

유통 생식제품의 미생물 분포 및 감마선 조사를 이용한 위생화

김동호 · 송현파 · 육홍선* · 정영진* · 김영지** · 변명우†

한국원자력연구소 방사선식품 · 생명공학연구팀

*충남대학교 식품영양학과

**영남이공대학 식품영양과

Distribution of Microflora in Powdered Raw Grains and Vegetables and Improvement of Hygienic Quality by Gamma Irradiation

Dong-Ho Kim, Hyun-Pa Song, Hong-Sun Yook*, Young-Jin Chung*,
Yeung-Ji Kim** and Myung-Woo Byun†

Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute,
Daejeon 305-600, Korea

*Dept. of Food Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Dept. of Food Science and Nutrition, Yeungnam College of Science and Technology,
Daegu 705-703, Korea

Abstract

Improvement of hygienic quality of powdered raw grains and vegetables by gamma irradiation was investigated. Five products of powdered raw grains and vegetables were collected in a local market and analysed. The total viable cell counts of *Bacillus* were $10^4 \sim 10^7$ cfu/g, filamentous fungi $10^2 \sim 10^3$ cfu/g, coliform $10^1 \sim 10^4$ cfu/g, enteric bacteria on SS agar plate $10^1 \sim 10^3$ cfu/g. Coliform, enteric bacteria on SS agar plate and filamentous fungi were eliminated by 3 kGy of gamma irradiation. The D values of coliform, enteric bacteria on SS agar plate, *Bacillus*, and filamentous fungi were 0.68~0.80 kGy, 0.59~0.74 kGy, 1.84~2.18 kGy and 0.36~0.57 kGy, respectively. It was considered that optimal irradiation dose for radappertization was about 25 kGy, while 3~5 kGy of gamma irradiation was effective for radicidation.

Key words: powdered raw grains and vegetables, gamma irradiation, hygienic quality

서론

최근 식품의 유용성분을 선택적으로 섭취함으로써 건강을 향상시키기 위한 건강식품의 수요가 확대되고 있는 가운데 우리 나라의 건강보조식품 시장은 연간 1조원대로 성장하였으며 향후의 성장가능성도 매우 큰 것으로 평가되고 있다(1). 그러나 건강식품의 개발, 생산 및 소비에는 아직도 원료사용의 제한성, 기능성의 검증 미비, 의약품과의 애매한 구분, 무분별한 유통, 관리 제도의 미비 등과 같은 많은 문제점들이 부정적인 요소로 작용하고 있다(1). 따라서 관련 산업의 건전한 발전과 국민건강 증진을 위해서는 법규 제정, 기초연구 추진 등의 여러 분야에서 이러한 문제점의 해결이 필요한 실정이다.

한편, 우리 나라의 식품공전에서는 건강보조식품을 일반식품과 구분하여 명시하고 있으나 실제로는 일반식품이나 기타 식품류의 제품도 기능성을 표방하여 판매되는 경우가 많다. 따라서 특정 건강식품 시장이 성숙기에 접어들었는데도 법적인

관리가 제대로 이루어지지 못하여 시장의 혼란, 소비자 피해의 증가 등이 야기되는 사례가 빈번하다. 최근의 건강식품 시장에서 이러한 우려가 가장 큰 제품 중의 하나가 생식이다. 생식은 곡류, 또는 열채류 등을 열을 가하지 않고 자연건조 또는 동결한 다음 분말 등의 형태로 가공함으로써 곡류나 과채류의 다양한 기능성(2)을 유지시키게 하여 이를 건강식품으로 이용하는 것이다. 따라서 생식은 규격기준이 보다 엄격한 건강보조식품의 적용을 받지 않고 일반 곡류 가공품 또는 과채류 가공품 등의 기타식품군으로 판매가 가능하다. 특히 생식은 가열살균을 하지 않으며 섭취시에도 조리를 하지 않고 물에 희석하여 응용하는 경우가 대부분이므로 생식의 원료 및 제조공정에서 혼입된 유해 미생물에 의하여 식성병해를 일으킬 위험성이 크다. 따라서 생식제품의 미생물학적 품질수준 평가 및 위생기준 설정, 그리고 생식제품에 적합한 새로운 살균기술의 개발 등이 필요하나 이에 관한 연구는 아직까지 부족한 실정이다.

한편, 방사선 조사 기술은 미생물의 살균에 의한 식품 및 농

†Corresponding author. E-mail: mwbyun@kaeri.re.kr
Phone: 82-42-868-8060. Fax: 82-42-868-8043

산물의 부패방지와 여러 공중보건산물의 위생화에 매우 효과적인 방법으로 인정되어 이미 여러 분야에서 유용하게 이용되고 있으며 세계적으로 점차 그 이용범위가 확대되고 있다(3,4). 특히 방사선 조사 기술은 식품 고유의 풍미와 생화학적 품질, 그리고 기능성을 유지하면서도 미생물을 살균할 수 있고 포장 상태에서도 살균처리가 가능하여 제조공정에서의 2차 오염을 방지할 수 있는 등의 특성을 가지고 있으므로(3,4) 가열살균이 어렵고 기능성을 중요시하는 생식제품에 대한 적용 가능성이 매우 클 것으로 예상된다.

따라서 본 연구에서는 가열 및 기타 살균 방법으로는 미생물의 제어가 어려운 생식제품의 미생물학적 오염도를 측정하고 방사선 조사에 의한 살균 방법을 적용함으로써 생식제품의 보존성과 위생성을 향상시킬 수 있는 새로운 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

실험에 사용한 생식은 국내 주요 시판 제품 5종을 대전지역에서 구입하였으며 미생물 분리를 위한 배지는 Difco Laboratories(Detroit, Michigan, USA) 제품을, 일반분석 시약은 특급 제품을 사용하였다.

감마선 조사

감마선 조사를 위한 생식 시료는 set 포장된 각 제품에서 1회 음용량 기준의 소포장 제품을 random sampling하여 조사선량에 따라 3개씩 준비하였다. 실험에 사용한 각 제품의 유통기한은 6~12개월이었으며 시료는 제조 후 1개월 이내의 제품을 사용하였다. 시료의 감마선 조사는 한국원자력연구소의 선원 100,000 Ci, Co-60 감마선 조사시설(AECL, IR-79, Canada)을 이용하여 20°C의 실온에서 분당 70 Gy의 선량율로 각각 0, 0.5, 1, 2, 5, 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량의 확인은 ceric cerous dosimeter를 사용하였고 총 흡수선량의 오차는 ±5% 이내로 하였다.

일반분석

생식의 pH는 미생물 검사용으로 제조한 시료를 여과(Whatman No. 2)하여 그 여과액의 pH를 pH meter(Model 520A, Orion Co., USA)로 측정하였다. 시료의 수분 측정은 105°C 상압 건조법으로, 수분활성도(A_w)는 수분활성측정기(Thermal constainter TH-1, Novasina Co., Swiss)로 측정하였으며 총 탄수화물, 조지방, 조단백, 조회분의 함량은 AOAC법(5)에 의하여 측정하였다.

미생물 검사

생식의 미생물 검사는 coliform group, SS agar plate의 enteric bacteria group, *Bacillus* group, filamentous fungi group의 네 가지 미생물군을 대상으로 하였다. 미생물 검사를 위한 시료는 분말생식 10 g에 멸균수 90 mL를 가하여 mixer(Hanil,

FM 680T, Korea)에 60초간 마쇄하고 4°C에서 30분간 교반하여 제조하였다. 제조된 시험액을 연속 희석하여 각 미생물군의 선택배지에 1 mL씩 pour plating하고, 적정온도에서 3일간 배양하여 생성된 colony의 수를 colony counter(IPI Inc., Micro-count 1008, USA) 또는 육안으로 계수하여 colony formation unit(cfu/g)으로 나타내었다. 이 때 각 미생물군의 선택배지는 Difco manual(6)에 따라 coliform group은 EC agar(37°C), SS agar plate의 enteric bacteria group은 SS agar(37°C), *Bacillus* group은 dextrose tryptone agar(50°C), filamentous fungi group은 10% tartaric acid를 첨가하여 pH를 3.5로 조정된 potato dextrose agar(25°C)로 하였다. 한편, *Salmonella* 및 *Shigella*의 선택배지로 사용되는 SS agar는 *Salmonella*나 *Shigella* 뿐만 아니라 자연상태의 비병원성 미생물(gram negative facultatively anaerobic rods, Enterobacteriaceae)도 검출되고 본 실험에서는 분리미생물의 동정을 행하지 않았으므로 *Salmonella* 및 *Shigella* group으로 구분하지 않고 SS agar plate 분리 enteric group으로 표시하였다.

미생물의 방사선 감수성 측정

미생물의 방사선 감수성은 미생물의 수를 1/10로 감소시키는데 필요한 감마선 조사선량(D value)으로 나타내었다(7). 각 미생물군의 D 값은 감마선 조사선량에 따른 미생물의 사멸율을 측정하여 다음 log 선형방정식에서 기울기의 역수를 구하여 계산하였다.

$$D = \frac{\text{radiation dose(kGy)}}{(\log N_0 - \log N)}$$

(N_0 : 초기 미생물 수, N : 해당 조사선량에서의 생존 미생물 수)

결과 및 고찰

생식제품의 일반특성

실험에 사용한 생식의 수분 및 수분활성도, 그리고 일반성분 조성을 Table 1에 나타내었다. 시료의 수분은 4.22~7.18%의 범위였으며 수분 활성은 0.15~0.24의 분포를 보여주었다. 한편, 일반적인 미생물의 증식에 필요한 최저 수분 활성은 세균이 0.9, 곰팡이는 0.8 수준이며 내건성 곰팡이나 내삼투압성 효모도 0.6 수준이므로(8) 생식의 수분활성 범위에서는 미생물의

Table 1. The moisture content, water activity (A_w), composition of proximate compound, and pH of powdered raw grains and vegetables

Physicochemical attribute	Sample				
	A	B	C	D	E
Moisture (%)	4.22	4.44	3.69	7.18	5.85
Carbohydrate (%)	49.8	56.1	46.4	66.0	64.3
Lipid (%)	13.1	18.7	18.0	9.3	8.2
Protein (%)	28.2	14.9	22.3	11.3	17.7
Ash (%)	4.2	3.7	8.3	4.6	2.8
pH	6.42	5.22	6.06	5.14	5.59
Water activity (A_w)	0.21	0.18	0.15	0.26	0.23

생장이 이루어지지 않을 것으로 예측되었다. 따라서 생식 제품의 보존에 따른 미생물학적 부패보다는 낮은 수분활성 조건에서도 생존해 있는 병원성 미생물에 의한 위험성 증가와 위생관리 대책 마련이 보다 중요할 것으로 판단되었다. 생식제품의 영양학적 성분은 대부분 곡류를 주원료로 하므로 탄수화물의 함량이 가장 높았으며 C 제품은 특이적으로 회분의 함량이 높았다. 생식제품의 pH는 5.14~6.42의 분포로 대부분 약산성의 범위였다.

생식제품의 미생물 분포

생식제품 5종의 미생물학적 위생지표로 coliform group, SS agar plate 분리 enteric bacteria group, *Bacillus* group, 그리고 사상균류의 4가지 미생물군을 검출하여 그 분포를 Table 2에 나타내었다. 조사된 미생물군 가운데 *Bacillus* group의 세균이 $10^4 \sim 10^7$ cfu/g으로 분포하여 생식제품의 가장 일반적인 오염미생물로 확인되었고 사상균류는 $10^2 \sim 10^3$ cfu/g의 분포를 나타내었다. 한편, 병원성미생물의 오염지표가 되는 coliform group은 $10^1 \sim 10^4$ cfu/g, SS agar plate 분리 enteric bacteria group은 $10^1 \sim 10^3$ cfu/g의 분포를 보여 일반적인 가공식품의 미생물 규격이 대장균군 음성임을 감안할 때, 생식제품의 병원성 미생물 오염가능성이 상당히 클 것으로 예측되었다. 각 제품별로는 E사 제품의 미생물 오염도가 상대적으로 가장 낮았고 A 및 B사의 미생물 오염도가 커서 제조사에 따라 위생수준의 차이가 큰 것으로 나타났다. 한편, 생식제품에서 검출된 coliform group 미생물과 SS agar plate 분리 enteric bacteria group 미생물의 밀도는 10^1 cfu/g 내외의 분포를 보이는 소맥분 등의 곡류분말(9)보다 높은 수준이었는데 이는 생식의 제조과정에서 기구나 작업자 등을 통한 미생물의 2차 오염에 의한 것으로 추정되었다. 따라서 일반 곡류보다도 미생물 오염도가 높으면서도 조리를 하지 않고 직접 물에 희석하여 음료의 형태로 섭취하는 생식의 특성상 보다 엄격한 위생관리 및 새로운 살균기술의 적용이 필요함을 알 수 있었다.

생식제품 오염 미생물의 방사선 감수성

감마선 조사에 의한 각 미생물군의 살균효과를 제품별로 측정하여 Fig. 1에 표시하였다. 각 미생물군의 완전살균을 위한 감마선 조사선량은 제품의 초기 오염도에 따라 차이가 있었으나 방사선 감수성은 제품의 초기오염도와는 큰 상관없이 각 미생물군에 따라 비슷하였다(Table 3). Coliform group과 SS agar plate 분리 enteric bacteria group은 초기 오염도가 낮은 E 제품은 1 kGy 내외에서, 다른 제품은 2~3 kGy의 조사선량

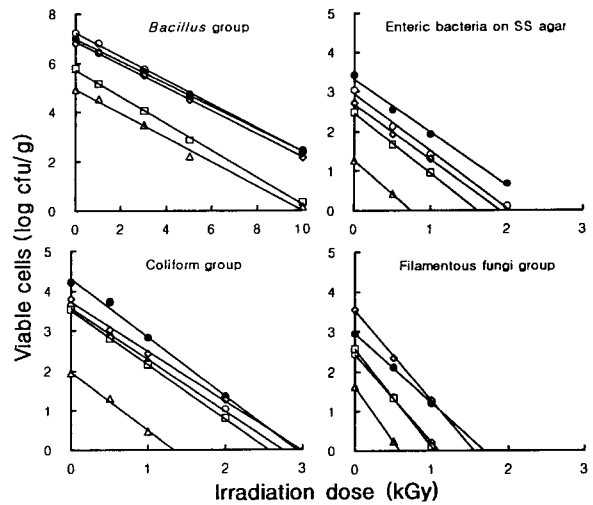


Fig. 1. Death rates of microorganisms survived in the powdered raw grains and vegetables by gamma irradiation.

Symbols of the sample are A: ○, B: ●, C: □, D: ■, E: △.

에서 완전살균 수준으로 제거되었다. *Bacillus* group 세균은 초기미생물 오염도가 $10^4 \sim 10^5$ cfu/g인 C, E 제품에서는 10 kGy의 조사선량에서 거의 완전살균이 이루어졌으나 10^7 cfu/g 내외의 초기오염도를 가진 A, B, D 제품은 10 kGy의 조사선량에서도 10^2 cfu/g의 미생물이 생존하였다. 한편, 시험제품 중의 사상균류는 1~2 kGy의 감마선 조사에 의하여 완전히 살균되었다.

Fig. 1의 미생물 생존곡선 기울기의 역수를 각 미생물군의 방사선 감수성(D value)으로 계산하여 Table 3에 나타내었다. Coliform group의 D 값은 0.68~0.80 kGy의 범위였으며 SS agar plate 분리 enteric bacteria group의 D 값은 0.59~0.74 kGy 범위였다. 한편, 생식에 분포하는 coliform group 미생물의 D 값은 식육제품 분포 *E. coli*의 D 값인 0.3 kGy 내외(10,11)보다 2배 이상 높아 생식 분포 coliform group 미생물의 방사선 저항성이 상대적으로 높았는데 이러한 결과는 생식의 수분활성도가 식육제품의 그것보다 현저히 낮은 때문으로 해석되었다.

Table 3. D values (kGy) of microorganisms survived in the powdered raw grains and vegetables

Microbial group	Sample				
	A	B	C	D	E
Coliform	0.77	0.68	0.73	0.80	0.68
Isolates on SS agar	0.69	0.74	0.66	0.71	0.59
<i>Bacillus</i>	2.06	2.18	1.84	2.12	1.97
Filamentous fungi	0.45	0.57	0.39	0.44	0.36

Table 2. Distribution and viable count (cfu/g) of microorganisms in powdered raw grains and vegetables

Microbial group	Sample				
	A	B	C	D	E
Coliform	4.42×10^3	1.65×10^4	3.53×10^3	6.27×10^3	8.80×10^1
Isolates on SS agar	1.10×10^3	4.66×10^3	2.94×10^2	5.18×10^2	1.80×10^1
<i>Bacillus</i>	1.63×10^7	9.37×10^6	5.84×10^5	6.52×10^6	8.33×10^4
Filamentous fungi	2.70×10^3	8.80×10^2	3.69×10^2	5.61×10^3	4.03×10^2

Table 4. 12D values (kGy) of microorganisms isolated from powdered raw grains and vegetables

Microbial group	Sample				
	A	B	C	D	E
Coliform	9.24	8.16	8.76	9.60	8.16
Isolates on SS agar	8.28	8.88	7.92	8.52	7.08
<i>Bacillus</i>	24.72	26.16	22.08	25.44	23.64
filamentous fungi	5.40	6.84	4.68	5.28	4.32

미생물의 방사선에 대한 감수성이나 저항성은 복잡한 주변 환경에 의하여 달라지는데 특히 수분활성도의 영향이 큰 것으로 알려져 있다(12-14). 방사선의 미생물에 대한 살균작용은 주로 물분자의 radical에 의하여 이루어지는데 수분이 낮은 환경에서는 방사선 조사에 의하여 물에서 생성되는 free radical의 생성이 낮아져 미생물에 대한 살균효과도 낮아진다. 따라서 건조 식품이나 냉동제품(12)의 방사선 조사시 미생물의 방사선 저항성은 수분활성도가 높은 제품보다 커지며, 이러한 사실은 여러 선행연구(14)에서도 보고되고 있다.

Bacillus group의 D 값은 1.84~2.18 kGy의 범위로 다른 미생물군에 비하여 상대적으로 방사선 저항성이 컸다. 한편, 일반적인 *Bacillus* sp. 영양세포의 D 값은 0.2 kGy 내외(15)이고 endospore는 0.5~3.0 kGy의 D 값을 갖는다는 보고(16,17)를 감안할 경우 생식에 분포하는 대부분의 *Bacillus* group 세균은 영양세포보다는 endospore 상태로 존재함을 알 수 있었다. 한편, 생식제품에 분포하는 사상균류의 D 값은 0.36~0.57 kGy의 범위를 나타내어 *Aspergillus*속 곰팡이 포자의 D 값인 0.2~0.3 kGy나 *Penicillium*속 곰팡이 포자의 D 값인 0.2~0.4 kGy(18,19)보다 높았는데, 이 또한 생식제품의 수분활성도가 낮아 방사선 저항성이 높아진 때문으로 해석되었다.

생식의 미생물 분포와 감마선 조사에 의한 살균, 그리고 미생물군의 방사선 감수성 평가 결과, 각 미생물군의 완전살균을 위한 이론적인 조사선량(12D value)은 coliform group과 SS agar plate 분리 enteric bacteria group은 10 kGy 수준, *Bacillus* group은 25 kGy 수준, 사상곰팡이는 5 kGy 내외로 계산되었다(Table 4). 따라서 생식의 완전멸균을 위한 이론적인 감마선 조사선량은 25 kGy 수준의 고선량이 된다. 그러나 *Bacillus* group 미생물은 일정 범위에서 검출이 허용되는 일반세균으로 구분되어 있고 생식제품의 낮은 수분활성으로 인하여 증식의 가능성도 없으므로 생식제품의 위생화를 위한 감마선 조사기준은 coliform group과 enteric bacteria group 미생물의 살균 기준으로 설정하는 것이 효과적인 것으로 사료된다. 본 연구에서 생식제품에 분포하는 coliform group과 SS agar plate 분리 enteric bacteria group 미생물은 대부분 3 kGy의 조사선량에서 거의 제거되었으므로 생식의 위생화를 위한 감마선 조사선량을 3~5 kGy의 수준으로 설정하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

요 약

유통 생식 5종의 수분 함량 4.22~7.18%의 범위였으며 수분

활성은 0.15~0.26의 분포를 보여 미생물에 의한 변패보다는 낮은 수분활성에서도 생존해 있는 병원성 미생물의 제거가 생식의 중요한 품질관리 요소일 것으로 판단된다. 생식의 미생물 분포는 *Bacillus* group $10^4 \sim 10^7$ cfu/g, 사상균류 $10^2 \sim 10^3$ cfu/g, coliform group $10^1 \sim 10^4$ cfu/g, SS agar plate 분리 enteric bacteria group $10^1 \sim 10^3$ cfu/g의 수준으로 특히 병원성 미생물의 오염가능성이 컸다. 감마선 조사 결과 coliform group, SS agar plate 분리 enteric bacteria group, 그리고 사상균류는 3 kGy의 조사선량에서 완전살균 수준으로 제거되었다. 생식 분포 미생물의 D 값은 coliform group은 0.68~0.80 kGy, SS agar plate 분리 enteric bacteria group은 0.59~0.74 kGy, *Bacillus* group은 1.84~2.18 kGy, 사상균류는 0.36~0.57 kGy의 범위를 나타내었다. 생식제품의 위생화를 목적으로 할 경우 감마선 조사 선량은 생식제품에 분포하는 coliform group과 SS agar plate 분리 enteric bacteria group 미생물의 사멸기준인 3~5 kGy의 수준으로 설정하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업에 의하여 수행되었으며 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Kwak NS, Shin HH. 2000. Control of health food. *Food Science and Industry*. 33(4): 43-51.
2. Mazza G. 1998. *Functional foods*. 1st ed. Technomic Publishing Co., Lancaster. p 1-234.
3. Byun MW. 1997. Application and aspect of irradiation technology in food industry. *Food Sci and Industry* 30(1): 89-100.
4. Kilcast D. 1996. Food irradiation: Current problems and future potential. *International Biodeterioration & Biodegradation* p 279-296.
5. AOAC. 1980. *Official methods of analysis*. 13th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC.
6. Difco Laboratories. 1984. *Difco manual*. 10th ed. Detroit, Michigan, USA.
7. FAO/IAEA/WHO Study Group. 1999. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. In *WHO technical report series 890*. World Health Organization, Geneva. p 54.
8. Ray B. 2001. *Fundamental food microbiology*. 2nd ed. CRC Press, New York. p 455-462.
9. Ray B. 2001. *Fundamental food microbiology*. 2nd ed. CRC Press, New York. p 43-53.
10. Maxcy RB, Tiwari NP. 1973. Irradiation of meats for public health protection. In *Radiation preservation of food*. International Atomic Energy Agency, Vienna. p 491-504.
11. FAO/IAEA/WHO Study Group. 1999. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. In *WHO technical report series 890*. World Health Organization, Geneva. p 49-77.
12. Anellis A, Berkowitz D, Kemper D. 1973. Comparative resistance of non-sporogenic bacteria to low-temperature gamma radiation. *Applied Microbiology* 25: 517-523.
13. Davies R. 1976. The inactivation of vegetative bacterial cells

- by ionizing radiation. In *Inhibition and inactivation of vegetative microbes*. Skinner FA, Hugo WG, eds. Academic Press, London. p 279-304.
14. Ma K, Maxcy RB. 1981. Factors influencing radiation resistance of vegetative bacteria and spores associated with raddappertization of meat. *J Food Sci* 46: 612-616.
 15. Grant IR, Patterson MF. 1992. Sensitivity of foodborne pathogens to irradiation in the components of a chilled ready meal. *Food Microbiology* 9: 95-103
 16. Briggs A. 1966. The resistance of spores of the genus *Bacillus* to phenol, heat and radiation. *J Appl Bacteriol* 29: 490-504.
 17. Haurmulv BG, Snygg BG. 1973. Radiation resistance of spores of *Bacillus subtilis* and *B. stearothermophilus* at various water activities. *J Appl Bacteriol* 36: 677-682.
 18. Blank G, Corrigan D. 1995. Comparison of resistance of fungal spores to gamma and electron beam radiation. *International Journal of Food Microbiology* 26: 269-277.
 19. Ito H, Iizuka H, Sato T. 1973. Identification of osmiophilic *Aspergillus* isolated from rice and their radiosensitivity. *Agric Biol Chem* 37: 789-798.

(2002년 5월 7일 접수; 2002년 8월 10일 채택)