

감마선 조사를 이용한 홍삼분말의 오염미생물 제거

육홍선 · 김성애 · 변명우* · 권중호**

충남대학교 식품영양학과, *한국원자력연구소, **경북대학교 식품공학과

Elimination of Microorganisms Contaminated in Red Ginseng Powder by Irradiation Processing

Hong-Sun Yook, Seong-Ai Kim, Myung-Woo Byun* and Joong-Ho Kwon**

Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

*Department of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute

**Department of Food Technology, Kyungpook National University

Abstract

Gamma irradiation was applied to red ginseng powder for improving its hygienic quality. 7.5 kGy of gamma irradiation completely eliminated the microorganisms contaminated in red ginseng powder. And there was no growth of microorganisms after six months of storage at room temperature. The molds isolated from red ginseng powder were identified as *Pen. commune*, *Asp. niger*, *Asp. versicolor* and *Asp. unguis*, the conidia of which showed the decimal reduction dose (D_{10} value) of 0.37-0.50 kGy, 0.24-0.31 kGy, 0.25-0.36 kGy and 0.28-0.41 kGy and inactivation factor of 5.0-6.5, 7.4-9.3, 6.5-9.1 and 6.1-8.4, respectively. The radiosensitivity of identified molds' conidia decreased in medium containing red ginseng extract.

Key words: red ginseng powder, gamma irradiation, microorganisms

서 론

한국의 홍삼은 현대적인 제조공정과 GMP (Good manufacturing practice) 규격의 위생적인 시설하에서 제조되어 엄격한 품질관리 시스템을 거쳐 국내판매 및 국외로 수출하고 있어 제품의 품질이 균일하다고 볼 수 있다⁽¹⁾. 그러나, 원료 홍삼의 저장이나 제품의 장기 유통과정에서 해충, 미생물 등에 의한 생물학적 품질저하가 발생될 수 있으며, 이를 방지하기 위한 목적으로 ethylene oxide (EO) 훈증제가 사용^(2,3)되었으나, 화학약품의 잔류 및 유독성 물질의 생성 등 그 유해성으로 인해 사용이 국내 및 국제적으로 금지된 이후 효과적인 살균방법의 개발과 이용이 중요한 과제로 부각되고 있다. 이상과 같은 상황에서 내수 및 주요 수출품목으로서 엄격한 제조공정과 품질관리하에 생산되고 있는 국내 홍삼분말 제품은 저장, 유통 및 환경의 변화에 따라 품질저하를 일으킬 수 있으며, 장기저장이나 고온, 다습한 기후에서 유통시킬 때에는 생물

학적 품질관리가 더욱 중요하다. 현행 홍삼분말의 제조공정은 원료를 스텀에 의해 가압살균하고 재건조하여 분쇄한 후 포장공정을 거쳐 제조되는데, 그 중 오염의 가능성 있는 공정은 분쇄, 포장용기, 공기 및 포장중 오염 등이 있다⁽⁵⁾. 따라서, 오염을 최소화하는 것과 오염된 제품을 살균하는 방법 등을 모색하는 것이 시급한 실정이다. 이에 따라 한국담배인삼공사에서는 초고압 살균, 자외선 살균, 마이크로웨이브 살균, 오존 살균 등을 실험적으로 평가해 보았으나, 스텀에 의한 가압 살균과 초고압 살균은 고온으로 홍삼의 독특한 향미성분의 변화와 갈변 및 분말의 응결현상이 일어나 품질이 저하되고 내열성균의 살균 불충분과 포장 등의 처리공정에서 2차오염의 가능성이 높아 부적당하였다. 또한 250-270 nm의 자외선 조사는 투과력이 약하여(1/1000 mm) 외표면 이외의 혼입 미생물을 살균할 수 없었고, microwave 처리도 홍삼분말 자체의 수분함량이 낮기 때문에 살균효과가 불충분하였으며, 오존처리 역시 일반세균의 살균은 물론 대장균의 살균효과도 약하였고 특히 인삼의 주요성분인 사포닌의 분해가 매우 심하였으므로, 현행의 어떤 살균방법도 근본적인 문제 해결에는 비효과적인 것으로

Corresponding author: Myung-Woo Byun, Department of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Yusung P.O. Box 105, Taejon 305-600, Korea

보고되었다^(4,5). 따라서, 본 연구는 홍삼분말의 위생화를 위한 감마선 조사기술의 이용가능성을 검토할 목적으로 감마선 조사된 홍삼분말의 미생물학적 안전성 시험을 수행한 결과이다.

재료 및 방법

시료 및 감마선 조사

본 실험에 사용된 홍삼분말은 한국인삼연초연구원에서 제조된 제품으로 초기 수분함량은 약 7% 내외였다. 시료의 감마선 조사는 한국원자력연구소에 소재하는 ⁶⁰Co 감마선원(10만 Ci)을 이용하여 실온에서 시간당 1 kGy 선량률로 0, 2.5, 5, 7.5, 10 kGy의 총 흡수선량을 연도록 하였으며, 이 때 흡수선량의 확인을 위하여 free radical dosimeter와 ceric cerous dosimeter가 사용되었다. 감마선 조사후 조사시료는 비조사 대조시료와 함께 실온에 보관하면서 실험에 사용하였다.

생균수 계수

각 시료 2 g을 살균된 0.1% peptone수로 5분간 잘 훤파어서 정치시킨 후 그 상동액을 시험액으로 사용하였다. 각 미생물 검사는 이 시험액을 사용하고 미생물의 수는 시료 g당 colony forming unit (CFU/g)로 나타내었다. 호기성 전세균은 APHA 표준방법⁽⁶⁾에 따라 plate count agar (Difco, Lab.)를 사용하여 30°C에서 1-2일 배양후 생성 집락을 계수하였다. 효모 및 곰팡이는 potato dextrose agar (Difco, Lab.)를 사용하여 25°C에서 2-5일간 배양한 후 계수하였다⁽⁷⁾. 대장균군은 desoxycholate agar (Difco, Lab.)를 사용한 pour plate method로 37°C에서 1-2일간 배양하여 적색의 집락을 계수하였다⁽⁷⁾.

곰팡이 분리, 동정 및 포자 혼탁액 조제

상기 생균수 측정에서 순수 분리된 곰팡이를 Czapeck-solution agar (Difco, Lab.) 배지와 MY20 agar 배지에 접종한 후 30°C에서 5-30일간 배양하면서 형태적 특성을 관찰하고 The Genus *Aspergillus*⁽⁸⁾와 A Manual of the *Penicillia* 등⁽⁹⁾의 방법에 따라서 동정하였다. 분리, 동정된 각 곰팡이는 potato dextrose agar (PDA) 배지를 사용하여 30°C에서 7-10일간 사면 배양한 후 생성된 분생포자를 냉 M/10 phosphate buffer (pH 6.5)로 수집하고 이를 여과하여 여액의 분생포자 농도를 10⁷-10⁸ cell/ml가 되도록 조제하였다⁽¹⁰⁾.

방사선 감수성 조사

조제된 포자현탁액은 2.0 ml씩 각 시험관($\Phi 1.0 \times 10$ cm)에 옮겨 담고, Co-60 감마선 조사시설을 이용하여 250 Gy/min의 선량률로 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 및 2.5 kGy의 선량을 각각 조사하였다. 감마선 조사 직후 포자 현탁액은 냉 M/10 phosphate buffer로 적당히 희석하여 잔존 포자수를 검사하였다. 곰팡이의 최적 생육 배지상에서의 방사선 감수성을 알아보기 위해 PDA 평판배지와, 또한 홍삼성분 중의 방사선 감수성을 조사하기 위해 홍삼농도를 7° Brix로 조절하여 조제한 홍삼배지(red ginseng-extract agar)에 각각 접종한 후, 30°C에서 2-5일간 배양하여 형성된 집락을 계수하였다. 계수된 잔존 생균수로부터 생존곡선(survival curve)을 그리고, 아래 식에 따라 방사선 감수성을 구하였다⁽¹¹⁾.

$$\log_{10} N/N_0 = -D/D_{10}$$

N₀ : 방사선 조사 직전의 곰팡이 포자수

N : 방사선 조사 직후의 생존 곰팡이 포자수

D : 방사선 조사선량

D₁₀ : 초기 곰팡이 포자농도를 90% 사멸시키는데 필요한 조사선량

분리 곰팡이의 배지특성에 따른 생육양상

홍삼에서 분리된 곰팡이가 실제 홍삼성분에서 왕성하게 생육하는지를 알아보기 위하여 일반 곰팡이 생육배지인 PDA와 malt extract agar (MEA, Difco, Lab.) 및 홍삼성분의 농도가 4° Brix, 7° Brix, 10° Brix로 조절된 홍삼배지(red ginseng-extract agar)에 각각 이들 곰팡이를 접종하고 25-30°C에서 배양하면서 집락의 diameter를 측정하여 생육정도를 조사하였다.

결과 및 고찰

미생물 오염과 방사선 살균효과

본 실험에 사용된 홍삼분말의 미생물 오염도는 호기성 전세균이 9.5×10^4 /g, 곰팡이가 5.0×10^3 /g이었으며, 식품위생 지표세균인 대장균군도 양성을 나타내었다. 그러나 현행 홍삼제품의 오염 미생물 기준은 식품으로서는 대장균은 음성, 호기성 전세균은 3.0×10^4 /g 이하이어야 하고, 의약품으로서는 일반세균도 음성이어야 함으로써⁽¹²⁾ 위 생적 품질의 제품을 생산하기 위해서는 적절한 살균처리방법 등의 품질관리체계가 요구되고 있다(Table 1).

오염미생물에 대한 감마선조사의 살균효과에서는 호기성 전세균의 경우 오염된 세균의 방사선 감수성

Table 1. Effect of gamma irradiation on the microbial growth of red ginseng powder during storage at room temperature^{a)}

Micro-organisms	Storage Period (month)	Irradiation dose (kGy)				
		0	2.5	5	7.5	10
Total aerobic bacteria	0	9.5×10^4	7.7×10^4	1.5×10^3	-	-
	3	8.9×10^4	6.2×10^4	1.1×10^3	-	-
	6	9.2×10^4	5.8×10^4	8.0×10^2	-	-
Molds & yeasts	0	5.0×10^2	-	-	-	-
	3	6.0×10^2	-	-	-	-
	6	1.7×10^3	-	-	-	-
Coliforms	0	3.0×10^1	-	-	-	-
	3	2.6×10^1	-	-	-	-
	6	2.8×10^1	-	-	-	-

^{a)}Each value expressed as colony forming unit per gram sample

이 낮아 5 kGy 조사로서도 1 log cycle 정도의 감소를 보였고, 7.5 kGy 이상 조사군에서는 겹출한계 이하로 사멸되었다. 곰팡이 및 대장균군의 경우는 초기오염도가 낮아 2.5 kGy의 낮은 조사선량에서도 겹출되지 않았으며, 또한 저장기간에 따른 미생물 생육양상은 초기성 전세균은 7.5 kGy, 곰팡이 및 대장균군은 2.5 kGy 조사군에서 실온에서 6개월 저장까지도 모든 미생물의 생육과 증식이 없었다(Table 1).

일반적으로 미생물의 방사선 감수성은 미생물의 종류와 농도, 매개체의 화학적 조성 및 물리적 상태, 방사선조사 전후의 환경조건 등에 따라 살균선량이 달라지는데⁽¹⁴⁾, 본 실험에서 초기성 전세균을 제외한 곰팡이와 대장균군의 살균에 요구된 낮은 조사선량은 초기 미생물 오염도가 낮았음이 그 원인으로 생각된다.

오염 곰팡이 분리, 동정 및 방사선 감수성

홍삼제품의 저장유통중 외관적 품질저하의 원인이⁽¹⁵⁾ 되는 곰팡이를 분리, 동정한 결과, *Aspergillus*속 3종 (*Asp. niger*, *Asp. versicolor*, *Asp. unguis*)과 *Penicillium*속 1종 (*Pen. commune*)이 각각 확인되었다. 분리된 4종의 곰팡이에 대하여 일반 곰팡이 생육배지인 potato dextrose agar (PDA)배지와 홍삼 extract 배지(7° Brix)상에서의 방사선 감수성은 생존곡선과 이들 생존곡선으로부터 얻어지는 D_{10} 값, $12D_{10}$ 값 (완전살균에 필요한 방사선 조사선량) 및 홍삼분말의 미생물학적 안전성을 위해 적정선량으로 예상되는 2.5-5 kGy에서의 불활성화 계수를 각각 구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

먼저 일반 곰팡이 생육배지인 PDA 배지상의 생존곡선에서 이들 4종의 곰팡이 포자의 유도선량은 0.08-0.28 kGy로서 *Asp. niger*와 *Asp. versicolor*가 다른 종류의 곰팡이에 비해 다소 높았으나, 이는 거의 무시될 수 있으며, 이는 방사선 표적이 여러개 있다고 하는

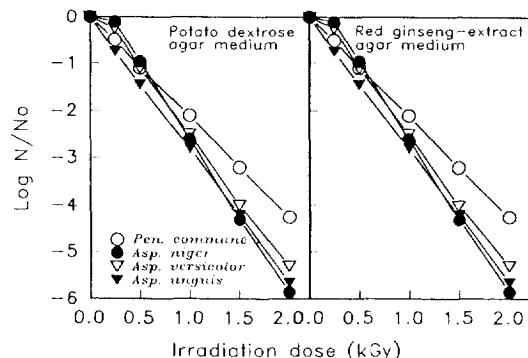


Fig. 1. Radiation survival curves of molds isolated from red ginseng powder when cultured on potato dextrose agar medium and red ginseng-extract agar medium

multitarget 이론으로서 설명될 수 있었다^(15,16). D_{10} 값으로 나타낸 방사선 감수성은 *Pen. commune*이 0.37 kGy로 가장 높았으며 *Asp. unguis*가 0.28 kGy, *Asp. versicolor*가 0.25 kGy, *Asp. niger*가 0.24 kGy의 순이었으며, 이들의 완전살균 선량, 즉 $12D_{10}$ 값은 3.16-4.52 kGy 범위로서 *Pen. commune*이 가장 높은 값을 보였다. 또한 이들 곰팡이의 불활성화 계수는 2.5 kGy 조사선량에서 6.5-9.3, 5 kGy 조사선량에서 13.4-19.9 범위로 나타나 홍삼분말에 오염된 곰팡이 포자수를 2.5 kGy 조사로써 $10^{6}-10^9$, 5 kGy 조사로써 $10^{13}-10^{19}$ 으로 감소시킬 수 있음을 알 수 있었다(Fig. 1, Table 2).

한편 홍삼 extract 배지(홍삼분말 엑기스 농도: 7° Brix)에서는 유도선량이 *Pen. commune*과 *Asp. unguis*가 0 kGy 이었고 다른 두 종류도 앞의 PDA 배지보다 낮은 값을 보였다. 또한 D_{10} 값은 0.31-0.50 kGy, $12D_{10}$ 값은 4.47-6.00 kGy 범위였다. 2.5 kGy와 5 kGy 조사시 불활성화 계수는 5.0-7.4와 10.0-15.5로

Table 2. Radiosensitivity of molds isolated from red ginseng powder when cultured on potato dextrose agar medium and red ginseng-extract agar medium

Strains	D ₁₀ value (kGy)		Induction dose (kGy)		12D ₁₀ value (kGy)		Inactivation factor	
	P ³⁾	R ⁴⁾	P	R	P	R	2.5 kGy	5 kGy
<i>Pen. commune</i>	0.37	0.50	0.08	0.00	4.52	6.00	6.5	5.0
<i>Asp. niger</i>	0.24	0.31	0.28	0.20	3.16	3.29	9.3	7.4
<i>Asp. versicolor</i>	0.25	0.36	0.23	0.15	3.23	4.47	9.1	6.5
<i>Asp. unguis</i>	0.28	0.41	0.14	0.00	3.50	4.92	8.4	6.1

¹⁾Pen: *Penicillium*, ²⁾Asp: *Aspergillus*, ^{3)P}: potato dextrose agar medium, ^{4)R}: red ginseng-extract agar medium

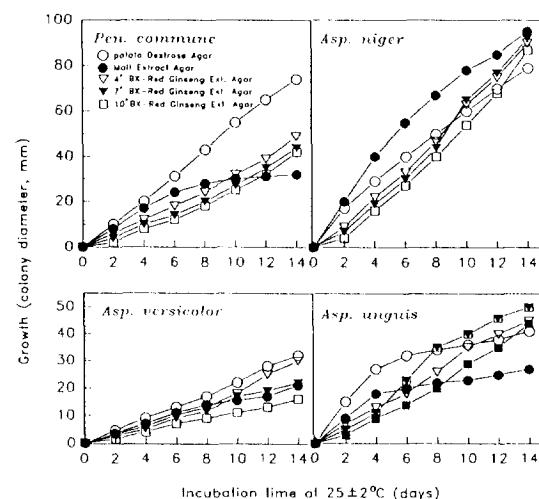


Fig. 2. Comparative effects of culture media on colony growth of molds isolated from red ginseng powder

일반 곰팡이 생육배지(PDA)에서보다 홍삼 extract 배지 상에서 더 낮은 방사선 감수성을 보여 홍삼성분이 감마선 조사에 의해 손상된 세포의 회복에 어느 정도 영향을 미치는 것으로 생각되며, 이는 이 등⁽¹⁷⁾이 홍삼 제품에서 *Aspergillus*, *Mucor* 및 *Rhizopus*속을 분리, 동정하여 이들 곰팡이가 홍삼성분에서 왕성한 생육을 보였다는 보고와도 관련이 있을 것으로 생각된다. 따라서 홍삼분말에 오염된 곰팡이를 살균하기 위해서는 이론치보다 다소 높은 조사선량이 요구된다는 것을 시사하고 있다. 한편 곰팡이의 종류에 따른 방사선 감수성은 일반 곰팡이 생육배지(PDA) 상에서와 동일한 경향을 나타내었다(Fig. 1, Table 2).

분리 곰팡이의 배지특성에 따른 생육 양상

홍삼에서 분리된 곰팡이에 대하여 배지의 종류에 따른 생육상태를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 각 배지상에서 이들 곰팡이의 생육속도를 보면 일반적으로 접종 후 배양초기에는 일반 곰팡이 생육배지(PDA,

MEA) 상에서의 생육이 홍삼배지에서의 생육보다 빨랐으며, 특히 홍삼배지의 홍삼액이스 농도가 증가함에 따라 생육속도가 늦어지는 경향이 뚜렷하였는데 이는 홍삼액이스 농도 증가와 더불어 곰팡이 생육배지의 수분활성도 저하가 초기 생육속도를 저연시킨 것으로 생각된다. 그러나 배양 1주일경 이후부터는 4° Brix와 7° Brix 농도의 홍삼배지상에서 생육이 왕성하였고, 이러한 경향은 특히 *Asp. unguis*에서 뚜렷하였다. 이는 앞의 방사선 감수성 시험에서 홍삼배지가 일반 곰팡이 배지상에서 보다 낮은 방사선 감수성을 보인 것과 일치한다. 이상의 결과와 관련하여 이 등⁽¹⁷⁾은 홍삼제품에서 *Aspergillus*, *Mucor* 및 *Rhizopus* 속을 분리, 동정하였고 이를 곰팡이는 홍삼성분에서 왕성한 생육을 나타내었다고 보고한 바 있다.

요 약

홍삼분말의 위생적 살균을 위해 감마선 조사기법을 이용하였다. 감마선조사에 따른 오염 미생물의 살균 효과는 호기성 전세균은 7.5 kGy, 곰팡이 및 대장균군은 2.5 kGy의 조사선량으로 검출한계 이하로 제거시킬 수 있었고 실온에서 6개월 저장후에도 미생물의 생육과 증식은 없었다. 홍삼분말에서 분리, 동정된 곰팡이는 *Penicillium commune*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus unguis*로 이들 포자의 D₁₀값은 각각 0.37-0.5 kGy, 0.24-0.31 kGy, 0.25-0.36 kGy, 0.28-0.41 kGy였으며, 2.5 kGy 선량에서의 불활성화계수는 각각 5-6.5, 7.4-9.3, 6.5-9.1, 6.1-8.4이었다. 한편 홍삼 extract를 첨가한 배지가 PDA 배지보다 더 낮은 방사선 감수성을 보였고, 분리곰팡이의 배지특성에 따른 생육양상은 배양중기 이후부터 홍삼 extract 배지상에서 생육이 왕성하였다.

문 헌

- 한국식품공업협회 : 식품공전, p.511 (1994)

2. WHO : Ethylene oxide, Environmental Health Criteria, 55 (1985)
3. Rajendran, S. and Muthu, M.: Detection of acrylonitrile and ethylene oxide in air and fumigated foodstuffs. *Bull Environm. Contam. Toxicol.*, 27, 426 (1981)
4. Sung, H.S., Park, M.H. and Lee, K.S.: The effective sterilization of white ginseng powder. *Korean J. Ginseng Sci.*, 6, 143 (1982)
5. Wesley, F., Rourke, B. and Darbshire, O.: The formation of persistent toxic chlorohydrines in foodstuffs by fumigation with ethylene oxide and with propylene oxide. *J. Food Sci.*, 30, 1037 (1965)
6. APHA : *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. M. Speck (ed.), American Public Health Association, Washington, D.C. (1976)
7. Harrigan, W.F. and McCance, M.C.: *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. Academic Press, London (1976)
8. Raper, K.B., Thom, C. and Femal, D.I.: *The Genus Aspergillus*. Robert E. Krieger Pub. Co., Huntington, New York (1973)
9. Raper, K.B., Thom, C. and Femal, D.I.: *A Manual of the Penicillia*. The Williams and Wilkins Co. (1949)
10. Choi, E.H.: Studies on the radiosensitivity and DNA damage by ionizing radiation in microorganisms. Ph. D. Thesis, Seoul National Univ. (1980)
11. IAEA: *Training Manual on Food Irradiation Technology and Techniques*. Technical Reports Series No. 114, Second Edition, Vienna, p.43-60 (1982)
12. Matsuyama, A.: *Radiation Preservation of Food*. (Proc. Symp., Bombay, Nov. 1972, IAEA/FAO), IAEA, Vienna, p.216 (1973)
13. 한국인삼연초연구원 : 1993년도 인삼연구보고서; 홍삼 품질관리연구. p.331 (1993)
14. Josephson, E.S. and Peterson, M.S.: *Preservation of Food by Ionizing Radiation*. Vol. II, CRC Press, Florida (1982)
15. Kitayama, S. and Matsuyama, A.: Possibility of the repair of double strand scissions in *Micrococcus radiodurans* DNA caused by gamma-rays, *Biochem. Biophys. Res. Commune.*, 33, 418 (1968)
16. Grecz, N., Lo, H., Kennedy, E.J. and Durban, E.: *Radiation Preservation of Food*. (Proc. Symp., Bombay, Nov. 1972, IAEA/FAO), IAEA, Vienna, p.177 (1973)
17. 이양희, 김길환, 진재순 : 홍삼 제품의 품질보존에 관한 연구, 한국과학기술연구소, CG 145-381, p.47 (1972)

(1996년 1월 22일 접수)