J. Fd Hyg. Safety
Vol. 22, No. 4, pp. 365~369 (2007)

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

행주 내 식품위해미생물에 대한 쌀뜨물 발효액의 살균 효과

하지형 · 이유시 · 이석주 · 황선순[1] · 하상도*
중앙대학교 식품공학과, [1]식품의약품안전청

Antibacterial Effect of Fermented Rice Water against Food-borne Bacteria in Kitchen Towel

Ji-Hyoung Ha, Yu-Si Lee, Seok-Joo Lee, Sunsoon Hwang[1], and Sang-Do Ha*
Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung 456-756, Korea
[1]Korea Food & Drug Administration, Korea
(Received November 3, 2007/Accepted December 20, 2007)

ABSTRACT – This study was conducted to seek optimum concentration and treatment time of fermented rice water (Rizen) to disinfect food-borne bacteria in kitchen towel. 2.65 $\log_{10}$ cfu/g of *E. coli* was reduced when double or triple diluted fermented rice water was treated during 2 hours. In case of concentrated fermented rice water, crude and double diluted solutions showed complete sterilization after 2 and 5 hours, respectively. On the other hand, triple, quadruple, quintuple diluted solutions needed 24 hours for complete sterilization. The effect of fermented rice water as a disinfectant was compared with water, detergent and chlorine treatment against *E. coli* and *S.* Typhimurium contaminated in kitchen towel. The initial number of *E. coli* in untreated kitchen towel were 5.05 $\log_{10}$ cfu/g and were decreased to 4.32, 3.70 and 3.02 by treatments of water, detergent and chlorine, respectively. The double and triple diluted fermented rice water and double diluted concentrated fermented rice water also reduced the *E. coli* in kitchen towel to 2.43, 2.30 and 1.88 $\log_{10}$ cfu/g, respectively. The initial number of *S.* Typhimurium in untreated kitchen towel were 4.80 $\log_{10}$ cfu/g and were decreased to 4.12, 3.58 and 2.81 by treatments of water, detergent and chlorine, respectively. The double and triple diluted fermented rice water and double diluted concentrated fermented rice water also reduced the *E. coli* in kitchen towel to 2.14, 2.03 and 1.59 $\log_{10}$ cfu/g, respectively. Consequently, the fermented rice water is thought to be a good disinfectant to reduce food-borne bacteria like *E. coli* and *Salmonella* contaminated in kitchen towel.

Key words : *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium, fermented rice water, Disinfectants, Kitchen towel

Effective Microorganisms(EM)은 광합성 세균, 유산균, 효모, 사상균 등 10속 82여종의 다양한 미생물로 구성된 유효미생물제제를 말하며 1982년 일본 류큐 대학의 히가 테루오 교수가 개발하여 상품 등록을 EM으로 한 것에서 유래되었다.[1,2] 대표적인 EM제제로는 쌀뜨물 발효액이 있으며 현재는 농업, 축산업, 의료, 환경 등 다양한 분야에서 활발히 이용되고 있다.[3,4] 최근에는 EM의 활용 범위가 단체급식소 및 식당에서 살균소독제로 확대되고 있을 뿐 아니라 가정에서도 식기세척, 세탁, 악취제거 등에 널리 쓰이고 있다. 이미 단체급식소 및 식당에서는 식품위해 미생물에 의한 건강장애와 경제적 손실을 최소화하기 위하여 세척 및 위생관리에 다양한 살균소독제를 사용하고 있으며[5,6] 단체급식 기구등의 세척 및 살균소독에 사용되는 살균소독제는 집단식중독 예방[7] 등 식품의 보존성과 안전성을 높이는데 큰 몫을 차지해 왔지만 이와 같은 살균소독제는 이미, 이취 등의 이유로 기피현상이 두드러지고 있다.[8] 반면 화학물질이 아닌 천연소재가 주재료인 쌀뜨물 발효액은 친환경 소재로서 사용자들에게 큰 호응을 얻고 있다. 이들 미생물 군들은 여러 환경에서 다양한 기능을 수행하며 서로 공존, 공생하면서 상승효과를 일으켜 미생물 증식 억제 및 부패악취를 방지하고 오수처리에서도 정화효과를 보이는 것으로 보고되고 있다.[9,10] 또한 EM제제의 발효유산균은 유산을 생성하여 발효 초기에 pH를 급격히 저하시켜서 부패균의 생장을 억제하고, 효모균은 생리활성물질을 합성하여 다른 EM균의 성장을 촉진하며, 광합성세균은 악취의 방지효과를 나타낸다는 보고도 있다.[11]

*Correspondence to: Sang-Do Ha, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung 456-756, Korea. Tel: 82-31-670-4831, Fax: 82-31-675-4853, E-mail: sangdoha@cau.ac.kr

이처럼 다양한 효능을 지닌 EM제제는 개발 초기에 미생물학자들로부터 안전성 및 유효성에 있어 비판의 대상이었지만 우수한 연구와 조사가 뒷받침되면서 그 이용이 적극 권장되기 시작했다. 국내에서도 EM제제로서의 쌀뜨물 발효액이 대중화되고 있으며 일부 중소제조업체에서는 쌀뜨물 발효액을 상품화하여 판매하고 있다. 뿐만 아니라 일반 가정에서도 손쉽게 만들 수 있는 쌀뜨물 발효액 제조 레시피가 다양한 매체를 통해 제공되고 있으며 일반적으로 장시간 침지, 분무 등의 간단한 방법으로 사용되고 있어 시장 규모가 확대될 전망이다. 이렇듯 실생활에서의 수요는 증가하는 추세지만 그 효능을 뒷받침할만한 과학적 근거 자료 및 검증은 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 천연 살균소독제로서의 쌀뜨물 발효액의 살균력을 확인하기 위해 *E. coli*와 *Salmonella* 식중독균에 대한 항균효과를 평가하였다.

재료 및 방법

재료와 샘플링 방법

본 실험에 사용된 EM제제는 쌀뜨물 발효액으로서 (주)라이스텍에서 상품화하여 유통 판매 중인 라이젠(Rizen)을 선택하였고 유통기한을 고려하여 곧바로 제조된 라이젠 및 라이젠 농축액(30 ºBrix)을 (주)라이스텍에서 제공받아 냉장보관하면서 실험을 실시하였다.

사용균주 및 시약

본 실험에 사용된 미생물은 *Escherichia coli* 및 *Salmonella* Typhimurium(NO/NA)이었다. *E. coli* 균수 측정에는 Eosin Methylene Blue agar(EMB, Difco Detroit, MI, USA)를 사용하였고 *S.* Typhimurium(NO/NA) 분리를 위해 Brilliant Green Agar(BGA, Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였다. BGA에는 Novobiocin(NO, 25 g/ml), Nalidixic acid(NA, 25 g/ml)를 첨가하여 NO와 NA에 저항성을 지닌 *S.* Typhimurium의 균수를 선택적으로 확인하였다.

생균제의 살균소독력 평가

*E. coli*를 접종한 시료 1 mL가 분주된 petri-dish 위에 50ºC의 eosin methylene blue agar(EMB) 15~20 mL를 부어(pour-plate technique) 잘 섞은 후 37ºC에서 24±2시간 배양하였다. 배양 후 standard plates count(SPC)에 의해 각각의 배지 위에 형성된 금속광택의 암녹색 colony를 계수하여 colony-forming unit(CFU)/g으로 나타내었다. *S.* Typhimurium(NO/NA)을 접종한 시료는 brilliant green agar(BGA) 15~20 mL를 부어(pour-plate technique) 잘 섞은 후 37ºC에서 36~48시간 배양하였다. 배양 후 standard plates count(SPC)에 의해 각각의 배지 위에 형성된 핑크색 colony를 계수하여 colony-forming unit(CFU)/g으로 나타내었다.

생균제의 최적 농도 및 처리시간 탐색

생균제의 최적 농도 및 권장 처리 시간을 평가하기 위해 라이젠(완제품)과 라이젠 농축액을 test하였다. 라이젠과 농축액을 멸균된 증류수로 각각 원액 및 2, 3, 4, 5, 6, 10배로 희석하여 palcon tube에 10 mL씩 취한 후, 약 10^5 cfu/ml로 조정한 *E. coli* 균액 1 mL을 접종하였다. 균수 변화 측정은 12 시간 동안 실시하였고 peptone water(Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) 0.1%를 이용하여 10배씩 연속 희석하였다. 멸균된 peptone water 0.1%를 조제할 때는 1 g의 peptone water를 1000 mL의 증류수에 녹여 autoclaving한 후 사용하였다.

오염된 행주에 대한 살균소독력 비교

오염된 행주에 대한 라이젠 및 농축액의 살균소독력을 비교 평가하기 위해 각각 무처리, 물세척, 합성세제(15 ppm), 차아염소산나트륨(200 ppm)으로 대조군 실험을 실시하였다. 10^6 cfu/ml으로 조정된 *E. coli* 및 *S.* Typhimurium (NO/NA) 1 mL을 각각 10 g으로 정량한 행주 위에 점 접종하여 30분간 상온에서 건조하였다. 무처리군은 균이 접종된 행주와 멸균된 peptone water(Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) 0.1% 50 mL을 멸균된 stomacher bag에 넣어 stomacher(Elmex SH-II M, Tokyo, Japan)를 이용하여 1분간 균질화한 다음 peptone water 0.1%를 이용하여 10배씩 연속 희석하였다. 물세척은 균 접종된 행주와 멸균수 200 mL에 2시간 침지하여 헹군 후 탈수하여 처리하였고 합성세제 200 mL(15 ppm), 차아염소산나트륨 200 mL(200 ppm), 라이젠 200 mL(2배, 3배 희석액), 농축액 200 mL(원액, 2배 희석액)도 동일한 방법으로 처리하였다.

결과 및 고찰

생균제의 최적 농도 및 처리 시간

E. coli 감소를 위한 라이젠의 살균소독력 최적 농도, 시간 조건을 탐색하여 Fig. 1에 나타내었다. 라이젠을 원액과 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 10배로 희석하여 *E. coli*를 접종한 후 12시간 동안 살균소독력을 측정하였다. 처리 직후(0시간) 측정 결과 *E. coli*는 0.32~0.64 $\log_{10}$ cfu/ml 정도 감소를 보일뿐 효과가 매우 낮았으며 원액 및 희석액의 효과도 거의 비슷하였다. 그러나 시간이 경과하면서 서서히 *E. coli*의 살균소독력 효과를 확인할 수 있었고 1시간에서 3시간 경과 구간에서 1.95~2.65 $\log_{10}$ cfu/ml 정도 감소를 나타내었다. 2시간 경과하였을 때 라이젠 2배, 3배 희석액은 *E. coli*를 2.65 $\log_{10}$ cfu/ml 감소시켜 가장 우수한 효과를 보임으로써 라이젠 최적 처리 시간은 2시간, 희석배수는 2 또는 3배임을 확인하였다. 라이젠 농축액의 *E.*

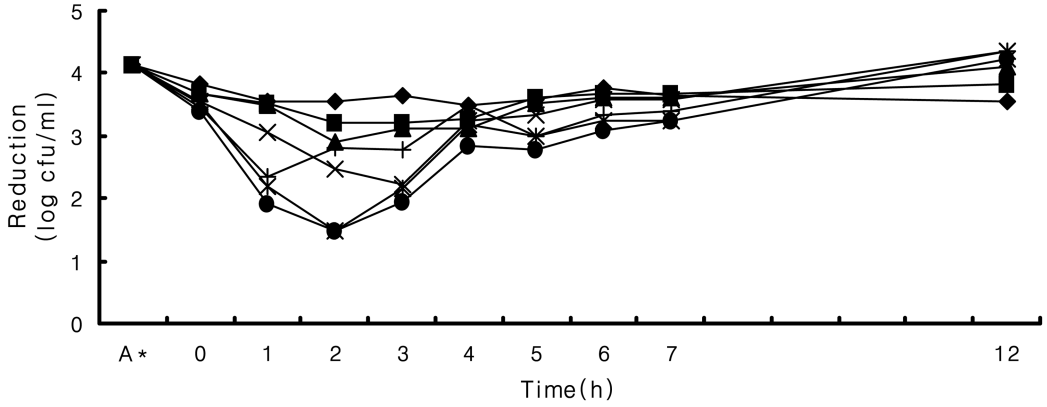

Fig. 1. Optimum concentration and reaction time of fermented rice water (Rizen) for reduction of *E. coli*. +: crude solution, ● : ×2 dilution, ∗: ×3 dilution, X: ×4 dilution, ▲ : ×5 dilution, ■ : ×6 dilution, ◆ : ×10 dilution, A* : inoculated *E. coli*.

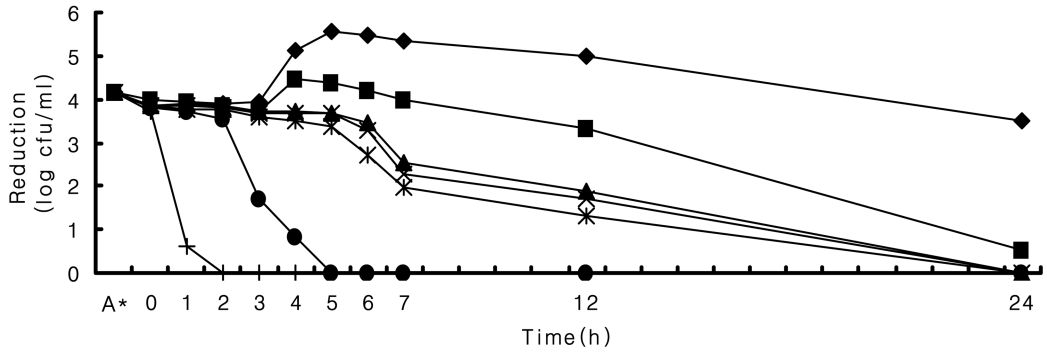

Fig. 2. Optimum concentration and reaction time of Concentrated solution of fermented rice water (Rizen) for reduction of *E. coli*. +: crude solution, ● : ×2 dilution, ∗: ×3 dilution, X: ×4 dilution, ▲ : ×5 dilution, ■ : ×6 dilution, ◆ : ×10 dilution, A* : inoculated *E. coli*.

coli 감소 효과를 평가한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 농축액을 5배 이하로 희석 사용하였을 경우에만 살균소독 효과를 나타내었다. 농축 원액은 2시간 경과하면서 *E. coli*를 완전 살균하였고 농축액을 2배 희석한 용액은 5시간, 3배~5배 희석한 용액은 24시간 처리하여야 완전 살균이 가능하였다. 10배와 6배 희석액은 3시간이 경과할 때까지 두드러진 효과를 보이지 않다가 그 이후부터 오히려 균이 증가하여 각각 최대 5.54, 4.46 $\log_{10}$ cfu/ml을 보인 후 다시 감소하였다. 이는 초기 접종 균수보다 각각 1.40, 0.32 $\log_{10}$ cfu/ml 높은 값으로 특정 농도에서는 쌀뜨물 발효액이 *E. coli*의 증식을 촉진하는 영양분으로 쓰일 가능성이 있는 것으로 사료된다. 본 연구의 결과에 따르면 라이젠 농축액과 2배 희석액이 *E. coli*를 완전 살균 가능하며 3~5배 희석액도 마찬가지로 24시간 경과하면 *E. coli*를 제어할 수 있음을 확인하였다.

*E. coli*에 오염된 행주에 대한 생균제의 살균소독력 비교

*E. coli*에 오염된 행주에 대한 라이젠과 농축액의 살균소독력을 비교 평가하기 위해 각각 무처리, 물세척, 합성세제(15 ppm), 차아염소산나트륨(200 ppm) 소독 처리된 행주와 비교한 결과를 Table 1에 나타내었다. 10^6 cfu/ml으로 조정된 균액을 행주 위에 접종하여 각각의 처리 방법에 따라 균 감소율을 비교 평가한 결과, 무처리군은 생균수가 5.05 $\log_{10}$ cfu/g으로 나타났으며 물세척할 경우는 무처리군에 비해 0.73 $\log_{10}$ cfu/g 감소하였다. 합성세제, 차아염소산나트륨은 각각 1.35, 2.03 $\log_{10}$ cfu/g 감소하여

Table 1. Comparison of disinfecting effects of fermented rice water and other something methods against *E. coli*

Treatments	Concentrations	*Escherichia coli* ($\log_{10}$CFU/g)	
		Mean±SE	Reduction
Untreated (UT, Control)	-	5.05±0.14	-
Water soaking (WT)	-	4.32±0.02	0.74
Detergent (DT)	15 ppm	3.70±0.06	1.35
Chlorine (CL)	200 ppm	3.02±0.11	2.03
Rizen (RT)	34%	2.43±0.05	2.62
	50%	2.30±0.13	2.75
Concentrated rizen (CRT)	50%	1.88±0.01	3.18
	100%	ND	5.05

ND : Not Detected.

무처리군과 물세척 처리군보다 살균력이 우수함을 알 수 있었다. 라이젠 2배, 3배 희석액은 각각 2.75, 2.62 $\log_{10}$ cfu/g의 높은 감소율을 보였으며 라이젠 농축액을 2배 희석한 용액은 3.17 $\log_{10}$ cfu/g 감소하였으며 농축액 원액은 완전 살균효과를 나타냄으로써 가장 큰 효과를 보였다. 또한 실험 결과에 따르면 희석 농도 못지않게 침지 시간도 살균력에 영향을 미치므로 라이젠을 사용할 때는 약 2시간 동안 침지하는 것이 효과적이라고 판단된다. 비록 라이젠 농축 원액을 제외한 나머지 라이젠 시료에서는 2002년 8월에 개정된 식품위생법에 준하는 살균소독제 부합기준 99.999%, 즉 5 log의 미생물을 감소시켜야하는 조건[12]에 미치지 못하였으나 식품공전법[13]에 공시된 살균소독제의 유효성 평가법[14]과 다른 방법을 사용하여 비교 평가한 결과 살균소독제로서 인정받은 염소계제품 보다 우수한 소독력을 보여주었다. 따라서 쌀뜨물 발효액의 살균소독력 유효성은 충분히 인정된다고 사료된다.

S. Typhimurium에 오염된 행주에 대한 생균제의 살균소독력 비교

S. Typhimurium에 오염된 행주에 대한 라이젠 및 농축액의 살균소독력을 비교 평가하기 위해 *E. coli*와 동일한 조건으로 대조군 실험한 결과를 Table 2에 나타내었다. 무처리군은 생균수가 4.91 $\log_{10}$ cfu/g으로 나타났으며 물세척할 경우는 무처리군에 비해 0.68 $\log_{10}$ cfu/ml 감소하였다. 합성세제, 차아염소산나트륨은 각각 1.22, 1.99 $\log_{10}$ cfu/g 감소하여 무처리군과 물세척 처리군보다 살균력이 우수하였다. 라이젠 2배, 3배 희석액은 각각 2.77, 2.66 $\log_{10}$ cfu/g의 높은 감소율을 보였으며 라이젠 농축액을 2배 희석한 용액은 3.21 $\log_{10}$ cfu/g 감소하였으며 농축액 원액은 완전 살균효과를 나타냄으로써 가장 큰 효과를 보이면서 *E. coli* 실험 결과와 매우 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 6, 10배 희석 시 균이 오히려 증가였는데, 이는 항균물질의 농도가 너무 지나치게 희석되어 오히려 라이젠의 유기 성분이 성장에 도움이 되는 것으로 나타났다. 라이젠에는 다양한 유용 미생물군이 존재하며 이로 인해 미생물들끼리 영양분을 서로 차지하려는 경합 과정을 거침으로써 병원균을 억제하는 것으로 알려져 왔으며, 특히 항균물질을 생성하는 방선균이 토양 병원균의 증식억제 효과를 나타내는 것으로 보고되었다.[11] 하지만 라이젠을 최적 희석배수 이상으로 희석할 경우에는 본 연구결과와 마찬가지로 유용 미생물의 활성이 상대적으로 저하되며 라이젠의 유기 성분이 오히려 성장촉진 물질로 이용되어 유해 미생물 증식을 초래할 수 있는 것으로 사료된다. EM 제제는 여러 유용미생물 군으로 형성되어 서로 공존, 공생하면서 상승효과를 일으켜 위해미생물 증식 억제 효과를 나타낸다는 보고[9,10]와 마찬가지로 대표적인 EM제제인 쌀뜨물 발효액 라이젠으로부터 *E. coli*, *S.* Typhimurium과 같은 위해미생물에 대한 항균효과를 확인하였다.

Table 2. Comparison of disinfecting effects of fermented rice water and other something methods against *S.* Typhimurium

Treatments	Concentrations	*S.* Typhimurium ($\log_{10}$CFU/g)	
		Mean±SE	Reduction
Untreated (UT, Control)	-	4.80±0.06	-
Water soaking (WT)	-	4.12±0.12	0.68
Detergent (DT)	15 ppm	3.58±0.18	1.22
Chlorine (CL)	200 ppm	2.81±0.10	1.99
Rizen (RT)	34%	2.14±0.15	2.66
	50%	2.03±0.06	2.77
Concentrated rizen (CRT)	50%	1.59±0.05	3.34
	100%	ND	4.80

ND : Not Detected.

요 약

본 연구는 현재 유통 판매되고 있는 쌀뜨물 발효액 라이젠의 살균소독력을 평가하기 위해 최적 조건 탐색 연구 및 오염된 행주에 대한 일반적인 세척 및 소독제들과의 살균력 비교 실험을 실시하였다. 라이젠은 2 또는 3배 희석 용액에서 2시간 처리하였을 때 2.65 $\log_{10}$ cfu/ml의 *E. coli*를 감소시켜 가장 우수한 효과를 나타내었다. 또한 라이젠 농축액의 경우 원액과 2배 희석한 용액에서 각각 2, 5시간 처리하였을 때 완전 살균효과를 나타내었다. 반면 3~5배 희석한 용액은 24시간 동안 처리해야만 완전 살균이 가능하였다. 행주에 오염된 *E. coli*에 대한 라이젠 및 농축액의 살균소독력을 비교 평가하기 위해 무처리, 물세척, 합성세제(15 ppm), 차아염소산나트륨(200 ppm)으로 처리한 결과 행주 내 잔여 균수가 각각 5.05, 4.32, 3.70, 3.02 $\log_{10}$ cfu/g로 나타난 반면 라이젠 2, 3배 희석액, 농축액 원액, 2배 희석액은 각각 2.30, 2.43, 0, 1.88 $\log_{10}$ cfu/g로 나타나 라이젠은 생균제로서 우수한 살균소독 효과를 보여주었다. 또한 행주에 오염된 *S.* Typhimurium을 대상으로 살균 실험을 실시한 결과 *E. coli*의 결과와 유사한 결과를 보여주었다. 행주 내 잔여 균수는 무처리에서 4.80, 물세척 처리에서 4.12, 합성세제 처리에서 3.58, 차아염소산나트륨 처리에서 2.81 $\log_{10}$ cfu/g로 나타났다. 라이젠 2, 3배 희석액 및 농축액 2배 희석액은 2.03, 2.14, 1.59 $\log_{10}$ cfu/g 로 나타났으며 농축액 원액은 완전 살균효과를 보여주었다. 본 연구 결과 쌀뜨물 발효액은 생균제로서 행주 내 대장균, 살모넬라 등 식품위해미생물 제거를 위한 살균제로서 효과가 우수하였다.

참고문헌

1. 선우영준: 유효미생물군(EM) 활용을 통한 수질, 축산, 농업분야 등의 획기적 발전 가능성에 관하여 일본 오끼나와 류큐대학 히가 테루오교수의 EM강의 참고자료, 환경처 상수원관리과 (1994).
2. 정진오: 음식물쓰레기 EM 퇴비화사업 추진현황, 유기성폐기물자원화, **3**, 97-105 (1995).
3. Higa T.: Use of microorganisms in agriculture & their positive effects on environmental safet. Nobunkyo, Tokyo 42-74 (1995).
4. Higa T.: The complete data EM encyclopedia. Sogo Unicom, Tokyo. 182-237 (1998).
5. Yeon, J.H., Kim, I.J., Park, K.H., Park, B.K., Park, H.K., Park, D.W., Kim, Y.S., Kim, H.I., Jeon, D.H., Lee, Y.J. and Ha, S.D.: Treatment and effect of sanitizers and disinfectants in animal food manufacturing plant. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **38**, 599-603 (2006).
6. Park, H.K., Park, B.K., Shon, H.W., Park, D.W., Kim, Y.S., Cho, Y.H., Lee, K.H., Kang, K.J., Jeon, D.H., Park, K.H. and Ha. S.D.: Evaluation of effectiveness of sanitizers anddisinfectants used in domestic food processing plants. *Korean J. Food Sci. Technol*., **37**, 1042-1047 (2005).
7. Kim, H.L., Jeon, D.H., Kang. K.J., Eom. M.O., Sung. J.H., Kang. H.S., Kwak, H.S., Kwon, K.S. and Lee, Y.J.: Comparative susceptibility of *staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains isolated from Korean foods to commercially available sanitizers/disinfectants. *Korean J. Food Sci. Technol*., **39**, 104-107 (2007).
8. Jin, S.K., Song, D.J., Lee, H.G., Kim, Y.G., Park, T.S. and Park, G.B.: Effects of sodium lactate addition and lactic acid dipping on the cooking loss, salt, nitrite content, pH, WHC, water activity of sausage. *Korean J. Anim. Sci*., **37**, 379-386 (1995).
9. EM Research Organization. EM Application Manual for APNAN Countries. 1st. ed. Tokyo. 1-7 (1995).
10. Higa T.: An Earth saving Revolution. Sunmark publishing Inc., Tokyo, Japan (1996).
11. 히가테루오: 미생물의 농업이용과 환경보전(미경휘역) 형설출판사, 서울 (1991).
12. Lee, M.J., Kim, Y.S., Cho, Y.H., Park, H.K., Park, B.K., Lee, K.H.,, Kang, K.J., Jeon, D.H., Park, K.H., and Ha, S.D.: Evaluation of Efficacy of Sanitizers and Disinfectants Marketed in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol*., **37**, 671-677 (2005).
13. KFDA. Food code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea (2006)
14. European Committee for Standarization. Chemical disinfectants and antiseptics (phase 2, step 1). European Committee for Standardisation, EN 1276, British Standards Institution, switzaland (1997).