

고추가루중 微生物의 分離 및 방사선 感受性

崔彦浩 · 金永培 · 李瑞來

韓國原子力研究所 環境化學研究室

(1977년 7월 9일 수리)

Isolation of Microorganisms from Red Pepper Powder and their Radiosensitivity

by

Eon-Ho Choi, Young-Bae Kim and Su-Rac Lee

Environmental Chemistry Laboratory, Korea Atomic Energy Research Institute, Seoul

(Received July 9, 1977)

Abstract

From samples of red pepper powder sold in Korea were isolated and identified 13 species of molds (*Aspergillus amstelodami*, *Asp. chevalieri*, *Asp. clavatus*, *Asp. flavus*, *Asp. janus* var. *effusus*, *Asp. oryzae*, *Asp. oryzae* var. *brevis*, *Asp. repens*, *Asp. sydowi*, *Asp. thomii*, *Asp. tubingensis*, *Penicillium thomii*, *Scopulariopsis brevicaulis*) and 5 species of bacteria (*Bacillus pumilus*, *Bac. subtilis*, *Micrococcus luteus*, *M. varians*, *Staphylococcus aureus*).

Radiosensitivity of these microorganisms was examined to give D_{10} values of 14~41 krad for molds, 11~24 krad for bacterial vegetative cells and 190~250 krad for bacterial spores. The red pepper powder was contaminated with $2\sim3\times 10^2$ mold counts/g and $3\sim6\times 10^7$ bacterial counts/g, which would be sufficiently destroyed by irradiating 200 krad γ -rays.

서 론

고추는 국내에서 널리 이용되는 香辛料이나 수확후 天日 건조, 제분 및 유통과정에서 불결하게 취급되기 때문에 미생물이 오염되어 상품 가치가 떨어지고 식품위생적인 면에서 문제가 될 수 있다. 고추 이외의 천연식품, 특히 채소나 곡류 등에도 많은 수의 미생물이 오염되어 있을 것이다. 그러나 이들 대부분은 수확후 食用되기까지의 기간이 매우 짧거나 열처리된다. 더우기 고추가루는 가열이나 약품에 의한 살균이 곤란하고 향신료로서의 특수성 때문에 오염된 고추가루가 열처리 없이 그대로 食用化되고 있는 실정이다. 물론 미생물이 오염된 식품이 반드시 인체에 해로운 것은 아니며, 또 식품을 전부 무균적으로 다룰 수도 없다. 그러나 식품에는 유독성, 병원성 미생물이 감염될 수 있고 또 무독성 미생물이라 하더라도 그 수가 많으면 부패를 초래

하고 상품 가치를 저하시키기 때문에 될 수 있으면 청결한 식품이 바람직하다.

강력한 투과력을 겸비한 細胞致死 효과 때문에 식품 保存의 한가지 수단으로 알려지고 있는 방사선 照射는 이미 양파, 감자를 포함한 일부 식품의 保存 방법으로서 법적 허가를 얻어 실용화 단계에 있다. 특히 미생물의 방사선 感受성에 관한 연구는 식품저장과 관련하여 많이 이루어졌으며 미생물의 종류 및 방사선 照射 조건에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있다.

방사선 살균에서는 무엇보다도 미생물의 종류, 분포 그리고 식품의 방사선에 의한 반응을 알아내는 것이 중요하다. 그런데 고추가루의 경우에는 수분함량이 적어 방사선에 의한 副作用이 극히 적을 것으로 기대되며 또 包裝이 용이하여 방사선 처리후의 再感染을 방지할 수 있는 유리한 조건에 있다. 실제 고추가루가 함유된 향신료의 방사선 조사는 1974년 함가리에서, 1975년 네델

란드에서 각각 0.5 Mrad, 1 Mrad 이내의 照射線量에 서 법적으로 허가된 바 있다.⁽¹⁾ 고추저장에는 지금까지 ethylene oxide나 propylene oxide와 같은 가스藥劑가 미생물과 해충을 방제하기 위하여 사용되어 왔으며 고추의 방사선 저장에 관한 연구는 드물게 보고되어 있다.⁽²⁻⁴⁾ 따라서 고추가루의 방사선 處理效果에 관한 연구에 착수한 바 있고⁽⁵⁾ 本報에서는 고추가루중 미생물의 분포와 이들에 대한 방사선 감수성을 조사하였으므로 이에 그 결과를 보고한다.

실험 방법

1. 실험재료 및 미생물의 分離, 同定

햇 고추가루(1975년 수확)와 묵은 고추가루(1974년 수확)를 서울시대 동대문 시장, 남대문 시장, 신촌시장, 농업협동조합에서 1975년 10월 중순에 수확시기 및 시장별로 각각 3점(3×600 g)씩 구입하여 광구시료병에 담고 실온에서 2주간 보관하였다.

각 시료는 햇 고추가루, 묵은 고추가루와 不良品(상당히 부패된 것)으로 구분하여 각각 0.5 g을 시험관에 넣고 0.1% peptone 용액 10 ml를 가하여 3분간 진탕시킨 후 가아제로 여과하였다. 여액은 적당히 희석하여 Czapek (1,000 ml 수용액중 NaNO₃ 3.0 g, K₂HPO₄ 1.0 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, KCl 0.5 g, 1% FeSO₄·7H₂O 1.0 ml, sucrose 30.0 g) 平板培地和 nutrient (1,000 ml 수용액중 beef extract 3.0 g, peptone 5.0 g) 平板培地에 접종하여 30°C에서 배양하였다. Czapek 배지는 세균발육을 억제하기 위하여 10% lactic acid로서 pH를 3.5로 조절하였고 streptomycin을 3 mg%되게 첨가하였다.

상기한 培地에서 순수 분리된 곰팡이는 The Genus *Aspergilli*⁽⁶⁾와 Manual of the Penicilli⁽⁷⁾에 의하여, 세균은 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology⁽⁸⁾와 The Genus Bacillus⁽⁹⁾에 준하여 同定하였다.

2. 방사선 照射 및 生菌數 計數

Czapek 斜面배지에서 1~2주일 배양 후에 형성된 곰팡이의 포자는 M/10 phosphate buffer(pH 6.5)에 옮겨 가아제로서 여과하여 여액의 포자농도를 1 ml당 10⁷~10⁸ 개로 조절하였다.

세균은 24시간씩 繼代培養을 수회 반복한 후 100 ml nutrient 액체배지에 접종하여 35°C에서 하룻밤 진탕배양한 다음 이것을 새 액체배지에 다시 접종하여 3~4시간 진탕배양한 對數期의 세균현탁액을 원심분리하고 M/15 phosphate buffer (pH 7.0)로서 세척, 현탁하여 최종 세균(영양세포) 농도를 1 ml당 10⁷~10⁸개 되도록 조절하였다. 한편 포자를 얻기 위하여 nutrient 사면

배지에서 배양한 영양세포를 M/15 phosphate buffer 3 ml를 사용하여 SPB(1,000 ml 수용액중 sodium chloride 1.0 g, beef extract 1.0 g, peptone 2.0 g, agar 17.5 g)가 300 ml 들어 있는 Roux병에 옮기고 35°C에서 2주일간 배양하였다. 생기포자는 동일 buffer로서 수집하여 위와 같은 방법으로 원심분리, 세척, 현탁하여 최종 포자농도를 1 ml당 10⁷~10⁸개로 조절하였다.

위의 미생물현탁액을 2.0 ml씩 시험관(1.5×15 cm)에 넣고 당 연구소에 설치된 10,000 Ci Co-60 감마선 조사 시설을 이용하여 1分當 10 krad의 선량율로 照射하였다. 방사선照射가 끝난 포자현탁액은 곧 적절히 희석하여 곰팡이는 Czapek 평판배지에, 세균은 nutrient 평판배지에 0.2 ml씩 옮겨 前者는 28°C에서 3~5일, 後者는 35°C에서 1~2일 배양후에 형성되는 colony를 計數하였다.⁽¹⁰⁾

결과 및 고찰

1. 세균 및 곰팡이의 분리, 同定

고추가루로부터 48株의 곰팡이와 27株의 세균이 분리되었다. 즉, 곰팡이는 햇 고추가루에서 17株, 묵은 고추가루에서 17株, 그리고 不良 고추가루에서 14株 분리되었고 세균은 햇 고추가루에서 8株, 묵은 고추가루에서 10株, 그리고 不良고추가루에서 9株가 분리되었다(Table 1).

고추가루에서 분리된 48株의 곰팡이를 同定한 결과 13種으로 나타났다. 이들중 *Aspergillus*屬이 대부분이었는데 특히 *Asp. oryzae*, *Asp. flavus*, *Asp. repens*의 분포가 많은 것으로 나타났다. 고추가루 1 g당 곰팡이의 수는 햇 고추가루에서 3.1×10²개, 묵은 고추가루에서 1.5×10²개, 不良 고추가루에서 1.1×10⁷개로 不良品에는 상당한 수의 곰팡이가 있었다.

세균은 햇 고추가루, 묵은 고추가루에서 모두 *Bacillus pumilis*와 *Bac. subtilis*가 同定되었고 不良 고추가루에서는 *Staphylococcus aureus*와 *Micrococcus luteus*가 同定되었다. 고추가루 1 g당 好氣性 세균 수는 햇 고추가루에서 5.6×10⁷개, 묵은 고추가루에서 3.2×10⁷개, 不良 고추가루에서 무려 1.9×10¹⁰개나 있었다.

고추가루의 미생물 분포에 있어서 곰팡이와 세균의 구별까지는 용이하지만 그들의 균종을 구별하는 것은 그다지 쉬운 일이 아니다. 특히 세균은 colony의 외관적 차이로서 種을 구별할 수 없기 때문에 분리된 많은 colony를 모두 동정하지 않으면 분포도를 표현하는데 있어서 통계적 의의가 없다. 그러므로 본 실험에서 분리 동정된 미생물만 가지고 고추가루 전체의 미생물 分布相을 말할 수 없지만 분리의 높은 희석배율을 고려한

Table 1. Molds and bacteria isolated from samples of red pepper powder in Seoul area

Red pepper powder	A/B*	Molds	A/B*	Bacteria
New samples	15/17	<i>Aspergillus chevalieri</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus janus</i> var. <i>brevis</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus repens</i> <i>Aspergillus tubingensis</i> <i>Aspergillus sydowi</i> <i>Penicillium thomii</i> <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	6/8	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Micrococcus varians</i>
One-year old samples	10/17	<i>Aspergillus amstelodami</i> <i>Aspergillus clavatus</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus repens</i> <i>Aspergillus tubingensis</i>	5/10	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus pumilus</i>
Rotten samples	9/14	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus oryzae</i> var. <i>effusus</i> <i>Aspergillus sydowi</i> <i>Aspergillus thomii</i> <i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	4/9	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

* A/B = number of isolates identified/number of isolates collected

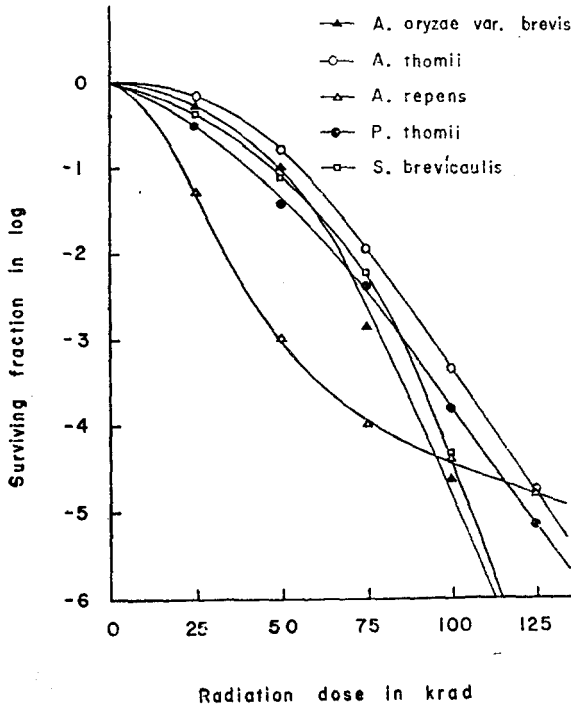


Fig. 1. Radiation survival curves for conidia of molds isolated from red pepper powder at a dose rate of 10 krad/min

다면 분리동정된 이들 미생물의 대부분은 고추가루중에 상당히 많은 수로 존재한다고 보는 것이 타당하다 하겠다. 본 실험에서 분리된 *Asp. clavatus*, *Asp. flavus*는 각각 patulin, aflatoxin과 같은 mycotoxin을 낼 수 있는 곰팡이며 *Streptococcus aureus*는 황색 포도상구균으로 알려진 식중독성 및 병원성 세균이다. 고추가루중의 미생물의 분포를 더욱 광범위하게 조사하면 유해한 미생물이 더 검출될 가능성이 있을 것이다.

2. 분리된 微生物의 방사선 感受性

미생물의 방사선 감수성은 흔히 D₁₀ 값, 즉 미생물을 90%사멸시키는데 필요한 방사선 照射線量으로 나타내거나 生存曲線으로 표시한다.

곰팡이의 방사선에 대한 生存曲線은 균주에 따라 차이가 있으나 대부분이 sigmoidal curve로서 *Scopulariopsis brevicaulis*는 誘導線量(induction dose)이 78 krad나 되었으며 *Asp. repens*는 흔히 볼 수 없는 특이한 곡선을 나타내었다(Fig. 1). 곰팡이의 D₁₀ 값은 Table 2에서 보는 바와 같이 *Asp. oryzae* var. *brevis*가 14 krad로서 가장 낮았고 *Asp. chevalieri*, *Asp. sydowi*가 각각 41, 62 krad로서 가장 높았다. 고추가루 중의 곰팡이 수는 햇 고추가루와 묵은 고추가루에서 1g당 10⁸개 이내이고

Table 2. Radiosensitivity of molds isolated from red pepper powder

Strain	D ₁₀ value (krad)	Induction dose (krad)	Inactivation factor at 200 krad
<i>Aspergillus amstelodami</i>	38	12	4.9
<i>Aspergillus chevalieri</i>	41	10	4.6
<i>Aspergillus clavatus</i>	28	25	6.3
<i>Aspergillus flavus</i>	23	25	7.6
<i>Aspergillus janus</i> var. <i>effusus</i>	18	38	9.0
<i>Aspergillus oryzae</i>	36	24	4.9
<i>Aspergillus oryzae</i> var. <i>brevis</i>	14	50	10.7
<i>Aspergillus repens</i>	18(62*)	—	6.0
<i>Aspergillus sydowi</i>	33	19	5.5
<i>Aspergillus thomii</i>	19	56	6.0
<i>Aspergillus tubingensis</i>	23	50	6.5
<i>Penicillium thomii</i>	23	38	7.0
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	15	75	8.3

* Obtained at doses above 75 krad level.

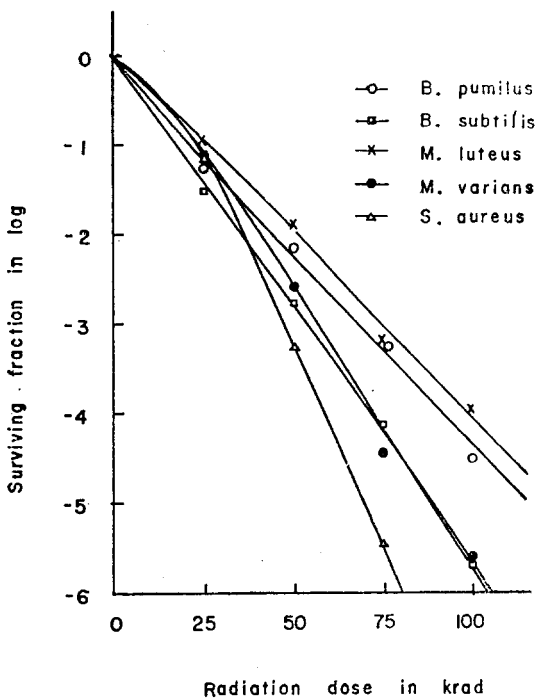


Fig. 2. Radiation survival curves for vegetative cells of bacteria isolated from red pepper powder at a dose rate of 10 krad/min

가장 저항성이 큰 *Asp. chevalieri*의 D₁₀ 값과 유도선량은 각각 41, 10 krad이므로 고추가루중의 곰팡이를 완전히 死滅(10⁻⁸개)시키는데 필요한 방사선 照射線量은 133 krad (10 krad + 3 × 41 krad)⁽¹⁰⁾로 충분하다고 본다.

세균의 방사선 감수성은 榮養세포와 休眠포자를 구

Table 3. Radiosensitivity of bacteria isolated from red pepper powder

Strain	D ₁₀ Value (krad)	Inactivation factor at 200 krad
Vegetative cell		
<i>Bacillus pumilus</i>	23	8.7
<i>Bacillus subtilis</i>	18	11.3
<i>Micrococcus luteus</i>	24	8.3
<i>Micrococcus varians</i>	16	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	18.2
Spore		
<i>Bacillus pumilus</i>	190	1.1
<i>Bacillus subtilis</i>	250	0.8

별하여 조사하였는데 영양세포의 경우 D₁₀ 값은 11~24 krad로서 *Staphylococcus aureus*가 지극히 적었고 포자의 D₁₀ 값은 *Bac. pumilus*가 190 krad, *Bac. subtilis*가 250 krad나 되었다(Table 3, Fig. 2,3). 여기서 사용한 포자현탁액에는 영양세포가 섞여 있을 수도 있다 그러나 그 수가 지극히 적은데다가 영양세포와 포자의 방사선에 대한 감수성의 차이가 너무 크기 때문에 포자의 D₁₀ 값에 미치는 영향은 거의 없었을 것이다.

일반적으로 미생물은 가열처리에서와 같이 영양세포에 비하여 포자가 방사선에 대한 저항성이 매우 큰 것으로 알려져 있다. 즉 세균의 영양세포는 *Micrococcus radiodurans*와 같은 특수한 균주를 제외하면 대부분이 포자에 비하여 방사선에 대한 저항성이 매우 약하다.⁽¹¹⁻¹³⁾ 고추가루중의 세균 수는 1g당 10⁸개 이내이다. 이들이 전부 포자가 아닌 영양세포라고 한다면 이들을

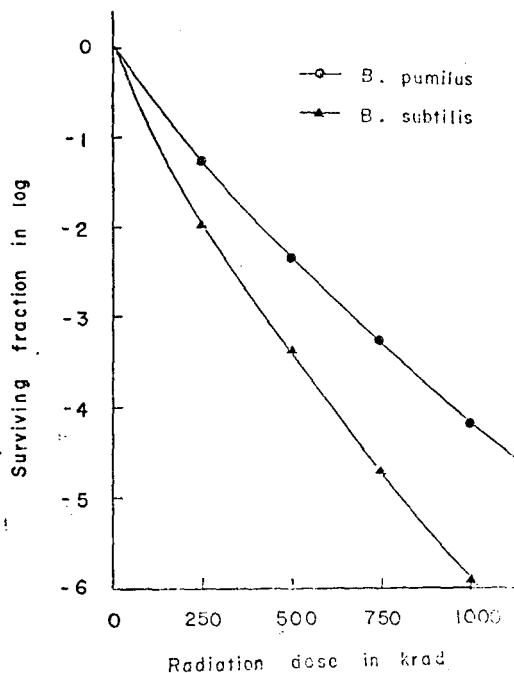


Fig. 3. Radiation survival curves for spores of bacteria isolated from red pepper powder at a dose rate of 10 krad/min

완전히 死滅(10^{-8})시키는 데 필요한 照射線量은 *Micrococcus luteus*를 기준으로 할 때 192 krad(8×24 krad)이 된다. 그러나 고추가루중의 세균은 대부분이 好氣性孢子形成菌인 것이므로 *Bac. subtilis*를 기준으로 한다면 2 Mrad(8×250 krad)의 높은 照射線量이 요구된다.

가열이나 방사선살균에 있어서 미생물의 완전살균은 원래의 미생물 수를 10^{-12} 으로 감소시키는 것이지만 경제성과 거주식품에 미치는 물리화학적 부반응, 식품의 필요한 저장기간과 품질을 고려하여 살균정도를 결정한다. 특히 감마선은 電離작용을 갖고 있기 때문에 될 수 있으면 낮은 선량으로 식품을 照射하는 것이 바람직하다. 고추가루는 수분함량이 적고 *Clostridium*菌을 제외한 대부분의 식중독, 병원성 세균은 포자를 형성하지 않는다는 점을 고려할 때 세균의 영양세포와 mycotoxin을 낼 수 있는 곰팡이의 포자만을 거의 완전히 사멸시키고자 한다면 200 krad 이내의 照射線量으로서 소기의 목적을 충분히 달성할 수 있을 것이다. 왜냐하면 분리 곰팡이중 가장 저항성이 큰 *Asp. chevalieri*는 이 200 krad 선량으로서 생존 포자수가 원래보다 $10^{-4.6}$ 으로 감소되며 *Asp. oryzae* var. *brevis*는 무려 $10^{-10.7}$ 으로 줄어든다(Table 2). 또 *Micrococcus luteus*는 $10^{-8.3}$ 으로 감소된다(Table 3). 그러므로 고추가루중 10^8 개

이내인 곰팡이와 10^8 개 이내인 세균(영양세포)은 200 krad로서 충분히 사멸될 수 있을 것이다. 그러나 *Bac. pumilus*와 *Bac. subtilis*의 포자는 200 krad에서 不活性化係數(inactivation factor)가 각각 1.1, 0.8에 불과하므로 약 90%밖에 사멸되지 않는다(Table 3).

고추가루의 살균 최적照射線量은 방사선에 의한 고추가루의 성분변화와 안전성 실험을 거친 후에 결정되어야 할 것이다.

요 약

市販 고추가루에서 13종의 곰팡이 (*Aspergillus amstelodami*, *Asp. clavatus*, *Asp. flavus*, *Asp. chevalieri*, *Asp. janus* var. *effusus*, *Asp. oryzae*, *Asp. oryzae* var. *brevis*, *Asp. repens*, *Asp. sydowi*, *Asp. thomii*, *Asp. tubingensis*, *Penicillium thomii*, *Scopulariopsis brevicalulis*와 5종의 세균(*Bacillus pumilus*, *Bac. subtilis*, *Micrococcus luteus*, *M. varians*, *Staphylococcus aureus*)이 分離, 同定되었다.

이들 미생물의 방사선 感受性(D_{10} 값)을 보면 곰팡이는 14~41 krad, 세균은 營養細胞가 11~24 krad, 孢子가 190~250 krad이었다. 옛 고추가루 중의 곰팡이 수는 1 g당 $2 \sim 3 \times 10^8$ 개, 세균은 $3 \sim 6 \times 10^7$ 개 이므로 200 krad의 방사선 照射로서 세균의 영양세포와 곰팡이 포자는 충분히 死滅시킬 수 있다고 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) 日本食品照射研究協會: 食品照射, 11, 70 (1976).
- 2) Wesley, F. and Rourke, B.: *J. Food Sci.*, 30, 1037 (1965).
- 3) 小泉忠三郎, 宮本正一, 富山晁央, 鈴木 昭: 食品衛生學雜誌(日本), 5, 215 (1964).
- 4) Farkas, J., Beczner, J., and Incze, K.: *Radiation Preservation of Food* (Proc. Symp., Bombay, Nov. 1972), IAEA, Vienna, p. 389(1973).
- 5) 李貞惠, 崔彥浩, 金榮洙, 李瑞來: 한국식품과학회지, 9, 199 (1977).
- 6) Raper, K.B. and Fennel, D. I.: *The Genus Aspergillus*, Robert E. Krieger Pub. Co., Huntington, New York (1973).
- 7) Raper, K. B., Thom, C., and Fennel, D. I.: *Manual of the Penicilli*, The Williams and Wilkins Co. (1949).
- 8) Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, The Williams and Wilkins Co., Baltimore (1974).

- 9) Gordon, R. E., Haynes, W. C., and Pang, C. H.: *The Genus Bacillus*, Agriculture Handbook No. 427, Agric. Res. Service, U.S.D.A., Washington, D. C. (1973).
- 10) 최언호, 김홍렬, 이서래 : 한국식품과학회지, 7, 148 (1975).
- 11) Matsuyama, A.: *Radioisotopes*, 22, 724 (1973).
- 12) 伊藤 均 : 日本原子力學會誌, 18, 24 (1976).
- 13) Grecz, N., Lo, H., Kennedy, E. J., and Durban, E.: *Radiation Preservation of Food* (Proc. Symp., Bombay, Nov. 1972), IAEA, Vienna, p.177 (1973).