

미산성 차아염소산수와 초음파를 처리한 당근에서 저장 중 *Bacillus cereus* 균의 생육 예측모델

김선영 · 오덕환

강원대학교 식품생명공학과

Predictive Modeling of *Bacillus cereus* on Carrot Treated with Slightly Acidic Electrolyzed Water and Ultrasonication at Various Storage Temperatures

Seon-Young Kim and Deog-Hwan Oh

Department of Food Science and Biotechnology, School of Bio-convergence Science and Technology, Kangwon National University

ABSTRACT This study was conducted to develop predictive models for the growth of *Bacillus cereus* on carrot treated with slightly acidic electrolyzed water (SAcEW) and ultrasonication (US) at different storage temperatures. In addition, the inactivation of *B. cereus* by US with SAcEW was investigated. US treatment with a frequency of 40 kHz and an acoustic energy density of 400 W/L at 40°C for 3 min showed the maximum reduction of 2.87 log CFU/g *B. cereus* on carrot, while combined treatment of US (400 W/L, 40°C, 3 min) with SAcEW reached to 3.1 log CFU/g reduction. Growth data of *B. cereus* on carrot treated with SAcEW and US at different temperatures (4, 10, 15, 20, 25, 30, and 35°C) were collected and used to develop predictive models. The modified Gompertz model was found to be more suitable to describe the growth data. The specific growth rate (SGR) and lag time (LT) obtained from the modified Gompertz model were employed to establish the secondary models. The newly developed secondary models were validated using the root mean square error, bias factor, and accuracy factor. All results of these factors were in the acceptable range of values. After compared SGR and LT of *B. cereus* on carrot, the results showed that the growth of *B. cereus* on carrot treated with SAcEW and US was slower than that of single treatment. This result indicates that shelf life of carrot treated with SAcEW and US could be extended. The developed predictive models might also be used to assess the microbiological risk of *B. cereus* infection in carrot treated with SAcEW and US.

Key words: *Bacillus cereus*, ultrasonication, slightly acidic electrolyzed water, growth model, carrot

서 론

최근 경제 성장으로 인한 소득 수준 변화로 인하여 열처리 식품보다는 과채류나 즉석섭취 식품과 같은 비가열처리식품에 대해 소비자들의 관심도는 급증하고 있다. 그중 신선 채소류는 일반적으로 가열하지 않고 신선한 상태로 섭취되기 때문에 병원성 미생물이 오염되어 있을 경우 식품 안전성의 위협이 될 수 있다(1). 병원성 미생물은 채소를 씻는 과정에서 쉽게 제거되지 않아 식중독 사고를 발생하는 주원인이 되고 있으며, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* 등이 채소류와 같은 신선 농산물과 관련하여 식중독 사고 및 국민

의 건강상의 문제에 크게 상관성이 있는 것으로 보고되었다(2).

B. cereus 균은 토양세균의 일종으로 생활환경을 비롯하여 토양, 수중, 공기, 식물표면 등 자연계에 널리 분포한다. 이 균의 증식온도는 5~50°C(최적발육온도 30~37°C)이며, 135°C에서 4시간 가열해도 견딜 수 있는 내열성 포자를 생성하여 다른 식중독 균보다 어느 표면이든 잘 들러붙어 세척과 소독이 어려운 것으로 알려지고 있다. *B. cereus* 균에 감염될 경우 1~5시간의 잠복기를 거치면서 메스꺼움, 구토를 일으키며 가끔 복통과 설사를 동반하는 식중독의 주요 원인균으로 알려져 있다(3). 따라서 식품 산업체에서는 소비자들의 요구를 만족시키기 위해 식품위생 및 품질에 민감히 대처해야 하고 식품의 신선함과 건전성을 유지할 수 있는 비가열 세척 처리의 기술을 개발해야 한다(4,5).

미산성 차아염소산수 처리는 신선편의 채소류의 갈변효소 활성 억제와 조직의 연화를 방지하여 유통기간을 연장시키는 방법의 하나로 다른 살균처리와 함께 쓰일 때 미생물

Received 3 April 2014; Accepted 21 May 2014

Corresponding author: Department of Food Science and Biotechnology, School of Bio-convergence Science and Technology, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon 200-701, Korea
E-mail: deoghwa@kangwon.ac.kr, Phone: +82-33-250-6457

저감화에 상승 효과를 주며, 여러 신선농산물 세척에 널리 이용되고 있고 세균에 대한 살균 효과, 생화학적, 품질적인 면을 증진시킨다고 보고되었다(6-8).

초음파는 액체 내에서 생성된 기포 파열 시 발생하는 진동 에너지가 효소 활성화와 미생물 생육에 영향을 미친다(9). 또한 초음파는 비가열처리 공정 중 하나로 전통적인 가열 공정 중에 일어날 수 있는 영양적, 관능적 품질 변화를 최소화하며, 공정의 편의성 및 친환경적으로 식품을 처리하는 것으로 보고되고 있다(10-12). 그러나 미산성 차아염소산수나 초음파 모두 단독으로 사용할 경우 미생물의 사멸에 제한이 많기 때문에 다른 기술과 병행하여 많이 이용되고 있다(13). 이러한 살균 및 저장 기술들은 복합적으로 병행 적용되는 기술(허들 테크놀로지)을 통해서 허들 요인이 갖고 있는 특성을 순차적으로 적용함으로써 살균 및 저장 효과를 극대화할 수 있다(14-17).

예측모델(Predictive Modeling)은 특정한 환경조건 하에서 식품 중 위해 미생물의 생육을 수학적으로 기술하여 병원성 미생물의 변동 상태를 예측함으로써 이들 위해 미생물을 효과적으로 제어하는 예측 미생물학을 바탕으로 한다(18, 19). 예측 미생물학은 식품의 재료에서 제조, 유통, 보관, 판매, 소비까지의 전 과정에서 병원성 및 부패 미생물의 생육 변화를 예측함으로써 미생물학적 위해 인자를 실시간으로 관리할 수 있는 방법 중의 하나로, 위해 요인에 대한 영향인자를 활용하여 발생을 추정하는 시스템으로, 세균성 식중독 발병을 제어하는 예방적 수단으로 그 활용이 확대되고 있다.

본 연구에서는 미산성 차아염소산수와 초음파 단독 또는 병용 처리에 의한 당근에 접종된 *B. cereus* 균의 제어 및 생육예측모델 개발을 통해 신선편의 식품의 가공 및 저장 중의 품질 변화 원인을 규명하고 품질 저하를 최소화하여 신선도를 높이고 위생적으로 안전한 저장 및 유통 기술을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 준비

본 연구에 사용한 당근은 춘천 소재지의 대형 마트에서 구입하여 즉시 실험실로 옮긴 후 4°C 냉장고에 보관하여 실험에 사용하였다. 각 당근의 불가식 부위는 제거하고 상처가 없는 부분을 선별하여 10.0±0.2 g만큼 무게를 재어 사용하였다.

B. cereus 균주 준비 및 접종

본 실험에 사용된 *B. cereus* ATCC 14579는 국립보건원(Korea National Institute of Health, 청원군, 한국)에서 분양받아 사용하였으며, tryptic soy broth(TSB, Difco, Sparks, MD, USA)를 사용하여 35°C에서 24시간 배양한 후 4,000×g에서 10분간 원심분리(Supra 21K, Hanil, Incheon, Korea) 하였다. 원심분리 후 상층액은 버리고 멸

균 증류수로 cell pellet을 2회 세척한 후 0.1% buffered peptone water(BPW; Difco, BD)로 현탁하여 최종 균수의 농도를 10⁸ CFU/mL로 만들었다.

각 시료 10±0.2 g에 존재하는 부착 미생물을 제거하기 위해 시료를 UV(TUV 15W, Philips Lighting, Roosendaal, The Netherlands)로 1시간 동안 처리한 후 세포현탁액 0.1 mL를 spotting 하여 clean bench 내에서 20분간 건조한 후 시료의 최종 초기농도가 약 10⁶ CFU/g 되게 한 후 초음파와 미산성 차아염소산수로 처리하였다.

미산성 차아염소산수 제조

미산성 차아염소산수는 전기분해수 생성장치(model BC-360, Cosmic Round Korea Co., Seongnam, Korea)를 사용하여 전류 2.7 A, pH 6.3~6.5, 유효염소(ACC) 10~30 mg/L, ORP 780~880 mV인 무격막 전기분해수로 제조하여 사용하였다.

초음파 및 미산성 차아염소산수의 단독 또는 병용 처리

초음파 또는 초음파와 미산성 차아염소산수의 병용 처리는 최적조건을 확립하기 위해 초음파 단독 처리를 통해 최적조건을 설정한 후 미산성 차아염소산수와 병용 처리를 진행하였다. 초음파 처리 방법은 초음파생성장치(model JAC-4020, Kodo Technical Research Co., Ltd., Hwaseong, Korea)에 증류수를 넣은 후 *B. cereus*를 접종한 시료를 넣고 각각 세기별(100, 200, 400 W/L), 온도별(25, 40, 60°C), 시간별(1, 3, 5 min)로 조건을 다르게 하여 처리하였다. 초음파 최적조건을 바탕으로 미산성 차아염소산수와 병용 처리는 3가지 방법으로 각각 처리하였다. 첫째, *B. cereus* 균을 접종한 당근을 최적조건인 초음파로 처리한 후 멸균백에 미산성 차아염소산수와 함께 넣어 3분 동안 침지시켰다. 둘째, 멸균백에 접종한 당근과 미산성 차아염소산수를 넣어 3분 침지시킨 후 최적조건인 초음파로 처리하였다. 셋째, ultrasonicator에 직접 접종한 당근과 미산성 차아염소산수를 넣고 최적조건인 초음파로 처리하였다. 대조군은 증류수를 사용하였으며 처리구와 같은 조건으로 처리하였다. 위 방법으로 처리한 당근을 90 mL의 멸균 인산완충용액과 함께 stomacher bag에 넣어 Seward stomacher(400 Circulator, Seward, London, UK)를 이용하여 2분간 균질화한 후 멸균 인산완충용액을 이용하여 10배씩 연속 희석하였고, 희석된 시료에서 0.1 mL 취하여 Egg Yolk Tellurite Enrichment 50%(Difco)를 첨가한 Mannitol Egg Yolk Polymyxin(MYP, Difco)에 분주한 뒤 도말하여 35°C에서 24~36시간 배양한 후 균수의 변화를 측정하였다.

초음파와 미산성 차아염소산수 병용 처리한 당근의 온도별 *B. cereus* 생육 변화

시료 10 g 표면에 초기 *B. cereus* 균수 농도가 6 log CFU/g 되게 접종한 후 clean bench 내에서 20분간 건조한 다음

ultrasonicator에 미산성 차아염소산수와 함께 넣고 최적조건으로 초음파 처리를 하였다. 4, 10, 15, 20, 25, 30, 35°C에서 시간별로 배양한 후 균수의 변화를 측정하였다.

병용 처리에 의한 당근의 *B. cereus* 생육예측모델 개발 및 적합성 평가

최적의 생육 curve-fitting을 얻기 위해 Gompertz 모델식을 이용하여 시간 변화에 따른 *B. cereus*의 lag time(LT), specific growth rate(SGR)를 구하여 1차 모델을 구하였다(식 1).

$$Y=N_0+C \times \exp[-\exp\{(2.718 \times \text{SGR}/C) \times (LT-X)+1\}] \quad \text{식 (1)}$$

N_0 : Log initial number of cells

C: Difference between initial and final cell numbers

LT: Lag time, same units as X

SGR: Maximum specific growth rate

X: Incubation time

Y: Log cells

예측모델개발은 Graphpad Prism 4.0 프로그램(Graphpad Software, San Diego, CA, USA)을 이용하여 분석하였으며 분석 값은 유도기 $\lambda(h)$, 최대생육 또는 사멸속도(h^{-1}), 최종 세균 농도(Y)를 1차 모델로부터 얻은 후 환경 변화(온도, 습도)에 따라 *B. cereus* 균의 유도기와 최대 생육속도에 대한 적절한 모델을 이용하여 새로운 2차 모델을 개발하였다(식 2).

$$\text{Ln}(\mu_{\max})=a+bT+cT^2 \quad \text{식 (2)}$$

μ_{\max} : Maximum growth rate

T: Temperature

개발된 2차 예측모델의 검증을 위해 통계적 지표인 Bias factor(B_f), Accuracy factor(A_f)를 이용하였다. A_f 는 측정된 실험값과 산출된 예측값 사이의 절대값을 평가하며, B_f 는 실험을 통하여 측정된 실험값과 2차 모델식에서 산출된 예측값의 차이를 평가하는 지표로서 식 3, 4와 같이 계산하였다.

$$B_f = 10^{\left[\frac{\sum_{i=1}^n \log(\text{observed}/\text{predicted})/n \right]} \quad \text{식 (3)}$$

$$A_f = 10^{\left[\frac{\sum_{i=1}^n \log(\text{predicted}/\text{observed})/n \right]} \quad \text{식 (4)}$$

결과 및 고찰

초음파 및 미산성 차아염소산수 단독 또는 병용 처리 살균 효과

Table 1은 *B. cereus* 접종한 당근을 초음파 처리하였을 때 *B. cereus* 균의 사멸 효과를 나타낸 결과이다. 당근을 각각 다른 세기와 온도, 시간을 설정하여 초음파를 처리한 결과, 세기, 온도, 시간이 클수록 미생물 저감화 효과가 큰 것으로 나타났으나 60°C 이상에서는 높은 온도로 인해 품질

Table 1. Effect of reduction of *Bacillus cereus* (means±standard deviation; log CFU/g) on carrot treated ultrasonication

	Time (min)	Temperature		
		25°C	40°C	60°C
SDW ¹⁾	1	0.51±0.03 ^{fc}	0.70±0.03 ^{hA}	0.62±0.02 ^{gB}
	3	0.52±0.04 ^{efB}	1.44±0.03 ^{dA}	1.50±0.04 ^{efA}
	5	0.60±0.04 ^{efB}	1.59±0.05 ^{dA}	1.51±0.04 ^{eA}
US (100 W/L) ²⁾	1	0.61±0.03 ^{defC}	0.87±0.04 ^{gB}	1.44±0.05 ^{efA}
	3	0.63±0.03 ^{defC}	1.12±0.03 ^{fb}	1.52±0.04 ^{efA}
	5	0.64±0.02 ^{cdefC}	1.30±0.03 ^{EB}	1.61±0.04 ^{eA}
US (200 W/L) ²⁾	1	0.65±0.03 ^{cdeC}	1.34±0.03 ^{EB}	1.70±0.03 ^{dA}
	3	0.66±0.03 ^{bcdC}	1.60±0.04 ^{CB}	1.91±0.06 ^{eA}
	5	0.69±0.02 ^{abcdC}	1.72±0.04 ^{CB}	2.12±0.03 ^{eA}
US (400 W/L) ²⁾	1	0.71±0.03 ^{abcC}	1.91±0.03 ^{BB}	2.39±0.05 ^{bA}
	3	0.72±0.05 ^{abC}	2.87±0.06 ^{AB}	2.94±0.04 ^{aA}
	5	0.74±0.06 ^{aC}	2.89±0.05 ^{AB}	2.99±0.07 ^{aA}

¹⁾SDW: sterilized deionized water.

²⁾US (ultrasonication) with the AED (acoustic energy density) of 100, 200, and 400 W/L.

Means within each column followed by different small letters (a-h) are significantly different ($P<0.05$).

Means within each row followed by different capital letters (A-C) are significantly different ($P<0.05$).

측면에서 당근의 물성이 좋지 않았다. 400 W/L, 60°C, 5분 조건에서는 *B. cereus* 균이 2.99 log CFU/g 감소하여 저감화 효과가 좋았으나 당근의 색이나 물성 등에 좋지 않은 영향을 주었고, 2.87 log CFU/g 감소한 400 W/L, 40°C, 3분 조건이 미생물학적, 물성학적 관점에서 볼 때 가장 좋은 최적 전처리 조건으로 설정되었다. Cao 등(20)은 초음파 세척 기술을 이용한 미생물 저감화 연구가 이루어져 실제 식품가공 공정에 이용하였으며, Kim 등(21)의 연구에서는 채소 및 신선 농산물과 같은 신선편의 식품의 경우 단독 처리보다는 다른 기술과 함께 병용 처리했을 때 효과가 훨씬 뛰어난 것으로 보고되었다. 따라서 초음파의 최적조건을 바탕으로 미산성 차아염소산수의 병용 처리를 3가지 방법(초음파 처리 후 미산성 차아염소산수, 미산성 차아염소산수 처리 후 초음파, 초음파와 미산성 차아염소산수 동시 처리)으로 처리한 결과는 Fig. 1과 같다. 초음파와 미산성 차아염소산수를 동시에 처리하는 방법이 3.1 log CFU/g 감소하여 병용 처리 중 가장 좋은 살균 효과를 나타내었다. 따라서 초음파를 단독 처리하는 것보다 미산성 차아염소산수와 병용 처리할 때 *B. cereus* 저감화에 더욱 큰 영향을 줄 수 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Ding 등(17)의 상추를 초음파와 미산성 차아염소산수를 병용 처리하였을 때 *E. coli* O157:H7이 약 2 log CFU/g 감소된 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 Kim 등(22)은 미산성 차아염소산수로 처리한 생식원료를 저장하였을 때 미생물 저감화 효과 및 색도 변화 등 품질은 미산성 차아염소산수 처리구가 다른 가열처리구보다 훨씬 좋은 영향을 미쳤다고 보고하였다. 따라서 초음파와 미산성 차아염소산수의 병용 처리는 비가열처리 방법으로서 당근뿐만 아니라 다른 신선 농산물의 가공 및 유통 시 품질

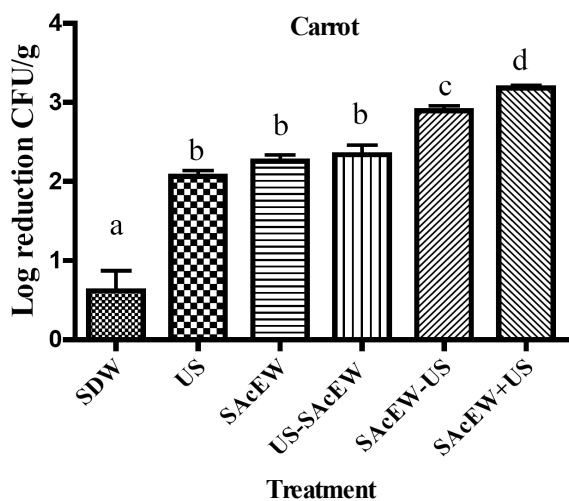


Fig. 1. Inactivation effect of ultrasonication combined with SAcEW on *Bacillus cereus* inoculated on carrot. SDW: sterilized distilled water (40°C, 3 min), US: ultrasonication (40°C, 3 min), SAcEW: slightly acidic electrolyzed water (40°C, 3 min), US-SAcEW: ultrasonication treatment followed by SAcEW treatment (40°C, 3 min), SAcEW-US: SAcEW treatment followed by ultrasonication treatment (40°C, 3 min), SAcEW+US: ultrasonication treatment combined at same time SAcEW treatment (40°C, 3 min). Means followed by different letters (a-d) on bars are significantly different ($P < 0.05$).

및 미생물학적 안전성을 확보할 수 있을 것으로 사료된다.

저장 중 대조구와 병용 처리구 당근의 *B. cereus* 생육 변화

최적조건의 초음파와 미산성 차아염소산수를 병행 처리한 당근과 처리하지 않은 당근(대조군)을 각 다른 온도(4, 10, 15, 20, 25, 30, 35°C)에서 저장하였을 때 *B. cereus*의 생육 변화는 Fig. 2와 같다. 저장 전 병용 처리한 당근의 *B. cereus* 초기 균수는 3.3 log CFU/g이었으나 35°C에서 10시간, 30°C에서 12시간, 25°C에서 20시간 후에는 다른 저장온도에 비하여 빠른 생육을 보였고, 20°C에서는 30시간, 15°C에서 50시간, 10°C에서 120시간, 5°C에서 150시간에서 생육하기 시작하여 온도가 낮아질수록 생육이 느린 것으로 나타났다. 또한 저장온도별로 볼 때, 30°C 이상에서는 25시간, 25°C에서는 50시간, 20°C에서는 80시간, 15°C에서는 100시간, 10°C에서는 200시간 이내에 *B. cereus*가 8 log CFU/g을 초과하였다. 초음파와 전해수를 병행 처리한 당근에서는 비처리구에 비하여 현저하게 생육이 저해되었고 같은 조건에서 낮은 저장기간을 연장시켰으며 온도가 낮을수록 저장 연장 효과는 훨씬 높은 것으로 나타났다. 반면 *B. cereus*는 5°C인 저온에서도 생육이 가능한 것으로 나타나 식품에서의 미생물학적 안전성 확보를 위해서는 위생관리, 적절한 관리온도 설정 등이 매우 중요할 것으로 사

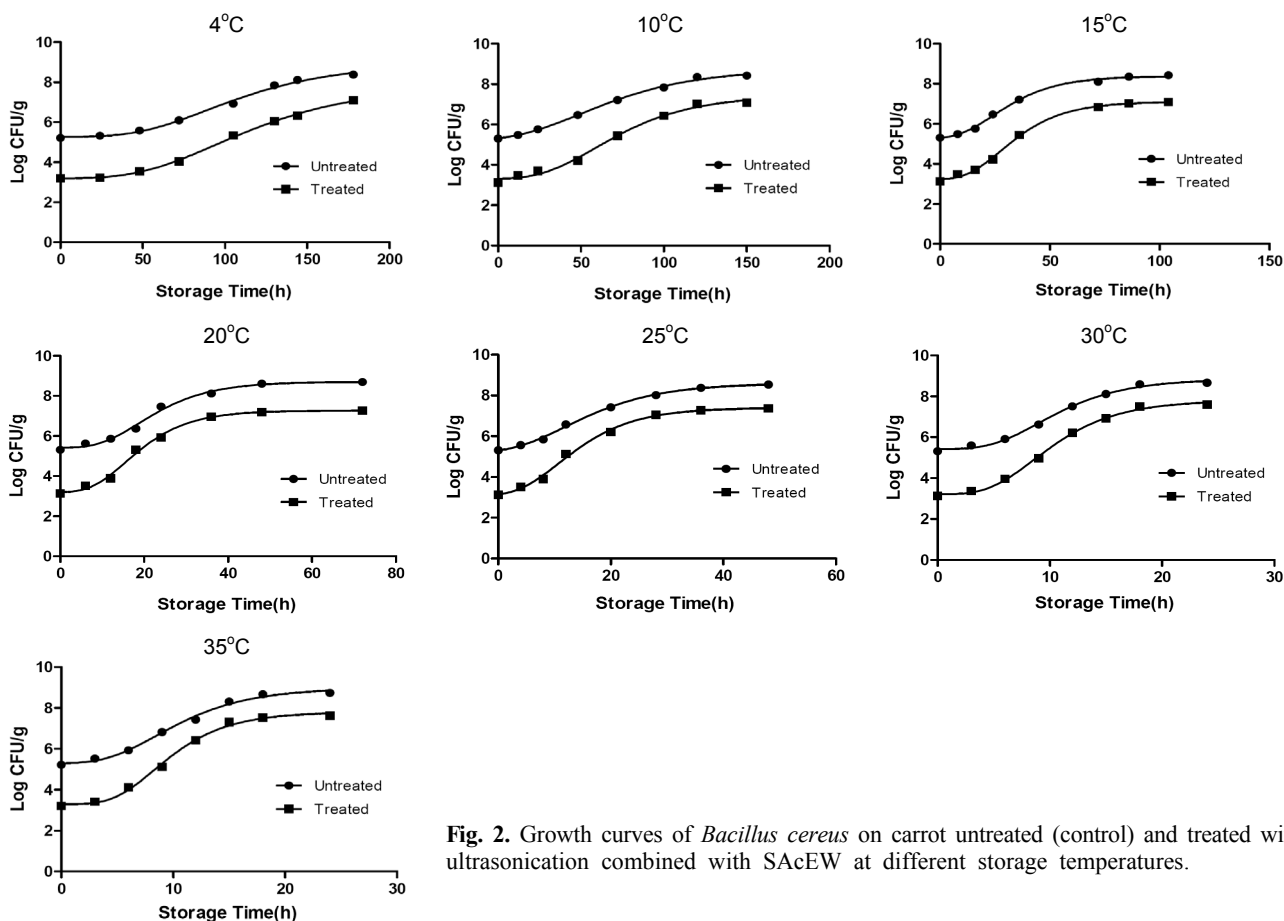


Fig. 2. Growth curves of *Bacillus cereus* on carrot untreated (control) and treated with ultrasonication combined with SAcEW at different storage temperatures.

료된다. 병용 처리한 상추에서 저장온도별 생육 변화에 대한 Forghani 등(13)의 연구와 본 연구를 비교했을 때, 두 연구 모두 10°C에서 단독 처리는 3일까지, 병용 처리에서는 7일까지 약 8 log CFU/g이 증식하는 것으로 나타났다. 따라서 비처리구에 비하여 병용 세척 처리 시 당근의 초기 위해 미생물의 농도를 낮추기 때문에 대조구에 비하여 저장기간을 훨씬 연장할 수 있는 것을 알 수 있다.

예측모델 개발

시간과 온도 변화에 따른 미생물의 성장이나 사멸을 예측하기 위한 모델을 개발하기 위해 1차 모델로 Gompertz model을 이용하였다. 병용 처리한 당근을 각 다른 온도(4, 10, 15, 20, 25, 30, 35°C)에서 저장하였을 때 시간에 따른 *B. cereus*의 생육 변화를 modified Gompertz model에 fitting 하여 얻은 생육 변수(SGR, LT) 값은 Table 2와 같다. 온도가 높을수록 SGR값은 증가하였으며 LT값은 감소하였다. 처리구와 비처리구의 SGR, LT값을 비교해 볼 때 처리구가 비처리구보다 SGR값이 낮고, LT값이 높은 것으로 나타났다. 이러한 이유는 병용 처리한 당근에서 초기 균수가 상대적으로 감소한 상태에서 저장되기 때문에 처리구에서는 생육성장속도가 느리고 유도기가 길어 당근의 저장수명을 증진시킬 수 있었던 것으로 판단된다.

한편 돼지고기에 미산성 차아염소산수와 강산성 차아염소산수를 각각 처리한 예측모델 개발 연구(23)에서는 처리

Table 2. Parameters of modified Gompertz growth model developed after ultrasonication combined with SAcEW treatment of *B. cereus* on carrot

Temperature (°C)	Specific growth rate (log CFU/hr)		Lag time (hr) (log CFU/hr)	
	Control ¹⁾	US+SAcEW ²⁾	Control	US+SAcEW
4	0.012 ^{fA}	0.012 ^{eB}	81.13 ^{aA}	82.95 ^{aA}
10	0.026 ^{eA}	0.020 ^{eB}	31.02 ^{bA}	32.18 ^{bB}
15	0.124 ^{dA}	0.032 ^{dB}	14.32 ^{cA}	14.57 ^{cA}
20	0.201 ^{cA}	0.101 ^{cB}	11.84 ^{dA}	10.23 ^{cdA}
25	0.211 ^{bA}	0.113 ^{bB}	5.13 ^{eA}	5.01 ^{dA}
30	0.412 ^{aA}	0.232 ^{aB}	4.41 ^{eA}	4.29 ^{dA}
35	0.421 ^{aA}	0.239 ^{aB}	4.22 ^{eA}	4.16 ^{dA}

¹⁾Untreated samples. The natural total bacteria counts were 7.01±0.02 log CFU/g.

²⁾Treated samples. The natural total bacteria counts were 4.37±0.08 log CFU/g.

Means within each column followed by different small letters (a-f) are significantly different ($P<0.05$).

Means within each row followed by different capital letters (A,B) are significantly different ($P<0.05$).

구와 비처리구의 SGR, LT값이 큰 차이가 없었으며, 즉석조리식품에 염소용액을 처리하여 개발된 모델(24)에서는 처리구에서 SGR이 더 높고 LT값이 더 낮은 것으로 나타났다. 이러한 차이가 나타나는 이유는 각 연구에서 사용된 세척 종류나 방법이 저장기간 동안 균의 생육에 다르게 영향을 주기 때문이라고 사료된다. 1차 모델에서 계산된 SGR과 LT

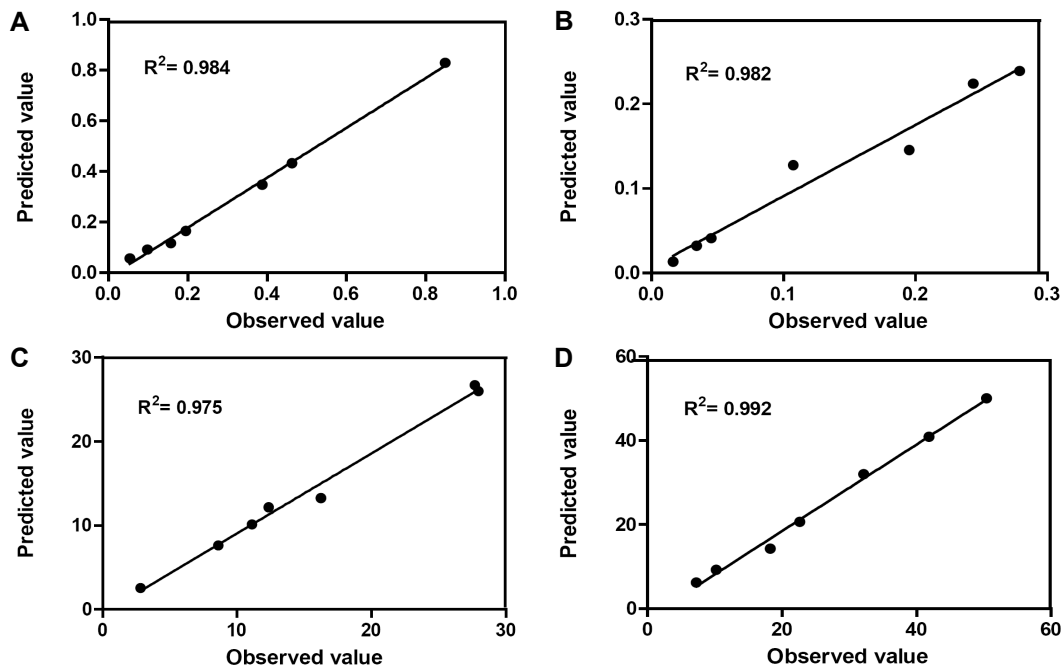


Fig. 3. Observed value versus predicted SGR (A, C), LT (B, D) obtained from developed secondary models for growth of *B. cereus* in carrot untreated (control) and treated SAcEW+US. A: observed value versus predicted control SGR from developed secondary models for growth of *B. cereus* in carrot untreated (control), B: observed value versus predicted control LT from developed secondary models for growth of *B. cereus* in carrot untreated (control), C: observed value versus predicted SGR from developed secondary models for growth of *B. cereus* in carrot treated SAcEW+US, D: observed value versus predicted control LT from developed secondary models for growth of *B. cereus* in carrot treated SAcEW+US.

와 같은 parameter들이 온도에 따라 균수의 변화를 예측할 수 있는 2차 생육예측모델을 개발한 결과는 SGR, LT로 나누어 비처리구(A, C)와 처리구(B, D)를 Fig. 3에서 나타내었다. 1차 모델 선정을 위해 modified Gompertz model의 R²을 비교한 결과, Gompertz model의 R²값은 0.9913~0.9980으로 나타나 매우 높은 통계학적 적합성을 보였기 때문에 2차 생육예측모델 개발에 본 식을 활용하였다. R²값은 예측모델에 의한 평균값에 대해서 정확도를 의미하여 값이 1에 가까울수록 모델의 예측값, 측정값과 일치하는 것을 의미한다(25). 본 연구에서 얻은 대조군과 처리구의 개발된 모델의 R²값은 0.95 이상으로 나타나 측정된 값과 예측값 사이의 상관계수를 나타내는 R²_{Adj}값은 0.939~0.997로 1에 가까워 개발된 2차 모델의 유의성이 높다는 것을 알 수 있다. Guiomar 등(26)의 연구에서는 처리구의 R²이 0.9 이상의 값을 나타내 정확도가 낮은 반면, 본 연구에서는 처리구와 비처리구에 얻은 R²값을 비교했을 때 처리구가 높은 모델 정확도를 나타냈다. 이 결과는 비처리구와 비교했을 때 초음파와 미산성 차아염소산수를 병용 처리한 당근에서 개발된 예측모델이 유도기와 최대성장속도에서 차이를 보임에도 불구하고 온도와 시간에 따른 생육예측모델의 정확도가 높다는 것을 알 수 있다.

개발된 예측모델의 적합성 평가

검증 단계에서는 개발된 모델의 예측값이 정확한지를 판단하는 과정으로 모델 개발에 사용되지 않은 실제 실험된 data와 개발된 모델에 대입하여 data를 비교하게 된다. Ross (27)의 연구에서는 예측모델의 적합성 평가를 예측값과 측정값이 모두 정확하게 일치하게 되면 1을 나타내는 것을 Bias factor(B_f)와 Accuracy factor(A_f)를 통해 확인하였다. B_f값은 과소평가를 하게 되면 1보다 작아지고 과대평가를 하게 되면 1보다 높게 나온다. 따라서 B_f는 모델이 사용하기에 안전한 모델인가에 대한 방향성을 제시하며 0.7에서 1.15 범위 내에 있게 되면 예측된 모델의 적용이 가능하다. A_f값은 B_f값과 마찬가지로 1에 가까울수록 정확도를 나타내는 지수이다. Gompertz model로부터 얻은 SGR과 LT값을 SPSS로 분석한 후 square root model에 적용하여 유도한 2차 모델식과 개발된 모델의 검증 결과는 Table 3 및 4와 같다. 본 연구 결과 비처리구에서 SGR에 대한 B_f와 A_f 값은 1.01, 1.03, LT에 대한 B_f와 A_f 값은 1.07, 1.08로 각각 나타났으며 처리구에서 SGR은 1.00, 1.03, LT는 1.02, 1.05로 각각 나타났다. 비처리구와 처리구 모두 개발한 2차 생육예측모델의 적합성 평가에서 0.7에서 1.15 범위의 값을 나타내어 매우 높은 상관관계를 나타내었다. 이러한 결과는 Mansur 등(28)의 초음파와 미산성 저농도 전해수의 병용 처리한 케일에서 *E. coli* O157:H7의 SGR에 대한 B_f와 A_f 값의 범위가 0.99~1.07에 해당되었다는 보고와 매우 유사한 결과를 나타내었다.

본 연구 결과 1차 예측모델에 의해 유도된 2차 생육예측

Table 3. Secondary models of *Bacillus cereus* on untreated carrot (control) and carrot treated by ultrasonication combined with slightly acidic electrolyzed water (US+SAcEW)

	Equation	R ² ¹⁾	R _{Adj} ²⁾
Control	√SGR ³⁾ =0.023T+0.118	0.984	0.972
	Ln (LT ⁴⁾)=-0.048T+4.538	0.975	0.939
US+SAcEW	√SGR=0.004T+0.058	0.982	0.997
	Ln (LT)=-0.098T+4.430	0.992	0.991

¹⁾Coefficient of determination.

²⁾Adjusted determination coefficient.

³⁾SGR: specific growth rate.

⁴⁾LT: lag time.

Table 4. Statistic characteristics for validation of developed secondary models on untreated carrot (control) and carrot treated by ultrasonication combined with slightly acidic electrolyzed water (US+SAcEW)

	Specific growth rate		Lag time	
	B _f ¹⁾	A _f ²⁾	B _f	A _f ^b
Control	1.01	1.03	1.04	1.01
US+SAcEW	1.00	1.03	1.02	1.05

¹⁾Bias factor. ²⁾Accuracy factor.

모델의 적합도가 매우 높은 것으로 나타나 본 모델을 이용하여 당근에 오염된 *B. cereus*의 저감화 및 저장 중 생육 변화를 실시간 정량적으로 예측하고 평가할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 관련 식품산업체에서는 개발된 본 모델을 통해 HACCP(Hazard Analysis Critical Control Points), 위해 평가(risk assessment), 식품의 저장기간 결정, 미생물의 성장, 생존 및 사멸에 영향을 미치는 요소를 찾아내기 위한 포괄적인 분석에 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

최근 과채류나 즉석섭취식품과 같은 비가열처리식품 중 당근에 존재하는 *B. cereus* 균은 토양세균의 일종으로 내열성 포자를 생성하여 다른 식중독 균보다 어느 표면이든 잘 들러붙어 세척과 소독이 어려운 것으로 알려지고 있다. 따라서 식품위생 및 품질에 민감히 대처하기 위해 비가열 세척 처리 기술과 미생물의 생육을 수학적으로 기술하여 예측함으로써 위해 미생물을 효과적으로 제어하는 예측 미생물학을 개발해야 한다. 이를 위해 비가열 세척 처리 방법 중 초음파와 미산성 차아염소산수를 이용하여 병용 처리한 후 최적조건으로 병용 처리한 당근을 시간과 온도에 따른 생육 변화를 통해 예측모델을 개발하였다. 미산성 차아염소산수와 초음파를 병용 처리하여 *B. cereus* 균 저감화 효과를 분석한 결과, 초음파 단독 처리 시 400 W/L, 40°C, 3분 조건에서 2.87 log CFU/g의 살균 효과를 나타내 가장 좋은 최적조건을 나타내었다. 이를 바탕으로 *B. cereus* 균을 접종한 당근에 미산성 차아염소산수와 병용 처리를 하였을 때 3.1 log CFU/g의 저감화를 나타내었다. 최적조건으로 병용 처리한

당근을 각각 다른 온도(5, 10, 15, 20, 25, 30, 34°C)에서 저장 중의 *B. cereus* 균 생육 변화와 예측모델을 개발한 결과, modified Gompertz model은 *B. cereus* 균 생육 변화를 예측하는 데 매우 적합(R^2 은 0.9918~0.9992)한 것으로 나타났으며 온도가 높을수록 SGR값은 증가하였고 LT값은 감소하였다. 이를 바탕으로 2차 모델을 개발하여 적합성을 분석한 결과 예측값과 측정값이 모두 정확하게 일치하게 되면 1에 가까운 값을 나타내는 Bias factor(B_f)와 Accuracy factor(A_f)가 SGR은 1.00, 1.03, LT는 1.02, 1.05로 각각 나타나 매우 높은 상관관계를 나타내었다. 본 연구 결과의 의미는 초음파와 미산성 차아염소산수를 이용하여 당근에서 *B. cereus*의 저감화 기술 및 저장 중 생육 변화를 실시간으로 정량적으로 예측하는 예측모델을 개발하여 식품의 가공 및 저장 중의 품질 변화 원인을 규명하고 품질 저하를 위생적으로 안전한 저장 및 유통 기술을 확립하고자 하였다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 고부가 식품개발사업(310013-3)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Beuchat LR. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *J Food Prot* 59: 204-216.
2. Burnett SL, Beuchat LR. 2001. Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. *J Microbiol Biotechnol* 27: 104-110.
3. Vernam AH, Evans MG. 1991. *Bacillus*. In *Foodborne Pathogens: An Illustrated Text*. Wolfe Publishing Ltd., London, UK. p 267-288.
4. Bea YM, Hong YJ, Kang DH, Heu SG, Lee SY. 2001. Microbial and pathogenic contamination of ready-to-eat fresh vegetables in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 43: 161-168.
5. Kang JH, Park JY, Oh DH, Song KB. 2012. Effects of combined treatment of aqueous chlorine dioxide and UV-C or electron beam irradiation on microbial growth and quality in chicon during storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1632-1638.
6. Koide S, Takeda J, Shi J, Shono H, Atungulu GG. 2009. Disinfection efficacy of slightly acidic electrolyzed water on fresh cut cabbage. *Food Control* 20: 294-297.
7. Kim C, Hung YC, Brackett RE. 2000. Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol* 61: 199-207.
8. Kim DH, Kim SM, Kim HB, Moon KD. 2012. Effects of optimized co-treatment conditions with ultrasound and low-temperature blanching using the response surface methodology on the browning and quality of fresh-cut lettuce. *Korean J Food Preserv* 19: 470-476.
9. Ajlouni S, Sibrani H, Premier R, Tomkins B. 2006. Ultrasonication and fresh produce (cos lettuce) preservation. *J Food Sci* 71: M62-M68.
10. Zhou B, Feng H, Luo Y. 2009. Ultrasound enhanced sanitizer efficacy in reduction of *Escherichia coli* O157:H7 population on spinach leaves. *J Food Sci* 74: 308-313.
11. Ugarte-Romero E, Feng H, Martin SE. 2007. Inactivation of *Shigella boydii* 18 IDPH and *Listeria monocytogenes* Scott A with power ultrasound at different acoustic energy densities and temperatures. *J Food Sci* 72: 103-107.
12. Jin Y, 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.
13. Forghani F, Rahman SME, Park MS, Park JH, Park JY, Song KB, Oh DH. 2013. Ultrasonication enhanced low concentration electrolyzed water efficacy on bacteria inactivation and shelf life extension on lettuce. *Food Sci Biotechnol* 22: 131-136.
14. Huang TS, Xu C, Walker K, West P, Zhang S, Weese J. 2006. Decontamination efficacy of combined chlorine dioxide with ultrasonication on apples and lettuce. *J Food Sci* 71: 134-139.
15. Rahman SME, Ding T, Oh DH. 2010. Inactivation effect of newly developed low concentration electrolyzed water and other sanitizers against microorganisms on spinach. *Food Control* 21: 1383-1387.
16. Garcia ML, Burgos J, Sanz B, Ordonez JA. 1989. Effect of heat and ultrasonic waves on the survival of two strains of *Bacillus subtilis*. *J Appl Bacteriol* 67: 619-628.
17. Ding T, Rahman SME, Purev U, Oh DH. 2010. Modelling of *Escherichia coli* O157:H7 growth at various storage temperatures on beef treated with electrolyzed oxidizing water. *J Food Eng* 97: 497-503.
18. Koseki S, Isobe S. 2005. Prediction of pathogen growth on ice berg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. *Int J Food Microbiol* 104: 239-248.
19. Koseki S, Itoh K. 2001. Prediction of microbial growth in fresh-cut vegetables treated with acidic electrolyzed water during storage under various temperature conditions. *J Food Prot* 64: 1935-1942.
20. Cao S, Hu Z, Pang B, Wang H, Xhi H, Wu F. 2010. Effect of ultrasound on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. *Food Control* 21: 529-532.
21. Kim DH, Kim SM, Kim HB, Moon KD. 2012. Effects of optimized co-treatment conditions with ultrasound and low-temperature blanching using the response surface methodology on the browning and quality of fresh-cut lettuce. *Korean J Food Preserv* 19: 470-476.
22. Kim GH, Park BG, Kim HN, Park JH, Park MS, Park JY, Song KB, Oh DH. 2012. Effect of microbial inhibition and change of chromaticity on the raw materials of Saengsik treated with slightly acidic electrolyzed water during storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1830-1841.
23. Wang J, Rahman SME, Park MS, Park JH, Oh DH. 2012. Modeling the response of *Listeria monocytogenes* at various storage temperatures in pork with/without electrolyzed water treatment. *Food Sci Biotechnol* 21: 1549-1555.
24. Sheen S, Hwang CA, Juneja VK. 2011. Modeling the impact of chlorine on the behavior of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat meats. *Food Microbiol* 28: 1095-1100.
25. Giffel MC, Zwietering MH. 1999. Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 46: 135-149.
26. Guiomar D, Fernando PR, Francisco LG, Ana A, Maria IG, Gonzalo Z. 2014. Modeling growth of *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-cut lettuce treated with neutral electrolyzed water and under modified atmosphere packaging. *Int*

- J Food Microbiol* 177: 1-8.
27. Ross T. 1996. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *J Appl Bacteriol* 81: 501-508.
28. Mansur AR, Wang J, Park MS, Oh DH. 2014. Growth model of *Escherichia coli* O157:H7 at various storage temperatures on kale treated by thermosonication combined with slightly acidic electrolyzed water. *J Food Prot* 77: 23-31.