J. Fd Hyg. Safety
Vol. 24, No. 3, pp. 226~231 (2009)

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

빙과류의 미생물학적 위해요소에 대한 노출평가

김태웅 · 최재호 · 박경진[1] · 오덕환*
강원대학교 BT특성화학부(대학) 식품생명공학과, [1]군산대학교 식품영양학과

Exposure Assessment of Microbiological Risk Factors from Edible Ices

Tae-Woong Kim, Jae-Ho Choi, Gyung-Jin Bahk[1], and Deog-Hwan Oh*
Department of Food Science and Biotechnology and Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Kangwon 200-701, Korea
[1]Department of Food and Nutrition, Kunsan National University, Gunsan, Jeonbuk, 573-701, Korea
(Received August 11, 2009/Revised August 27, 2009/Accepted September 10, 2009)

ABSTRACT - The aim of this study was to determine exposure assessment of pathogenic bacteria in edible ices by using the monitoring data from the previous study. According to the results of exposure assessment of edible ices contaminated with *S. aureus,* the contamination level of *S. aureus* in raw materials was higher than other foodborne pathogens, and the contamination level of *S. aureus* in mixed samples increased much before sterilization. The most significant reduction in contamination level was observed in mixed samples after sterilization, thus, the contamination levels in frozen final products was less than that of raw materials. Overall, the possibility for the infection of foodborne bacteria from the intake of edible ices per person per day was ranged from minimum 5.89×10^{-7} to maximum 5.01×10^{-5}. For more realistic estimates, consumption of edible ices and dose-response model must be studied further.

Key words: Edible Ices, HACCP, Exposure assessment

오늘날 경제와 사회가 발전함에 따라 식생활 양식의 급격한 변화 및 식품관련 기술의 발달로 식품의 다양화, 세계화 등으로 인해 식중독 발생이 날로 증가하고 있는 추세이다[1-3]. 국내에서는 식품의 안전성 확보를 위하여 우수제조관리기준(GMP : Good Manufacturing Practice), 위해요소중점관리기준(HACCP : Hazard Analysis and Critical Control Points)등의 다양한 위생 관리 제도를 도입[4,5]하고 있지만 식품의약품안전청의 최근 8년간(2003-2008년) 식중독 발생현황 자료를 살펴보면 여전히 식중독 발생건수와 환자수는 증가하는 추세를 보이고 있다[6].

최근에는 위해 요소 발생에 대해 실제 발생 가능성에 대한 예측치(risk estimates)를 이용하는 정량적 위해 평가(QRA : Quantitative Risk Assessment)가 주목을 받고 있다[7,8].

불확실성(uncertainty)과 변이성(variability)을 갖는 정량적 위해 평가는 정확성 향상을 위해 확률 분포(probability distribution)를 이용한다. 여기서 Monte Carlo Simulation과 같은 컴퓨터 시뮬레이션을 널리 이용하고 있다[9,10]. Monte Carlo Simulation은 상황변화에 대한 모의실험방법으로, 어떤 현상에 관련된 변수 간의 관계를 이용 가능한 수학적 모델로 표현한 다음 각 변수에 난수를 발생시키는 확률적 분포에 대한 계산 방법[11]으로 이것을 HACCP 시스템에 적용하여 위해요소에 대한 위해정도의 예측, 발생가능성 도출, 또한 HACCP의 7원칙 중 위해요소의 분석, CCP(Critical Control Points)의 설정, 각 CCP에 대한 CL(Clitical Limits)설정에 있어 중요한 역할을 할 것으로 사료된다[12-14]. HACCP 의무적용품목인 빙과류에 정량적 위해 평가를 적용한다면 좀 더 합리적이고 과학적인 객관성을 확보할 수 있을 것이다. 하지만 현재까지 "원료-제조공정-유통-저장-섭취"에 이르기까지 특정 식중독미생물에 의한 질병발생유무에 대한 종합적 위해도 평가를 위한 연구가 이루어지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서 빙과류의 원재료에서부터 완제품까지의 미생물학적 위해요소에 대한 분석결과를 토대[15]로 정량적 위해 평가기법을 적용하여 HACCP의 선행요건 및 관리기준에 대한 과학적 근거를 제시하고자 하였다.

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

재료 및 방법

모델 구성 개요

빙과류 완제품 및 주요 제조공정에서의 *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*에 대한 오염수준 추정을 위한 노출평가 모델은 다음과 같다. 본 모델은 빙과류 제조공정 중 원재료의 입고에서부터 냉동 완료까지의 연속된 경로로서 원료에서의 초기오염수준 단계(node 1), 원료의 살균 전 오염단계(node 2), 살균 후 오염단계(node 3), 냉동 완료된 제품에서의 오염단계(node 4)로 총 4개의 node로 구성되어 있다. 이후 빙과류 섭취로 인한 위해성(risk)을 추정하기 위해 빙과류의 섭취량[16]과 위해성이 큰 *Salmonella* spp.의 양-반응 모델(dose-response model)[17]을 이용하였다.

확률분포 모델 선정

각각의 단계에서 이용된 수식과 입력변수는 Microsoft Excel 2000 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) spreadsheet 프로그램으로 작성하였으며, @RISK (Version 4.5, Palisade, Newfield, NY, USA)[18]를 이용하여 Monte Carlo simulation에 의하여 분석되었다. 또한 입력 값과 출력 값은 노출평가 모델에 존재할 수 있는 불확실성과 다양성을 나타내기 위하여 확률분포의 개념으로 표현되었다.

본 연구에서는 실험 및 조사결과에 따라 조건별 혹은 특성에 따라 변형하여 모니터링 결과[15]를 바탕으로 주요 병원성 미생물의 발생수준을 추정하기 위해Beta distribution을 사용하였다.

Beta distribution은 시행의 수 n 중 성공으로 기록된 수를 r로 표시할 때 어떤 사건이 발생할 확률을 결정하는데 사용되는 확률분포로 모니터링 자료로부터 표본수와 양성 표본수를 알 수 있으므로 사용되었다. 빙과류의 섭취량(아이스크림 대체)은 평균 값으로 이외에 이용 가능한 값이 없으므로 하나의 값으로 적용시킬 수 있는 Poisson distribution을 사용하였다. Poisson distribution은 발생 가능성이 낮은 사건 사이의 시간 T에서의 사건 발생수를 모델화하기 위해 사용되며 지수분포에서 β 사건 사이의 평균시간이라면 $\lambda = T/\beta$ 하여 format은 poission(λ)이다[13].

세부구성내용

빙과류 제조공정 중 원재료, 살균 전후, 냉동 완제품에서의 주요 병원성미생물에 대한 모니터링 결과[15]를 바탕으로 Table 1과 같이 노출평가를 위한 모델을 작성하였다. 모니터링 결과 대상 미생물인 *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* 중 *S. aureus*균만이 1개 제품의 원재료, 살균전, 냉동 완제품에서 검출되었으므로 노출평가에서는 *S. aureus*의 오염수준을 따로 추정하고 *S. aureus*를 제외한 나머지 대상 미생물은 모두 동일하게 취급하여 오염수준을 추정하였다.

각 단계에서의 모니터링 결과를 Beta distribution에 적용하여 정성적 오염수준을 추정하였고 이 결과를 바탕으로 다음 식에 의거 정량적인 값으로 전환하였다[19].

$$QL = -LN\{1 - Beta(p + 1,\ n - p + 1)\}/V$$

QL : Quantitative level
LN : Natural logarithms
Beta : Beta distribution
p : the number of positive samples
n : the number of total samples
V : sample volumes

추정된 정량적인 오염수준을 바탕으로 주요 병원성미생물의 1일 섭취수준을 추정하기 위하여 빙과류의 섭취량을 이용하였다. 하지만 정확한 빙과류의 섭취량에 대한 자료의 부족으로 비슷한 제품인 아이스크림의 평균섭취량 3.1 g/day[16]을 이용하였다. 이 섭취량도 평균적인 값이므로 극단 소비계층 등을 추정하기 위하여 Table 1에서와 같이 poisson distribution을 적용하였다. 추정된 빙과류의 섭취를 통한 주요 병원성미생물의 1일 섭취수준을 바탕으로 대상 미생물 중 위해성이 큰 *Salmonella* spp.의 dose-response model[17]을 적용 빙과류의 섭취에 따른 병원성미생물의 위해성을 추정하였다.

빙과류 제조공정 및 완제품에 대한 Exposure Model적용

개발된 노출평가 모델을 빙과류 제조공정 및 완제품에 적용한 결과를 바탕으로 위해성을 추정하였다. 한편 모니터링 결과에서는 HACCP 지정작업장과 비지정 작업장을 나눠 오염수준을 조사하였지만 그 결과 *S. aureus*의 오염수준을 제외하고는 특별한 차이가 없는 것으로 나타나 위해성평가에서는 HACCP 지정, 비지정작업장을 구분하지 않고 전체 빙과류를 대상으로 수행하였다.

Simulation 구동은 @RISK를 이용하였으며, sampling type은 Median Latin Hypercube sampling을, generator seed는 random방법을 선택하여 이용했고, iterations(반복시행 횟수) 10,000 이상의 결과를 최종 시뮬레이션 결과로 이용하였다.

결과 및 고찰

원재료의 오염수준 평가

*S. aureus*를 제외한 원재료와 *S. aureus*에 대한 원재료의 오염수준 추정결과는 Fig. 1과 같다. *S. aureus*를 제외한 원재료의 평균 오염수준은 -3.38 log CFU/g, 최소 오염수

Table 1. Description and distribution of variables for pathogenic microbial exposure model in edible ices

Variables	Definition	Unit	Distribution/Model
Raw materials			
Pi	Prevalence of pathogenic microorganisms[a] in raw materials	cfu/g	= Beta(p + 1, n - p + 1)[b]
Ci	Concentration of pathogenic microorganisms in raw materials		= - LN(1 - *Pi*)/V[c]
			(node 1)
Before pasteurization			
BPPi	Prevalence of pathogenic microorganisms	cfu/g	= Beta(p + 1, n - p + 1)
BPCi	Concentration of pathogenic microorganisms		= - LN(1- *Pi*)/V
			(node 2)
After pasteurization			
APPi	Prevalence of pathogenic microorganisms	cfu/g	= Beta(p + 1, n - p + 1)
APCi	Concentration of pathogenic microorganisms		= - LN (1 - *Pi*)/V
			(node 3)
Finished products			
FPPi	Prevalence of pathogenic microorganisms in end products		= Beta(p + 1, n - p + 1)
FPCi	Concentration of pathogenic microorganisms in end products	cfu/g	= - LN(1 - *Pi*)/V
			(node 4)
Consumption			
Cm	Amount of daily intake of edible ices	g/day	= Poisson (*Cm*)
Exposure estimation			
Ee	Amount of daily intake of pathogenic microorganisms from consumption of edible ices	log CFU/ g/day	= *FPCi* × *Cm*
Risk estimation			
Re	The estimation of risk for pathogenic microorganisms from consumption of edible ices		= 1 - EXP^(- 0.00752 × *Ee*)[d]

[a] pathogenic microorganisms : *Salmonella* spp., *B. cereus, S. aureus, L. monocytogenes, Y. enterocolitica*
[b] Beta distribution on initial contamination, p: the number of positive samples, n: the number of total samples.
[c] LN: Natural logarithms, V: sample volumes.
[d] *Salmonella* spp.¿« dose-response model [17]

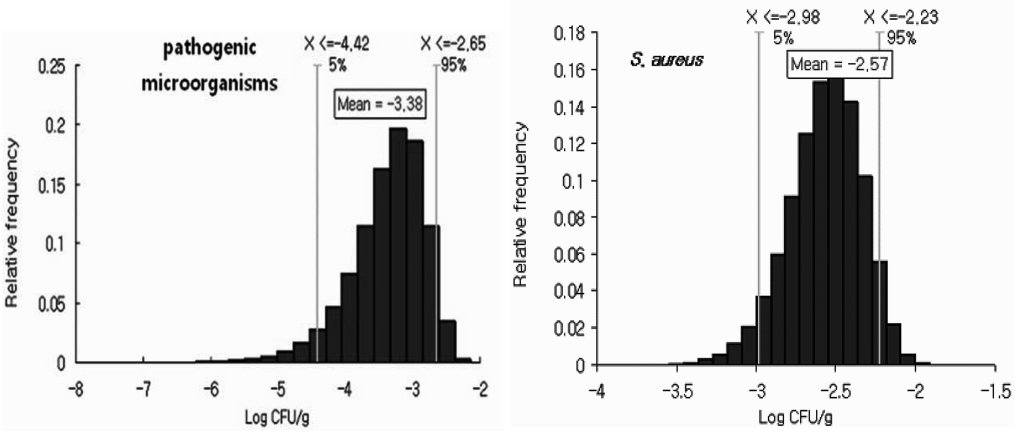

Fig. 1. The result of simulated contamination level of pathogenic microorganisms (except *Staphylococcus aureus*) and *Staphylococcus aureus* for raw materials in edible ices processing plant.

준은 -4.42 log CFU/g, 최대 오염수준은 -2.65 log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되었다. *S. aureus*에 대한 원재료의 평균 오염수준은 -2.57 log CFU/g, 최소 오염수준은 -2.98 log CFU/g, 최대 오염수준은 -2.23 log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되었으며, 원재료에서 대상 미생물 중 *S. aureus*의 오염수준이 높은 것으로 나타났다.

살균 전 혼합 원재료 오염수준 평가

Fig. 2에 *S. aureus*를 제외한 살균 전 원재료와 *S. aureus*에 대한 살균 전 원재료의 오염수준 추정결과를 나타내었다. *S. aureus*를 제외한 살균 전 원재료의 평균 오염수준은 -2.49 log CFU/g, 최소 오염수준은 -3.53 log CFU/g, 최대 오염수준은 -1.77 log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되었다. Fig. 1과 비교 시 오염수준이 증가하였음을 알 수 있는데 이는 저장 중 미생물의 성장 또는 시설 및 환경, 종사자에 의한 교차오염에 의한 것으로 추정된다. 한편 대상 미생물 중*S. aureus*에 대한 살균 전 원재료의 평균 오염수준은 -1.58 log CFU/g, 최소 오염수준은 -1.99 log CFU/g, 최대 오염수준은 -1.22 log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되어 Fig. 1와 비교 시 오염 수준 역시 증가한 것으로 나타났다.

살균 후 오염수준 평가

Fig. 3에 *S. aureus*를 제외한 살균 후 제품과 *S. aureus*에 대한 살균 후 제품의 오염수준 추정결과를 나타내었다. *S. aureus*를 제외한 살균 후 제품의 평균 오염수준은 -2.49 log CFU/g, 최소 오염수준은 -3.53 log CFU/g, 최대 오염수준은 -1.77 log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되었다. Fig. 2와 비교시 오염수준에 대한 변화가 전혀 나타나지 않았는데 이는 모니터링 결과에 따른 정량적 처리에 의한 것으로 보인다. 실제적으로는 대상 균 모두에 대한 D-value 등 살균의 효과를 적용하여야 하나 최종 완제품에서의 오염수준을 감안 할 경우 일부 포자형성균 등 살균에서 생존 할 수 있음을 가정하여 그대로 처리하였다. 한편 *S. aureus*의 살균 후 제품의 평균 오염수준은 -1.49 log CFU/g, 최소 오염수준은 -3.53 log CFU/g, 최대 오염수준은 -1.77 log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되어 Fig. 2와 비교 시 오염 수준이 감소한 것으로 나타났다.

냉동 완제품에서의 오염수준 평가

Fig. 4에 *S. aureus*를 제외한 냉동 완제품과 *S. aureus*에 대한 냉동 완제품에서의 오염수준 추정결과를 나타내었다. *S. aureus*를 제외한 냉동 완제품의 평균 오염수준은 -3.46 log CFU/g, 최소 오염수준은 -4.50 log CFU/g, 최대 오염수준은 -2.73 log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되었다. 원재료(Fig. 1), 살균 전(Fig. 2), 살균 후(Fig. 3)와 비교 시 오염수준이 전반적으로 감소한 것으로 나타났다. 이와 같은 이유는Lund[20] 및 James[21]의 연구에 따르면 식품을 냉동시키면 냉동상태에서 식품의 용매에 있어 용질 농도의

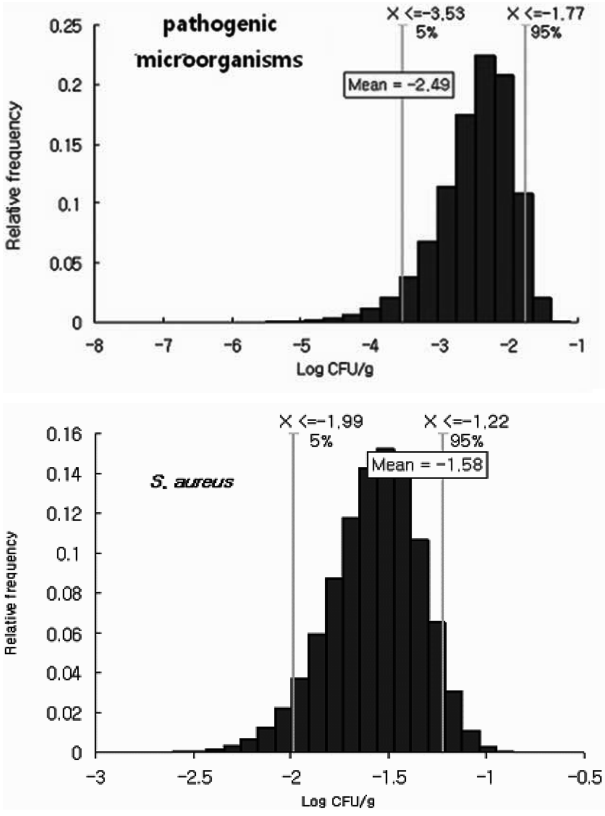

Fig. 2. The result of simulated contamination level of pathogenic microorganisms (except *Staphylococcus aureus*) and *Staphylococcus aureus* for stored materials before pasteurization in edible ices processing plant.

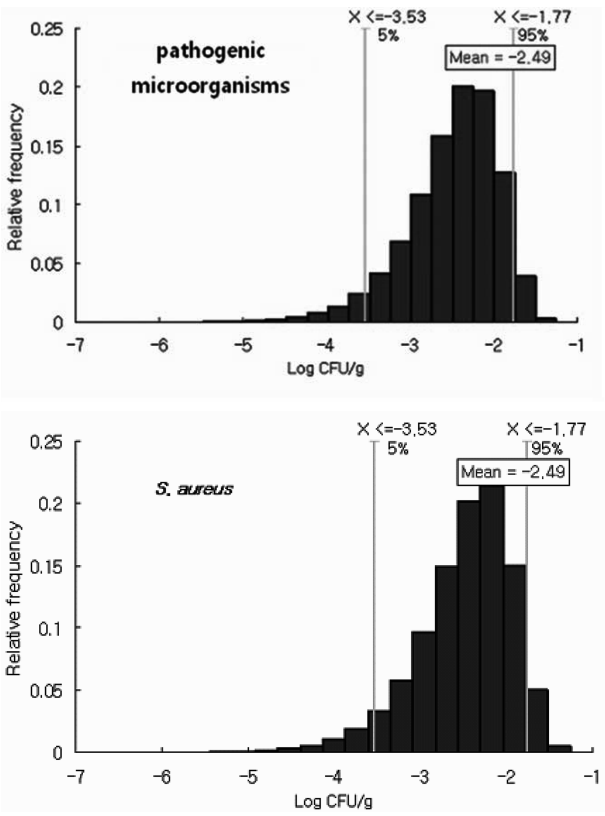

Fig. 3. The result of simulated contamination level of pathogenic microorganisms (except *Staphylococcus aureus*) and *Staphylococcus aureus* for stored materials after pasteurization in edible ices processing plant.

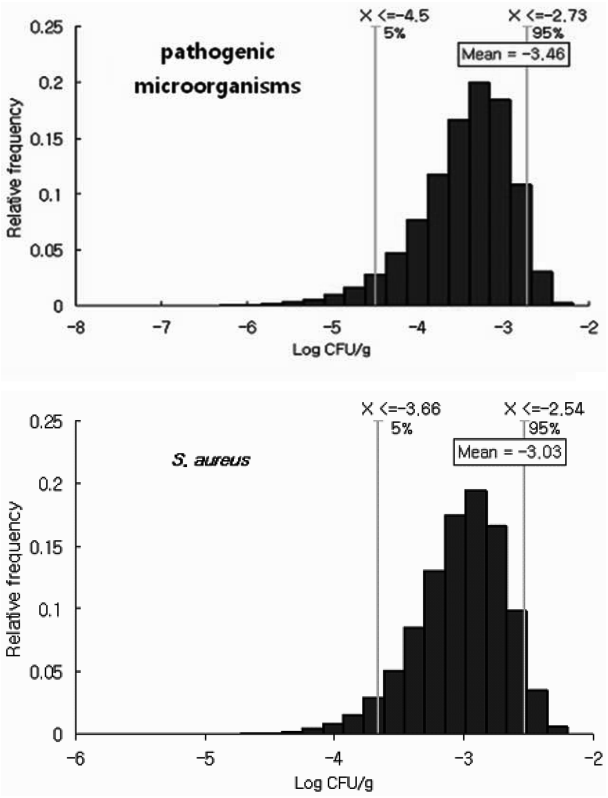

Fig. 4. The result of simulated contamination level of pathogenic microorganisms (except *Staphylococcus aureus*) and *Staphylococcus aureus* for a finished products in edible ices processing plant.

증가가 오염된 미생물 주변의 삼투압을 높이고 이로 인해 물리적인 손상을 주어 미생물을 사멸시키거나 생존력을 감소시키기 때문이라고 하였다.

한편 *S. aureus*의 냉동 완제품의 평균 오염수준은 -3.03 log CFU/g, 오염수준은 -3.66 log CFU/g, 최대 오염수준은 -2.54 log CFU/g의 범위를 갖는 것으로 추정되어 다른 미생물의 경우와 같이 냉동에 의해 오염수준이 감소된 것으로 추정된다.

빙과류에 대한 위해성 평가

@RISK를 이용하여 냉동 완제품에서의 식중독 발생 가능성에 대해 시뮬레이션 한 결과는 Fig. 5와 같다. 평균적으로 빙과류의 섭취에 따른 1일 동안 1인이 식중독에 걸릴 가능성은 $10^{-5.14}$로, 7.24×10^{-6}으로 나타났으며, 최소 5.89×10^{-7}, 최대 5.01×10^{-5}의 발생가능성을 제시할 수 있다. 시뮬레이션 결과 굉장히 낮은 수준의 발생 가능성을 나타냈는데 이러한 발생가능성에 대하여 본 연구에서와 같이 빙과류를 대상으로 한 MRA연구결과를 찾을 수 없어 직접 비교할 수 없었지만, 2001년 한국보건산업진흥원에 의한 연구보고서[22]에 따르면 아이스크림의 섭취로 인한 살모넬라증 발병 가능성을 추정한 결과 본 연구에서 사용한 모델과 같은 Rose의 dose-response model[17]을 이용

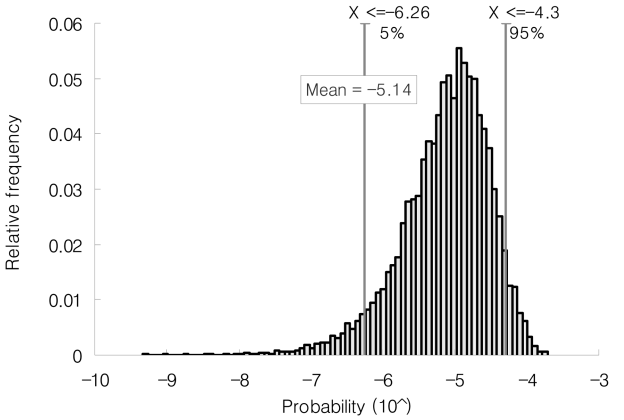

Fig. 5. Relative frequency for the probable risks of pathogenic microorganisms in edible ices products.

할 경우 평균 1.1×10^{-6} 으로 나타나 발병가능성은 극히 낮은 것으로 나타났다.

본 연구에서는 보관 및 유통 단계에 대한 모델이 포함되어 있지 않다. 보관 및 유통 단계에서 적절한 온도관리가 이루어지지 않는다면 식중독균이 증식할 수 있기 때문에 향후 이에 대한 모델이 반드시 포함되어야 할 것으로 사료된다. 또한 본 연구에서 사용된 모니터링 자료는 정성적인 자료로 통계적 방법을 이용하여 오염수준을 추정하였지만 이는 실제 오염농도를 나타내지 않으므로 오차가 발생했을 가능성이 있다. 이외에 빙과류의 섭취량, dose-response model(양-반응 모델)에 대한 연구 등 많은 부분에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다. 이러한 연구 자료를 통해 현실적인 위해 수준을 추정할 수 있을 것이며 더 나아가 비교적 정확한 식중독 발생가능성을 추정할 수 있을 것이다.

요 약

본 연구는 위해 미생물에 대한 빙과류의 오염수준 모니터링 결과를 바탕으로 미생물 위해평가(Microbial risk assessment : MRA)를 적용하여 노출정도를 평가하였다. 그 결과 원재료에서 *S. aureus* 균의 오염수준이 높았으며 살균 전 혼합액에서는 오염수준이 더욱 증가한 것으로 나타났으나 살균 후 혼합액에서는 오염 수준이 현저하게 감소하는 것으로 나타났다. 한편 최종 냉동 저장된 빙과류에서의 오염수준은 초기의 원재료 오염수준보다 약간 더 감소하는 것으로 나타났다. 최종적으로 빙과류의 위해성 평가 결과, 빙과류를 1일 동안 1인이 섭취하였을 때 평균적으로 식중독에 걸릴 가능성은 최소 5.89×10^{-7}, 최대 5.01×10^{-5}의 발생가능성을 제시할 수 있다. 하지만 좀 더 현실적인 위해 수준을 추정하기 위해서는 빙과류의 섭취량, dose-response model(양-반응 모델) 등에 연구가 이루어져야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 경인식품의약품안전청의 용역연구사업(07192 식품안066)에 의하여 이루어진 연구결과로 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. Oh D. H., Ham S. S., Park B. K., Ahn C., Yu J. Y. : Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or food-borne disease microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol*., **30(4)**, 957-963 (1998).
2. Altekruse S. F., Cohen M. L., Swerdlow C. : Emerging food-borne disease. *Emerg. Infect. Dis*., **3**, 285-293 (1997).
3. Lee M. S., Woo G. J., Park J. S., Lee D. H., Oh S. S. : Guidelines for microbiological standards of food in foreign countries. *J. Fd Hyg. Safety*, **19(3)**, 140-150 (2004).
4. FDA : Fish and fishery products hazards and controls guide, Rockville, U.S.A (1994).
5. USDA : Pathogen reduction; hazard analysis and critical control point(HACCP) systems; Final Rule, U.S.A, (1996).
6. 식품의약품안전청(KFDA) : 식중독예방 대국민 홍보사이트 Available from: http://fm.kfda.go.kr/user/user_contents.jsp. (2009).
7. David J. Y. : The application of quantitative risk assessment to microbial food safety. *J. Food Prot*., **6**, 640-648 (1998).
8. Thomas P. O. : The development of a risk assessment model for use in the poultry industry. *J. Food Prot*., **18**, 371-381 (1998).
9. Schlundt J. : Comparison of microbiological risk assessment studies published. *Int. J. Food Microbiol*., **58**, 197-202 (2000).
10. Buchanan R. L., Smith J. L., Long W. : Microbial risk assessment - dose-response relations and risk characterization. *Int. J. Food Microbiol*., **58**, 159-172 (2000).
11. Im M. N., Lee S. J., Lee K. G. : Quantitative risk assessment modeling for *Staphylococcus aureus* in sushi. *Food Eng. Prog*., **11(2)**, 77-83 (2007).
12. Notermans S., Gallhoff G., Zwietering H., Mead G. C. : The HACCP concept : specification of criteria using quantitative risk assessment. *Food Microbiol*., **11**, 397-408 (1994).
13. Bahk G. J. : Application of quantitative risk assessment in sanitation management model for ice cream processing. Unpublished doctoral dissertation, University of Seoul (2001).
14. Notermans S., Teunis P. : Quantitative risk analysis and the production of microbiologically safe food-an introduction. *Int. J. Food Microbiol*., **30**, 3-7 (1996).
15. 김태웅, 최재호, 김재명, Tian Ding, S. M. E. Rahman, 박경진, 오덕환 : 빙과류의 미생물학적 위해요소에 대한 품질평가, 한국식품위생안전성학회지, **24**, 86-93 (2009).
16. 식품의약품안전청(KFDA) : 식품nara 식품안전정보서비스 Available from: http://www.foodnara.go.kr/portal/site/kfdaportal/infomodel2003/. (2003).
17. Rose, J. B., Haas C.N., Gerba C. P. : Linking microbial criteria for foods with quantitative risk assessment. In. J. J. Sheridan, R.L. Buchanan and T.J. Montville. (editors), HACCP: An integrated approach to assuring the microbiological safety of meat and poultry. Food Nutrition Press, Trumbull, CT. pp. 159-170 (1996).
18. Palisade Inc : Guide to using @Risk : risk analysis and simulation add-in for microsoft excel. ver 4.5, Newfield, NY, USA (2002).
19. Charles N. H., Madabusi A. T., Rose J. B., Gerba C. P. : Development and validation of dose-response relationship for *Listeria monocytogenes*. *Quantitative Microbiology*, **1**, 89-102 (1999).
20. Lund B. M., Baird-parker T. C., Gould G. W. : The microbiological safety and quality of food(volume II). AN ASPEN PUBLICATION (2000).
21. James M. J. : Modern food microboilogy. Chap 12. Low-temperature food preservation and characteristics of psychrotrophic microorganism. Chapman & Hall. (1991).
22. 한국보건산업진흥원 : 정량적 위해평가를 통한 가공유, 분유, 아이스크림 위해관리시스템 구축 모델 개발에 관한 연구. pp. 127-128 (2001).