

## 곡류 가공품중의 미생물 오염도 조사

김중범 · 박용배 · 강정복 · 김종찬  
경기도보건환경연구원 북부지원

### Distribution of Microorganisms in Seonsik and Saengsik

Jung-Beom Kim, Yong-Bae Park, Jeong-Bok Kang, Jong-Chan Kim  
North branch kyonggi-do Institute of Health & Environment

#### Abstract

This study was performed to survey distribution of microorganisms and food-borne pathogenic bacterium in order to estimate microbiological safety in seonsik and saengsik. Total aerobic bacteria was detected over  $10^5$  CFU/g in raw materials(4.3%) and products(35.7%) of saengsik. *Coliforms* were detected over  $10^2$  CFU/g in seonsik products(27.3%) and in raw materials(4.3%) and products(35.7%) of saengsik. *Cl. perfringens* was detected in saengsik products(4.8%). *B. cereus* was detected in raw materials(12.5%) and products(18.2%) of seonsik and raw materials(13.0%) and products(23.8%) of saengsik. Concentration and detection rate of microorganisms in products were higher than raw materials.

These results show some food hygiene problems but do not cause food poisoning because concentration of *Clostridium perfringens* and *B. cereus* were lower than  $10^5$  CFU/g.

Key words : Seonsik, Saengsik, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*

#### I. 서론

현재 한국의 식생활은 소득수준의 향상과 사회 구조의 변화에 따라 풍부한 영양을 섭취하고 있으나 서구화된 식생활에 따른 영양 불균형으로 심장병, 암, 당뇨병, 비만 등과 같은 성인병과 만성질환의 발병이 증가하고 그 연령층도 낮아지는 경향을 나타내고 있다<sup>1,2)</sup>. 이러한 문제는 국민 평균 수명이 증가하여 고령화 사회를 맞이한 우리나라<sup>3)</sup>에 있어 사회 경제적 부담을 증가시키고 삶의 질 향상에 커다란 장애 요인으로 작용 할 수 있으므로 질병 치료보다 질병 예방을 위해 식생활 개선이 절실히

요구되고 있다.

식물성 식품 위주의 채식생활을 하는 종교인과 세계적 장수마을에서는 성인병과 만성질환의 발병이 없거나 매우 드물었다는 연구결과가<sup>4-7)</sup> 보고되면서 채식 위주의 건강기능식품, 영양보충용식품, 식사대용식품 등이 개발, 판매되고 있는데 그 중 한 가지가 선식과 생식이다.

선식이란 전통적으로 곡물을 볶아 가루로 만든 미숫가루를 현대적 개념으로 발전시킨 것으로 곡물, 채소, 견과, 해조류 등을 순간고온건조법, 드럼 드라이공법 등으로 가열 건조하여 제조한 식품이고<sup>8)</sup>, 생식이란 선식보다 더 다양한 식품을 가열 건

조하지 않고 저온건조 또는 동결 건조하여 인체 대사에 필요한 효소, 비타민, 무기질, 엽록소 등의 파괴를 최소화한 식품이다<sup>9~11)</sup>. 생식 시장규모는 2000년 900억원에서 2002년 2000억원으로 급격히 증가하였으며 2005년 약 3000억원 수준으로 성장할 것으로 전망되고 2001년 미국, 중국, 일본을 비롯한 10여개 국가에 290만 달러를 수출 하는 등 김치, 인삼의 뒤를 이을 대한민국 고유 식품으로 성장하고 있다<sup>12)</sup>. 그러나 제조과정 중 가열살균공정이 없고 섭취 시에도 단순 음용하는 경우가 대부분으로 원료 및 제조과정에서 유해미생물이 혼입되어 위생학적 문제점을 발생 시킬 수 있으므로 미생물학적 안전성 확보가 중요하다하겠다.

그러나 현재까지의 연구결과를 보면 비만과 체질개선 기능 등 생식 유용성에 관한 연구<sup>13, 16)</sup>가 일부 이루어졌고 미생물 안정성 확보에 관한 연구<sup>17, 18)</sup>는 매우 미약한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 선식과 생식의 미생물학적 안전성 확보와 규격 설정에 기초 자료를 제공하고자 위생 미생물과 식중독 세균 9종을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 조사대상

본 연구는 대형할인점 등에서 판매되고 있는 선식원료 16건, 선식제품 11건, 생식원료 46건, 생식제품 42건 총 115건을 구입하여 얼음을 채운 아이스박스로 운반하고 6시간 이내 실험에 사용하였다.

### 2. 검사방법

#### 2.1 시료 전처리

선식 및 생식 25 g 을 무균적으로 취하여 멸균 생리식염수 225 ml를 가하여 stomacher(Bagmixer 400, Interscience, USA)로 균질화한 후 시험용액으로 하였다.

#### 2.2 미생물 검사

2.2.1 총균수, 대장균군수 및 진균수 및 효모수 시험용액을 10 단계 희석법에 따라 희석하여 각

희석액을 멸균 Petri dish 2매에 각각 1 ml를 분주한 후 총균수는 Plate Count agar(Oxoid, England), 대장균군수는 Desoxycholate Lactose agar(Oxoid, England), 진균수 및 효모수는 Potato dextros agar(Oxoid, England)를 무균적으로 분주하여 시험용액과 배지를 잘 혼합한 다음 냉각 응고시키고 각각의 배지를 중첩시켜 확산집락의 발생을 억제시킨 후 냉각 응고시킨 Petri dish는 35°C에서 24~72시간 배양한 후 1개 평판 당 30~300개의 집락(colony)을 생성한 평판을 택하여 g 당 집락수를 계산하였다.

#### 2.2.2 식중독 세균의 측정

*Clostridium perfringens*는 시험용액을 10 단계 희석법에 따라 희석하여 시험용액과 각 희석액 100  $\mu$ l를 TSC agar(Oxoid, England)에 도말하여 35°C에서 24시간 혐기 배양한 후 전형적인 집락을 측정하였다. *Bacillus cereus*는 시험용액을 10 단계 희석법에 따라 희석하여 시험용액과 각 희석액 100  $\mu$ l를 MYP agar(Oxoid, England)에서 도말하여 35°C에서 24시간 배양한 후 전형적인 집락을 측정하였다.

*Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni*도 식품공전<sup>19)</sup>과 감염성실험실진단지침<sup>20)</sup>에 따라 실험하였다.

#### 2.2.3 식중독 세균의 동정

*Cl. perfringens*는 TSC agar에서 불투명한 환을 가지는 황회색의 전형적인 집락을 선택 Tryptic Soy agar(TSA)와 Blood agar에 streaking하고 35°C에서 24시간 혐기배양한 후  $\alpha$ ,  $\beta$ -hemolysis를 나타내는 균주에 대하여 Gram stain, Catalase를 실시하였으며, API 20A test kit(bio Merieux, France)를 이용 생화학 시험을 하여 동정하였다.

*B. cereus*는 MYP agar에서 혼탁한 환을 갖는 분홍색 집락을 선별하여 TSA와 Blood agar에 streaking하여  $\beta$ -hemolysis를 나타내는 균주에 대하여 Gram stain, Catalase test를 실시하였으며, API 50CHB와 API 20E test kit(bio Merieux,

France)를 이용 생화학 시험을 하여 동정하였다.

### 3.1 중합 효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction:PCR)을 이용한 균주 확인시험

#### 3.1.1 균주의 준비 및 DNA 분리

생화학적 시험에서 *Cl. perfringens* 와 *B. cereus*로 동정된 균주를 Blood agar 배지에 35°C에서 24시간 혐기 또는 호기 배양하여, 균주 1 백급이를 TE buffer(10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA ; pH 7.6) 1 ml에 부유시킨 다음 95°C에서 10분간 열처리하여 균질화 시킨 후 14,000 rpm 에서 10분간 원심분리 하여 상층액을 사용하였다.

#### 3.1.2 PCR 증폭반응 및 전기영동

균주의 확인 시험을 위하여 *Cl. perfringens*는 특이적인 16S rRNA와 Cpa 및 Cpe gene에서 증폭된 DNA가 576bp, 445bp 및 231bp 인 16S-CP, CPA, CPE primer(GENECHASER™ *Cl. perfringens* Test, RapiGEN, Korea)를 사용 하였고, *B. cereus*는 특이적인 16S rRNA 와 Hemolysin gene에서 증폭된 DNA가 110bp, 179bp 인 16S-BC 와 BCH primer (GENECHASER™ *B. cereus* Test, Rapi GEN, Korea)를 사용 PCR을 실시하였으며, PCR mixture는 10 mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 40 mM KCl, 0.001% gelatin, 250 μM dNTP, primer 30 pM, 1 U Taq polymerase 를 함유하도록 조제하여 사용하였다. 반응액에 5 μl의 target DNA를 가한 후 95°C 3분, (94°C 20초, 63°C 25초, 72°C 45초) 40 cycle 반복하였으며 72°C 에서 5분간 정치하였다.

증폭된 DNA는 loading buffer와 혼합하여 2% agarose gel에 TBE buffer를 사용하여 110 volt로 50분간 전기영동 시키고, Ethidium bromide로 염색하여 자외선 투조기 상에서 Polaroid film으로 사진을 찍어 관찰하였다.

#### 3.1.3 독소확인시험

*Cl. perfringens*의 enterotoxin 생성능은 Cooked meat medium (Difco, USA)배지에서 35°C에서 24시간 혐기 배양한 후 영양세포를 75°C에서 20분간

열처리하여 불활성화 시킨다. 잔존하는 포자를 35°C에서 24시간 혐기 배양한 후 3000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 상층액을 취한 후 PET-RPLA (Denkaseiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 독소를 확인하였다.

*B. cereus*의 enterotoxin 생성능은 Tryptic soy broth(Difco, USA)배지에서 35°C 에서 24시간 배양한 후 3000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 상층액을 취한 후 CRET-RPLA(Denkaseiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 독소를 확인하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 곡류가공품의 미생물 분포

#### 1.1 총균수

선식과 생식의 총균수 실험결과는 Table 1, 2, 3 및 4에 나타내었다. 선식 원료의 경우 평균  $1.4 \times 10^3$  CFU/g, 선식 제품의 경우 평균  $1.4 \times 10^5$  CFU/g 으로 나타났으며, 생식 원료는  $2.3 \times 10^5$  CFU/g, 생식 제품은  $2.8 \times 10^6$  CFU/g 으로 선식에 비해 생식의 총균수가 높게 나타났다. 이러한 결과는 제조공정 중 가열처리 과정이 있는 선식에 비해 저온건조 또는 동결건조 방법으로 생산되는 생식의 제조공정에 기인하는 것으로 판단된다.

또한, 선식 원료 및 선식 제품은 Solberg<sup>21)</sup> 등이 제시한 배식단계 음식의 기준치인 총균수  $10^5$  CFU/g 을 초과하지 않았으나 생식 원료 46건과 제품 42건 중 2건(4.3%)과 15건(35.7%)이  $10^5$  CFU/g 을 초과하여 위생학적 문제점을 나타내었다. 생식의 고유한 특성을 유지하며 위생학적 문제점을 해결하기 위해 자외선 살균 또는 감마선 조사<sup>17)</sup> 등의 방법이 고려되어야 할 것으로 판단된다.

#### 1.2 대장균균수

선식과 생식의 대장균수 실험결과는 Table 1, 2, 3 및 4에 나타내었다. 선식 원료의 경우 평균  $2.1 \times 10^1$  CFU/g, 선식 제품의 경우 평균  $9.7 \times 10^2$  CFU/g 으로 나타났으며, 생식 원료는  $3.7 \times 10^2$  CFU/g, 생식 제품은  $1.2 \times 10^3$  CFU/g 으로 선식에 비해 생식의 대장균균수가 다소 높게 나타났다. 또

한, 선식 원료는 Solberg<sup>21)</sup> 등이 제시한 배식단계 음식의 기준치인 대장균군수  $10^2$  CFU/g 을 초과하지 않았으나 선식 제품의 경우 11개 제품 중 3건(27.3%), 생식 원료 46건과 제품 42건 중 2건(4.3%)과 15건(35.7%)이  $10^2$  CFU/g 을 초과하였으며 원료나 제품에 따른 경향은 나타나지 않았다.

대장균군은 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* 등 분변 유래균<sup>22)</sup>을 포함하고 있어 위생지표세균으로 활용되고 있으며, 대장균군이 검출된 선식과 생식의 안전성을 확보하기 위해 철저한 위생관리가 수반되어야 할 것으로 판단된다.

### 1.3 진균수 및 효모수

선식과 생식의 진균수 및 효모수 실험결과는 Table 1, 2, 3 및 4에 나타내었다. 선식 원료의 경우 평균  $2.4 \times 10^2$  CFU/g, 선식 제품의 경우 평균  $9.3 \times 10^3$  CFU/g 으로 나타났으며, 생식 원료는  $4.5 \times 10^4$  CFU/g, 생식 제품은  $2.7 \times 10^6$  CFU/g 으로 나타났다. 이러한 결과는 자연계에 널리 분포하며 수분활성이 매우 낮아도 생육이 가능한 진균의 특성에 기인하는 것으로 판단되며, 진균의 대부분이 비병원성<sup>23)</sup>으로 위생학적 위해 수준은 매우 낮으나 원료와 제품의 위생관리에 만전을 기해야 할 것으로 판단된다.

## 2. 곡류가공품의 식중독세균 분포

식중독세균은 *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* 등 9종의 세균을 검사 하였으며 *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* 를 제외한 식중독세균은 검출 되지 않았다.

### 2.1 *Cl. perfringens* 분포

선식과 생식의 *Cl. perfringens* 실험결과는 Table 1, 2, 3 및 4에 나타내었다. *Cl. perfringens* 는 사람, 토양 등 자연계에 광범위하게 분포하고 있으며 설사와 복통을 주 증상으로 하는 감염형식

중독을 발생시키는 편성 혐기성균으로 선식 원료, 선식 제품 및 생식 원료에서는 검출 되지 않았으나 생식 제품의 경우 42건 중 2건(4.8%)에서  $3.5 \times 10^1$  CFU/g,  $2.6 \times 10^1$  CFU/g 검출되었다. 이러한 결과는 위생상 문제점을 내포 할 수 있으나 *Clostridium perfringens*에 의한 식중독은 원인식품에서 균수가  $10^6 \sim 10^8$  CFU/g 의 범위로 검출되어야 증상을 발현하고<sup>20)</sup>, 수분활성도(Water activity, Aw) 0.9 이상에서 생육 가능한 세균의 특성과 생식의 Aw가 0.2 내외인 것으로 보고한 김동호 등<sup>17)</sup>의 연구와 비교 할 때 세균의 증식에 의한 식중독 발생 가능성은 희박할 것으로 판단되나 제조, 보관 및 유통 중 철저한 위생관리가 필요한 것으로 판단된다.

### 2.2 *B. cereus* 분포

선식과 생식의 *B. cereus* 실험결과는 Table 1, 2, 3 및 4에 나타내었다. *B. cereus*는 오심, 구토, 복부경련, 설사를 일으키는 식중독의 원인균으로<sup>20)</sup> 식품 중에서 증식 할 때 enterotoxin을 생산하여 구토형 식중독과 설사형 식중독을 발생시키는 세균<sup>24)</sup>이며, 선식 원료의 경우 16건 중 2건(12.5%)에서  $1.0 \times 10^1$  CFU/g,  $1.1 \times 10^1$  CFU/g 검출되었고 선식 제품의 경우 11건 중 2건(18.2%)에서  $1.1 \times 10^1$  CFU/g,  $1.6 \times 10^1$  CFU/g 검출되었다. 생식 원료의 경우 46건 중 6건(13.0%)에서  $1.1 \times 10^1 \sim 2.6 \times 10^1$  CFU/g 검출되었고 생식 제품의 경우 42건 중 10건(23.8%)에서  $1.1 \times 10^1 \sim 4.0 \times 10^1$  CFU/g 검출되었다. 이러한 결과는 토양 등 자연계에 널리 분포하며 135°C에서 4시간 가열하여도 포자를 형성 생존하는 *B. cereus* 균<sup>25)</sup>이 토양 등을 통해 원료와 제품으로 이행된 것으로 판단되며 식중독 원인 식품에서  $10^5 \sim 10^8$  CFU/g 이상 검출되어야 식중독을 발생 시킨다는 미국 FDA 등의 결과<sup>26)</sup>와 생식의 Aw 측정 결과<sup>17)</sup>를 종합해 볼 때 세균 증식에 의한 식중독 유발 가능성은 낮은 것으로 판단되나 제조, 보관 및 유통 중 철저한 위생관리가 수반되어야 할 것으로 판단된다.

### 2.3 PCR을 이용한 균주 확인

PCR은 최근 들어 미생물을 동정하는데 효과적

Table 1. Distribution of microorganisms in raw materials of Seonsik

Raw materials	Cell number(CFU/g)					
	Total aerobic bacteria	Coliforms	Mold & Yeast	<i>Cl. perfringens</i>	<i>B. cereus</i>	Others <sup>1)</sup>
Black sesame	$1.1 \times 10^1$	ND <sup>2)</sup>	$2.0 \times 10^2$	ND	ND	ND
Black soy bean	$1.3 \times 10^2$	ND	$1.0 \times 10^2$	ND	ND	ND
Perilla japonica	$2.2 \times 10^1$	ND	$2.2 \times 10^1$	ND	ND	ND
Sprouted barley	$3.1 \times 10^3$	$2.7 \times 10^2$	$3.8 \times 10^2$	ND	ND	ND
Sprouted corn	$2.3 \times 10^2$	ND	$5.5 \times 10^2$	ND	ND	ND
Sprouted red bean	$1.4 \times 10^2$	$1.5 \times 10^1$	$1.3 \times 10^1$	ND	ND	ND
Sprouted brown rice	$4.7 \times 10^2$	ND	$2.8 \times 10^2$	ND	ND	ND
Rice	ND	ND	$1.0 \times 10^1$	ND	ND	ND
Soy bean	ND	ND	$1.1 \times 10^1$	ND	ND	ND
Barley	ND	ND	$1.0 \times 10^1$	ND	ND	ND
Millet	$8.2 \times 10^3$	ND	$2.0 \times 10^3$	ND	ND	ND
Corn	$8.6 \times 10^3$	$1.6 \times 10^1$	$1.1 \times 10^3$	ND	$1.0 \times 10^1$	ND
Sesame	$1.2 \times 10^1$	ND	$1.0 \times 10^1$	ND	ND	ND
Job's rears	$2.1 \times 10^1$	ND	$1.5 \times 10^1$	ND	ND	ND
Glutinous rice	$1.1 \times 10^3$	$1.1 \times 10^1$	$1.1 \times 10^2$	ND	ND	ND
Brown rice	$5.6 \times 10^2$	$1.2 \times 10^1$	$1.1 \times 10^2$	ND	$1.1 \times 10^1$	ND

<sup>1)</sup> Others : *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli O157:H7*, *Campylobacter jejun*

<sup>2)</sup> ND : Not detected

Table 2. Distribution of microorganisms in Seonsik products

Products	Cell number(CFU/g)					
	Total aerobic bacteria	Coliforms	Mold & Yeast	<i>Cl. perfringens</i>	<i>B. cereus</i>	Others <sup>1)</sup>
A	$5.8 \times 10^4$	$5.6 \times 10^2$	$1.6 \times 10^3$	ND	ND	ND
B	$1.2 \times 10^5$	$6.3 \times 10^2$	$3.2 \times 10^4$	ND	$1.6 \times 10^1$	ND
C	$1.2 \times 10^4$	$2.1 \times 10^2$	$2.1 \times 10^4$	ND	ND	ND
D	$7.2 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$	$3.6 \times 10^3$	ND	ND	ND
E	$2.3 \times 10^4$	$7.1 \times 10^2$	$1.1 \times 10^4$	ND	ND	ND
F	$7.6 \times 10^3$	$1.5 \times 10^2$	$2.6 \times 10^3$	ND	ND	ND
G	$1.2 \times 10^5$	$3.6 \times 10^3$	$8.6 \times 10^3$	ND	ND	ND
H	$4.9 \times 10^3$	$1.1 \times 10^1$	$2.8 \times 10^3$	ND	ND	ND
I	$9.8 \times 10^5$	$3.2 \times 10^3$	$6.8 \times 10^3$	ND	$1.1 \times 10^1$	ND
J	$2.1 \times 10^5$	$5.1 \times 10^2$	$1.2 \times 10^4$	ND	ND	ND
K	$4.5 \times 10^3$	$1.2 \times 10^1$	$1.8 \times 10^1$	ND	ND	ND

<sup>1)</sup> Others : *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli O157:H7*, *Campylobacter jejun*

<sup>2)</sup> ND : Not detected

Table 3. Distribution of microorganisms in raw materials of Saengsik

Products	Cell number(CFU/g)					
	Total aerobic bacteria	Coliforms	Mold & Yeast	<i>Cl. perfringens</i>	<i>B. cereus</i>	Others <sup>1)</sup>
Potato	$1.2 \times 10^6$	$8.1 \times 10^1$	$1.6 \times 10^5$	ND	$1.6 \times 10^1$	ND
Black sesame	$1.8 \times 10^3$	$1.6 \times 10^1$	$1.5 \times 10^4$	ND	ND	ND
Black soybean	$7.5 \times 10^2$	ND	$3.2 \times 10^3$	ND	ND	ND
Unhulled barley	$7.2 \times 10^1$	ND	$1.1 \times 10^2$	ND	ND	ND
Sweet potato	$8.3 \times 10^1$	ND	$3.2 \times 10^4$	ND	ND	ND
Millet	$3.8 \times 10^4$	$6.3 \times 10^2$	$1.2 \times 10^4$	ND	ND	ND
Green tea leaves	$3.2 \times 10^2$	ND	$1.6 \times 10^2$	ND	ND	ND
Sea tangle	$4.3 \times 10^2$	$1.2 \times 10^1$	$2.8 \times 10^3$	ND	ND	ND
Carrot	$4.0 \times 10^2$	$1.1 \times 10^1$	$2.1 \times 10^2$	ND	ND	ND
JuJube	$1.3 \times 10^3$	ND	$1.1 \times 10^2$	ND	ND	ND
Balloon flower	$3.2 \times 10^5$	$6.2 \times 10^3$	$6.5 \times 10^4$	ND	$1.8 \times 10^1$	ND
Perilla japonica	$3.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^1$	$5.2 \times 10^2$	ND	ND	ND
Hemp	$1.5 \times 10^3$	$1.1 \times 10^1$	$3.6 \times 10^2$	ND	ND	ND
Parsley	$8.8 \times 10^1$	$4.2 \times 10^2$	$3.8 \times 10^4$	ND	ND	ND
Brown seaweed	$5.4 \times 10^1$	$1.2 \times 10^2$	$1.8 \times 10^5$	ND	ND	ND
Chestnut	$2.3 \times 10^3$	ND	$1.8 \times 10^2$	ND	ND	ND
Soybean	$2.4 \times 10^3$	$1.1 \times 10^1$	$1.8 \times 10^2$	ND	ND	ND
Barley	$6.2 \times 10^2$	ND	$1.8 \times 10^3$	ND	ND	ND
Mountain berry	$8.6 \times 10^1$	ND	$1.2 \times 10^1$	ND	ND	ND
Apple	$2.9 \times 10^3$	$1.6 \times 10^1$	$1.8 \times 10^2$	ND	ND	ND
Cataegi fructus	$3.8 \times 10^1$	$1.2 \times 10^2$	$2.8 \times 10^3$	ND	$2.1 \times 10^1$	ND
Shrimp	$8.3 \times 10^1$	$2.1 \times 10^1$	$2.8 \times 10^2$	ND	ND	ND
Pineneedle	$8.1 \times 10^2$	ND	$1.8 \times 10^1$	ND	ND	ND
Millet	$2.3 \times 10^3$	$1.8 \times 10^2$	$1.6 \times 10^2$	ND	ND	ND
Spinach	$4.5 \times 10^3$	$1.1 \times 10^1$	$3.2 \times 10^2$	ND	ND	ND
Naked barley	$5.8 \times 10^2$	$1.2 \times 10^1$	$1.5 \times 10^3$	ND	ND	ND
Mugwort	$4.1 \times 10^1$	$6.5 \times 10^3$	$2.8 \times 10^5$	ND	$1.1 \times 10^1$	ND
Cabbage	$2.6 \times 10^3$	$1.8 \times 10^2$	$3.2 \times 10^5$	ND	$1.2 \times 10^1$	ND
Onion	$2.4 \times 10^2$	ND	$3.6 \times 10^4$	ND	ND	ND
Indian root	$3.5 \times 10^2$	ND	$2.8 \times 10^3$	ND	ND	ND
Ling chiu mushroom	$1.6 \times 10^3$	$1.8 \times 10^2$	$1.8 \times 10^3$	ND	ND	ND
Corn	$7.1 \times 10^3$	$2.1 \times 10^2$	$3.6 \times 10^5$	ND	ND	ND
Job's tears	$9.3 \times 10^1$	$1.2 \times 10^2$	$3.2 \times 10^4$	ND	ND	ND
Ginkgo	$4.1 \times 10^3$	$1.2 \times 10^1$	$2.2 \times 10^2$	ND	ND	ND
Pine nut	$6.6 \times 10^3$	$1.8 \times 10^2$	$5.2 \times 10^4$	ND	ND	ND
Glutinous indian millet	$4.5 \times 10^3$	$1.5 \times 10^2$	$6.8 \times 10^4$	ND	ND	ND
Sesame	$1.6 \times 10^1$	$1.8 \times 10^2$	$3.7 \times 10^4$	ND	ND	ND
Glutinous rice	$5.1 \times 10^6$	$2.9 \times 10^2$	$2.2 \times 10^5$	ND	ND	ND
Kale	$4.1 \times 10^3$	$6.1 \times 10^2$	$2.8 \times 10^4$	ND	ND	ND
Small red bean	$2.6 \times 10^3$	$1.1 \times 10^1$	$1.8 \times 10^4$	ND	ND	ND
Oak mushroom	$3.1 \times 10^3$	$1.1 \times 10^1$	$1.5 \times 10^2$	ND	ND	ND
Brown rice	$3.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^1$	$3.2 \times 10^4$	ND	$1.7 \times 10^1$	ND
Walnut	$2.4 \times 10^3$	$1.1 \times 10^2$	$3.8 \times 10^4$	ND	ND	ND
Pumpkin	$1.2 \times 10^7$	$2.3 \times 10^1$	$1.2 \times 10^4$	ND	ND	ND
Black rice	$1.4 \times 10^3$	$1.6 \times 10^1$	$2.8 \times 10^3$	ND	ND	ND
Black soybean	$1.8 \times 10^2$	ND	$1.1 \times 10^2$	ND	ND	ND

<sup>1)</sup> Others : *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni*

<sup>2)</sup> ND : Not detected

Table 4. Distribution of microorganisms in Saengsik products

Products	Cell number(CFU/g)					
	Total aerobic bacteria	Coliforms	Mold & Yeast	<i>Cl. perfringens</i>	<i>B. cereus</i>	Others <sup>1)</sup>
A	$3.2 \times 10^4$	$3.1 \times 10^2$	$1.6 \times 10^4$	ND	$1.2 \times 10^1$	ND
B	$2.2 \times 10^5$	$6.6 \times 10^3$	$1.9 \times 10^5$	ND	ND	ND
C	$3.1 \times 10^5$	$2.9 \times 10^3$	$3.2 \times 10^4$	ND	$1.8 \times 10^1$	ND
D	$1.9 \times 10^5$	$2.1 \times 10^3$	$1.8 \times 10^4$	ND	ND	ND
E	$8.1 \times 10^3$	$1.2 \times 10^2$	$1.7 \times 10^3$	ND	ND	ND
F	$1.2 \times 10^5$	$6.3 \times 10^2$	$4.8 \times 10^3$	ND	ND	ND
G	$2.3 \times 10^5$	$1.2 \times 10^3$	$2.3 \times 10^4$	ND	ND	ND
H	$1.3 \times 10^5$	$2.6 \times 10^3$	$6.8 \times 10^4$	ND	$2.1 \times 10^1$	ND
I	$8.1 \times 10^3$	ND	$1.1 \times 10^2$	ND	ND	ND
J	$2.4 \times 10^6$	$4.8 \times 10^3$	$1.3 \times 10^6$	ND	ND	ND
K	$6.5 \times 10^3$	ND	$1.2 \times 10^4$	ND	ND	ND
L	$2.2 \times 10^6$	$1.2 \times 10^2$	$2.6 \times 10^5$	ND	ND	ND
M	$1.3 \times 10^6$	$2.6 \times 10^2$	$6.8 \times 10^6$	ND	ND	ND
N	$1.1 \times 10^3$	$8.1 \times 10^1$	$1.6 \times 10^3$	$3.5 \times 10^1$	ND	ND
O	$1.5 \times 10^6$	$1.3 \times 10^3$	$1.3 \times 10^5$	ND	$3.6 \times 10^1$	ND
P	$8.3 \times 10^5$	$1.9 \times 10^3$	$6.1 \times 10^5$	ND	ND	ND
Q	$3.6 \times 10^4$	$4.2 \times 10^1$	$1.1 \times 10^4$	ND	ND	ND
R	$8.1 \times 10^6$	$6.3 \times 10^3$	$9.6 \times 10^6$	ND	ND	ND
S	$1.2 \times 10^6$	$3.2 \times 10^2$	$5.6 \times 10^5$	ND	ND	ND
T	$8.1 \times 10^6$	$9.1 \times 10^2$	$4.1 \times 10^5$	ND	$4.0 \times 10^1$	ND
V	$4.8 \times 10^3$	ND	$1.4 \times 10^3$	ND	ND	ND
W	$4.8 \times 10^6$	$5.3 \times 10^2$	$1.6 \times 10^5$	ND	$2.2 \times 10^1$	ND
X	$2.2 \times 10^4$	$8.6 \times 10^2$	$3.2 \times 10^3$	ND	ND	ND
Y	$1.8 \times 10^6$	$2.6 \times 10^2$	$1.8 \times 10^3$	ND	ND	ND
Z	$1.2 \times 10^5$	$6.1 \times 10^3$	$8.6 \times 10^4$	ND	ND	ND
AA	$5.6 \times 10^6$	$2.1 \times 10^3$	$3.2 \times 10^5$	ND	$1.1 \times 10^1$	ND
BB	$1.3 \times 10^7$	$2.1 \times 10^2$	$5.2 \times 10^4$	$2.6 \times 10^1$	$1.5 \times 10^1$	ND
CC	$7.2 \times 10^6$	$1.5 \times 10^2$	$1.6 \times 10^4$	ND	ND	ND
DD	$2.3 \times 10^3$	ND	$5.1 \times 10^3$	ND	ND	ND
EE	$2.4 \times 10^6$	$3.1 \times 10^2$	$1.6 \times 10^5$	ND	ND	ND
FF	$3.1 \times 10^2$	ND	$1.2 \times 10^1$	ND	$2.1 \times 10^1$	ND
GG	$2.2 \times 10^5$	$1.6 \times 10^3$	$4.8 \times 10^5$	ND	ND	ND
HH	$4.8 \times 10^7$	$2.6 \times 10^3$	$9.1 \times 10^7$	ND	ND	ND
II	$1.5 \times 10^3$	$3.2 \times 10^1$	$1.2 \times 10^3$	ND	ND	ND
JJ	$8.2 \times 10^5$	$2.1 \times 10^2$	$1.7 \times 10^6$	ND	ND	ND
KK	$2.4 \times 10^6$	$3.1 \times 10^2$	$1.6 \times 10^5$	ND	ND	ND
LL	$2.2 \times 10^6$	$2.3 \times 10^3$	$3.1 \times 10^5$	ND	ND	ND
MM	$6.1 \times 10^2$	ND	$1.2 \times 10^2$	ND	ND	ND
NN	$4.6 \times 10^5$	$1.5 \times 10^3$	$1.6 \times 10^4$	ND	$1.2 \times 10^1$	ND
OO	$2.8 \times 10^4$	$1.2 \times 10^2$	$2.1 \times 10^3$	ND	ND	ND
PP	$2.4 \times 10^3$	ND	$1.1 \times 10^2$	ND	ND	ND
QQ	$6.8 \times 10^3$	$3.6 \times 10^1$	$1.8 \times 10^3$	ND	ND	ND

<sup>1)</sup> Others : *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni*

<sup>2)</sup> ND : Not detected

인 도구로 사용되어지고 있으며<sup>27)</sup> 각종 병원체를 신속히 검출하고 동정하는데 이용되고 있어 생화학적 실험 결과 *Cl. perfringens*와 *B. cereus*로 확인된 균주에 대하여 PCR을 이용 확인하였으며 그 결과는 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다. *Cl. perfringens* 2균주는 모두 16S rRNA gene에서 증폭된 576bp band와 Cpa gene에서 증폭된 445bp band를 확인하여 *Cl. perfringens*로 확인되었다. enterotoxin생산 gene인 Cpe gene에서 증폭된231bp band는 확인되지 않아 장독소 생산 능력이 없는 것으로 판명되었으며 장독소에 의한 심각한 식중독은 발생하지 않을 것으로 판단된다. *B. cereus*로 확인된 20균주는 모두 16S rRNA gene에서 증폭된 110bp band와 Hemolysin gene에서 증폭된 179bp band를 확인하여 *B. cereus*로 확인 되었다.

2.4 Enterotoxin 확인

생식에서 분리된 *Cl. perfringens* 2균주는 모두 장독소가 검출되지 않아 PCR 결과와 일치 하였다.

*B. cereus* 20균주 중 7균주만 enterotoxin을 생성하여 저온성 *B. cereus*의 91% 가 toxin을 생성한다는 보고와<sup>28)</sup> 상이한 결과를 보였다.

3. 원료와 제품의 미생물 분포 비교

3.1 미생물 분포 비교

선식 원료와 제품에 관한 미생물 변화는 Fig. 3

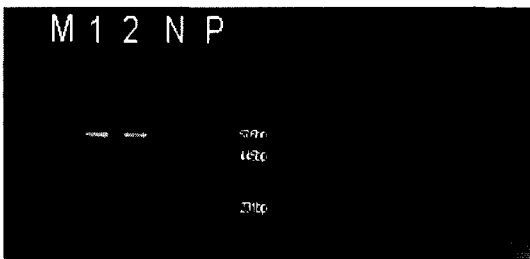


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis(2.0% agarose) of PCR amplification products of isolated *Cl. perfringens* from saengsik. Lane M : size marker  
Lane 1~2 : *Cl. perfringens* from saengsik  
Lane N : Negative control  
Lane P : Positive control

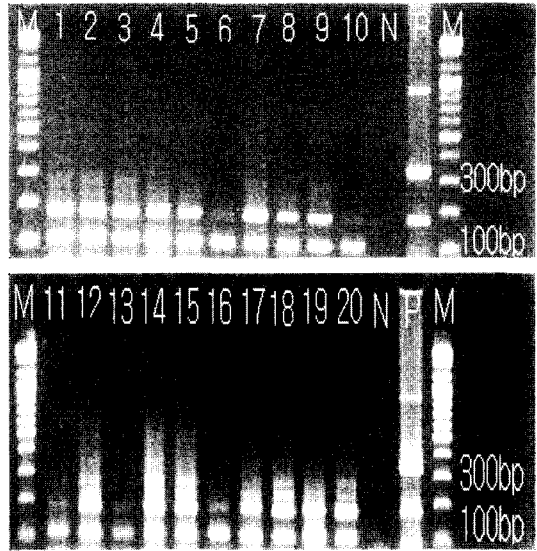


Fig. 2. Agarose gel electrophoresis(2.0% agarose) of PCR amplification products of isolated *B. cereus* from seonsik and saengsik. Lane M : size marker  
Lane 1~20 : *B. cereus* from seonsik and saengsik  
Lane N : Negative control  
Lane P : Positive control

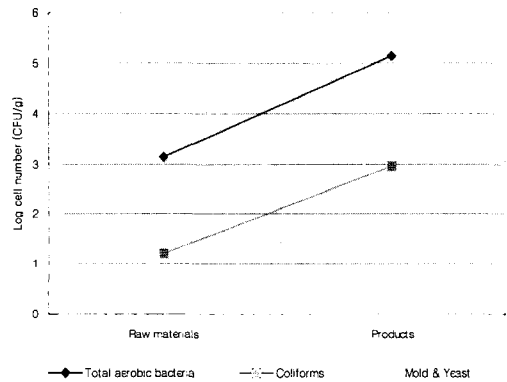


Fig. 3. Comparasion of microorganisms cell number in raw materials and products of Seonsik.

에 나타내었고, 생식 원료와 제품에 관한 미생물 변화는 Fig. 4에 나타내었다.

선식의 경우 총균수는 원료에서 10<sup>3</sup> CFU/g, 제품에서 10<sup>5</sup> CFU/g, 생식의 경우원료에서 10<sup>5</sup>



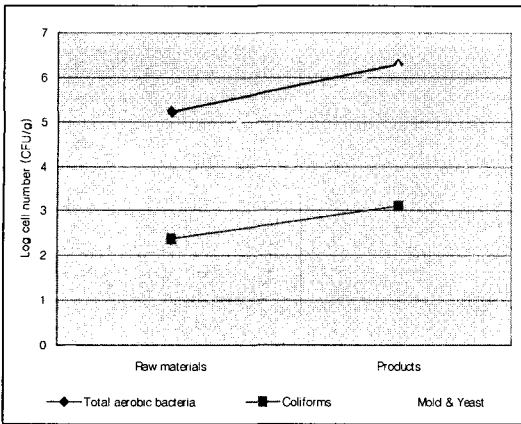


Fig. 4. Comparison of microorganisms cell number in raw materials and products of Saengsik.

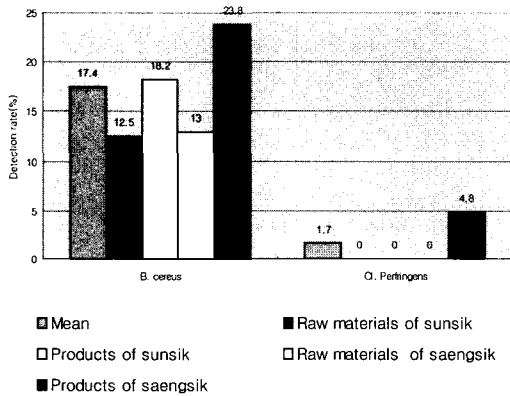


Fig. 5. Detection rate(%) of food-borne pathogenic bacteria in Seonsik and Saengsik.

CFU/g, 제품에서  $10^6$  CFU/g 으로 선식, 생식 모두 원료에 비해 제품의 총균수가 증가 하는 경향을 나타내었다. 대장균군의 변화를 살펴보면 선식 원료의 경우  $10^1$  CFU/g, 제품의 경우  $10^2$  CFU/g, 생식 원료의 경우  $10^2$  CFU/g, 제품의 경우  $10^3$  CFU/g 으로 선식, 생식 모두 원료에 비해 대장균수가 다소 증가 하는 경향을 나타내었으나 총균수에 비해 그 증가율은 미미하였다. 진균수 및 효모수 변화를 살펴보면 선식 원료의 경우  $10^2$  CFU/g, 제품의 경우  $10^3$  CFU/g, 생식 원료의 경우  $10^4$  CFU/g, 제품의 경우  $10^6$  CFU/g 으로 나타

내어 총균수, 대장균군수와 동일 하게 원료에 비해 제품의 진균수 및 효모수가 증가하는 경향을 나타내었다.

이러한 결과는 선식 제조과정 중 2차 오염에 의한 미생물수의 증가를 보고<sup>18)</sup>한 것과 일치하며, 선식 및 생식 제조과정 중 2차 오염의 대부분이 분쇄과정에서 발생한다는 보고<sup>23)</sup>로 보아 분쇄기의 철저한 관리가 요구된다.

### 3.2 식중독 세균의 분포 비교

선식 및 생식의 원료와 제품에 관한 식중독 세균의 검출을 변화는 Fig. 5에 나타내었다. *Cl. perfringens*는 생식 제품에서만 4.8%의 검출율을 나타내었고, *B. cereus*는 선식 원료에서 12.5%, 제품에서 18.2%, 생식 원료에서 13.0%, 제품에서 23.8%도 나타나 원료에 비해 제품에서 검출율이 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 원료로부터 이행되는 경우와 제조과정 중 2차 오염에 의한 것으로 판단된다. 특히, *B. cereus* 식중독은 요리도중 생존한 포자가 발아 가능한 온도에 도달, 유지될 경우에 발아, 증식하여 enterotoxin을 생성할 때 발생 한다<sup>20)</sup> 는 보고로 보아 제조, 보관 및 유통 중 철저한 위생관리와 작업장 온도관리가 필요하며 제품의 수분 출입을 차단하는 포장을 통해 Aw를 유지하여야 할 것으로 판단된다.

## IV. 결 론

대형할인점 등에서 판매되고 있는 선식 및 생식의 미생물학적 안정을 확보하고자 미생물 분포와 9종의 식중독세균의 존재 등 위생상태를 실험한 결과는 다음과 같다.

1. 총균수는 생식 원료 4.3%, 생식 제품 35.7%가  $10^5$  CFU/g을 초과하였고, 대장균군은 선식 제품 27.3%, 생식 원료 4.3%, 생식 제품 35.7%가  $10^2$  CFU/g을 초과하여 위생학적 문제점을 나타내었다.
2. *Cl. perfringens*는 생식 제품 4.8%에서 검출 되었으며, *B. cereus*는 선식 원료 12.5%, 선식 제품 18.2%, 생식 원료 13.0%, 생식 제품 23.8%에

서 검출되어 위생학적 문제점을 내포하고 있었으나, 검출균수  $10^1$  CFU/g 으로 식중독 유발균수  $10^5$  CFU/g 보다 낮았고, 미생물 생육에 필요한 최저 Aw 보다 매우 낮은 Aw를 가진 제품의 특성상 식중독 유발 가능성은 낮은 것으로 판단되었다.

## 참 고 문 헌

- Kang, H. J. and Y. S. Song Dietary fiber and cholesterol meta- bolism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 358-369. 1997.
- 이기열, 박영심, 박태선, 김은경, 장미라 한국인의 식생활평가. 160- 177, 신광출판사.1998.
- Korean Statistical Association. . Death of cause stastical annual report. 2001
- Yoon J. S., Lee W. J. A nutritional survey of Buddhist Nuns., *Korean J. Nutr.* **15(4)**, 268-276. 1982.
- Cha B. K. A study of nutrient intake status and the prevalence of obesity in Buddhist Nuns., *Korean J. Community Nutrition*. **6(2)**, 227-233.2001.
- Cha B. K. A comparative study of relationships among eating behavior, intake frequency of food group and cardiovascular disease related factors in vegetarians and non-vegetarians. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **30(1)**, 183-192. 2001.
- Khor G. L., Voon P. C., Tee E. S., H. B. H., W. M. L. Cardiovascu-lar risk factors among Malaysian urban vegetarians. *J. Community Nutrition*. **2(2)**, 110-118. 2000.
- 한국의 맛 연구회 . 전통건강음료. 대원사.1997.
- 이상윤 . 생식의 유용성 연구와 시장 동향. *국민영양* **223**, 20 27. 2000.
- 한성동 동결건조 기술의 산업현황. *식품세계* **3(39)**, 38-42..2002.
- Yoon O. H. Approach to nutritional status for uncooked for vegetarian, non-vegetarian and evaluation of uncooked powdered foods. Ph. D. Dissertation, King Sejong Unive-rsity..1991.
- 생식산업의 현황과 전망 2002년 한국식품영양 과학회 추계산업 심포زم.2002.
- Son S. M and Lee M. R. Difference of nu-tritional status, dietary behavior and health status of whole grain formula dieters and non-dieters. *J. Community Nutrition 추계학술 대회*.1998.
- 김성수, 하태열, 이명기, 홍도희, 이민재, 김두남 곡류, 두류 및 겉정깨 등을 이용한 건강식품 개발. 한국식품개발연구원.2000.
- Charghi G. Biological syndrome of raw vegetarian individuals. *Bordeaux Medical* **13**, 711-716. 1980.
- Jang Y. S., Lee J. H., Kim O. y., Park H. Y., Lee S. Y. Consumption of whole grain and legume powder reduces insulin demand, lipid peroxidation and plasma homocysteine concentrations in patients with chronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **21**, 2065-2071. 2001.
- 김동호, 송현과, 육홍선, 정영진, 김영지, 변명우. . 유통 생식제품의 미생물 분포 및 감마선 조사를 이용한 위생화. *한국식품영양과학회지*, **31(4)**, 589-593. 2002
- 장태은, 문선양, 이건욱, 백장미, 한정수, 송옥자, 신일식. 시판생식의 제조공정 및 최종제품의 미생물 분포. *한국식품과학회지*, **36(3)**, 501-506. 2004.
- 식품공전식품의약품안전청 78-112. 2000.
- 감염병실험실 진단지침 국립보건원. 109-283. 1996.
- Solberg, M., Buckalew, J.J., Chen, C.M., Schaffner, D.W., O' Neill, k., McDowell J., Post, L. S., and Borderck, M. Microbio-logical safety assurance system for foodser-vice facilities. *Food Technol.* **44**, 68.1990.
- 박석기 등. 위생 미생물 시험법 해설. 미래문화. 60-72. 1998.
- 김승곤, 김태운, 이견섭. 최신병원미생물학. 고

- 문사. 387-393. 1991.
24. Ueda S. . Ecology of *Bacillus cereus* as food-bone pathogene. *Bokin Bobia* **21**, 89-97. 1993
25. Ueda S. Occurrences and control of *Bacillus cereus* in dairy products and cooked rice. *Bokin Bobia* **30**, 321-327. 2002.
26. US Food & Drug Administration. Bacteriological Analytical Mannual On Line. US Food & Drug Administration. 2001.
27. Tsai, Y., palmer, C. J.m and Sangermano, L. R. . Detection of *Escherichia coli* in sewage and sludge by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbial.* **59**. 353 -357.1992.
28. Beattie, S.H. and Williams, A.G. Detection of toxigenic strains *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. with an improved cytotoxicity assay. *Lett. Appl.* 1999.
29. 이정규 . 즉석 이유식 제조 시 HACCP의 적용. 동국대학교 산업기술환경대학원 석사학위논문. 1998.
27. Tsai, Y., palmer, C. J.m and Sangermano, L.