

## 물리·화학적 처리에 의한 멸균 초콜릿 우유 오염균의 생육억제 효과

최문경<sup>1</sup>·윤소영<sup>2</sup>·이소영<sup>3</sup>·김꽃봉우리<sup>1</sup>·이청조<sup>1</sup>·정지연<sup>1</sup>·곽지희<sup>1</sup>  
김민지<sup>1</sup>·김동현<sup>1</sup>·선우찬<sup>1</sup>·이주운<sup>4</sup>·변명우<sup>5</sup>·안동현<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>부경대학교 식품공학과/식품연구소, <sup>2</sup>CJ 연구소, <sup>3</sup>한국식품연구원 전통식품연구단  
<sup>4</sup>한국원자력연구원 방사선 과학연구소, <sup>5</sup>우송대학교 외식조리 영양학부

### Growth Inhibition against Contaminants in Aseptic Chocolate Milk Using Physicochemical Methods

Moon-Kyoung Choi<sup>1</sup>, So-Young Yoon<sup>2</sup>, So-Young Lee<sup>3</sup>, Koth-Bong-Woo-Ri Kim<sup>1</sup>,  
Chung-Jo Lee<sup>1</sup>, Ji-Yeon Jung<sup>1</sup>, Ji-Hee Kwak<sup>1</sup>, Min-Ji Kim<sup>1</sup>, Dong-Hyun Kim<sup>1</sup>,  
Chan Sunwoo<sup>1</sup>, Ju-Woon Lee<sup>4</sup>, Myung-Woo Byun<sup>5</sup>, and Dong-Hyun Ahn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science & Technology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

<sup>2</sup>CJ Food Research Center, Seoul 152-051, Korea

<sup>3</sup>Traditional Food Research Group, Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

<sup>4</sup>Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeonnam 580-185, Korea

<sup>5</sup>Dept. of Culinary Nutrition, Woosong University, Daejeon 300-718, Korea

#### Abstract

This study was conducted to investigate the cause of microbiological contaminants in aseptic chocolate milk and evaluate the effect of a physicochemical treatment on the growth inhibition of isolated bacterial strains. The bacterium isolated from aseptic chocolate milk was identified as *Bacillus lentus* and was named *B. lentus* M1. In the heat and pH treatment, the growth of *B. lentus* was inhibited at 110°C for >15 min and at pH's <5 and >10. An electrolyzed water treatment against *B. lentus* M1, revealed 5 mm growth past the inhibition zone. The effect of ozone gas on *B. lentus* M1 growth was evaluated using viable cell counts. When the initial number of *B. lentus* M1 was 10<sup>2</sup> and 10<sup>3</sup> CFU, the bacteria were completely suppressed by ozone gas treatment for 10 and 30 min, respectively. In a microwave treatment, *B. lentus* M1 was sterilized following microwave treatment for 1 min. As the result of  $\gamma$ -irradiation against *B. lentus* M1, numbers decreased as the  $\gamma$ -irradiation dosage increased. These results show the growth inhibition effects against contaminants in aseptic chocolate milk using physicochemical treatments.

**Key words:** aseptic chocolate milk, *Bacillus lentus* M1, physicochemical treatment

#### 서 론

우유는 영양적일뿐만 아니라 간편하게 섭취 가능한 식품으로서 현재에는 치아건강, 면역증진 및 피부 건강 등의 기능성을 가진 식품으로 알려져 있다(1). 이에 국내 1인당 연간 우유 소비량은 1996년 54.2 kg/년, 2000년 59.6 kg/년, 2010년 62.3 kg/년으로 꾸준히 증가하고 있는 추세이다(2). 우유는 운송, 판매, 저장되는 기간 동안 제품의 변질을 없애고 저장성을 높이기 위하여 상업적 멸균과정을 거쳐 제조하게 된다(3). 상업적 멸균을 하는 이유는 소비자들이 우유를 구매함에 있어서 가장 중요한 것이 유통기한, 위생 상태라고 생각하기 때문이다(4). 그러나 초고온순간살균과 같은 상업적 멸균 처리를 한 제품들 중의 일부는 멸균에 의해서 제거되지

못한 미생물에 의해 변패되어 품질상의 문제를 일으킬 수 있으며, 원료에 내열성 포자가 과다하게 오염되어 있는 경우 초고온 멸균 공정에 의해 효율적으로 제거될 수 없어 상업적 멸균에 도달할 수 없다고 알려져 있다(5). 또한 Burton(6)은 초고온 멸균공정에 의하여 제품내의 미생물이 일정 수준 이상 감소하지만 1 L 용량의 단위제품 1,000개당 1개 제품이 세균을 함유하여 상온에서 저장과 수송 중에 변패가 될 수 있다고 보고하였다. 특히 가공유는 우유에 과즙 등을 첨가하여 우유의 성분을 변화시킨 우유로서 백색 시유와는 달리 가공과정 중 각종 첨가물에 의해 미생물이 오염되어 가공유의 품질악화를 초래할 수 있다. 따라서 가공유에 첨가되는 원료별 미생물 오염이 제품의 위생학적 안정성에 영향을 미치므로 안전한 제품의 생산과 유통을 위해 이를 제어하여야

\*Corresponding author. E-mail: dhahn@pknu.ac.kr  
Phone: 82-51-629-5831, Fax: 82-51-629-5824

한다(7). 따라서 최근에는 이를 제어하기 위해 청정과정, 살균과정 등의 방법을 이용하고 있지만, 우유의 변질을 100% 제어하기 어려워 부패 미생물에 의한 오염으로 식중독과 같은 품질사고가 빈번히 발생하고 있다. 그렇기 때문에 멸균 가공유에서 품질사고가 빈번히 일어나고 이로 인해 기업에서는 제품의 전량회수 및 폐기 비용에 따른 경제적인 손실이 생길뿐만 아니라 소비자의 안전성 및 기업의 신뢰성 위협까지 초래할 수 있다. 그러나 이러한 문제점에도 불구하고 아직까지 멸균 가공유 제품은 미생물학적 오염에 대한 연구가 많이 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 멸균 초콜릿 우유의 주요 오염 균주를 밝히고, 생산 공정에서 원인 미생물을 사전에 제어할 수 있는 물리·화학적 방법을 연구하여 미생물학적으로 안전한 제품을 생산하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 멸균 초콜릿 우유 오염균주 분리 및 동정

시중에 유통 중 이미 등 품질 상에 문제가 발생된 멸균 초콜릿 우유를 37°C에서 2주간 보관한 뒤 개봉하여 실험 시료로 사용하였다. 시료를 1 mL 취하여 분주한 뒤 plate count agar(PCA, Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) 배지를 부어 혼합한 후 37°C 및 45°C에서 각각 배양한 뒤 생성된 colony를 형태상 특징으로 분류하였다. 분리된 colony를 1백금이어서 nutrient broth(NB, Accumedia, Baltimore, MD, USA) 배지에 접종하여 배양한 후, 내열성 여부를 판단하기 위하여 이를 80°C에서 10분간 가열하였다(8). 이를 PCA배지에 분주하여 37°C 및 45°C에서 각각 배양한 뒤 집락 형성 유무를 관찰하였다. 이때 colony를 형성한 균주들 중 105°C, 15분간 열처리 조건에서 생존한 균주를 대상으로 지방산 분석 및 Analytic Profile Index 50CHB kit(API 50CHB kit, Bio Merieux, Marcy-L'Etoile, France)를 사용하여 동정하였다. 분리 균주의 cellular fatty acid composition은 Miller(5)의 방법에 따라 Agilent technologies 6890 gas chromatography(Atlanta, GA, USA)를 이용하여 분석하였으며, 이때 사용한 separation column은 A30 m×0.320 mm×0.25 µm crosslinked methyl siloxane column(HP-1)을 이용하였다. 분석된 profile은 Sherlock MIS Software를 이용하였으며 standard calibration 용액과의 비교에 의해 peak의 동정, retention time, peak의 면적 및 면적 비율을 구하였다. API 50CHB kit를 이용하여 희석시킨 균액을 cupules 접종한 후, 30°C에서 48시간 동안 배양하였다.

### 열처리

45°C에서 48시간 배양한 멸균 초콜릿 우유 분리균주 배양액을 80°C에서 10분간 열처리하여 포자를 형성시킨 후, 105, 110, 115 및 121°C에서 각각 15분간 열처리하였다. 이를 PCA 평판에 200 µL 분주하고 45°C incubator(DW/B210, Dong Won Scientific System, Busan, Korea)에서 배양하여 균의

생육여부를 판단하였다.

### pH 처리

NB와 YM 액체배지를 0.1 M 및 1 M NaOH와 HCl로 pH를 4~10으로 조정한 후 autoclave(HVE-50, Hirayama, Saitama, Japan)로 살균하고 균주를 약  $10^7 \sim 10^8$  CFU 가량 접종하였다. 접종 후 멸균 초콜릿 우유 분리균주를 45°C에서 진탕 배양하며 3시간 단위로 spectrophotometer(Genesys 10 UV, Thermo, Rochester, NY, USA)를 사용하여 600 nm에서 pH에 따른 균의 증식을 조사하였다.

### 전해수 처리

전해수는 0.6% NaCl 용액을 전해수 생성 장치(TMDII, TMD, Busan, Korea)로 6분간 전기분해하여 pH는 9.42, HClO는 335.10 ppm의 전해수로 제조하였다. Mueller hinton agar(MHA, Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) 배지에 멸균 초콜릿 우유 분리균주의 농도가 약  $10^5 \sim 10^6$  CFU 가량 되도록 도말하였고, 지름이 6 mm인 paper disc를 고정시켜서 전해수를 20 µL 흡수시켰다. 이를 실온에서 약 30분 동안 확산시킨 후 45°C incubator에서 48시간 동안 배양하여 생성된 clear zone의 크기로 전해수의 항균활성을 측정하였다.

### 오존가스 처리

멸균 초콜릿 우유 분리균주를 배지에서 48시간 배양한 후 균액의 농도가  $10^2 \sim 10^3$  CFU가 되도록 PCA배지에 분주, 도말하였다. 이 평판을 밀폐된 공간에서 오존발생량이 100 mg/hr인 장치로 5, 10, 20, 30 및 60분간 처리한 뒤 45°C incubator에서 이틀간 배양하였다. 배양 후 형성된 집락의 수를 측정하여 아래의 계산식에 의하여 사멸율을 구하였다.

$$\text{사멸율(\%)} = \frac{\text{처리 전의 균수} - \text{처리 후의 균수}}{\text{처리 전의 균수}} \times 100$$

### Microwave 처리

멸균 초콜릿 우유 분리균주를 약  $10^6 \sim 10^7$  CFU 농도로 현탁한 균액을 멸균된 screw capping tube에 넣고 증류수로 채운 beaker에 담아 1, 3 및 5분간 microwave(MW-272LB, LG, Seoul, Korea)를 처리한 후 측정하였다. 열의 작용을 배제하기 위한 실험구는 1분 간격으로 beaker의 얼음물을 교환하면서 온도를 4°C로 유지시켜 1, 5 및 10분간 microwave로 처리하여 측정하였다. 이때 microwave 처리 시 사용한 주파수는 2450 MHz였다.

### 감마선 처리

멸균 초콜릿 우유 분리균주를 약  $10^7 \sim 10^8$  CFU 농도로 현탁한 균액을 멸균된 screw capping tube에 넣고 CO-60 감마선 조사 시설(IR-90, Nordion International Ltd., Kanata, ON, Canada)을 이용하여 실온에서 시간당 일정 선량률로 1, 3, 5 및 7 kGy의 흡수선량을 얻도록 조사하였다. 감마선을 조사한 균 현탁액을 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4)를 사용하여 10진 희석법으로 희석하였다. 이 희석액을 조

건에 맞추어 배양한 후 형성된 집락을 계수하였다.

### 결과 및 고찰

#### 오염균주의 분리 및 동정

멸균 초콜릿 우유로부터 오염균을 분리하기 위해 식품공전상의 멸균제품 검사법(8)에 따라 37°C 및 45°C에서 평판 배양을 실시하였다. 그 결과 37°C에서 13종, 45°C에서 9종으로 총 21개 colony를 분리하였으며, 분리된 균주들로부터 포자 형성능 및 내열성 실험을 실시하여 포자 형성 및 105°C, 15분간의 열처리에서도 생육하는 균주 1종을 분리하였다. 이 분리된 균주는 탄소원에 대한 이용성을 API 50CHB kit를 사용하여 동정하는 방법과 균체 지방산 조성을 GC로 분석하여 data base의 profile과 비교 동정하는 방법을 실시하였다. 당 대사 이용성 실험 결과(Table 1), L-arabinose, ribose 및 arbutine 등을 비롯한 총 18종의 당에 대해 이용성을 보여, *Bacillus lentus*(동정확률: 93.2%)로 동정되었다. 미생물 분리 동정기에 의한 균체 세포막 지방산 분석 결과(Table 2, Fig. 1), *Bacillus lentimorbus*와 *Bacillus amyloliquefaciens*로 동정되었다. 그러나 유사도(Similarity Index: SI)가 각각 0.347 및 0.287로 비교적 낮게 나타났다. 일반적으로 세포성 지방산 methyl ester 분석에 의한 유사도가 0.6 이상일 경우는 database와 거의 완벽한 match를 이룬다고 판단을 하지만, 0.3보다 낮은 경우는 정확한 자료로 활용하기가 어렵다(9). 따라서 이상의 결과를 종합적으로 판단하여 본 분리 균주를 잠정적으로 *Bacillus lentus*로 동정하였고, *Bacillus lentus* M1으로 명명하였다.

#### 열처리

일반적으로 UHT 멸균 처리 조건은 135~150°C의 고온에서 수 초간 처리하는 것이기 때문에 이론상으로 UHT 처리

Table 1. Carbohydrates fermentation patterns and biochemical characteristics of isolated strain from aseptic chocolate milk through API 50CHB

Characteristic	Result	Characteristic	Result
Glycerol	- <sup>1)</sup>	Salicine	+
Erythritol	-	Cellobiose	+
D-Arabinose	-	Maltose	+
L-Arabinose	+	Lactose	+
Ribose	+	Melibiose	+
D-Xylose	-	Saccharose	+
L-Xylose	-	Trehalose	+
Adonitol	-	Inuline	-
β Methyl-xyloside	-	Melezitose	-
Galactose	+	D-Raffinose	+
D-Glucose	+	Amidon	-
D-Fructose	+	Glycogene	-
D-Mannose	+	Xylitol	-
L-Sorbose	-	β Gentiobiose	+
Rhamnose	-	D-Turanose	-
Dulcitol	-	D-Lyxose	-
Inositol	-	D-Tagatose	-
Mannitol	-	D-Fucose	-
Sorbitol	-	L-Fucose	-
α Methyl-D-mannoside	-	D-Arabitol	-
α Methyl-D-glucoside	-	L-Arabitol	-
N Acetyl glucosamine	+	Gluconate	-
Amygdaline	-	2 ceto-gluconate	-
Arbutine	+	5 ceto-gluconate	-
Esculine	+		
Identified result		<i>Bacillus lentus</i> (93.2%)	

<sup>1)</sup> +: Produced acid from carbohydrates, -: Not produced acid from carbohydrates.

후에 균의 사멸율은 99.99%에 달한다(3). 하지만 멸균유에서도 *Salmonella* sp.와 *Staphylococcus aureus* 등 식품부패균이 검출되는 문제가 발생하고 있다(10). 따라서 멸균처리를 하여도 미생물이 생육하므로 초콜릿 우유에서 분리된 *B. lentus* M1이 열처리에 의한 생육억제 효과를 가지는지 알아보고자 하였다. *B. lentus* M1에 다양한 조건으로 가열 처리

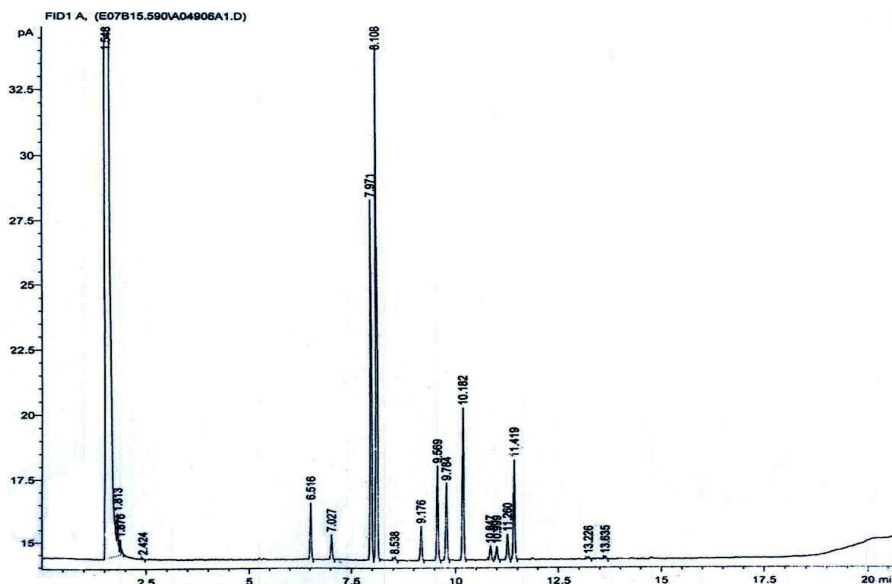


Fig. 1. Chromatographic profile of fatty acid compositions of isolated strain from aseptic chocolate milk.

Table 2. Composition of fatty acids in isolated strain from aseptic chocolate milk

Fatty acid	Content isolate (%)
14:0 ISO	3.56
14:0	1.66
15:0 ISO	23.62
15:0 ANTEISO	33.52
15:0	0.31
16:1 w7c alcohol	2.48
16:0 ISO	6.77
16:1 w11c	5.52
16:0	10.81
17:0 ISO w10c	1.07
17:0 ISO I/ANTEI B	1.04
17:0 ISO	1.91
17:0 ANTEISO	7.32
18:1 w9c	0.20
18:0	0.21

Identified result	<i>Bacillus lentimorbus</i> (0.308)
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (0.287)

Table 3. Effect of heat treatment against *Bacillus lentus* M1

Temperature (°C)	105	110	115	121
<i>Bacillus lentus</i> M1	Detected	Not detected	Not detected	Not detected

Treated time: 15 min.

한 후 생육의 유무를 판단한 결과(Table 3), 110°C 이상의 온도에서는 15분간 가열하였을 때 *B. lentus* M1이 검출되지 않았다. 본 실험에서 분리된 *B. lentus* M1은 110°C 이상의 온도에서는 15분간 열처리 시 생존이 불가능하기 때문에 UHT 처리를 거친 후에는 모두 사멸되어 제품의 품질에 영향을 끼치지 않아야 한다. 그러나 cocoa powder, 탈지분유 등과 같은 분말 원료의 사용에 의해 air-pocket이 생성되면 제품에 충분한 열전달이 이루어지지 않기 때문에 원유 또는 cocoa powder에 존재하는 고온성 젖산균, 유포자 간균, 방선균 등의 내열성 균(11) 및 본 실험에서 분리된 *B. lentus* M1이 잔존할 수 있다. 그리고 가열 공정 후 충분히 멸균되지 않은 기계 및 포장재 사용으로 인한 2차 오염은 초고온 멸균 유 제품에 매우 중대한 문제를 야기할 수 있다(12). 따라서 air-pocket 생성 및 2차 오염에 대해 공정상 탈기 및 기계에 대한 철저한 멸균이 필요할 것으로 사료된다.

pH 처리

분리 균주의 생육에 미치는 pH의 영향을 살펴보기 위해 pH를 4~10까지 조절하고 3, 6, 9 및 25시간 후 흡광도를 측정하여 분리균주의 생육 정도를 측정하였다. *B. lentus* M1은 pH 6~8의 범위에서는 균의 증식이 활발하였으나 pH 5 이하 10 이상에서는 생육이 완전히 억제되었다(Fig. 2). 정상적으로 제조된 멸균 초콜렛 우유의 pH는 6.4~6.8로서 *B. lentus* M1의 생육 pH 범위인 6~8과 유사하기 때문에 제품은 *B. lentus* M1의 성장이 가능한 배지 식품이 된다. 또한 멸균 초콜렛 우유의 경우 상온에서 저장 및 운송되며

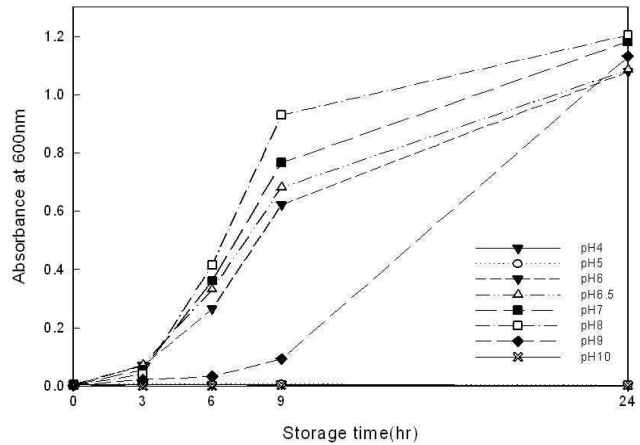


Fig. 2. Effect of pH treatment against *Bacillus lentus* M1.

유통기한이 6주로 길기 때문에(13) 공정상의 문제로 인해 미생물학적 오염이 발생할 경우, 유통 중 *B. lentus* M1의 빠른 증식이 예상된다. 따라서 공정 중 미생물에 대한 오염 경로를 완벽하게 차단하여야 할 것으로 사료된다.

전해수 처리

전해수는 식품의 전처리 과정에서 미생물 억제를 위한 세척수로 이용하거나 미생물 억제를 통한 품질향상을 위해 사용되어지고 있다(14,15). 이러한 효과를 가진 전해수를 이용하여 *B. lentus* M1에 대한 생육억제활성을 paper disc법으로 측정하였다. 그 결과(Table 4), clear zone이 5 mm 이상으로 나타나 전해수에 대해 *B. lentus* M1이 매우 높은 감수성을 가지고 있는 것으로 나타났다. Jeong 등(16)은 전해수가 병원성 및 식품 부패 미생물에 대해 높은 생육억제 효과를 나타낸다고 보고하였다. 또 Kim 등(17)은 약알칼리성 전해수가 쌀 및 미국 참고에서 분리한 *Bacillus cereus*와 *Candida* sp.에 대해 뛰어난 항균활성을 가진다고 보고하여 본 연구결과와 유사하였다. 따라서 전해수 처리에 의한 것으로 사료되는 *B. lentus* M1의 생육억제 효과는 차아염소산, hydroxy radical, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 산화환원전위, 용존산소 및 염소 등에 의한 것으로 사료된다(16,18). 따라서 유제품의 가공에 이용되어지는 부원료의 처리, 보관 시설 및 작업장의 소독에 전해수 처리를 도입하면 *B. lentus* M1에 대한 미생물학적 오염 가능성을 낮출 수 있을 것으로 생각된다.

오존가스 처리

오존은 오존 생성기에 의해 발생된 전자를 산소와 결합시켜 생성된 빠른 산화력을 가진 자유라디칼의 작용에 의해 다양한 미생물의 생육을 억제하는 것으로 알려져 있다. 이러한 오존가스를 이용하여 *B. lentus* M1에 대한 항균효과를 알아보았다. 그 결과(Table 5), *B. lentus* M1의 초기균수가 10<sup>2</sup> CFU인 경우에는 5분간 처리 시 1 log cycle 감소하였고, 10분 경과 후 100% 사멸하였다. 그리고 초기 균수가 10<sup>3</sup> CFU인 경우에는 5~20분까지는 2 log cycle 감소하였고, 30

Table 4. Effect of electrolyzed water and microwave treatment against *Bacillus lentus* M1

Electrolyzed water	Microwave (CFU/plate)						
	Untreated	Heating			Non-heating		
		1 min	3 min	5 min	1 min	5 min	10 min
+++	$3.07 \times 10^7$	- <sup>1)</sup>	-	-	$2.77 \times 10^5$	$2.50 \times 10^5$	$2.11 \times 10^5$

<sup>1)</sup>-: Not detected.

Growth inhibition size of clear zone: +++, 5~8 mm. Electrolyzed water: 6 electrode, 0.6% NaCl, 6 min.

Table 5. Effect of O<sub>3</sub> treatment against *Bacillus lentus* M1

(Unit: CFU/plate)

Untreated	Treatment time (min)				
	5	10	20	30	60
$5.73 \times 10^2$	$0.20 \times 10^1$ (99.65) <sup>1)</sup>	- <sup>2)</sup> (100)	-	-	-
$6.08 \times 10^2$	$0.10 \times 10^1$ (99.84)	-	-	-	-
$5.91 \times 10^3$	$0.90 \times 10^1$ (98.48)	$0.40 \times 10^1$ (99.32)	$0.20 \times 10^1$ (99.66)	-	-
$5.91 \times 10^3$	$1.00 \times 10^1$ (98.31)	$0.60 \times 10^1$ (98.98)	$0.20 \times 10^1$ (99.66)	-	-

<sup>1)</sup>( ): Death rates (%). <sup>2)</sup>-: Not detected.

분 경과 시 100% 사멸하였다. 이러한 결과는 오존 처리가 곰팡이 등의 미생물 및 바이러스에 강력한 효과를 보인 결과와 녹즙의 위생화를 위하여 오존 처리 시 미생물 수를 감소시킨다는 연구결과와 유사한 결과를 나타내었다(19,20). 오존의 소독 및 멸균처리는 식품 및 식품 가공 시설, 식육 및 식육 가공품(21), 야채 및 과일의 살균(22,23), 음용수의 살균(24,25) 등에 대하여 연구되어져 왔으며, 산업적으로도 많이 이용되고 있다. 그러나 유가공 식품의 경우 오존처리방법이 잘 이용되고 있지 않은데, 이는 유제품처럼 지질의 함량이 높은 식품에 오존을 사용하게 되면 오존의 강력한 산화력에 의해 과산화물이 생성되기 때문이다(26). 따라서 본 연구에서 분리된 오염균주를 제어하기 위해 제조과정 중 오존을 사용할 시에는, 우유에 직접 처리하기보다 시럽, 설탕, 전분, 코코아 파우더 등의 부 원료 처리나 염소계 소독제를 대신하여 가공시설소독 및 멸균처리에 사용하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

#### Microwave 처리

Kim 등(27)은 연속식 마이크로파 고온단시간 살균 시 우유의 미생물을 억제할 수 있다고 보고하였고, microwave를 이용하여 우유를 살균할 경우 fouling 발생 방지와 균의 사멸을 동시에 이룰 수 있는 이점이 있다고 보고하였다(22). 이에 본 연구에서는 microwave 처리에 따른 *B. lentus* M1의 생육억제효과에 대해 연구하였다. 그 결과(Table 4), *B. lentus* M1이 1분간 microwave 처리 시 모두 사멸한 것으로 나타났으며, 열의 영향을 배제하여 microwave를 처리한 경우, *B. lentus* M1은 처리 시간에 상관없이 약  $10^5$  CFU 가량의 생균수가 검출되었다. 따라서 microwave 처리를 통한 균주의 살균은 microwave 처리 시 생성되는 마찰열에 의한 것임을 알 수 있었다. 대부분의 식품 가열 공정은 유도와 대류 작용에 의해 공정 시설로부터 대상 식품의 외부 표면으로 열이 전달되고 대류작용에 의해 열이 고르게 전달되게 된다. 그에 비해 microwave는 식품을 구성하고 있는 수백만의 분자들

이 매우 빠르게 움직이면서 발생하는 마찰열에 의해 가열되기 때문에 열이 식품의 내부에서부터 발생하여 미생물의 생육을 억제하며, 우유 제품의 품질을 향상시킨다(28). 본 실험에 사용한 멸균 초콜릿 우유는 cocoa powder 등의 부 재료가 첨가되기 때문에, 외부로부터 전달되는 열의 전도를 어렵게 하는 air pocket의 발생 확률이 높아 UHT 처리로는 멸균이 불충분하게 될 소지가 있다. 따라서 내부로 열을 발생시키는 microwave를 멸균 공정에 이용할 경우 *B. lentus* M1에 대한 미생물학적 오염 가능성을 낮출 수 있을 것으로 생각된다.

#### 감마선 처리

감마선 조사 시 미생물에 대한 살균효과가 있다고 알려져 있으며(21), 레토르트 식품에 감마선 조사 시 미생물의 생육을 억제한다고 보고되고 있다(29). 이에 본 연구에서 감마선 조사를 통한 *B. lentus* M1에 대한 항균효과를 알아보았다. *B. lentus* M1에 1, 3, 5 및 7 kGy의 감마선을 조사하여 각 균주의 생육억제 효과에 대해 알아보았다(Fig. 3). 1 kGy 조

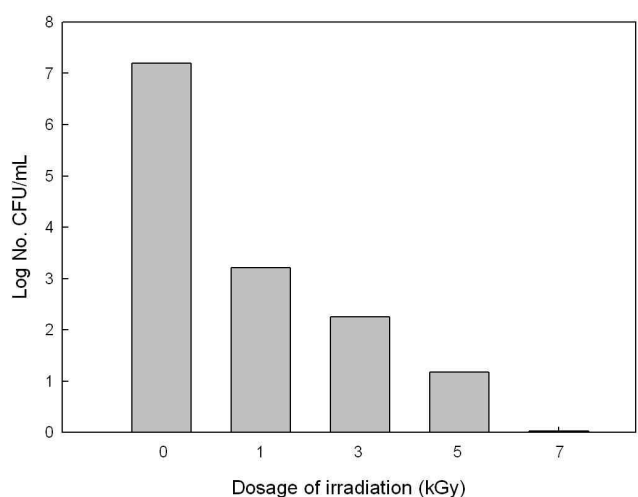


Fig. 3. Effect of  $\gamma$ -irradiation treatment against *Bacillus lentus* M1.

사 시 생균수가  $1.61 \times 10^3$  CFU로 초기 균수에 비해 4 log cycle 가량 균수가 감소하였으며, 조사선량에 따라 지속적으로 감소하다가 7 kGy 조사 시에서 완전히 사멸하는 것으로 나타났다. 유제품에 감마선 처리 시 미생물 억제 효과를 얻을 수 있다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다 (30-32). 한편, 지방 함유량이 높은 식품의 경우 감마선 조사에 의한 라디칼 생성으로 지방산화가 촉진되어 식품의 품질이 저하되기 쉽다고 보고하고 있다. 그러나 최근에는 지방산화의 촉진 없이 방사선 조사를 이용하는 기술이 개발됨에 따라(29) 유제품과 같이 지질성분이 높은 제품에도 방사선 조사 기술을 이용할 수 있게 되었다. 이에 멸균 초콜릿 우유에 감마선 조사를 한다면 *B. lentus* M1을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

멸균 초콜릿 우유로부터 분리한 내열성 균주에 대해 열, pH, 전해수, 오존처리, microwave 및 감마선 처리를 하여 균주의 사멸효과에 대해 알아보았다. 균주의 지방산 분석과 API kit를 통하여 균주를 동정한 결과, *Bacillus lentus*로 동정되었으며, 잠정적으로 *Bacillus lentus* M1으로 명명하였다. *B. lentus* M1에 110°C, 15분간 열처리하였을 경우 생육이 억제되었으며, pH 처리 시 pH 5 이하, 10 이상에서 생육이 억제된 것으로 나타났다. *B. lentus* M1에 대한 전해수의 항균활성을 paper disc법으로 측정된 결과, 높은 생육억제를 보였으며, 오존 처리의 경우 초기 균수가  $10^2$  CFU가량의 균을 10분 동안,  $10^3$  CFU가량의 균을 30분 동안 처리 시 균의 생육이 억제되는 것으로 나타났다. Microwave를 1분간 처리 시 *B. lentus* M1이 모두 사멸한 것으로 나타났다. 감마선 조사의 경우, 1 kGy 조사 시 생균수가  $1.61 \times 10^3$  CFU로 초기 균수에 비해 4 log cycle 가량 균수가 감소하였으며 7 kGy에서 완전히 사멸하였다. 이상의 결과를 통해 열, pH, 전해수, 오존 처리 및 방사선 처리 방법이 멸균 초콜릿 우유의 생존 오염균인 *B. lentus* M1을 효과적으로 사멸시킬 수 있을 것으로 사료된다.

## 문 헌

- Kim YH, Moon YI, Oh SJ. 2009. Global dairy industry outlook and current situation: I. An overall perspective of milk production. *Korean J Dairy Sci Technol* 27: 29-35.
- Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. 2010. *Ministry for food agriculture forestry and fisheries*. Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. p 348-349.
- Chung CI, Kim KT, Cho NY, Jung MJ. 2002. Comparison of the keeping quality of UHT pasteurized milks in Korea. *Korean J Food Sci Ani Resour* 22: 247-251.
- Motter J. 1985. Objective evaluation of the UHT process with respect to the quality of milk. *Neth Milk Dairt J* 39: 15-25.
- Miller LT. 1982. Single derivatization method for routine analysis of bacterial whole-cell fatty acid methyl esters, including hydroxy acid. *J Clin Microbiol* 16: 584-586.
- Burton H. 1959. The sulphhydryl groups in milk measured by an amperometric titration. *Int Dairy Congr* 3: 1729.
- Ha TJ, Lee SH. 2001. Utilization of chitosan to improve the quality of processed milk. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 630-634.
- Korea Food and Drug Administration. 2000. *Food code*. Seoul, Korea. p 176-177.
- Choi KK, Cui CB, Ham SS, Lee DS. 2003. Isolation, identification and growth characteristics of main strain related to Meju fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 818-824.
- Park SY, Park JM, Yang JO, Jung HK, Chun HN, Lee BH. 2006. Microbiological qualities and post-pasteurization contaminations of UHT milk produced in Korea. *J Korean Dairy Technol Sci* 24: 9-18.
- Christiansson A, Bertilsson J, Svensson B. 1999. *Bacillus cereus* spores in raw milk: factors affecting the contamination of milk during the grazing period. *J Dairy Sci* 82: 305-314.
- Mcmeekin TA, Ross T. 1996. Shelf life prediction: status and future possibilities. *Inter J Food Microbiol* 33: 65-83.
- Yoon YC, Lee JM, Kim NW. 1990. Studies on the changes of physicochemical quality in UHT-treated market milk during storage. *Korean J Dairy Sci* 12: 82-86.
- Park KJ, Jung SW, Park BI, Kim YH, Jeong JW. 1996. Initial control of microorganism in *Kimchi* by the modified preparation method of seasoning mixture and the pretreatment of electrolyzed acid-water. *Korean J Food Sci Technol* 28: 1104-1110.
- Jin YG, Kim TW, Ding T, Oh DH. 2009. Effect of electrolyzed water and citric acid on quality enhancement and microbial inhibition in head lettuce. *Korean J Food Sci Technol* 41: 578-586.
- Jeong JH, Han SJ, Cho WD, Hwang HJ. 1999. Identification of spoilage bacteria isolated from aseptic packaged cooked rice and application of acidic electrolyzed saline solution as water-for-cooked rice. *Korean J Food Sci Technol* 31: 788-793.
- Kim JH, Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Kim AR, Park SM, Han CS, Ahn DH. 2007. Antimicrobial activity of electrolyzed alkaline water against spoilage of microorganisms in rice warehouses. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 111-116.
- Tanaka T, Sugawara T, Arisawa J, Kenmotsu M, Kimura K. 2005. Fundamental studies of acidic electrolyzed water on the bactericidal activity and its mechanism. *Memories of the Hokkaido Institute of Technology* 33: 1-5.
- Kim JB, Yousef AE, Dave S. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *J Food Prot* 62: 1071-1087.
- Kim BH, Kim HJ, Yoon YH, Shin MG, Lee JW. 2010. Comparison of the effects of gamma ray and electron beam irradiation to improve safety of spices for meat processing. *Korean J Food Sci Ani Resour* 30: 124-132.
- Dondo A, Nachman C, Doglione L, Rosso A, Genetti A. 1992. Foods: their preservation by combined use of refrigeration and ozone. *Ing Aliment Conserve Anim* 8: 16-25.
- Restaino L, Frampton EW, Hemphill JB, Palmikar P. 1995. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Appl Environ Microbiol* 61: 3471-3475.
- Han Y, Floros JD, Linton RH, Nielsen SS, Nelson PE. 2006. Response surface modeling for the inactivation of *E. coli* O157:H7 on green peppers by ozone gas treatment. *J Food Sci* 67: 1188-1193.

24. Geering F. 1999. Ozone application—The state of the art in Switzerland. *Ozone Sci Eng* 21: 187-200.
25. Rice RG. 1999. Ozone in the United States of America—state of the art. *Ozone Sci Eng* 21: 99-118.
26. Park SJ, Park JY. 2000. Method of sterilization using ozone in food industry. *Korean Soc Food Sci Technol* 33: 50-57.
27. Kim SS, Lee JH, Kim SY. 1999. Pasteurization efficiency of a continuous microwave HTST system for milk. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1392-1396.
28. Son JC. 1999. What is a microwave oven. *Food Sci Industry* 32: 2-11.
29. Kim YS, Kim HJ, Yoon YH, Shin MG, Kim CJ, Shin MH, Lee JW. 2010. Antimicrobial effects of retort and gamma irradiation on bacterial populations in spicy chicken sauce. *Korean J Food Sci Ani Resour* 30: 141-147.
30. Ham JS, Nho YB, Kim SI, Kim HS, Jeong SG, Chae HS, Ahn JN, Jo C, Lee WK. 2005. Changes of chemical bacteriological and allergenicity of raw milk by gamma irradiation. *J Korean Dairy Technol Sci* 23: 93-98.
31. Ham JS, Jeong SG, Noh YB, Shin JH, Han GS, Chae HS, Yoo YM, Ahn JN, Lee JW, Jo C, Lee WK. 2007. Effects of gamma irradiation on queso blanco. *Korean J Dairy Sci & Technol* 25: 15-20.
32. Kim HJ, Jo CH, Kim DS, Yook HS, Byun MW. 2005. Microbiological contamination of ice cream commercially available in Korea and its irradiation effect. *J Anim Sci & Technol* 47: 867-876.

(2011년 5월 31일 접수; 2011년 7월 26일 채택)