 세균을 분리하였고, 회수율을 비교하였다. 식품 내 자연균총(일반세균, 효모/곰팡이, 대장균군)

검출은 평판배지 PCA, PDA, DCLA와 Petrifilm AC, YM, CC의 성능을 Compact Dry TC, YMR, CF와 비교하였다. 인위적접종한 대장균(*E. coli*)의 경우는 평판배지 EMB, Petrifilm EC, Compact Dry EC의 검출능을 비교하였다. 본 실험결과, 일반세균, 대장균군, 대장균의 검출에서 Compact Dry법은 기존의 평판배지법 및 건조배지법과 비교하여 식품 내 각각의 세균수를 계수하는데 유의적 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 또한, 평판배지법과 Compact Dry간의 상관관계 및 Petrifilm과 Compact Dry간의 상관관계 역시 1에 가까운 높은 값을 확인하였다. Compact Dry법은 미생물 분석을 위해 배지 준비 과정이 필요 없으며, 접종 후 자체 확산이 가능하여 사용하기 쉽고, 공간을 효율적으로 사용할 수 있으므로 기존의 배지를 사용하는 방법에 비해 많은 장점을 제공하였다. 따라서 식품 중 일반세균, 대장균군, 대장균의 검출을 위한 Compact Dry법(Compact Dry TC, CF, EC)은 기존의 식품공전 상 등재된 다른 건조필름법을 대체 가능한 것으로 판단된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Soo-Jin Jung	https://orcid.org/0009-0006-7317-9760
Sangha Han	https://orcid.org/0000-0002-8420-3352
June Gu Kang	https://orcid.org/0009-0008-1719-9411
Min Su Song	https://orcid.org/0009-0008-1865-1254
Hyewon Song	https://orcid.org/0009-0007-9599-1570
Harim Lee	https://orcid.org/0009-0005-1586-7971
Jisu Yu	https://orcid.org/0009-0001-0806-5461
Kyung Ok Lee	https://orcid.org/0009-0002-9565-7867
Sang-Do Ha	https://orcid.org/0000-0002-6810-2092

References

1. Korea Legislation Research Institute (KLRI), (2024, July 8). A study on systematization of food safety laws. Retrieved from <https://www.klri.re.kr:9443/handle/2017.oak/5136>
2. Wilson, I.G., Gilmour, A., Cooper, J.E., Bjourson, A.J., Harvey, J.A., A non-isotopic DNA hybridization assay for the identification of *Staphylococcus aureus* isolated from foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **22**, 43-54 (1994).
3. Ministry of food and drug safety (MFDS), (2024, July 8). Korean food code. Retrieved from http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_01.jsp
4. Teramura, H., Iwasaki, M., Ogihara, H., Evaluation of the quantitative dry culture method (Sanitakun™ SA) for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in artificially contaminated food samples. *Biocontrol Sci.*, **20**, 297-301 (2015).
5. Park, J.H., Wang, X.Y., Lee, J.S., Kim, M., Evaluation of dry medium (Sanita-Kun) for enumeration of coliforms and *Escherichia coli* in milk, ice cream, ham, and codfish fillet. *Food Sci. Biotechnol.*, **21**, 1789-1793 (2012).
6. Mizuochi, S., Nelson, M., Baylis, C., Jewell, K., Green, B., Limbum, R., Fernandez, M.C., Salfinger, Y., Chen, Y., Matrix extension study: validation of the Compact Dry TC method for enumeration of total aerobic bacteria in selected foods. *J. AOAC. Int.*, **99**, 461-468 (2016).
7. Mizuochi, S., Nelson, M., Baylis, C., Green, B., Jewell, K., Monadjemi, F., Chen, Y., Salfinger, Y., Fernandez, M.C., Matrix extension study: validation of the Compact Dry EC method for enumeration of *Escherichia coli* and non-*E. coli* coliform bacteria in selected foods. *J. AOAC. Int.*, **99**, 451-460 (2016).
8. Mizuochi, S., Nelson, M., Matrix extension study: validation of Compact Dry YM for enumeration of yeast and mold in selected foods. *J. AOAC. Int.*, **99**, 695-704 (2016).
9. Leininger, D.J., Roberson, J.R., Elvinger, F., Use of eosin methylene blue agar to differentiate *Escherichia coli* from other gram-negative mastitis pathogens. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **13**, 273-275 (2001).
10. Gehm, H.W., Heukelekian, H., Eosin methylene blue agar for rapid direct count of *E. coli*. *Am. J. Public Health Nations Health.*, **25**, 920-923 (1935).
11. Seong, J.Y., Park, M.J., Kwon, K.H., Oh, S.W., Combined effect of cold plasma and UV-C against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut lettuce. *J. Food Hyg. Saf.*, **32**, 64-69 (2017).
12. Ministry of food and drug safety (MFDS), (2024, July 8). Food code. Retrieved from http://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/safefoodlife/food/foodRvLv/foodRvLv.do?menu_no=980&menu_grp=MENU_GRP01.
13. Ginn, R.E., Packard, V.S., Fox, T.L., Enumeration of total bacteria and coliforms in milk by dry rehydratable film methods: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **69**, 527-531 (1986).
14. Mizuochi, S., Kodaka, H., Evaluation of dry sheet medium culture plate (Compactdry TC) method for determining numbers of bacteria in food samples. *J. Food. Prot.*, **63**, 665-667 (2000).
15. Park, H.K., Evaluation of dry rehydratable film method for detection of coliform bacteria and *Escherichia coli*. *Korean J. Food Nutr.*, **22**, 696-700 (2009).
16. Beuchat, L.R., Nail, B.V., Brackett, R.E., Fox, T.L., Comparison of the Petrifilm™ yeast and mold culture film method to conventional methods for enumerating yeasts and molds in foods. *J. Food Prot.*, **54**, 443-447 (1991).
17. Kim, K.S., Bae, E.K., Ha, S.D., Park, Y.S., Mok, C.K., Hong, K.P., Kim, S.P., Park, J., Evaluation of dry rehydratable film method for enumeration of microorganisms in Korean traditional foods. *J. Food Hyg. Saf.*, **19**, 209-216 (2004).
18. Hosokawa, S., Kodaka, H., Efficacy of Compact Dry EC for coliform detection in seafood. *Jpn. J. Food Microbiol.*, **27**, 80-85 (2010).