

Analysis of Harmful Microorganisms in Raw Cereal Materials and Processing Environment for Sunsik

Jin Hee-Kim and Ji Young Yang*

Department of Food Science & Technology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Received December 7, 2011 / Revised January 20, 2012 / Accepted January 25, 2012

There are various kinds of cereals used in sunsik manufacturing. Different harmful microorganisms that can contaminate these cereals have been reported. According to the different sizes of cereals used, black bean, black rice, and millet were artificially contaminated with *Escherichia Coli*. *E. coli* contamination in cereal samples was detected after different washing steps under different conditions. The increase of washing time did not have any effect with regard to reducing *E. coli* in samples. Among several ratios between the washing solution and sample, 2:1 that have little influence to reduce *E. coli* contamination have been determined. The temperature of the washing solution is an influencing factor as well. Washing with solution at 40°C could reduce 1 log of *E. coli* in samples. Among different concentrations of saline used as a washing solution, 5% could reduce 2~3 log *E. coli* in contaminated samples. However, the saline adds a salty taste to cereals when used during the washing step. To remove that, an extra washing step and large amount of washing solution are necessary in sunsik manufacturing.

Key words : Black bean, glutinous rice, *sorghum*, washing method, Sunsik

서 론

전보⁽¹⁾에서 생식제품의 미생물학적 안정성 확보를 위한 기초 자료로 활용하고자 생식제품 및 제조 공정 중에 있어서 *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* 등 식중독세균을 중심으로 한 자연 환경 유래 위해미생물의 분포 및 주 오염공정에 대하여 보고한 바 있다. 생식 원료 중 위해미생물의 검출율이 높은 원료는 주로 곡류이었으며, 원료를 일반 수도수로 세척하고 동결건조 하여도 위해미생물은 완전히 제거되지 않아 원료에 대한 비가열살균 대책이 필요할 것으로 나타났다. 또한 최종제품의 위해미생물의 검출율이 원료보다 높게 나타나 제조공정 중 미생물 오염이 증가하는 것으로 나타났으며 생식 제조 공정에 사용되는 기계 및 기구에서도 위해미생물이 검출되어 공중부유균의 살균대책 및 제조공장의 철저한 위생관리가 요구되며, 분쇄기 및 혼합기의 정기적인 소독 및 살균이 필요할 것으로 나타났다. 비가열식품이라는 생식의 특성상 위해미생물을 제어하기 위한 수단으로서 선택할 수 있는 방법은 비가열 살균방법을 들 수 있다.

식품에 적용할 수 있는 비가열 살균방법으로서 물리적인 방법에는 고전장 펄스, 진동자기장펄스, 선형유도 전자가속기, 초단파, 감마선조사, 강력 광 펄스, 고압처리법 등이 있으며, 화학적인 방법에는 이산화탄소, 박테리오신, oxidizer, alcohol, 염소소독, 전해수, 오존수 등에 의한 살균, 그리고 그

외의 방법으로 항균성 효소, hurdle technology, 생물조절시스템 등이 있다. 이 중 식품의 미생물학적 안정성을 확보하기 위한 비가열 살균방법으로서 최근 전해수 또는 오존수에 의한 살균이 식품 산업 현장에 많이 이용되고 있다. 전해수의 경우, 일본에서는 식품산업 현장에서 살균제로서 사용되고 있을 뿐만 아니라 의학 분야에도 적용되고 있으며[2-7] 일본 후생성에서는 2002년 6월 전해수를 식품첨가물(살균제)로 인정한 바 있다[7]. 오존수의 경우, 미국과 유럽의 중심으로 곡류, 야채, 과일 등에 부착하고 있는 미생물의 제거효과에 대하여 대단히 활발한 연구가 이루어지고 있다[8-13].

그러나 국내의 경우 생식 등 비가열 식품을 대상으로 위해미생물을 제어하기 위한 수단으로서 비가열살균 방법의 적용에 대한 연구와 제조공정의 위생적인 개선 효과에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구에서 선식용 곡류 원료 및 제조 공정 중 위해미생물의 제어 및 저감화를 위하여 제조공정중의 세척방법 통한 미생물 제거 효과와 식품의 안전성 향상과 세척방법을 개발하기 위한 기초자료로 제시하고자 한다.

재료 및 방법

시료

선식에 사용되는 곡류의 종류도 다양하고 오염미생물의 종류도 다양하여 곡류는 크기 모양 등을 고려하여 현재 시중에 유통되고 있는 원산지가 국내산인 선식용 곡류원료 검정콩, 찹쌀, 수수 3종류를 구입하여 시료로 사용하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-629-5828, Fax : +82-51-629-5824

E-mail : jyyang@pknu.ac.kr

배지 및 시약

실험에 사용된 대장균 및 대장균군용 배지는 3M 주식회사 Petrifilm™ aerobic count plate, *E. coli/coliform* plate를 사용하였다.

대장균

시료 25 g에 멸균수 225 ml를 가한 후 균질화 하여 1 ml를 각 희석단계별 시료를 Petrifilm™ *E.coli/coliform* plate에 1 ml 씩 취하여 35℃, 24 hr 배양 Standard Plate Count에 의하여 CFU/g으로 나타내었다.

균주의 배양

공시균주를 lactose broth (LB, Difco, USA) 10 ml에 1백금이 접종하여 30℃에서 24 hr 진탕배양(100 rpm) 한 후 이 균 현탁액 0.1 ml를 다시 새로운 액체배지(lactose broth)100 ml에 접종하고 24 hr 진탕배양(37℃, 100 rpm)시킨 후 이 균주 배양액으로 사용하였다. *E. coli* 균 KCTC1682를 배양하여 사용하였다.

전처리 방법

원산지가 국내산인 선식용 곡류원료 3종 검정콩, 찹쌀, 수수를 각각 10 g 물 10 ml와 *E. coli* 균배양액 1 ml를 넣고 드라이오븐에서 24 hr 건조 시켜 원료사용 하였다.

세척방법 조건에 따른 방법 설정

일반 가정용 수도수를 사용하여, 세척횟수 1, 2, 3회로 설정하였고, 세척수량은 원료대비 130, 160, 200%로 설정하였다.

또한 세척 수 온도는 찬물과 온수(40℃)로 설정하였으며, 염수 농도를 각각 달리하여 3, 5, 7, 10% 세척구간으로 설정하여 3회 반복 실험 하였다.

결과 및 고찰

선식용 곡류원료 3종 검정콩, 찹쌀, 수수 원료에서 *E. coli* 를 인위적으로 접종하여 측정된 결과 8.9×10⁸, 8.3×10⁸, 9.1×10⁸ CFU/g로 초기 균수로 검출되었다. 일반 수도수 세척횟수에 따른 *E. coli*를 측정된 결과 Table 1에 나타내었다. 일반 수도수의 세척횟수에 1회, 2회, 3회 단계별 물 세척한 검정콩에서 8.7×10⁸, 7.2×10⁸, 7.4×10⁷ CFU/g로 검출되었고, 찹쌀은 8.1×10⁸, 6.7×10⁸, 6.8×10⁷ CFU/g로 검출되었으며, 수수는 8.8×10⁸, 8.3×10⁸, 7.1×10⁸ CFU/g로 검출되었다. 초기 원료에 비해 세척회수를 증가하여도 세척에 의한 오염균 감소효과는 없는 것으로 나타났다. 세척수량에 따른 *E. coli*를 측정된 결과 Table 2에 나타내었다. 세척수량의 초기균수는 검정콩, 찹쌀, 수수에서 8.3×10⁸, 8.5×10⁸, 8.9×10⁸ CFU/g로 검출되었다. 130, 160, 200% 세척수량의 검정콩에서 8.1×10⁸, 8.1×10⁸, 7.8×10⁷ CFU/g로 검출되었고, 찹쌀은 8.5×10⁸, 8.2×10⁸, 8.0×10⁷ CFU/g로 검출되었으며, 수수는 8.8×10⁸, 8.6×10⁸, 8.3×10⁸ CFU/g로 검출되었다. 세척수량도 원료대비 200%의 경우가 오염균 감소에 약간 영향을 미치었으나 큰 효과는 나타나지 않았다. 세척 수 온도에 따른 *E. coli*를 측정된 결과 Table 3에 나타내었다. 세척 수 온도의 초기균수는 검정콩, 찹쌀, 수수에서 8.3×10⁸, 8.5×10⁸, 8.3×10⁸ CFU/g로 검출되었다. 찬물과 온

Table 1. Change of *Escherichia coli* according to different Water Strokes (Unit: logCFU/g)

Samples	<i>E. coli</i>	Washing method		
		Water 1Stroke	Water 2Strokes	Water 3Strokes
<i>Black bean</i>	8.9×10 ⁸	8.7×10 ⁸	7.2×10 ⁸	7.4×10 ⁷
<i>Glutinous rice</i>	8.3×10 ⁸	8.1×10 ⁸	6.7×10 ⁸	6.8×10 ⁷
<i>Sorghum</i>	9.1×10 ⁸	8.8×10 ⁸	8.3×10 ⁸	7.1×10 ⁸

Table 2. Change of *Escherichia coli* according to different Water volume (Unit: logCFU/g)

Samples	<i>E. coli</i>	Washing method		
		130%	160%	200%
<i>Black bean</i>	8.3×10 ⁸	8.1×10 ⁸	8.1×10 ⁸	7.8×10 ⁷
<i>Glutinous rice</i>	8.5×10 ⁸	8.5×10 ⁸	8.2×10 ⁸	8.0×10 ⁷
<i>Sorghum</i>	8.9×10 ⁸	8.8×10 ⁸	8.6×10 ⁸	8.3×10 ⁸

Table 3. Change of *Escherichia coli* according to different Water temperature (Unit: logCFU/g)

Samples	<i>E. coli</i>	Washing method	
		Cold water	Warm water
<i>Black bean</i>	8.8×10 ⁸	8.5×10 ⁸	2.2×10 ⁶
<i>Glutinous rice</i>	8.5×10 ⁸	8.1×10 ⁸	3.7×10 ⁷
<i>Sorghum</i>	8.3×10 ⁸	8.2×10 ⁸	4.9×10 ⁷

Table 4. Change of *Escherichia coli* according to different NaCl concentration

(Unit: logCFU/g)

Samples	<i>E. coli</i>	Washing method			
		3% NaCl	5% NaCl	7% NaCl	10% NaCl
<i>Black bean</i>	8.9×10^8	1.5×10^6	1.2×10^5	1.2×10^5	1.4×10^5
<i>Glutinous rice</i>	8.3×10^8	4.4×10^7	8.0×10^5	2.0×10^5	5.0×10^4
<i>Sorghum</i>	9.1×10^8	2.0×10^6	2.0×10^6	1.2×10^6	1.5×10^6

수(40°C)의 물로 세척 시 검정콩에서 8.5×10^8 , 2.2×10^6 CFU/g로 검출되었고, 찹쌀은 8.1×10^8 , 3.7×10^7 CFU/g로 검출되었으며, 수수는 8.2×10^8 , 4.9×10^7 CFU/g로 검출되었다. 세척 수 온도를 찬물이 아닌 40°C의 물로 세척 시 1 log 이상의 오염균 감소효과를 보았다. 염수농도를 달리 하여 *E. coli*를 측정할 결과 Table 4에 나타내었다. 염수농도를 달리한 초기균수는 검정콩, 찹쌀, 수수에서 8.9×10^8 , 8.3×10^8 , 9.1×10^8 CFU/g로 검출되었다. 염수농도 3, 5, 7, 10% 검정콩에서는 1.5×10^6 , 1.2×10^5 , 1.2×10^5 , 1.4×10^5 CFU/g로 검출되었으며, 찹쌀은 4.4×10^7 , 8.0×10^5 , 2.0×10^5 , 5.0×10^4 CFU/g로 검출되었고, 수수는 2.0×10^6 , 2.0×10^6 , 1.2×10^6 , 1.5×10^6 CFU/g로 검출되었다. 광 등(2006)의 시판 생식에서 식중독균의 정량적 평가(J. Fd Hyg. Safety 21(1), 41-46)에 따르면 비가열 곡류에서 존재할 수 있는 *B.cereus*는 5°C와 60°C에서는 거의 증식하지 않으나, 25°C와 35°C 사이에서는 온도가 상승함에 따라 균의 증식이 활발해져 초기균수가 3×10^3 cfu/ml이라면 25°C에서 배양 후 12시간, 30°C에서 8시간, 35°C에서는 6시간만에 식중독 발병량인 10^7 cells/ml에 도달할 수 있다고 보고되었다. 따라서, 원료에 대한 철저한 세척 및 식중독균 제거 방안이 필요할 뿐 아니라 제조과정 중 철저한 품질 및 위생관리가 필요함을 지적하고 있다. 또한 생식제품의 운반 및 판매과정에서도 적정 보관상태를 유지함으로써 식중독균의 증식을 막고 위해를 사전 예방하는 체계적인 관리가 필요하다고 판단되어 진다. 세척방법 시 염수를 첨가한 세척수의 사용 시 5% 정도가 적당하였으며 염수 처리 시 2 log 내지 3 log 정도의 감소효과를 관찰 하였다. 그러나 염류의 사용은 짠맛을 최종제품에 주게 되므로 염류를 제거하기 위한 세척공정이 추가로 필요하게 되며 완전한 염류의 제거를 위해서는 많은 양의 세척수량이 추가로 필요하게 된다.

감사의 말

이 논문은 2011년 농촌진흥청 농업과학기술개발사업 공동연구사업의 연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Bott, T. R. 1991. Ozone as a disinfecting of raw produce.

Dairy Food Environ. **12**, 6-9.

- Chang, T. E., Moon, S. Y., Lee, K. W., Park, J. M., Han, J. S. and Shin, J. S. 2004. Microflora of manufacturing process and final products of Saengshik. *Food Sci. Technol.* **36**, 501-506.
- Graham, D. M. 1997. Use of Ozone for food processing. *Food Technol.* **51**, 72-75.
- Hotta, K., Kawaguchi, K., Saitoh, F., Ochi, K. and Nakayama, T. 1994. Antimicrobial activity of electrolyzed NaCl solutions: effect on the growth of *Streptomyces*. *Actinomycetologica*. **8**, 51-56.
- Izumi, H. 1999. Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables. *J. Food Sci.* **64**, 536-539.
- Kim, J. C., Yousef, A. E. and Chism, G. W. 1999. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. *J. Food Safety* **19**, 17-33.
- Kondo, F., Utoh, K. and Rostamibasahman, M. 1989. Sterilizing effect of ozone water and ozone ice on various microorganisms. *Bull. Faculty Agric., Miyazaki Univ.* **36**, 93-98.
- Koseki, S., Yoshida, K., Kamitani, Y., Isobe, S. and Kazuhiko, I. 2004. Effect of mild heat pre-treatment with alkaline electrolyzed water on the efficacy of acidic electrolyzed water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on lettuce. *Food Microbiol.* **21**, 559-566.
- Restaino, L., Frampton, E. W., Hemphill, J. B. and Palnikar, P. 1995. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 3471-3475.
- Suzuki, T. 1997. Subject and prospect of an electrolyzed anodic solution in food industry. *New Food Ind* **39**, 61-66.
- Suzuki, T. 1998. Practice and safety of utilization of electrolyzed water in food industry. *Food Chem* **5**, 35-42.
- Suzuki, I., Itakura, J., Watanabe, M., Ohta, M., Sato, Y. and Yamaya, Y. 2002. Inactivation of *Staphylococcal enterotoxin-A* with an electrolyzed anodic solution. *J. Agric. Food Chem* **50**, 230-234.
- Suzuki, T., Noro, T., Kawamura, Y., Fukunaga, K., Watanabe, M., Ohta, M., Sugiue, H., Sato, Y., Kohno, M. and Hota, K. 2002. Determination of aflatoxin-forming fungus and elimination of aflatoxin mutagenicity with an electrolyzed NaCl anodic solution. *J. Agric. Food Chem* **50**, 633-641.
- Venkitanarayan, K. S., Ezeike, G. O., Hung, Y. C. and Doyle, M. P. 1999. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on plastic kitchen cutting boards by electrolyzed oxidizing water. *J. Food Prot.* **62**, 857-860.
- Xu, L. 1999. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. *Food Technol.* **53**, 58-63.

초록 : 선식용 곡류원료의 위해미생물 제거를 위한 세척방법에 따른 효과

김진희 · 양지영*

(부경대학교 식품공학과)

선식에 사용되는 곡류의 종류도 다양하고 오염미생물의 종류도 다양하여 곡류는 크기 모양 등을 고려하여 검정콩, 찹쌀, 수수의 3종류를 대상으로 피검균은 대장균을 인위적으로 오염시켜 세척조건에 따른 효과를 조사하였다. 초기 원료에 비해 세척횟수를 증가하여도 세척에 의한 오염균 감소효과는 없는 것으로 나타났다. 세척수량도 원료대비 200%의 경우가 오염균 감소에 약간 영향을 미치었으나 큰 효과는 나타나지 않았다. 세척 수 온도를 찬물이 아닌 40℃의 물로 세척 시 1 log 이상의 오염균 감소효과를 보였다. 세척방법 시 염수를 첨가한 세척수의 사용 시 5% 정도가 적당하였으며 염수 처리 시 2 log 내지 3 log 정도의 감소효과를 관찰 하였다. 그러나 염류의 사용은 짠맛을 최종제품에 주게 되므로 염류를 제거하기 위한 세척공정이 추가로 필요하게 되며 완전한 염류의 제거를 위해서는 많은 양의 세척수량이 추가로 필요하게 된다.