Journal of Radiation Industry 7 (2~3) : 177~182 (2013)

감마선 조사에 따른 원료분말 및 생식의 미생물 제어 효과

최수정 · 박재남 · 송범석 · 윤영민 · 한인준 · 박종흠
김재경 · 변의백 · 이주운 · 홍성길[1] · 육홍선[2] · 김재훈*

한국원자력연구원 첨단방사선연구소,
[1](주)이롬 생명과학연구원, [2]충남대학교 식품영양학과

Effect of Gamma Irradiation on Microbial Populations in the Dried Raw Materials and *Saengsik* Powder

Soo-Jeong Choi, Jae-Nam Park, Beom-Seok Song, Young-Min Yoon, In-Jun Han, Jong-Heum Park, Jae-Kyung Kim, Eui-Baek Byun, Ju-Woon Lee, Seong-Gil Hong[1], Hong-Sun Yook[2] and Jae-Hun Kim*

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea
[1]*Erom R&D Center, Gangwon 200-944, Korea*
[2]*Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea*

Abstract - This study was conducted to evaluate the effect of gamma irradiation on the microbial populations of dried raw materials (9 products) and *Saengsik* powder. The samples were gamma-irradiated at doses of 2, 4, 6 and 8 kGy and the microbiological populations were evaluated. The total numbers of bacteria and *Bacillus cereus* in non-irradiated dried-raw materials for *Saengsik* powder was 1.3～3.4 and 1.7～2.4 log CFU g^{-1}. However, gamma irradiation reduced the microbiological populations in all samples, and *Saengsik* powder were sterilized at more than 6 kGy. Moreover, *Clostridium perfringens* were not observed in all samples within detection limit (＜1 log CFU g^{-1}). Therefore, the results of this study suggest that gamma irradiation at 6 kGy is sufficient to sterilize *Saengsik* powder, and thus, irradiated *Saengsik* powder at 6 kGy fulfills the microbiological requirements for sterilized food.

Key words : *Saengsik*, Powder, Gamma irradiation, Microbiological population, Sterilization

서 론

생식은 대부분 곡류, 두류, 야채류, 해조류, 버섯류 등의 원료를 분말상태에서 혼합하여 제조하게 되며 각각의 원료가 가지는 영양성분이나 다양한 생리기능성 구성 성분을 그대로 가질 수 있어 건강적 측면에서 상당히 각광을 받으며 소비가 증가되고 있는 추세이다(Cho *et al.* 2008).

생식 원료의 건조는 영양소의 파괴, 효소의 불활성화, 전분의 호화 등이 최소화가 되도록 대부분 동결건조, 자연건조 60℃ 이하의 송풍건조 등을 하도록 그 제조, 가공공정에 대한 기준을 정하고 있다(Chang *et al.* 2004).

* Corresponding author: Jae-Hun Kim, Tel. +82-63-570-3205, Fax. +82-63-570-3207, E-mail. jaehun@kaeri.re.kr

동결건조의 경우 생식원재료를 동결시킨 후 진공환경을 조성하는 장치 내에서 액체 상태를 거치지 않고 기체 상태의 수증기로 승화시켜 건조하게 되고 낮은 온도에서 건조가 일어나므로 영양성분 및 기능성 성분의 손실이 적은 이점으로 가장 널리 사용되어지고 있다 (Lee 2002; Koh and Kim 2010). 그러나 이러한 비가열 공정으로 인해 원료 내에 존재하는 미생물 또한 제어하지 못해 제품에 그대로 존재하거나, 소비자가 이를 재수화 후의 잘못된 보관으로 인하여 미생물이 증식할 수 있는 문제점을 내포하고 있다 (Chang *et al.* 2004; Park *et al.* 2007). 또한 비가열 식품이라는 한계적 특징을 지닌 생식은 단순 건조를 통해 재수화하여 섭취하는 개념으로 산업화하여 만들어낸 것으로 세척과 같은 최소한의 위생공정만을 거친다. 시판생식에서 *Bacillus cereus*를 비롯하여 *Escherichia coli* 등의 식중독균이 검출되어 생식제품의 미생물학적 안전성에 대한 문제가 지속적으로 여러 연구에서 제기되고 있다 (Kim *et al.* 2002; Kim *et al.* 2004; Cho *et al.* 2013).

한편 방사선 조사 기술은 대표적인 비가열 살균기술로 식품고유의 풍미와 맛을 유지하면서 완포장 상태에서 조사처리가 가능해 2차 오염 등의 교차오염을 방지할 수 있다 (Thayer 1990; Byun and Lee 2003). 우리나라의 경우 2000년대부터 우주식품을 개발하면서 이 기술의 장점을 활용하여 우주인에게 제공할 수 있는 다양한 식품들의 미생물학적 안전성을 확보할 수 있었다 (Park *et al.* 2006; Song *et al.* 2009; Song *et al.* 2012). 이처럼 비가열 특성을 가지는 방사선 조사기술로 생식분말과 같이 가열살균이 어렵고 영양학적 기능성을 유지해야 하는 제품의 살균 및 멸균이 가능하다.

따라서 본 연구에서는 생식제품의 원재료인 건조분말 및 제품의 미생물 오염 수준을 평가하고, 건조생식분말에 존재하는 미생물을 제어하고자 방사선을 조사한 후 이에 따른 살균 또는 멸균선량 평가하고자 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

1. 시료의 준비

본 실험에서 사용한 생식 원료는 동결 건조된 (현미, 대두, 마, 토마토, 차조, 검은깨, 브로콜리, 양배추, 바나나) 분말을 이용하였다. 생식 원료들은 A사 (강원, 춘천)에서 제공받아 실험에 사용하였다. 제공받은 시료는 각각 500 g씩 LDPE (low density polyethylene, Sunkyung Co., Ltd., Seoul, Korea)에 담아 실온에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 방사선 조사

시료의 감마선 조사는 11.1 PBq, Co-60 감마선 조사시설 (IR-221 gamma irradiator, MDS Nordion, Canada)을 이용하여 실온 (20±2°C)에서 시간당 10 kGy의 선량률로 흡수선량이 각각 2, 4, 6 및 8 kGy가 되도록 조사하였으며 흡수선량의 확인은 방사선 선량계 (Ceric cerous dosimeter, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하여 총 흡수선량의 오차를 계산하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구 (IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 ±2% 이내였다.

3. 미생물 평가

일반호기성미생물 측정은 시료 10 g에 멸균 증류수 90 mL를 가하여 1분간 stomacher (Mark II Lab Blender, Tekma Teledyne Technologies Inc., CA, USA)를 이용하여 균질화한 후 10진 희석법으로 희석한 희석액을 실험에 사용하였다. 균질화 한 시료액을 plate count agar (PCA, Difco Co., Detroit, MI, USA)에 도말한 후 35°C incubator (MIR-262, Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd., Tokyo, Japan)에서 48시간 배양하여 30～300개의 집락을 형성한 배지만을 계수하였다.

Bacillus cereus 측정은 시료 10 g에 멸균 증류수 90 mL를 가하여 stomacher로 균질화한 뒤 균질화한 시료 액을 mannitol egg yolk agar (MYP, Difco Co., Detroit, MI, USA) 배지에 도말한 뒤 35°C에서 48시간 배양하여 30～300개의 혼탁한 환의 분홍색 집락으로 형성한 배지만을 계수하였다.

Clostridium perfrigens 측정은 시료 10 g에 멸균 증류수 90 mL를 가하여 희석하고 1분간 stomacher로 균질화한 뒤 균질화한 시료 액을 tryptose sulfite cycloserine agar (TSC, Oxoid, Hampshire, England) 배지에 도말한 뒤 anaerobic jar (Oxoid, Hampshire, England)를 이용하여 혐기적 조건에서 35°C에서 48시간 배양하여 30～300개의 불투명한 환의 검은색 집락으로 형성한 배지만을 계수하였다.

Escherichia coli 측정은 시료 10 g에 멸균 증류수 90 ml를 가하여 희석하고 1분간 stomacher로 균질화한 뒤 균질화한 시료 액을 brilliant green lactose bile broth (BGLB, Difco Co., MI, USA)배지에 가한 뒤 35°C에서 48시간 배양하여 발효관에 가스 발생을 나타낸 배지는 양성, 가스 발생을 나타내지 않은 배지는 음성으로 확정하였다.

4. 세균발육시험

시료의 멸균 여부를 확인하기 위해 식품공전의 세균발육시험법(KFDA, 2012)을 이용하였다. 즉, 시료를 무균적으로 취한 후 멸균 PBS buffer solution 45 mL를 가하고, 20초간 vortexing 하였다. 이 용액의 1.0 mL에 thioglycollate medium (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 가하고, 35°C의 incubator에서 7일 동안 배양시키면서 가스 생성 또는 팽창 등 외형적 변화를 수시로 확인하고 yellow 계통으로 변색되지 않는 것을 멸균된 것으로 확정하였다.

결과 및 논의

1. 감마선 조사에 따른 생식 원료의 미생물 오염도 평가

A사의 생식원료 9종(현미, 대두, 마, 토마토, 차조, 검은깨, 브로콜리, 양배추, 바나나)을 대상으로 일반호기성미생물, *B. cereus*, *Cl. perfringens*, *E. coli*의 미생물 오염수준과 방사선 조사에 따른 미생물 변화를 Table 1에 나타내었다. 일반호기성미생물의 경우 현미, 대두, 마, 토마토, 차조, 검은깨, 브로콜리, 양배추 및 바나나가 각각 2.4, 2.3, 2.7, 1.3, 3.4, 3.2, 2.8, 2.3 및 2.1 log CFU g^{-1}으로 각각 나타났다. 감마선 조사에 의하여 모든 실험구에서 선량 의존적으로 미생물 수가 감소하는 것으로 나타났다. 특히, 2 kGy로 조사된 대두, 토마토, 브로콜리, 검은깨, 브로콜리, 양배추 및 바나나의 경우 검출한계(1 < log CFU g^{-1}) 이하까지 미생물을 사멸할 수 있는 것으로 나타났으나 현미, 마 및 차조의 경우 4 kGy 수준의 방사선 조사가 필요한 것으로 판단하였다. 일반적으로 한국식품의약품안전처(KFDA 2012)에서는 건조식품의 경우 5 log CFU g^{-1} 이하 수준의 일반호기성미생물을 권고하는데 본 실험에 사용된 생식원료 9종 모두 4 log CFU g^{-1}를 초과하는 재료가 없어 위생적으로 제조된 제품임을 알 수 있었다.

반면 병원성 미생물인 *B. cereus*, *Cl. perfringens* 및 *E. coli*를 평가한 결과 *B. cereus*의 경우 현미, 브로콜리 및 양배추에서 각각 2.4, 2.2 및 1.7 log CFU g^{-1} 오염된 것으로 나타났다. *B. cereus*는 자연계에 포자로서 널리 분포하며 곡류, 야채 등에서 많이 검출되며 식품일반에 있어서 보통 1~3 log CFU g^{-1} 범위가 검출된다고 알려져 있다(Ueda 2002). 이 균이 식품 중에 증식할 때는 enterotoxin이라는 독소를 생성하며 증상에 따라 구토형(독소형 식중독)과 설사형(감염형 식중독)으로 분류되며 식중독 발생의 약 90%가 구토형이다(Kramer and Gilbert 1988; Shinagawa *et al.* 1996). 따라서 생식제품에 낮은 수준의 *B. cereus*가 존재하더라도 섭취 전 재수화 후 잘못된 보관으로 인해 미생물이 생육하여 식중독을 일으킬 가능성이 있다고 판단하였다. *B. cereus*의 경우, 현미는 6 kGy, 브로콜리와 양배추는 2 kGy 수준으로 조사된 경우 대부분 사멸된 것으로 나타났다. *E. coli*의 경우 차조, 검은깨 분말에서 대장균이 검출된 것으로 나타났으나 2 kGy 수준으로 조사된 경우 대장균 군이 대부분 사멸된 것으로 나타났다. *Cl. perfringens*의 경우 모든 실험구에서 검출되지 않는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 생식분말 원료의 위생화를 위해서는 최소 6 kGy의 감마선조사가 필요한 것으로 판단하였다.

2. 생식원료의 멸균선량 평가

A사의 생식원료 9종(현미, 대두, 마, 토마토, 차조, 검은깨, 브로콜리, 양배추, 바나나)의 완전멸균을 위한 최적 방사선 조사선량을 확인하기 위해 2, 4, 6, 8 및 10 kGy로 조사한 후 세균발육시험 평가결과를 Table 2에 나타내었다. 초기 미생물 오염도가 가장 낮은 토마토와 바나나의 경우 2 kGy 수준으로도 멸균이 가능한 것으로 나타났으며 대두 및 마의 경우 4 kGy 수준이 필요한 것으로 나타났다. 그러나 초기 오염도가 높은 검은깨와 *B. cereus*가 오염된(Table 1) 현미, 브로콜리 및 양배추의 경우 완전멸균을 위해서는 6 kGy의 방사선 조사가 필요한 것으로 평가되었다. 일반적으로 미생물 살균을 위해 필요한 방사선 에너지 수준은 식품에 오염된 미생물의 종류와 수 및 식품의 수분활성도와 pH 등 미생물 생육에 영향을 미치는 인자에 의해 변하게 된다(Kyzlink 1990; Molins 2001). 생식분말의 경우 수분활성이 낮은 건조식품으로 수분을 함유한 일반적인 식품보다 다소 높은 멸균선량이 필요한 것으로 사료되었다. 또한 양배추의 경우 초기미생물 오염수준은 2.3 log CFU g^{-1}으로 낮았으나 *B. cereus*가 존재하여 완전멸균을 위한 방사선 조사선량이 6 kGy로 높게 나타난 이유는 *B. cereus*는 spore forming bacteria로 포자를 형성하여 방사선 감수성이 높음에 기인한 것으로 판단하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 생식원료의 경우 각각의 미생물 수 및 종류에 따라 멸균을 위해 요구되는 선량이 다양하였으나 6 kGy 이하 수준으로 방사선을 조사한다면 모든 원료를 멸균할 수 있을 것으로 판단하였다.

3. 감마선 조사에 따른 생식분말의 미생물 오염도 평가

생식원료 9종(현미, 대두, 마, 토마토, 차조, 검은깨, 브로콜리, 양배추, 바나나)을 이용하여 제조한 제품에 감마

Table 1. Effect of gamma irradiation on bacterial populations in powdered cereals and bacterial growth after incubation 35°C of 48 h
(Unit: log CFU g^{-1})

Samples	Irradiation dose (kGy)	Microbes			
		Total aerobic bacteria	*Bacillus cereus*	*Clostridium perfringens*	*Escherichia coli*
Unpolished rice	0	2.4±0.32	2.4±0.42	ND	–[2)]
	2	1.4±1.25	1.7±1.15	ND	–
	4	ND[1)]	1.5±0.90	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–
Soy bean	0	2.3±0.28	ND	ND	–
	2	ND	ND	ND	–
	4	ND	ND	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–
Dioscorea batatas	0	2.7±0.31	ND	ND	–
	2	2.3±0.24	ND	ND	–
	4	ND	ND	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–
Tomato	0	1.3±1.15	ND	ND	–
	2	ND	ND	ND	–
	4	ND	ND	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–
Glutinous foxtail millet	0	3.4±0.03	ND	ND	+
	2	2.6±0.30	ND	ND	–
	4	ND	ND	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–
Black sesame	0	3.2±0.13	ND	ND	+
	2	ND	ND	ND	–
	4	ND	ND	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–
Broccoli	0	2.8±1.6	2.2±0.17	ND	–
	2	ND	ND	ND	–
	4	ND	ND	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–
Cabbage	0	2.3±0.30	1.7±1.15	ND	–
	2	ND	ND	ND	–
	4	ND	ND	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–
Banana	0	2.1±0.50	ND	ND	–
	2	ND	ND	ND	–
	4	ND	ND	ND	–
	6	ND	ND	ND	–
	8	ND	ND	ND	–

Values are mean±standard deviation (n=5).
[1)]Not detected within the detection limit < 1 log CFU g^{-1}.
[2)]Bacterial growth was detected after incubating 35°C for 48 h in a BGLB broth (positive) or not (negative).

선을 조사한 후 이에 따른 미생물 변화를 Table 3에 나타내었다. 생식제품의 초기 일반호기성 미생물의 경우 3.0 log CFU g^{-1}으로 나타났으며, 4 kGy로 조사 시 검출한계 이하까지 미생물을 제어할 수 있을 것으로 판단하였다. *B. cereus*와 *E. coli*의 경우 초기 오염도는 각각 1.5 log CFU g^{-1} 및 양성이었지만 2 kGy 수준으로 조사된 시험구의 경우 검출한계 이하까지 미생물이 제어되는 것을 확인하였다. 반면 *Cl. perfringens*의 경우 생식재료에

Table 2. Effect of gamma irradiation on sterilization in freeze dried flours

Sample	Irradiation dose (kGy)				
	0	2	4	6	8
Unpolished rice	+[1)]	+	+	−	−
Soy bean	+	+	−	−	−
Dioscorea batatas	+	+	−	−	−
Tomato	+	−	−	−	−
Glutinous foxtail millet	+	+	−	−	−
Black sesame	+	+	+	−	−
Broccoli	+	+	+	−	−
Cabbage	+	+	+	−	−
Banana	+	−	−	−	−

Values are mean±standard deviation (n=5).
[1)]Bacterial growth was detected after incubating 35°C for 48 h in a thioglycollate medium (positive) or not (negative).

Table 3. Effect of gamma-irradiated on bacterial populations in gamma-irradiated *Sangshik* powder and a sterilization dese (Unit: log CFU g^{-1})

Dose (kGy)	Microbes				
	Total aerobic bacteria	*Bacillus cereus*	*Clostridium perfringens*	*Escherichia coli*	Sterilization
0	3.0±0.30	1.5±1.31	ND[1)]	+[2)]	+[3)]
2	1.4±0.51	ND	ND	−	+
4	ND	ND	ND	−	+
6	ND	ND	ND	−	−
8	ND	ND	ND	−	−

Values are mean±standard deviation (n=5).
[1)]Not detected within the detection limit < 1 log CFU g^{-1}.
[2)]Bacterial growth was detected after incubating 35°C for 48 h in a thioglycollate medium (positive) or not (negative).
[3)]Bacterial growth was detected after incubating 35°C for 48 h in a thioglycollate medium (positive) or not (negative).

서 평가한 결과 (Table 1)와 동일하게 검출되지 않았다. 생식제품의 완전멸균을 위한 선량은 6 kGy인 것으로 나타나 앞서 실험하여 설정한 생식재료들의 완전멸균 선량과 동일한 결과 (Table 2)를 보였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 생식제품의 미생물오염도는 식품규격 (KFDA 2012)에 부합하지만 면역력이 약한 유아, 노인 또는 면역결핍환자에게 위험요소를 내재하고 있어 감마선을 조사하여 완전멸균한다면 상기 소비자에게 제공할 수 있는 멸균환자식을 개발할 수 있는 것으로 사료되었다. 아울러 면역결핍환자용 환자식 개발연구의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 판단하였다.

결 론

본 연구는 건조 생식분말재료에 존재하는 미생물을 제어하고자 방사선을 조사한 후 이에 따른 미생물 변화를 평가하였다. 그 결과 생식분말재료의 초기 미생물 오염도 수준의 경우, 일반호기성미생물은 1.3～3.4 log CFU g^{-1}으로 나타났고 *B. cereus*는 1.7～2.4 log CFU g^{-1}으로 나타났다. 감마선 조사에 따른 미생물 오염도 수준의 경우, 선량 의존적으로 6 kGy 수준의 방사선 조사 시 모든 실험구에서 검출한계 이하까지 미생물을 제어할 수 있는 것으로 나타났다. *Cl. perfringens*의 경우 모든 시험구에서 검출되지 않았다. 생식제품의 경우 6 kGy 수준으로 조사 시 멸균할 수 있을 것으로 사료되었다. 따라서 방사선 조사 기술을 이용하여 멸균 생식분말 제조가 가능할 것으로 사료되었다.

사 사

본 연구는 2013년 정부 (미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원 및 농림축산식품부 고부가가치식품기술개발 사업을 통해 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Byun MW and Lee JW. 2003. Application of irradiation technology for food safety and security. *Food Sci. Ind.* **36**:25-41.

Chang TE, Moon SY, Park JM, Han JS, Song OJ and Shin IS. 2004. Microflora of manufacturing process and final products of *saengshik. Korean J. Food Sci. Technol.* **36**:501-506.

Cho JI, Park YC, Ko SI, Cheung CY, Lee SM, Cho SY, Lee KH, Lim CJ and Kim OH. 2008. Investigation of pathogenic microorganism from *saengsik* classcs. *J. Fd. Hyg. Safety.* **23**:257-263.

KFDA. Food Code. 2012. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea.

Kim DH, Song HP, Yook HS, Chun YJ, Kim YJ and Byun MW. 2002. Distribution of microflora in powdered raw grains and vegetables and improvement of hygienic quality by gamma irradiation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**:589-593.

Kim DJ, Ha SD, Ryu K and Park KH. 2004. Hazard analysis and determination of CCPs for powdered raw grains and vegetables, *saengshik. Korean J. Food Sci. Technol.* **36**:1032-1040.

Koh SM and Kim JM. 2010. Effect of hypochlorous acid to reduce microbial populations in dipping procedure of fresh produce as *Saengshik* raw materials. *J. Korean Soc. Food*

Sci. Nutr. **39**:637-642.

Kramer JM and Gilbert RJO. 1988. Bacillus cereus and *Bacillus species*. pp.21-27.

Kyzlink V. 1990. Principles of food preservation. *Food Sci.* **22**: 337-355.

Lee SY. 2002. Manufacture processing of uncooked food on the market. *Food Ind. Nurt.* **7**:11-15.

Molins RA. 2001. Food irradiation. In Principles and Applications. John Wiley & Sons Inc, New York. pp.131-191.

Park JM, Lee JW, Kim JH, Kim KS, Han KJ, Sul MS, Lee HJ and Byun MW. 2007. Studies on 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.

Shinagawa Y, Ueno Y, Hu D, Ueda S and Sugii S. 1996. Mouse lethal activity of HEp-2 vacuolation factor, cereulide, produced by *Bacillus cereus* isolated from vomiting-type food poisoning. *Vet. Med. Sci.* **58**:1027-1029.

Song BS, Park JG, Kim JH, Choi JI, Ahn DH, Hao C and Lee JW. 2012. Development of freeze-dried *miyeokguk*, Korean seaweed soup, as space food sterilized by irradiation. *Radiat. Phys. Chem.* **46**:1111-1114.

Song BS, Park JG, Park JN, Han IJ, Kim JH, Choi JI, Byun MW and Lee JW. 2009. Korean space food development: Ready-to-eat *Kimchi*, a traditional Korean fermented vegetable, sterilized with high-dose gamma irradiation. *Advances In Space Research* **44**:162-169.

Ueda S. Occurrences and control of *Bacillus cereus* in dairy products and cooked rice. *Bokin Bobai* **30**:321-327.

Manuscript Received: November 18, 2013
Revised: November 22, 2013
Revision Accepted: November 25, 2013