

## 레토르트 및 감마선 조사에 의한 화닭 덮밥 소스의 미생물 제어 효과 비교

김영식<sup>1</sup> · 김현주 · 윤요한 · 신명곤<sup>1</sup> · 김천제<sup>2</sup> · 신미혜<sup>3</sup> · 이주운\*

한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소, <sup>1</sup>우송대학교 식품생물과학과,  
<sup>2</sup>건국대학교 축산식품생물공학전공, <sup>3</sup>을지대학교 식품과학부

### Antimicrobial Effects of Retort and Gamma Irradiation on Bacterial Populations in Spicy Chicken Sauce

Young-Sik Kim<sup>1</sup>, Hyun-Joo Kim, Yohan Yoon, Myung-Gon Shin<sup>1</sup>, Cheon-Jei Kim<sup>2</sup>,  
Mee-Hye Shin<sup>3</sup>, and Ju-Woon Lee\*

Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Advanced Radiation Technology Institute,  
Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Woosong University, Daejeon 300-718, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

<sup>3</sup>School of Food Science, Eulji University, Seongam 461-713, Korea

#### Abstract

This study evaluated the antimicrobial effects of retort process and gamma irradiation on reduction of total bacterial populations in spicy chicken sauce, which is served on top of the steamed rice. Commercial spicy chicken sauce was treated with retort and gamma ray at 0, 1, 3, 5, and 10 kGy. Total aerobic bacterial populations were then enumerated on plate count agar and isolated bacteria from the test samples were identified using PCR analysis. Moreover, gamma ray sensitivity of identified bacteria was evaluated by  $D_{10}$  values, and genotoxicity of gamma-irradiated samples was examined. Gamma irradiation at 3 kGy reduced total aerobic bacterial cell counts in spicy chicken sauce below detection limit, but total aerobic bacterial cell counts in test samples treated with retort were 2.1 log CFU/g. Identified bacteria from the samples were *Bacillus subtilis*, *B. amyloiquefaciens*, and *B. pumils*, and the  $D_{10}$  values for *B. subtilis* and *B. cereus* were 0.39 ( $R^2 = 0.921$ ) and 0.28 log CFU/g ( $R^2 = 0.904$ ), respectively. The SOS chromotest showed that the gamma-irradiated spicy chicken sauce did not cause mutagenicity. These results indicate that gamma irradiation of spicy chicken sauce could be useful in ensuring microbial safety.

**Key words:** spicy chicken sauce, retort, gamma irradiation, microbial contamination

#### 서 론

최근의 우리 사회는 소득수준의 향상과 함께 맛의 고급화로 미각의 지향과 간편성의 지향이 점점 확대되고 있다. 이러한 변화를 식품산업적인 측면에서 살펴보면 첫째 핵가족화에 따른 독신자의 증가, 둘째 여성의 사회참여에 따른 맞벌이 부부 증가, 셋째 생활의 풍요로 레저인구증가, 넷째 고급화, 개식화, 간편화 등 식생활 소비 패턴의 변화,

다섯째 편의점 확대에 따른 간편성 욕구증가, 여섯째 24시간 생활화에 따른 불규칙한 식사개념 등으로 요약할 수 있다(Park *et al.*, 2004).

현재 가장 많이 소비되고 있는 즉석조리식품은 주로 레토르트 파우치 형태로 판매되고 있다. 우리나라 식품공전에서 레토르트 식품을 단층 플라스틱 필름이나 금속박 또는 이를 여러 층으로 접착하여 파우치와 기타 모양으로 성형한 용기에 제조, 가공 또는 조리한 식품을 충전하고 밀봉하여 가압/가열 멸균한 것으로 직접 또는 간단한 조리방법으로 식용이 가능하며 보존성이 높고 휴대와 운반이 용이하도록 인스턴트화한 것으로 정의한다(Korea Food and Drug Administration, 2004). 레토르트 가공방법은 완전 조리된 식품을 내열성 포장재질에 담아 고온고압조건

\*Corresponding author : Ju-Woon Lee, Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea. Tel: 82-63-570-3204, Fax: 82-63-570-3207, E-mail: sjwlee@kaeri.re.kr

(121°C, 4분 이상)에서 살균함으로써 상업적 무균성을 부여한 식품 가공방법으로 식품을 상온에서도 장시간 안전하게 보관할 수 있다. 이러한 즉석조리식품은 카레류, 짜장류, 하이스류, 수프 등이 있는데 이들은 각각 10-20여 가지의 재료를 혼합하여 레토르트 살균과정을 거친 후, 소비자들에게 유통된다.

그러나 위와 같은 즉석조리식품에도 다량의 미생물이 검출되어 위생적인 측면에서 문제가 되고 있다는 일부 연구가 보고되었다. Koo 등(1993)은 레토르트 파우치 카레를 제조한 다음 미생물 분석을 한 결과,  $2.5 \times 10^4$  cells/g이 검출되었다고 발표하였다. Wonjick-Stopczynska 등(2002)은 유통 중인 8가지 종류의 인스턴트 수프의 미생물을 조사한 결과 *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* 등의 미생물이 검출되었다고 보고하였다. 또한 덮밥 소스 제조 시 가장 많이 사용되고 있는 장류에도 발효과정에서 유래한 다양한 미생물(*Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus* spp. 등)이  $10^7$ - $10^8$  cells/g 내외로 분포하고 있어 제품 자체의 보존뿐만 아니라 가공식품의 원료로 사용하는데 커다란 제한요소가 된다고 보고하였다(Kim *et al.*, 2001). 따라서 즉석조리식품의 위생화를 위해 보다 안전하고 효과적인 살균기술이 필요하다.

한편, 21세기 식품 가공처리 기술로 평가 받고 있는 방사선 조사기술은 미래 식량자원 확보와 인류를 기아와 식인성 질병으로부터 벗어날 수 있게 함은 물론 화학약품으로 인한 환경공해와 해로운 보존제의 사용 의존도를 획기적으로 줄일 수 있는 새로운 식품 위생화 기술로 현재 식품관련 산업에서 막대한 파급효과를 얻을 수 있는 기술로 각광받고 있다. 식품의 방사선 조사는 식중독의 원인인 위해 미생물을 사멸하고 식품의 저장성 연장을 위한 최적의 방법으로 알려져 있다. 미국 식품의약품안전청은 1999년 12월 식품유래 위해 미생물의 사멸과 제품의 유통기한 연장을 위한 식육의 방사선 조사를 허용하고 있다. 우리나라도 1987, 1988, 1991 및 1995년에 4차례에 걸쳐 총 18개 품목의 식품조사가 허가되었으며 기존품목을 확대하여

복합조미식품류를 비롯한 7개 품목이 2004년 5월 추가로 허가되었다(Korea Food and Drug Administration, 2004). 또한 적절한 선량의 방사선 조사는 식품의 물리, 화학적 및 관능적 특성에 영향을 주지 않고 효과적으로 미생물을 제어한다고 보고되었다(Byun, 1997). 그리고 방사선 조사한 식품의 건전성은 이미 세계보건기구(WHO), 국제식량농업기구(FAO), 국제원자력기구(IAEA)와 국제기관 및 학술단체 등에서 식품의 보존 및 위생화 수단으로 안전성을 공인하였다(FAO/IAEA/WHO, 1999).

따라서 본 연구에서는 극한 환경에서 취식이 가능하도록 안전성 및 기호성이 확보된 덮밥 소스류 개발을 위한 기초연구로 많이 소비되고 있는 화닭 덮밥소스의 위생화를 위해 레토르트 및 감마선 조사 처리와의 비교연구를 진행하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료준비 및 처리

실험에 사용된 화닭 덮밥 소스는 (주)시아스(Cheongwon, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 소스의 재료 및 제조방법은 Table 1과 같다. 제시된 원료를 1차 혼합 후(180 g/bag) 85°C에서 10분간 가열 과정을 거친 후 포장(PET/nylon/cast polypropylene, 110 mm×160 mm)을 한 다음 레토르트 살균 및 감마선 조사를 각각 실시하였다. 레토르트 살균은 에어스팀식 고온고압 조리살균 장치(STERILACE, Kyoungghan Co., Korea)를 이용하여 120°C에서 20분간 처리 후 8°C까지 냉각하였다. 감마선 조사는 한국원자력연구원 정읍 방사선과학연구소(Jeongeup, Korea) 내 선원 11.1 PBq, Co-60 감마선 조사시설(point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co., Ltd., Canada)을 이용하여 시간당 10 kGy의 선량율로 각각 0, 1, 3, 5 및 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter(5 mm, Bruker Instruments, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의

**Table 1. Ingredients in spicy chicken sauce, which is served on top of steamed rice**

Ingredients	Contents (g)	Ingredients	Contents (g)
Chicken breast	27.00	Chicken extract	1.00
Carrot	10.00	Ginger	0.25
Onion	10.00	L-monosodium glutamate	0.60
Red pepper powder	1.50	PA starch	2.00
Wheat-gluten of malt	9.00	Black pepper powder	0.15
Garlic	0.80	Sodium chloride	1.00
Apple puree	2.10	Garlic powder	0.10
Refined sugar	2.50	Onion powder	0.10
Rice wine	0.80	Paprika agent	0.15
Sweetening agent	0.80	Kochujang	4.00
Vegetable mix	0.50	Water	24.05
Corn oil	1.60		

규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다. 시료는 실험 시작 전까지 4°C에 보관하였다.

### 미생물 오염도 평가

감마선 조사한 향신료의 미생물 오염도를 측정하기 위하여 시료 1 g에 멸균된 식염수(0.85%, NaCl) 9 mL를 첨가한 다음 혼합하여 10진 희석법으로 희석한 희석액을 plate count agar(PCA; Difco Laboratories, USA)에 도말 하여 총세균수를 측정하였다. 미생물의 증식은 표준한천배양방법으로 30°C에서 48시간 배양한 후 30-300 개의 집락을 형성한 배지만 계수하여 log CFU/g로 나타내었다.

### 오염 미생물 동정

#### 균주의 분리 및 DNA 추출

덮밥 소스 내 미생물의 분리를 위하여 PCA 배지를 사용하였다. 향신료를 멸균 식염수에 희석하여 PCA에 접종한 다음 30°C에서 48시간 배양한 후 생성된 colony를 취하여 순수 분리하였다. 이를 수거 후 genomic DNA kit (Invitrogen, USA)를 이용하여 PCR에 사용될 template DNA를 추출하였다.

#### PCR primer

원료 향신료 오염 미생물의 유전자를 증폭하기 위해 2종의 PCR primer를 이용하여 실험하였다. 목적 염기서열로는 16S rDNA를 선정하였다. 16S rDNA PCR 분석은 Keyser 등(2003)의 논문에서 기술된 primer로 5'-CCC GCA TCT CTG CAG GAT TCT C-3'과 5'-CTA ATA CCG CAT AAC GTC TAC G-3'을 사용하였다.

#### 중합효소연쇄반응(PCR)

중합효소연쇄반응 용액은 총 20 µL이었으며 증류수 19.2 µL, template DNA 0.5 µL(100 ng/µL)와 각각의 primer는 0.3 µL(20 pmol)를 취하고 premix(Bioneer, Korea)를 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR 수행 조건은 PC-808(ASTECH, Japan)을 사용하여 denaturation은 94°C에서 30초, annealing은 50°C에서 30초, extension은 72°C에서 1분씩 총 30회를 반복 실시하고 마지막으로 72°C에서 3분 간 last extension을 실시하였다.

#### Agarose gel 전기영동에 의한 증폭산물 확인

PCR 증폭산물의 확인을 위하여 1.2%(w/v) agarose gel을 이용하여 전기영동장치(Advance, Japan)로 분석하였다. Agarose 1.2 g과 1×TBE(tris boric acid EDTA) 완충용액 100 mL을 섞어 1.2% gel을 만든 후 PCR 산물 2 µL에 10× bromophenol blue dye 0.5 µL를 섞어서 gel에 loading하고

100 V에서 40분 전기영동시켰다. Size marker로는 1000 bp DNA ladder(TAKARA, Japan)를 사용하였다. 전기영동이 끝난 후 gel은 SYBR으로 염색하였으며 증폭된 DNA는 Gel image analyzer(Bio-rad, USA)로 관찰하였다. 증폭된 PCR product는 PCR purification kit(Qiagen, Germany)를 이용하여 정제하였으며, 증폭된 DNA는 SolGent사(Korea)에 sequencing을 의뢰하였다.

#### 염기서열 분석

확보된 염기서열은 National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 Basic Local Alignment Search tool과 Ribosomal Database Project II tool에 등록되어 있는 database를 사용하여 검색하였다.

### 감마선 감수성

#### 멸균 및 균주 접종

병원성 미생물의 방사선 감수성을 측정하기 위하여 화닭 덮밥 소스를 멸균시킨 후 미생물을 접종하였다. 화닭 덮밥 소스는 각각 10 g씩 PE nylon bag에 넣은 다음 합기 포장한 후 40 kGy 선량의 감마선을 조사하여 멸균하였다. 시험 균주로는 향신료 내 오염 미생물 동정 결과 중 대표적인 병원성 세균인 *Bacillus cereus* KCTC 1012 및 *B. subtilis* KCTC 1022를 이용하였으며, 한국생명공학연구원 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 2종류의 병원성 미생물들은 이들이 접종된 tryptic soy agar(TSA; Difco)에서 1 백금이를 취해 같은 tryptic soy broth(Difco) 10 mL에 접종하여 24시간 배양시킨 배양액 0.1 mL를 취해 새로운 배지 10 mL에 접종하여 18시간 동안 2차 배양한 후 그 배양액을 실험에 사용하였다. 균주 접종 시 배양배지에서 오는 오차를 줄이기 위해 2차 배양액을 원심분리(698.8 g, 15 min)한 후 상등액을 제거하여 0.85% 멸균식염수로 2회 세척하였다. 실험에 사용된 2균주의 초기농도는 7-8 log CFU/mL 수준이 되도록 하였으며 균주를 멸균된 화닭덮밥소스에 2%(v/w)농도로 접종하였다.

#### 감마선 조사

감마선 조사는 한국원자력연구원 정읍 방사선과학연구소(Jeongeup, Korea) 내 선원 11.1 PBq, <sup>60</sup>Co감마선 조사 시설을 이용하여 시간 당 10 kGy의 선량율로 각각 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 및 5.0 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다.

#### 미생물 분석

접종 후 조사한 시료 10 g에 멸균된 식염수(0.85%, NaCl) 90 mL를 첨가한 다음 혼합하여 10진 희석법으로 희석한 희석액을 TSA에 도말하였다. 미생물의 증식은 표준한천

배양방법으로 각각 37°C에서 48시간 배양한 후 30-300개의 집락을 형성한 배지만 계수하여 log CFU/g로 나타낸 후 회귀분석을 이용하여  $D_{10}$  값을 계산하였다.

### SOS chromotest를 이용한 유전독성학적 안전성 평가 실험균주 및 균주의 형질확인

실험에 사용된 균주는 *Escherichia coli* GC4436으로부터 유래된 *E. coli* PQ37으로써 균주는 30% glycerol과 LB broth에서 하룻밤 배양한 균액을 1:1로 혼합하여 -20°C에 보관하였다. 사용균주는 6개월마다 새로 준비하였으며 그때마다 *uvrA* mutation, *rfa* mutation과 PHOc gene의 constitutivity 및 *sftA::lacZ* fusion의 inducibility를 검사하였다.

### 돌연변이원 실험

Frame shift mutation과 point mutation을 동시에 측정할 수 있는 이 실험에서 Quillardet와 Hofnung의 방법(1985)을 변형시킨 Balk과 Ham의 방법(1990)을 이용하였다. 냉동 보관된 PQ37균액 50  $\mu$ L를 12 mL Luria-Bertani(LB) medium(peptone 4 g, yeast extract 2 g 및 sodium chloride 4 g을 증류수 400 mL에 용해)에 접종하고 37°C에서 배양하면서 600 nm에서의 흡광도 측정치가 1.0에 이를 때까지 2시간 정도 진탕 배양하였다. 얻어진 균액을 LB medium에 1/4로 희석하여 각 농도별로 준비된 시료 20  $\mu$ L와 돌연변이원인 Mitomycin C(Sigma, USA)를 30  $\mu$ L 혼합하여 90분간 37°C에서 배양하여 SOS 반응을 유도한 후 한쪽에는  $\beta$ -galactosidase의 활성 측정을 위하여 B-buffer 1.8 mL을 첨가하여 37°C에서 5분간 배양한 다음 o-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside(ONPG) 400  $\mu$ L을 첨가하였고, 다른 쪽에는 alkaline phosphate의 활성 측정을 위해 P-buffer 1.8 mL을 첨가하여 37°C에서 5분간 배양한 후 P-nitrophenyl phosphate disodium(PNPP) 400  $\mu$ L를 첨가하였다. 그 다음 37°C에서 30분간 발색한 후  $\beta$ -galactosidase는 1.5 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1.6 mL로 alkaline phosphate는 2.5 N HCl 0.8 mL 및 2 M Tris 0.8 mL로서 효소에 의한 발색 반응을 정지시킨 다음 분광광도계(UV 1600 PC, Shimadzu, Japan)를 이용하여 420 nm에서 측정하였다. 측정된 수치를 이용하여 enzyme unit으로 나타낸 후 R-factor로 환산하여 최종적으로 유도지수(IF=Induction Factor)로 나타냈다.

Induction factor=실험군의 R-factor/대조군의 R-factor  
R-factor= $\beta$ -galactosidase unit/alkalinephosphatase unit  
Enzyme unit=1000 $\times$ OD at 420 nm/reaction time (30 min)

### 통계 분석

동일한 실험을 3회 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은 SPSS software(1997)에서 프로그램된 general linear model procedure를 수행하고 유의적인 차이가 보일 때 평

균값간 차이를 Duncan의 multiple range test법을 사용하여 평가하였다( $p < 0.05$ ).

## 결과 및 고찰

### 미생물 오염도 평가

레토르트 및 감마선 조사에 의한 화닭 덮밥 소스의 미생물 살균 효과를 Table 2에 제시하였다. 비조사군 처리의 소스는 일반호기성 미생물, 효모 및 곰팡이가 각각 4.5 log CFU/g, 4.3 log CFU/g이 검출되었다. 그러나 레토르트 처리 시 일반호기성 미생물은 2.1 log CFU/g이 검출되었다. 그리고 3 kGy 이상의 감마선 조사 처리 시 모든 미생물이 검출되지 않는 것으로 나타났다. 화닭 덮밥 소스의 주 재료인 계육 및 고추장에 감마선 조사를 적용하면 시료 내 오염 미생물을 효과적으로 사멸하였다는 연구결과와 일치하였다(Kim *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 1999).

또한 레토르트 살균보다는 감마선 조사 처리가 미생물을 효과적으로 살균한 것으로 나타났다. 레토르트 처리 시 살균 시간에 따라 미생물의 수가 감소한다는 연구결과를 볼 때(Koo *et al.*, 1993), 본 연구에서 실험한 화닭 덮밥 소스는 레토르트 살균 과정 시 공장 주변 환경으로부터 오염이 된 것이라 사료된다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 화닭 덮밥 소스의 위생화를 위해 레토르트 살균 보다 2차 오염을 방지할 수 있는 감마선 조사 처리가 효과적이라고 판단된다.

### 오염 미생물 동정

레토르트 처리 군 및 85°C에서 10분간 1차 가열 살균한 화닭 덮밥 소스에 오염된 미생물의 동정을 위하여, 미생물로부터 확보한 PCR product는 정제한 후 염기서열의 확인을 통해 세균 동정과 함께 덮밥 소스 내 오염 미생물의 균집을 조사하였다. 이때 확인된 염기서열은 NCBI의 Blast search를 통하여 유사도가 높은 gene을 검색한 결과 85°C에서 1차 가열된 시료에서는 *B. amyloliquefaciens*과 *B. pumilus* 동정되었고 레토르트 살균된 시료에서는 *B.*

**Table 2. Total aerobic bacterial counts (mean $\pm$ SD), recovered on plate count agar, in spicy chicken sauce treated by retort process and gamma irradiation (n=3)**

Treatments	Total aerobic bacterial counts (Log CFU/g)	
No treatment	4.5 $\pm$ 0.1 <sup>A</sup>	
Retort	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>B</sup>	
Irradiation	1 kGy	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>B</sup>
	3 kGy	< 1.0 <sup>C</sup>
	5 kGy	< 1.0 <sup>C</sup>
	10 kGy	< 1.0 <sup>C</sup>

<sup>A-C</sup>Means within the same column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

*subtilis*가 검출되었다(결과 미제시). 닭밥 소스의 원료인 고추장에서 *Bacillus* spp.이 검출되었다는 연구결과는 여러 차례 발표된 바 있다(Lee *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2001). 또 다른 주 원료인 계육에는 *Bacillus*를 비롯한 *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. 및 *Escherichia coli* O157:H7 등에 의한 병원성 미생물 오염이 문제시 되고 있다(WHO, 1981; Lee *et al.*, 1999). *Bacillus*는 그람 양성 균주로서 세포벽이 다른 세균에 비해 두껍고, 내열성 및 내약품성이 커서 살균이 어렵다(Kim *et al.*, 2001). 식품의 미생물학적 안전성이 보장되지 못한다면 식품에 오염된 병원성 미생물뿐만 아니라 재수화 후 잘못된 보관으로 인한 *Bacillus* spp.와 같은 미생물 생육으로 인해 치명적인 결과를 초래할 수 있다(Park *et al.*, 2007). 따라서 닭밥소스를 극한 환경에서도 취식이 가능하게 하기 위해 안전성이 확보된 멸균 기술이 필요하다고 사료된다.

### 감마선 감수성 측정

화닭 닭밥 소스에서 동정된 미생물을 토대로 식품에서 가장 많이 검출되는 *B. cereus* 및 *B. subtilis*를 닭밥소스에 접종한 후 감마선 감수성을 측정하였다. 먼저 닭밥소스에 두 균주를 접종한 후 0-5 kGy까지 0.5 kGy 단위로 조사하여 실험한 결과를 Table 3에 제시하였다. *B. cereus*와 *B. subtilis*를 닭밥 소스에 접종하였을 때, 각각 5.8 log CFU/g와 5.7 log CFU/g로 나타났으며 *B. cereus*의 경우엔 2 kGy 조사 후 *B. subtilis* 경우엔 1.5 kGy 조사 후 검출한계에 도달했다. 이 결과를 토대로 하여, 닭밥소스에 오염된 *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 감마선 감수성을 측정한 결과 *B. cereus* 및 *B. subtilis*는 0.39 및 0.28 kGy로 각각 나타나, *B. cereus*가 감마선에 대한 내성이 강한 것으로 나타났다. Gu 등(1995)은 국내에서 시판되는 쇠고기의 *Listeria* spp.에 대한 연구에서 국내 시판되는 쇠고기의 *Listeria* spp.의 검출율은 외국의 검출율에 비해 크게 높은 편이고, 독성이 있는 *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*의 검출율은 외국과 거의 비슷한 검출율을 보였다고 보고하였다. Aziz 등(2002)은 시중에서 판매되는 우육, 분쇄우육 및

쇠고기 햄버거에 대한 *B. subtilis*를 조사한 결과 각각  $4.9 \times 10^4$ /g,  $2.1 \times 10^6$ /g 및  $4.3 \times 10^6$ /g이 검출되었으며 감마선 조사 및 마이크로웨이브에 노출시켜 균수의 변화를 살펴본 결과 5.0 kGy로 감마선 조사했을 경우 균수는 2-3 log cycle정도가 감소하였고, 감마선 5.0 kGy와 20 sec 마이크로웨이브를 병용할 경우 미생물은 검출되지 않았다고 보고하였다. Thayer 등(1995)은 멸균된 닭고기에 *Salmonella* Typhimurium을 접종한 후 감마선 조사한 결과 3 kGy로 조사했을 경우 6 log cycle의 증식억제를 보였다고 보고하였으며, Yook 등(1998)은 우육에 오염시킨 병원세균의 방사선 감수성은 *E. coli*, *S. Typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* 및 *L. monocytogenes*는 각각 0.32, 0.54, 0.61, 0.44 및 0.37 kGy를 나타냈다고 발표하였으며, Thayer 등(1994)은 *B. cereus*의 endospore에 대한  $D_{10}$  값은 소고기에서 2.78 kGy, 칠면조에서 1.90 kGy 및 돼지고기에서 2.78 kGy를 나타냈다고 보고하였다.

### 유전독성학적 안전성 평가

SOS chromotest에 사용되는 *E. coli* PQ37은 *uvrA* 돌연변이와 *rfa* 돌연변이로 되어 있어 돌연변이원이 균주 내로 용이하게 침투할 수 있어 SOS 반응이 증폭되어 *sifA*의 발현이 일어나면  $\beta$ -galactosidase의 활성으로 발색이 일어나게 되는데 이 때 발색수준을 흡광도로 측정하여 유도 지수로 환산하여 돌연변이 유발능을 알아볼 수 있다(Ohta *et al.*, 1984; Rueff *et al.*, 1986). SOS chromotest는 비록 식품 내 일부 당 함량에 의해 영향을 받을 수도 있지만, 흡광도를 측정하여 판정하므로 객관성이 유지되며, DNA 손상을 주는 유전독성물질의 검색에 편리하게 이용되고 있다. 또한 Ames test에서 밝혀진 돌연변이물질의 약 90%가 SOS 유발물질이었으며 이 두 방법간에 정량적인 상관관계가 있다고 보고되었다(Quillardet *et al.*, 1982; Quillardet *et al.*, 1985). 레토르트 및 감마선 조사한 화닭 닭밥 소스를 첨가하였을 때 *E. coli* PQ37에 대한 돌연변이원성을 조사한 결과를 Fig. 1에 제시하였다. 감마선 조

Table 3. Radiation sensitivity of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* in spicy chicken sauce (n=3)

Irradiation dose (kGy)	<i>Bacillus cereus</i>			<i>Bacillus subtilis</i>		
	Bacterial cell counts (log CFU/g)	$D_{10}$	$R^2$	Bacterial cell counts (log CFU/g)	$D_{10}$	$R^2$
0	5.8 ± 0.0			5.7 ± 0.1		
0.5	4.6 ± 0.0			4.5 ± 0.2		
1	3.6 ± 0.0			3.5 ± 0.1		
1.5	3.4 ± 0.1			< 1.0		
2	< 1.0	0.39	0.921	< 1.0	0.28	0.904
3	< 1.0			< 1.0		
4	< 1.0			< 1.0		
5	< 1.0			< 1.0		

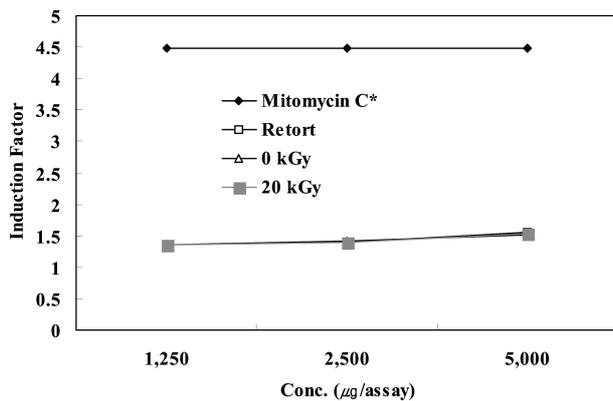


Fig. 1. Genotoxicity of gamma-irradiated spicy chicken sauce in *E. coli* PQ37. The mitomycin C concentration was 0.01 mg/mL.

사에 의한 화닭 덮밥 소스의 돌연변이원성을 관찰하기 위해 20 kGy로 조사처리를 하여 실험을 진행하였다. 시험적용농도는 예비실험을 통하여 5,000 mg/assay를 최고농도로 설정하여 수행하였다. 실험결과 모든 시험적용 농도에서 덮밥 소스에 대한 유도지수 수치는 1.38-1.52로 나타났다. 또한 방사선 조사에 따른 유도지수의 증가는 나타나지 않았다. 본 시험에서 사용한 돌연변이원인 mitomycin C(0.01 mg/mL)의 유도지수가 4.48 나타난 것을 볼 때 감마선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 판단되었다. 이는 감마선 조사한 닭고기(Kwak *et al.*, 2001) 및 장류(Yook *et al.*, 2000) 등이 SOS chromotest에 의한 유전독성학적 안전성 평가에서 안전성이 입증되었다는 결과와 일치하였다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 화닭 덮밥 소스 가공 과정 중 *Bacillus* spp.가 검출되어 미생물학적으로 절대 안심할 수 없으며, 효과적인 위생화를 위하여 3 kGy의 감마선 조사처리가 레토르트 처리보다 효과적으로 미생물을 사멸하는 것으로 확인되었다.

## 요 약

극한 환경에서 취식이 가능하도록 안전성 및 기호성이 확보된 덮밥 소스류 개발을 위한 기초연구로 많이 소비되고 있는 화닭 덮밥소스의 위생화를 위해 감마선 조사 기술을 적용하고 레토르트 살균과의 비교연구를 진행하였다. 화닭 덮밥 소스의 미생물 오염도 평가 결과 레토르트 비처리균은 총세균수가 4.5 log CFU/g 검출되었고 레토르트 처리균은 2.1 log CFU/g의 총 세균이 검출되었다. 반면 3 kGy의 감마선 처리균에서는 검출한계 이하의 세균이 검출되었다. 검출된 미생물을 동정한 결과 *Bacillus* spp.로 확인되었으며, *B. cereus* 및 *B. subtilis*에 대한 방사선 감수성 측정 결과 각각 0.39 및 0.28 kGy로 확인되었다. SOS chromotest를 이용한 유전독성학적 안전성 평가 결과 감마

선 조사에 의한 돌연변이원성은 관찰되지 않았다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 화닭 덮밥 소스의 효과적인 위생화를 위하여 3 kGy의 감마선 조사처리가 레토르트 처리보다 효과적으로 미생물을 사멸하는 것으로 확인되었다.

## 감사의 글

이 논문은 교육과학기술부의 재원으로 시행하는 한국과학재단의 방사선기술개발사업에 의해 지원받았습니다.

## 참고문헌

- Aziz, N. H., Mahrous, S. R., and Yousef, B. M. (2002) Effect of gamma-ray and microwave treatment on the shelf-life of beef products stored at 5°C. *Food Control* **13**, 437-444.
- Balk, C. K. and Ham, S. S. (1990) Antimutagenic effects of browning products related with polyphenol oxidase extracted from apple by using SOS chromotest. *Korean J. Food Sci. Technol.* **22**, 618-624.
- Byun, M. W. (1997) Application and aspect of irradiation technology in food industry. *Food Sci. Ind.* **30**, 89-100.
- FAO/IAEA/WHO Study group (1999) High dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. p. 1-93 In WHO Technical Report Series 890. World Health Organization, Geneva.
- Gu, D. W., Chung, C. I., Jeong, D. K., and Nam, E. S. (1995) Contamination of *Listeria* spp. in market beef. *J. Food Hyg. Safety* **10**, 89-95.
- Keyser, M., Withuhn, R.C., Ronquest, L.C. and Britz, T. (2003) Treatment of winery effluent with up flow anaerobic sludge blanket (UASB)-granular sludges enriched with *Enterobacter sakazakii*. *Biotechnol. Lett.* **25**, 1893-1898.
- Kim, D. H., Yook, H. S., Youn, K. C., Sohn, C. B., and Byun, M. W. (2001) Changes of microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *kochujang* (Fermented hot pepper paste). *Korean J. Food Sci. Tehcnol.* **33**, 72-77.
- Koo, B. Y., Park, S. J., Byun, Y. R., and Son, S. H. (1993) Heat penetration characteristics and keeping quality of retort pouched curry. *Korean J. Food Sci. Tehcnol.* **25**, 63-68.
- Korea Food and Drug Administration (2004) Food Code. KFDA. Munsyungsa, Seoul, Korea.
- Kwak, H. J., Chung, C. K., and Kang, I. J. (2001) Microbiological and genotoxicological safety of gamma-irradiated chicken. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* **17**, 617-624.
- Lee, J. M., Jang, J. H., Oh, N. S., and Han, M. S. (1996) Bacterial distribution of *kochujang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 260-266.
- Lee, J. W., Lee, K. H., Yook, H. S., Lee, H. J., and Byun, M. W. (1999) Sanitizing and extending of shelf life of chicken meat by gamma irradiation. *J. Fd. Hyg. Safety* **14**, 160-166.
- Ohta, T., Nakamura, N., Moriya, M., Shirai, T., and Kada, T. (1984) The SOS-function-inducing activity of chemical mutagens in *Escherichia coli*. *Mutat. Res.* **131**, 101-109.

14. Park, J. N., Lee, J. W., Kim, J. H., Kim, K. S., Han, K. J., Sul, M. S., Lee, H. J., and Byun, M. W. (2007) Studies on the manufacturing of *sujeonggwa* (Korean traditional cinnamon flavored persimmon punch) edible in severe environment by gamma irradiation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 609-615.
15. Park, K. S., Kim, J. G., Lee, J. W., Oh, S. H., Lee, Y. S., Kim, J. H., Kim, W. G., and Byun, M. W. 2004. Effects of combined treatment of gamma irradiation and addition of rosemary extract powder on ready-to-eat hamburger steaks: II. Improvement in quality. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 694-699.
16. Quillardet, P. and Hofnung, M. (1985) The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins. *Mutat. Res.* **147**, 65-78.
17. Quillardet, P., Huisman, O. D., Ari, R., and Hofnung, M. (1982) SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 5971-5975.
18. Rueff, J. A., Borba, L. H., Chaveca, T., Gomes, M. I., and Halpern, M. (1986) Genetic toxicology of flavonoids: The role of metabolic conditions in the induction of reverse mutation. SOS function and sister-chromatid exchanges. *Mutagenesis* **1**, 179-183.
19. SPSS (1997) Statistical Package for the Social Sciences, Norman.
20. Thayer, D. W. and Boyd, G. (1994) Control of enterotoxigenic *Bacillus cereus* on poultry or red meats and in beef gravy by gamma irradiation. *J. Food Prot.* **57**, 758-764.
21. Thayer, D. W., Boyd, G., Fox, J. B., and Lakritz, L. (1995) Effects of NaCl, sucrose, and water content on survival of *Salmonella typhimurium* on irradiated pork and chicken. *J. Food Prot.* **58**, 490-496.
22. Yook, H. S., Kim, S., Lee, K. H., Kim, Y. J., Kim, K. P., and Byun, M. W. (1998) Gamma-radiation sensitivity of pathogenic bacteria in beef. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 1432-1438.
23. Yook, H. S., Lee, E. H., Kim, D. H., Lee, K. H., Lee, H. J., Lee, Y. N., and Byun MW. (2000) Genotoxicological safety on water-soluble fraction of gamma irradiated Korean soybean fermentation foods. *J. Fd. Hyg. Safety* **15**, 297-303.
24. WHO (1981) Report of the WHO/WAVFH round conference on the present status of the *Salmonella* problem (prevention and control), Bilthoven. The Netherlands 6-10 Oct. 1980. VPH/81/27.
25. Wonjcik-Stopczynska, B., Falkowski, J., and Jakubowska, B. (2002) Microbiologic evaluation of instant soup concentrates. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* **53**, 149-156.

(Received 2009.12.18/Revised 2010.2.11/Accepted 2010.2.12)