J. Fd Hyg. Safety
Vol. 24, No. 1, pp. 86~93 (2009)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

빙과류의 미생물학적 위해요소에 대한 품질 평가

김태웅 · 최재호 · 김재명 · Tian Ding · S.M.E. Rahman · 박경진[1] · 오덕환*
강원대학교 BT특성화학부대학 식품생명공학과, [1]군산대학교 식품영양학과

Quality Evaluation of Edible Ices on the Microbiological Risk Factors

Tae-Woong Kim, Jae-Ho Choi, Jai-Moung Kim, Tian Ding, S. M. E. Rahman, Gyung-Jin Bahk[1], and Deog-Hwan Oh*
School of Biotechnology and Bioengineering College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon 200-701, Korea
[1]Department of Food and Nutrition, Kunsan National University, Gunsan, Jeonbuk, 573-701, Korea
(Received February 11, 2009/Revised March 8, 2009/Accepted March 24, 2009)

ABSTRACT – This study was conducted to determine microbiological assessment on edible ices, which is one of mandatory items for HACCP application, and to provide basic scientific data for the improvement of HACCP system. In HACCP applied edible ice companies, the contamination levels of total counts, yeast and mold, and coliform from raw materials, mixed samples before sterilization, mixed samples after sterilization, and final products of edible ices were lower than those of non-HACCP applied edible ice companies. Foodborne pathogens, such as *L. monocytogenes, Salmonella* spp., *B. cereus, S. aureus, Y. enterocolitica*were not detected in all samples of edible ices from HACCP applied edible ice companies, but *S. aureus* was isolated from 1 raw material, 1 mixed samples before sterilization and 1 final product of edible ices from non-HACCP applied edible ice companies, respectively.

Key word: Edible ice, HACCP, Microbiological analysis, Food-borne pathogens

최근 각종 냉장식품과 편이식품 등이 대규모로 유통되고 있는 가운데 냉장온도에서도 증식이 가능한 *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolictica*, *Aeromonas hydrophila, Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7 및 *Bacillus cereus* 등과 같은 식중독 미생물에 의한 발병사례가 다수 보고[1-4]되고 있으며, 가공·수송 중 비위생적 처리로 인하여 이들 병원균에 의해 식품이 오염될 경우, 온도 남용 시 빠른 증식을 초래하여 식중독 사고의 주요한 원인이 되고 있다[5].

특히 냉동식품 중 빙과류는 먹는 물에 식품 또는 식품첨가물을 혼합하여 얼린 것으로[6] 제조 시에 주원료 외에 여러 가지 첨가물들이 첨가되는 경우가 많기 때문에 위생관리가 매우 중요하다. 빙과류 제품 특성상 살균공정이 전체 공정 중 전반부에 행해지기 때문에 살균공정 후 교차오염의 가능성이 매우 높다. 한편 빙과류는 유통과정 중 온도남용에 따른 위해 미생물의 증식 가능성이 있기 때문에 녹은 빙과류는 반드시 재살균의 과정을 거쳐야 하며 원료 및 제품의 저장시간과 온도는 미생물의 증식 억제를 위해 특별히 관리되어야 한다. 또한 원료 중에 물이 차지하는 비중이 크기 때문에 위생관리를 철저히 하지 않으면 위해 미생물에 의한 오염 가능성이 매우 높기 때문에[7-9] 빙과류에 대한 안전성 확보가 시급한 실정이다.

이처럼 식중독 발병 사례의 증가로 식품의 안전 확보를 위해 국내외에서 HACCP 시스템을 식품에 적용하기 시작하였고[10-13] 현재 우리나라의 경우 빙과류를 포함한 어육가공품 중 어묵류, 냉동수산식품 중 어류, 연체류, 조미가공품, 냉동식품 중 피자류, 만두류, 면류, 빙과류, 비가열음료(녹즙), 레토르트 식품 등에 대하여 2006년부터 대형업체를 중심으로 연차적으로 HACCP를 의무 적용하고 있다. 하지만 빙과류 등 6개의 의무적용식품 대하여 일반모델은 지금까지 제시되어 있으나 대부분 일반 미생물에 국한하고 있으며 다양한 식중독 미생물에 대한 위해분석 자료는 물론 CCP를 위한 구체적인 자료가 매우 부족한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 HACCP 의무적용 식품 중 빙과류의 제조에서부터 완제품단계까지의 미생물학적 위해요소에 대한 품질 평가를 통해서 과학적 근거를 제시하고자 하였다.

*Correspondence to: Deog-Hwan Oh, Department of Food Science and Biotechnology, College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea
Tel : 82-33-250-250-6457, Fax : 82-33-250-250-6457
E-mail: deoghwa@kangwon.ac.kr

재료 및 방법

시료구입

2007년 9월부터 2008년 3월까지 빙과류 시료 396개를 경기도 지역에 있는 HACCP 지정 업체 3곳과 HACCP 비지정 업체 5곳에서 제공받아 본 실험에 사용하였다(Table 1). 각 빙과류 업체로부터 원료, 공정 중 시료 (살균 전 혼합액, 살균 후 혼합액) 및 완제품을 제공받았으며 공정 중 시료는 멸균된 Whirl pack에 넣고 포장하여 원료와 완제품과 함께 드라이아이스를 채운 아이스박스에 담아 3시간 이내에 즉시 실험실로 옮겨 냉동실에 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

일반 미생물 분석

빙과류 원재료, 공정 중 시료 및 완제품에 대한 일반미생물 검사는 total counts, mold & yeast, coliform을 각각 조사하였다. 각 시료 25 g을 멸균된 식염수(0.85%, NaCl) 225 m*l*를 stomacher bag에 넣고 120초 동안 stomacher 한 후 멸균된 식염수에 10진법으로 단계 희석하여 희석액을 각각의 배지에 도말하여 배양하였다. Total counts는 Standard plate agar(Acumedia, USA), mold & yeast는 Potato dextrose agar(Acumedia, USA), coliform은 Deoxycholate lactose agar(Difco, MD, USA)를 각각 사용하였다. 각 plate에 희석 시료액 0.1 m*l*를 분주한 후 도말하여 total counts와 coliform은 35 °C에서 24시간 배양하였고 mold & yeast는 25 °C에서 48시간 배양하여 각 콜로니를 계수하였다.

병원성 미생물의 분리 및 동정

***Listeria monocytogenes*의 분리 및 동정** - 시료 25 g에 UVM-Modified *Listeria* Enrichment Broth(Difco, MD, USA) 225 m*l*를 첨가하여 30 °C에서 24시간 배양한 후 배양액 0.1 m*l*를 palcam antimicrobic supplement를 첨가한 palcam agar(Difco, MD, USA)에 도말하여 30 °C에서 24-48시간 배양하였다. 배양 후 의심 집락이 확인되면 이를 0.6% yeast extract가 포함된 tryptic soy agar(TSA, Difco, MD, USA)에 접종하여 30 °C에서 24-28시간 계대 배양한 후 API *Listeria* kit(API®, Biomerieux, France)를 이용하여 확인하였다.

***Salmonella* spp.의 분리 및 동정** - 시료 25 g에 Buffered peptone water(Difco, MD, USA) 225 m*l*를 첨가하여 35 °C에서 18 ± 2시간 배양한 후 배양액 0.1 m*l*를 XLD agar(DIFCO, MD, USA)에 도말하여 35 °C에서 24-48시간 배양하였다. 배양 후 의심 집락을 tryptic soy broth(TSB, Difco, MD, USA)에 35 °C에서 24시간 계대 배양한 후 API 20E kit(API®, Biomerieux, France)를 이용하여 확인하였다.

***Staphylococcus aureus*의 분리 및 동정** - 시료 25 g에 10% NaCl을 첨가한 TSB 225 m*l*를 첨가하여 35-37 °C에서 16시간 배양한 후 배양액 0.1 m*l*를 Egg Yolk Tellurite를 첨가한 Baird-Parker agar(DIFCO, MD, USA)에 도말하여 37 °C에서 16-24시간 배양하였다. 배양결과 황색 불투명 집락을 나타내고 주변에 혼탁한 백색환(난황반응 양성)이 있는 집락을 TSB(DIFCO, MD, USA)에 35 °C에서 24시간 계대배양한 후 API staph kit(API®, Biomerieux, France)를 이용하여 확인하였다.

***Bacillus cereus*의 분리 및 동정** - 시료 25 g에 멸균된 식염수(0.85%, NaCl) 225 m*l*를 가하여 균질화한 검액 0.1 m*l*를 egg yolk emulsion과 *Bacillus cereus* selective supplement를 첨가한 MYP agar(Oxoid, England)에 접종하여 30 °C에서 24-48시간 배양하였다. 혼탁한 환을 갖는 분홍색 집락을 TSB(Difco, MD, USA)에 35 °C에서 24시간 계대배양한 후 API 50CH kit(API®, Biomerieux, France)를 이용하여 확인하였다.

***Yersinia enterocolitica*의 분리 및 동정** - 시료 25 g에 peptone sorbitol bile broth(PSBB) 225 m*l*를 가하여 10 °C에서 10일간 배양한 후 증균 배양액 0.1 m*l*를 *Yersinia*

Table 1. Sampling from edible ice companies in Gyeonggi province

HACCP	Company	Number of samples				
		Raw materials	Mixed sample		Finished product	Total
			Before pasteurization	After pasteurization		
Applied	A	-	-	-	24	24
	B	-	-	-	24	24
	C	24	20	20	24	88
non-applied	D	-	-	-	18	18
	E	36	12	12	24	84
	F	-	-	-	16	16
	G	40	-	-	40	80
	H	30	12	12	8	62
Total samples		130	44	44	178	396

Table 2. Microbiological analysis of raw materials, mixed samples before and after sterilization, and final product of edible ice during processing in HACCP applied C company (C product)

(unit : Log CFU/g)

Manufacturing condition	Products	Total bacteria	Yeast & Mould	Coliform
Raw materials (n=12)	White sugar (n=2)	ND[1)a2)]	ND[a]	ND[4)NS]
	High fructose corn syrup (n=2)	ND[a]	ND[a]	ND
	Purified salt (n=2)	ND[a]	ND[a]	ND
	Sweet whey powder (n=2)	0.44 ± 0.37[3)ab]	ND[a]	ND
	Instant coffee (n=2)	ND[a]	ND[a]	ND
	Whole milk powder (n=2)	2.13 ± 0.04[c]	ND[a]	ND
Before sterilization (n=10)	Mix materials (n=10)	2.61 ± 0.09[c]	2.43 ± 0.01[b]	ND
After sterilization (n=10)	Mix materials (n=10)	1.09 ± 0.38[b]	0.39 ± 0.68[a]	ND
Finished product (n=3)	Deowisanyang (n=3)	1.15 ± 0.21[b]	1.00 ± 0.00[a]	ND
Total samples (n)			35	

1) ND : Not detected
2) Means with the different letter(s) are significantly different($P < 0.05$) by Tukey's test.
3) Each values represents the means ± S.D.
4) NS = not significant($P < 0.05$) by Tukey's test.

antimicrobic supplement CN을 첨가한 *Yersinia* selective agar(Difco, MD, USA)에 접종하여 30 °C에서 24-48시간 배양하였다. 중심부가 짙은 적색을 보이는 집락을 골라 TSB(Difco, MD, USA)에 35 °C에서 24시간 계대배양한 후 API 20E kit(API®, Biomerieux, France)를 이용하여 확인하였다.

통계분석 방법

모든 값은SPSS(statistical package for the social science) 11.0 package program 을 이용하여 평균과 표준편차를 산출하고 Tukey's test를 이용하여 각 처리구간의 유의차를 5% ($P < 0.05$) 유의 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

HACCP 적용 회사의 제조 공정에 따른 원재료, 살균 전후, 완제품 시료에 대한 분석

HACCP을 적용한 C회사에서의 제조 공정에 따른 원재료, 살균 전후, 완제품에 대한 미생물학적 분석결과를 Table 2에 나타내었다. 원재료 6개 종류 12개 시료를 분석한 결과, 총균수가 ND - 2.13 ± 0.04 log CFU/g으로 나타났으며 효모 및 곰팡이와 대장균군은 음성으로 나타났다. 2004년 식품의약품안전청의 보고서에 의하면 빙과류의 원재료 검사 결과, 총균수가 ND-8.6 × 10^3 CFU/g으로 나타났으며 대장균군은 모두 음성으로 나타났다. 원료 중 가장 높은 총균수가 검출된 것은 유청 분말로 주로 우유로부터 기인한 원료에서 높은 세균이 검출된 것으로 보고하였다[14]. 본 연구에서도 다른 원재료에서는 균이 검출되지 않은 반면, 유청 분말과 가공전지 분유에서 총균수가 각 각 0.44 ± 0.37, 2.13 ± 0.04 log CFU/g으로 나타나 높은 검출율을 나타냈다.

살균 전 원재료 혼합물 시료 10개를 분석한 결과, 총균수는 평균 2.61 ± 0.09 log CFU/g으로 나타났으며 효모 및 곰팡이는 2.43 ± 0.01 log CFU/g로 모두 기준치 이하로 나타났고 대장균군은 음성으로 나타났다. 살균 후 원재료 혼합물 시료 10개를 분석한 결과, 살균 전 보다 약 1 log CFU/g이상의 감소를 나타내 유의적인 차이를 나타냈다. 총균수는 1.09 ± 0.38 log CFU/g, 효모 및 곰팡이는 0.39 ± 0.68 log CFU/g, 대장균은 음성으로 각각 나타났다. 이 같은 결과는 식약청에서 보고한 균질 후 재료에서 총균수가 2.0 × 10^2 CFU/g으로 본 연구보다 높은 오염수준을 나타냈으며 살균 후에는 1.0 × 10^1 CFU/g으로 비슷한 결과를 나타냈다[14]. 원재료 살균 후와 최종 완제품을 비교하여 보았을 때 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

한편, C회사에서의 제조 공정에 따른 원재료, 살균 전후, 완제품에 대한 위해 미생물을 분석한 결과 *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *B. cereus*, *S. aureus*, *Y. enterocolitica* 등 모든 식중독 미생물은 음성으로 나타났다. 1999년 한국보건산업진흥원의 연구보고서에서도 빙과류 완제품을 조사한 결과, 식중독 미생물은 모두 검출되지 않았다고 보고하였다[15].

HACCP 적용 회사의 완제품에 대한 분석

HACCP을 적용 하고 있는 A, B, C 회사에서 생산된 빙과류 완제품에 대한 미생물학적 분석결과를 Table 3에 나

Table 3. Microbiological analysis of final product of edible ice in HACCP applied companies (A, B, C)

(unit : Log CFU/g)

Producer	Products	Total bacteria	Yeast & Mould	Coliform
A (n=12)	Lemonade (n=3)	1.29 ± 0.15[1)2)NS]	1.00 ± 0.00[NS]	ND[3)NS]
	Delmonte orange100 (n=3)	1.53 ± 0.18	1.15 ± 0.21	ND
	Delmonte mango pencle (n=3)	1.60 ± 0.00	1.18 ± 0.00	ND
	Coolshot (n=3)	1.09 ± 0.13	1.00 ± 0.00	ND
B (n=12)	Sunkist grape (n=3)	1.30 ± 0.42	0.59 ± 0.83	ND
	Pollapo (n=3)	0.70 ± 0.99	0.50 ± 0.71	ND
	Icing-cola (n=3)	1.05 ± 0.07	0.50 ± 0.71	ND
	Tomatomabar (n=3)	1.40 ± 0.00	1.09 ± 0.13	ND
C (n=12)	Deowisanyang (n=3)	1.15 ± 0.21	1.00 ± 0.00	ND
	Candybar (n=3)	1.15 ± 0.21	0.50 ± 0.71	ND
	Saenggyultaenggyul (n=3)	1.35 ± 0.07	1.09 ± 0.13	ND
	Icebox (n=3)	1.09 ± 0.13	1.00 ± 0.00	ND
Total samples (n)			36	

[1)] Each values represents the means ± S.D.
[2)] NS = not significant($P < 0.05$) by Tukey's test.
[3)] ND : Not detected

Table 4. Microbiological analysis of raw materials, mixed samples before and after sterilization, and final product of edible ice during processing in HACCP non-applied E company (Ppangttoa-cheese)

(unit : Log CFU/g)

Manufacturing condition	Products	Total bacteria	Yeast & Mould	Coliform
Raw materials (n = 12)	Sweet whey (n = 3)	1.71 ± 0.07[1)b2)]	1.51 ± 0.20[ab]	ND[3)a]
	Starch syrup (n = 3)	ND[a]	ND[a]	ND[a]
	Coconut oil (n = 3)	ND[a]	ND[a]	ND[a]
	Cheese (n = 3)	2.48 ± 0.09[c]	2.28 ± 0.09[abc]	ND[a]
Before sterilization (n = 6)	Mix materials (n=6)	4.50 ± 0.03[e]	4.46 ± 0.06[c]	3.79 ± 0.09[b]
After sterilization (n = 6)	Mix materials (n=6)	2.66 ± 0.15[c]	2.54 ± 0.18[bc]	ND[a]
Raw materials (n = 6)	Castella (n=6)	3.00 ± 0.30[cd]	1.00 ± 0.00[ab]	ND[a]
Finished products (n = 3)	Ppangttoa(cheese) (n=3)	3.39 ± 0.39[d]	1.90 ± 0.65[ab]	ND[a]
Total samples (n)			33	

[1)] Each values represents the means ± S.D.
[2)] Means with the different letter(s) are significantly different($P < 0.05$) by Tukey's test.
[3)] ND : Not detected

타내었다. A, B, C회사에서 생산된 총 12개 종류의 빙과류 완제품 36개를 분석한 결과, 총균수가 0.70-1.60 Log CFU/g으로 나타났으며 효모 및 곰팡이는 평균 0.50-1.09 log CFU/g, 대장균군은 모두 음성으로 나타났다. 각 회사별 빙과류 제품에 대한 일반 미생물의 오염도는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Kim이 보고한 빙과류의 미생물학적 분석결과에 의하면, 총균수가 1.00 ± 0.09-1.84 ± 0.05 Log CFU/g으로 나타나 본 연구결과와 비슷한 오염수준을 나타내었으며 효모 및 곰팡이는 검출되지 않았으며 대장균군이 ND-1.17 ± 0.15 Log CFU/g으로 나타났다[16]. 한편, A, B, C 회사에서 생산된 빙과류 완제품에 대한 위해미생물에 대해 분석한 결과 총 12개 종류의 빙과류 완제품 36개 시료를 분석한 결과, *L. monocytogenes, Salmonella* spp., *B. cereus*, *S. aureus*, *Y. enterocolitica* 등 모든 식중독 미생물은 음성으로 나타났다.

HACCP 비적용 회사의 제조 공정에 따른 원재료, 살균 전후, 완제품에 대한 분석 (E, H 회사)

HACCP 비적용 빙과류 E회사의 제조 공정에 따른 원재료, 살균 전후, 완제품에 대한 미생물학적 분석결과를 Table

Table 5. Food-borne pathogens analysis of raw materials, mixed samples before and after sterilization, and final product of edible ice during processing in HACCP non-applied E company (Ppangttoa-cheese)

Manufacturing condition	Products	*Salmonella* spp.	*B. cereus*	*S. aureus*	*L. monocytogenes*	*Y. enterocolitica*
Raw materials (n = 12)	Sweet whey (n=3)	(-)	(-)	(+) (1/3)	(-)	(-)
	Starch syrup (n=3)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Coconut oil (n=3)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Cheese (n=3)	(-)	(-)	(+) (1/3)	(-)	(-)
Before sterilization (n = 6)	Mix materials (n=6)	(-)	(-)	(+) (6/6)	(-)	(-)
After sterilization (n = 6)	Mix materials (n=6)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Raw materials (n = 6)	Castella (n=6)	(-)	(-)	(+) (1/6)	(-)	(-)
Finished products (n = 3)	Ppangttoa(cheese) (n=3)	(-)	(-)	(+) (1/3)	(-)	(-)
Total samples (n)				33		

4에 나타내었다. 원재료 4종류 12개 시료를 분석한 결과, 물엿과 야자유에서는 미생물이 검출되지 않았으며 유청과 치즈에서는 총균수가 각 1.71 ± 0.07, 2.48 ± 0.09 log CFU/g, 효모 및 곰팡이는 1.51 ± 0.20, 2.28 ± 0.09 log CFU/g로 나타났으며 대장균군은 검출되지 않았다. 반면에, 원재료 혼합물의 살균 전 시료 3개에서는 총균수가 4.50 ± 0.03 log CFU/g, 효모 및 곰팡이는 4.46 ± 0.06 log CFU/g, 대장균군은 3.79 ± 0.09 log CFU/g로 증가하여 원재료의 혼합과정에서 접촉오염이나 기타 취급자의 부주의로 오염이 발생했을 것으로 사료된다. 그러나 살균 과정 후에는 총균수와 효모 및 곰팡이는 각각 약 2 log CFU/g의 유의적 감소를 보였고 대장균은 모두 사멸되었다. 따라서 살균과정이 그 어느 공정보다 빙과류의 미생물 저감화에 중요한 공정으로 나타났다.

한편, Table 5는 E회사에서의 제조 공정에 따른 원재료, 살균 전후, 완제품에 대한 위해 미생물 오염정도를 분석한 결과이다. 원재료에서는 3개 중 1개의 유청과 치즈에서 *S. aureus*가 양성으로 나타났으며, 원재료 혼합물의 살균 전 시료 3개에서 모두 *S. aureus*가 양성으로 나타났으며 살균 과정을 거치면서 살균 후 혼합액에서는 위해 미생물이 모두 음성으로 나타났다. 그러나 본 제품은 살균과정이 끝나고 노출된 공간에서 제조된 빙과류에 수작업을 통하여 카스테라를 입히는 공정이 있다. 본 제품의 경우, 원료인 카스테라 6개 시료 중 1개 시료에서 *S. aureus*가 양성으로 나타났으며 최종 완제품(빵또아)에서도 3개 시료 중 1개에서 *S. aureus*가 양성으로 나타났다. Chung 등은 손 위생에 대한 식중독 원인균 실태조사에서 전체 검사 대상자 500명 중 47명(9.4%)에게서 *S. aureus*가 분리되었다고 보고하였다[17]. 또한 Wei 등은 집단 식중독에 감염된 환자로부터 10개의 *S. aureus*를 분리하였으며 이들 중 작업자의 손에서 2개의 유전형을 갖는 *S. aureus*가 검출되었다고 보고하였다[18]. 따라서 *S. aureus*는 음식물 자체와 주위 환경뿐 아니라 작업자의 개인위생이 차지하는 비중이 크다는 것을 알 수 있다[19].

카스테라는 총균수가 3.00 ± 0.30 log CFU/g, 효모 및 곰팡이가 1.00 ± 0.00 log CFU/g로 나타났으며 대장균은 검출되지 않았다. 원재료 혼합물은 살균 공정 후 현저하게 미생물이 저하되었지만 살균처리를 하지 않은 카스테라를 빙과류에 입힌 완제품에서는 총균수가 3.39 ± 0.39 log CFU/g로 조금 증가한 것으로 나타났다. 빵또아 제품의 경우, 유제품을 사용하고 있음에도 불구하고 함량이 3%이하로 적은 양의 유지방성분을 포함하고 있기 때문에 아이스크림류가 아닌 빙과류로 관리되고 있다. 그러나 식품공전에 제시된 빙과류는 원유나 유제품을 사용하지 않고 단순히 물에 첨가물을 첨가하여 냉동시킨 제품으로 정의하고 있다[6]. 따라서 이와 같은 제품군은 빙과류 제품에서 제외하는 것이 바람직하다고 사료된다. 또한, 일반적으로 유제품을 원료로 사용하지 않는 빙과류 업체의 제조공정라인은 살균과정 후부터 외부에 노출됨이 없이 완제품에 이르기까지 원스톱으로 공정이 이루어져 미생물에 의한 접촉오염의 문제점이 발견되지 않았으나 유제품 성분을 포함하는 제품을 생산하는 빙과류 업체에서는 최종 완제품에 빵 등을 수작업으로 포함시키는 등 최종 제품이 공기 중에 많이 노출되어 작업자나 외부환경으로 인한 접촉오염의 가능성이 많아 미생물학적 안전성확보가 문제가 있는 것으로 나타났다.

HACCP 비적용 빙과류 H회사의 제조 공정에 따른 원재료, 살균 전후, 완제품에 대한 일반미생물의 오염현황을 Table 6에 나타내었다. H회사는 다른 회사와 달리 지하수를 원수로 사용하고 있었는데 다른 원재료에서는 모두 음성으로 나타난 반면, 지하수에서만 총균수가 5.30 ± 0.09 log CFU/g, 효모 및 곰팡이 2.94 ± 0.18 log CFU/g, 대장균

이 1.85 ± 1.61 log CFU/g으로 나타나 지하수의 위생관리가 매우 필요하다고 사료된다. Yang 등은 위생적 처리가 되지 않은 약수나 자연수 등을 음용할 경우 세균의 오염뿐 아니라 보관하는 동안 오염세균의 증식 또는 이차적으로 오염되는 세균들로 인해 보건위생상 심각한 문제를 야기할 수 있다고 지적하였으며 부산시의 지하수 4곳의 조사결과, 대부분의 시료에서 기준치(20 CFU/ml 이하)를 훨씬 초과하는 많은 수의 균이 검출되었다고 보고하였다[20]. 또한 서울시 보건환경연구원은 서울의 일원에서 채취한 406건의 지하수 수질검사에서 70%에 해당하는 283건에서 대장균이 오염되어 식수로 쓸 수 없다고 보고하였다[21]. 한편, 지하수에서는 높은 검출율을 보였지만 원재료 혼합물의 살균 전 시료에서는 총균수가 1.13-1.33 log CFU/g, 효모 및 곰팡이 및 대장균은 음성으로 나타나 지하수를 채취하는 과정 또는 실험 과정에서 오염이 발생했을 것으로 사료된다. 지하수를 제외한 나머지 원재료 및 살균 전후의 원재료 혼합물, 완제품에서 전반적으로 다른 회사와 비교하였을 때 낮은 수준의 미생물 오염도를 나타냈다. H회사에서의 제조 공정에 따른 원재료, 살균 전후, 완제품에 대한 위해 미생물 오염분석 결과 총 31개의 샘플 모두에서

Table 6. Microbiological analysis of raw materials, mixed samples before and after sterilization, and final product of edible ice during processing in HACCP non-applied H company(bubble ice cream)

(unit : Log CFU/g)

Manufacturing condition	Products		Total bacteria	Yeast & Mould	Coliform
Raw materials (n=15)	Apple concentrate (n=3)		ND[1)a2)]	ND[a]	ND[a]
	Spirulina color (n=3)		ND[a]	ND[a]	ND[a]
	Gardenia yellow (n=3)		ND[a]	ND[a]	ND[a]
	Gardenia green (n=3)		ND[a]	ND[a]	ND[a]
	Ground water (n=3)		5.30 ± 0.09[3)b]	2.94 ± 0.18[b]	1.85 ± 1.61[b]
Before sterilization (n=6)	Bubblecool	Mix materials (n=3)	1.21 ± 0.08[a]	ND[a]	ND[a]
	Rainbow	Mix materials (n=3)	1.33 ± 0.22[a]	ND[a]	ND[a]
After sterilization (n=6)	Bubbleccol	Mix materials (n=3)	1.13 ± 0.11[a]	ND[a]	ND[a]
	Rainbow	Mix materials (n=3)	1.10 ± 0.36[a]	ND[a]	ND[a]
Finished products (n=4)	Bubbleccol (n=2)		1.00 ± 0.00[a]	1.50 ± 1.12[b]	ND[a]
	Rainbow (n=2)		1.15 ± 0.63[a]	ND[a]	ND[a]
Total samples (n)				31	

1) ND : Not detected
2) Means with the different letter(s) are significantly different($P < 0.05$) by Tukey's test.
3) Each values represents the means ± S.D.

Table 7. Microbiological analysis of raw materials and final product of edible ice during processing in HACCP non-applied G company

(unit : Log CFU/g)

Manufacturing condition	Products	Total bacteria	Yeast & Mould	Coliform
Raw materials (n = 20)	Cherry concentrate (n=4)	1.61 ± 0.89[1)a b2)]	1.46 ± 0.73[ab]	ND[3)a]
	Mango concentrate (n=4)	1.15 ± 0.35[a]	ND[a]	ND[a]
	Apricot concentrate (n=4)	1.20 ± 0.38[a]	0.55 ± 0.09[ab]	ND[a]
	Strawberry concentrate (n=4)	4.62 ± 0.46[b]	3.75 ± 0.77[d]	3.57 ± 0.07[b]
	Lemon concentrate (n=4)	1.47 ± 0.98[a b]	0.93 ± 0.08[ab]	ND[a]
Finished products (n = 20)	Cherry (n=4)	0.93 ± 0.61[a]	ND[a]	ND[a]
	Mango (n=4)	2.54 ± 0.06[a b]	2.08 ± 0.47[abc]	ND[a]
	Apricot (n=4)	1.49 ± 0.29[a b]	ND[a]	ND[a]
	Strawberry (n=4)	2.87 ± 0.09[a b]	2.49 ± 0.47[bc]	ND[a]
	Lemon (n=4)	1.39 ± 0.21[a]	ND[a]	ND[a]
Total samples (n)			40	

1) Each values represents the means ± S.D.
2) Means with the different letter(s) are significantly different($P < 0.05$) by Tukey's test.
3) ND : Not detected

Table 8. Microbiological analysis of final product of edible ice in HACCP non-applied companies (D, F)

(unit : Log CFU/g)

Producer	Products	Total bacteria	Yeast & Mould	Coliform
D (n = 9)	Jelrujoa(soda) (n=3)	ND[1)a2)]	ND[a]	ND[4)NS]
	Jelrujoa(mandarin) (n=3)	ND[a]	ND[a]	ND
	Sunkist (n=3)	ND[a]	ND[a]	ND
F (n = 8)	Grape (n=2)	0.65 ± 0.92[3)a]	0.65 ± 0.92[ab]	ND
	Pineapple (n=2)	2.22 ± 0.16[b]	1.67 ± 0.52[bc]	ND
	Mangoade (n=2)	0.65 ± 0.92[a]	ND[a]	ND
	Cappuccino (n=2)	2.15 ± 0.21[b]	2.00 ± 0.00[c]	ND
Total samples (n)			17	

[1)] ND : Not detected

[2)] Means with the different letter(s) are significantly different($P < 0.05$) by Tukey's test.

[3)] Each values represents the means ± S.D.

[4)] NS = not significant($P < 0.05$) by Tukey's test.

위해 미생물은 음성으로 나타났다.

HACCP 비적용 회사의 제조 공정에 따른 원재료 및 완제품에 대한 분석

HACCP 비적용의 빙과류 G회사의 제조 공정에 따른 원재료와 완제품에 대한 미생물학적 분석결과를 Table7에 나타내었다. 5종류의 원재료 중 총 20개 시료를 분석한 결과, 총균수는 1.20-4.62 log CFU/g, 효모 및 곰팡이는 ND-3.75 log CFU/g으로 나타났으며 대장균군은 딸기 농축액에서 3.57 log CFU/g으로 미생물의 오염도가 가장 높게 나타났다. Jo 등의 연구에서도 딸기 아이스크림에서 총균수가 3.32 ± 0.23 log CFU/g, 효모 및 곰팡이 2.70 ± 0.07 log CFU/g, 대장균군이 2.40 ± 0.05 log CFU/g으로 다른 시료와 비교하여 가장 높은 오염 수준을 나타내었다[22]. 살균 과정을 거친 완제품에서는 대장균군이 전혀 검출되지 않았으며 몇 제품에서는 미생물의 저감화가 이루어진 것이 있는 반면 거의 변화가 없는 제품도 있는 것으로 나타나 공정 중의 철저한 위생관리가 이루어지지 않고 있는 것으로 사료된다. 한편, G회사에서의 제조 공정에 따른 원재료와 완제품에 대한 위해 미생물 오염실태를 분석한 결과, 총 40개의 시료 전부 음성으로 나타났다.

HACCP 비적용 회사의 완제품에 대한 분석 (D, F회사)

HACCP 비적용의 빙과류 D, F회사에서 생산된 빙과류 완제품에 대한 미생물학적 분석결과를 Table 8에 나타내었다. D회사는 B제조회사의 OEM업체이다. 각 제조 회사에서 생산된 총 7개 종류의 빙과류 완제품 17개 시료를 분석한 결과, 총균수가 ND-2.22 Log CFU/g, 효모 및 곰팡이는 ND-2.00 log CFU/g으로 나타났으며 대장균군은 모두 음성으로 나타났다. 두 회사의 일반 미생물에 대한 노출 정도는 D회사가 모두 음성으로 나타나 일반 미생물학적 품질이 가장 우수한 것으로 나타났다. 한편, HACCP 비적용의 빙과류 D, F회사에서 생산된 빙과류 완제품에 대한 위해 미생물에 대한 분석 결과, 총 7개 종류의 빙과류 완제품 17개 시료 모두 음성으로 나타났다.

요 약

본 연구는 HACCP 의무적용품목 중 빙과류에 대한 미생물학적 위해요소를 조사하기 위하여 수행하였다. HACCP 적용업체의 경우 원재료, 살균 전 혼합물, 살균 후 혼합물 및 완제품에서 총균수, 효모 및 곰팡이, 대장균군에 대한 오염수준이 비적용 업체에 비하여 전반적으로 낮은 것으로 나타났다. *L. monocytogenes, Salmonella* spp., *B. cereus, S. aureus, Y. enterocolitica* 등의 식중독 미생물은 HACCP적용업소나 비적용 업소 중 1제품에서 *S. aureus*균이 검출된 것을 제외하고는 모두 음성으로 나타났다. HACCP 비적용 E회사에서 원재료와 살균 전 혼합액에서 각각 1제품에서 *S. aureus*균이 검출되어 위생상태가 HACCP 적용업소에 비하여 취약한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 경인식품의약품안전청의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

1. Itoh, Y., Sugita-Konishi, kasuage, F. Iwake, M., HaraHudo, Y., Saito, N., Noguchi, Y., Konuma, H., and Kumagai, S. : Enterohemorrahagic *Escherichia coli* O157:H7 present in radish sprouts. *Appl. Environ. microbiol*., **64**, 1352-1532 (1998).
2. Hedberg, C. W., Angulo, F. G., White, K. E., Langkop, C. W., Schell, W. L., Stobierski, M. G., Schuchat, A., Besser, J. M.,

Dietrich, S., Helsel, L., Griffin, P. M., McFarland, J. W., Osterhorm, M. T. and The Investigation Team : Outbreaks of salmonellosis associated with eating uncooked tomatoes. *Implications or Public Health, Epidemiol. Infect*., **122**, 385-393 (1999).
3. Beuchat, L. R., Harris, L. R., Linda, J., Ward, T. E. and Kajs, T. M.: Development of proposed standard method for assessing the efficacy of fresh produce sanitizers. *J. Food Prot*., **64**, 1103-1109 (2001).
4. Harris, L. J., Beuchat, L. R., Kajs, T. M., Ward, T. E. and Taylor, C. J.: Efficacy and reproducibility of a produce wash in killing *Salmonella* on the surface of tomatoes assessed with a proposed standard method or produce sanitizers. *J. Food Prot*., **64**, 1477-1482 (2001).
5. The microbiological quality of edible ice from ice manufacturing plants and retail business in hong kong, Food and Environmental Hygiene Department, Risk assesment Studies Report No. **21**, pp. 2-24 (2005).
6. 식품의약품안전청. (2008) 식품공전(개정후), 제 5. 식품별 기준 및 규격, pp. 1-3.
7. Pedalino, B., Feely, E., McKeown, P., Foley, B., Smyth, B., and Moren, A.: An outbreak of norwalk-like viral gastroenteritis in holidaymakers travelling to andorra, January-February 2002. *European Communicable Disease Bulletin,* Vol. 8 No. 1 (2003).
8. Khan, A. S., Moe, C. L., Glass, R. I., Monroe, S. S., Estes, M. K., Chapman, L. E., Jiang, X., Humphrey, C., Pon, E., Iskander, J. K. and Schonberger, L. B. :Norwalk virus-associated gastroenteritis traced to ice consumption aboard a cruise ship in Hawaii comparison and application of molecular method-based assays. *J. Clin. Microbiol.,* **32**, 318-322 (1994).
9. Quick, R., Paugh, K., Aldiss, D., Kobayashi, J. and Baron, R.: Restaurant associated outbreak of Giardiasis. *J. Infect. Dis.*, **166**, 673-676 (1992).
10. NACMCF : Principles of risk assessment for illness caused by foodborne biological agents. *J. Food Prot*., **61**, pp. 1071-1074 (1998).
11. Bryan F. L. : HACCP : Present status and future in contribution to food safety. Dairy, *Food and Environ. Sanitat*., **14**, 650-655 (1994).
12. Kang Y. J.: What is HACCP. *Food Sci. Ind*., 26, 4-16 (1993).
13. NACMCF : HACCP Principles and Application Guidelines. *J. Food Protection*, **61**, pp. 1246-1259 (1998).
14. 식품의약품안전청 : 어묵류 등 6개 HACCP 의무적용품목의 위해관리 지침서 개발(구축편). 정책-식품-2004-56, pp. 69-75 (2004).
15. 한국보건산업진흥원 : 식품산업 진흥을 위한 지원방안에 관한 연구 : 냉동 식품 및 빙과류 제조에 HACCP 도입 방안에 관한 연구, pp. 1-157 (1999).
16. Kim H. J.: Microbiological safety and physicochemical characteristics of gamma-irradiated commercial ice cream. Unpublished master dissertation, University of Chungnam (2006).
17. Chung J. K., M. J. Kim, H. Y. Kee, M. H. Choi, J. J. Seo, S. H. Kim, J. T. Park, M. G. Kim, Kim E. S.: Prevalence of food poisoning bacteria on hands in various age groups. *J. Fd Hyg. Safety*, **23**(1), 40-50 (2008).
18. Wei H. L., Chiou C. S.: Molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* from an outbreak associated with a food handler. *Epidermiol. Infect*., **128**(1), 15-20 (2002).
19. 하광수, 박선자, 심원보, 정덕화: 초등학교 급식 환경에서의 메치실린 내성 황색포도상구균(MRSA)과 *seb* gene의 검색. 식품위생안전성학회, **18**(2), 79-86 (2003).
20. Yang J. Y., B. C. Kim, Lee J. W.: Change of general bacteria and coliform group in drinking water according to storage condition. *J. Fd Hyg. Safety*, **14**(4), 433-435 (1999).
21. 권숙표: 물, pp. 148-153 (1994).
22. Jo C. R., H. J. Kim, D. H. Kim, W. K. Lee, J. S. Ham, Byun M. W.: Radiation sensitivity pathogens in ice cream. *Food Control*, **18**, 859-865 (2007).