J. Fd Hyg. Safety
Vol. 22, No. 2, pp. 99~104 (2007)

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

에탄올과 유기산에 의한 가공쌀 부패효모의 생육저해 효과

김종신 · 이현준 · 이영택 · 장학길 · 박종현*
경원대학교 식품생물공학과

Growth Inhibition of Yeast Isolated from Processed Rice Cake with Ethanol and Organic Acids

Jong-Shin Kim, Hyun Jun Lee, Young-Tack Lee, Hak-Gil Chang, and Jong-Hyun Park*
Department of Food Science and Biotechnology, Kyungwon University
(Received May 10, 2007/Accepted June 11, 2007)

ABSTRACT – To defend putrifaction of the processed rice cake from gas-forming yeast during storage and distribution, it needed to reduce and remove them. The sanitizers of ethanol and organic acids were applied on *Pichia anomala*, *Candida tropicalis,* and isolated yeasts from the putrified cut rice cake. Although growth inhibition effect by the sanitizer of 20% ethanol, 1% acetic acid, or 1% lactic acid respectively were very low, the combined sanitizer of 20% ethanol and 1% acetic acid, or 1% lactic acid showed very high sterilizing effect toward the yeasts. Six log cfu/ml of the yeast was reduced with this combined sanitizers for 30 minutes. In addition, the combined sanitizer heated from 20 to 50°C had more the increased sterility. Therefore, the sanitizer of the combined ethanol with the acetic acid or the lactic acid for 30 minutes at 50°C might reduce or sterilize the putrifying yeast at the processed rice cake. The result might be also applied to the effective pre-treatment of many agricultural food stuffs against yeast, especially unsterilized stuffs, without any hazards from the special sanitizers and nutritional loss from harsh sterilization.

Key words: ethanol, acetic acid, lactic acid, sanitizer, yeast, processed rice cake

서 론

최근 식생활 형태의 변화에 의한 많은 농산물이 비살균 반가공 형태의 여러 종류 식품소재로 생산되어 유통되고 있다. 그러나 토양, 물등 환경오염 증가로 우리 농산 식품소재에 미생물 오염도가 많이 높아지고 있으나 식생활의 변화에 따라 이러한 농산 식품소재를 특별한 살균처리 없이 생식으로 하는 경향이 높아지고 있어 이들 제품에 의한 안전성에 문제가 있는 것으로 보인다.

우리의 주식인 쌀에도 *Bacillus, Clostridium* 등의 포자생성균의 많은 세균오염을 보이며 특히 취반과정 중에서도 이들은 살아남게 된다. 이렇게 하여 세균성 식중독균인 *B. cereus*는 식품의 부패를 일으키거나 구토형 및 설사형의 식중독에 관여되어 있는 것으로 알려지고 있다[1]. 그러나 현재 쌀은 그의 생산량을 단지 주식만으로는 다 소비하지 못하여 여러 가지 가공품으로의 개발을 시도하고 있다. 이들 가공품중에서 산업적으로 생산되고 있는 떡볶이용 쌀가공 제품의 경우는 이들 유해 세균이 증식하기 전에 효모의 생육이 먼저 이루어지고 이들 세균이 따라서 증식을 한다고 알려져 있다. 이들 효모는 가스를 형성하여 포장된 쌀가공품의 경우 많은 반품이 이루어지고 있어서 쌀가공 생산업체에서는 커다란 원가 부담이 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 이와같은 산업적인 필요성과는 다르게 초기 부패에 관여하는 효모에 대한 보고는 거의 없고 이들을 제어하는 연구에 대하여서는 일부 세균제어에 대한 연구가 주종을 이루고 있다.

부패 혹은 식중독 원인 세균의 증식억제를 위한 화학적인 방법으로 차아염소산, hydrogen peroxide, potassium sorbate, benzoic acid[2,3], propionic acid, citric acid, acetic acid, lactic acid등 유기산[4-7]과 NaCl[8] 등을 단독으로 또는 병용한 실험결과가 많이 보고되고 있다. 또한 구연산이 삶은 달걀에 세균번식을 제어하는데 효과적임을 보고[9]하였고, 또한 젖산은 육류의 부패 미생물에 대해서 뛰어난 살균능력을 가지로 있다고 알려져 왔다[10-11]. 현재 국내에서 무균 포장밥 등에 사용되고 있는 유기산류를 비롯한 화합

*Correspondence to: Jong-Hyun Park, Department of Food Science and Biotechnology, Kyungwon University, Sujeong-Gu, Seongnam-Si, Kyunggi-Do 461-701, Korea
Tel: 82-31-750-5500, Fax: 82-31-759-5273
E-mail: p5062@kyungwon.ac.kr

물 등에 의한 연구[12]는 어느 정도 이루어졌지만 이들은 관능적으로 나쁜 영향을 주고 밥맛을 떨어뜨려서 쌀밥품질의 저하요인으로 작용하고 있다. 또한 현재 사용하고 있는 식품 보존제에 의한 미생물의 생육을 제어하는 방법이 보고 되었지만 직접 식용하는 쌀밥에는 적용하기가 어려울 것으로 보인다. 쌀밥 부패미생물의 생육억제를 위하여 녹차의 물 추출물을 사용한 연구[13]와 국내산 약용추출물을 사용하여 이들 *Bacillus* 미생물의 생육제어를 하기 위한 연구[14]가 있지만 아직 초보적인 탐색단계이고 관능적으로 받아들여지면서 산업적으로 활용 가능한 물질을 제시하지 못해 보다 적극적인 연구가 요망된다.

현재 산업적으로 비살균 식품생산에 활용되고 있는 에탄올의 항균작용 효과는 옛날부터 알려져 있었으나 식품중의 미생물을 억제할 목적으로 적극적으로 이용한 것은 최근에 이루어졌다. 순수 에탄올은 식품의 살포제로서 사용은 불충분하지만 70% 에탄올은 표면살균제로 이용되었고, 과일, 와인, 쌀로 만든 주류와 증류주는 식품조리 시 사용되어 왔으며, 이런 에탄올은 열에 증발되어, 식품을 조리시 쉽게 제거되는 장점을 가지고 있다. 일반적으로 에탄올 살균작용은 에탄올과 각종 물질을 조합함으로써 강하게 된다고 알려져 있으며 무엇을 조합하면 어느 정도 강하게 되는 것에 관한 문제는 조건이 여러 가지로 관계하기 때문에 정량적으로 나타내기는 어렵다. 일부 연구는 대장균을 20°C, 5분간 살균되는 조건에서 각종 유기산과 에탄올의 조합효과를 조사하였다[15]. 그 결과 에탄올 단독에서는 50% 이상의 농도가 필요한데 대하여 유기산을 1~2% 병용하면 대부분의 유기산의 경우 20% 에탄올 농도에서 5분 이내로 살균되는 효과가 인정된 것으로 알려졌다. 또 다른 보고[15]는 대장균에 대한 에탄올과 염류의 병용효과를 보고하였는데 대장균을 에탄올 혹은 염류를 용해한 에탄올 용액과 1분간 접촉시켜 바로 배양하여 생존 균수의 변화를 측정하였다. 에탄올만 처리한 조건 하에서 50% 이상의 농도가 살균에 필요하였으나 8~10%의 염류가 존재하면 에탄올농도 20%에서 현저하게 살균이 일어났고 10%에서도 상당히 균수가 감소하였다. 이러한 에탄올에 식염을 첨가하여 *Bacillus cereus*를 제어하는 연구가 보고[16]되기도 하였다. 식염의 미생물에 대한 번식저해 또는 사멸작용은 탈수작용, 불가역적인 원형질의 분리, 효소활성저해, 염소이온의 독작용, 산소용해도 감소 및 이산화탄소에 대한 감수성을 높이기 때문인 것으로 알려져 있다. 또 다른 보고는 0.3% potassium sorbate와 3% 식염의 병용처리구가 대조구에 비해 유도기가 12시간 연장되었고, 생균수도 감소되었다고 하였다[15].

따라서 본 연구는 식용으로 가능한 에탄올과 유기산을 조합하여 최근에 오염도가 높아 쌀저장 유통중에 많은 문제점이 유발시키고 있는 쌀가공품에서의 효모의 생육을 제어할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 시약

본 실험에 사용된 표준 효모균주로는 *Pichia anomala* ATCC 8168과 *Candida tropicalis* ATCC 750을 사용하였다. 야생형 효모균주는 반품되어 온 팽창된 포장 떡볶이용 쌀가공떡을 생산업자(송학식품, 경기도)로부터 공급받아 균주 분리용 시료로 사용하였다. 이 시료 25 g을 멸균 bag에 넣은 후 9배의 멸균수(w/v)를 넣어 stomaching 한 후 25°C 항온조에서 2일간 배양하면서 균주를 분리하였다. 이 때 분리배지로는 PDA (potato dextrose agar, Difco, MI, USA)에 효모만 성장하게 하는 항생제 erythromycin, chloramphenicol (Sigma, St.Louise, MO, USA)과 rose bengal (Sigma, St.Louise, MO, USA)를 첨가하여 분리하였다. 생성된 콜로니는 현미경으로 확인하여 효모로 판정하였다. 에탄올 (Mallinckrodt Baker B.V, Holland)과 lactic acid와 acetic acid (Duksan, Kyonggido, Korea)는 GR급의 시약을 1차 증류수로 희석한 후 0.22 μm filter unit membrane (Millipore, MILLER-GV, France)으로 제균 여과한 후 사용하였다. 그 외의 시약은 GR급의 시약을 사용하였다.

야생형 효모균주와 효모의 배양

공시 효모균주 *Pichia anomala* ATCC 8168과 *Candida tropicalis* ATCC 750와 아울러 부패 쌀가공품으로부터 직접 효모를 분리하여 -70°C에서 보관하면서 사용하였다. 본 연구에서는 (주)송학식품에서 생산된 제품 중 가스가 부풀어 올라 반품된 제품으로부터 효모를 분리하였다. 이들 시료를 세균이 자라지 못하게 하는 erythromycin, chloramphenicol (100 ppm) 등의 항생제와 rose bengal (5%)이 첨가된 YM배지(Difco, Detroit, MI, USA)에서 도말하여 25°C 항온조에서 48시간까지 배양하였다. 이때 생육된 콜로니를 분리하여 광학현미경으로 효모를 확인하고 서로 다른 효모를 분리하였다. 배양 시에는 potato dextrose broth의 10 mL에 전 배양액 1% 접종하여 25°C에서 48시간 배양하였고 위생처리제 처리 균주로 사용하였다.

에탄올의 복합처리에 따른 효모의 생육 저해 효과

유기산 농도는 각각 1%(V/V), 3%, 5%, 에탄올의 농도는 5%, 10%, 15%, 20%를 단독 혹은 복합적으로 처리한 후 배양하여 생균수를 측정하였다. 그리고 처리시간은 10, 30, 60분, 위생처리제의 온도를 50°C까지 올려서 처리한 후에 적절히 희석한 후 PDA 배지에 도말하여 48시간 배양하여 생존 여부를 확인하였다. 표준균주와 분리균 배양액 1 ml를 각 위생처리제 100 ml에 접종 후 처리조건에

서 처리한 후 PDA 배지에서 도말하여 48시간 후에 확인하였다. 오염된 부패 떡볶이용 쌀가공품에 직접 처리시 각 처리제를 쌀 중량의 10배 부피에 담그어 처리한 후 stomaching 하여 PDA에서 배양하여 저해효과를 생균수를 측정하여 확인하였다.

결과 및 고찰

부패된 포장 떡볶이용 가공쌀떡에서 효모의 분리

포장된 떡볶이용 가공떡이 부패하기 전에는 대부분의 경우 제일 먼저 가스가 포장내에 생성되어 부풀게 되고 이는 효모에 의하여 이루어진다. 본 연구에서는 (주)송학식품에서 생산된 제품중 가스가 부풀어 올라 반품된 제품으로부터 효모를 분리하였다. 이들 시료를 세균이 자라지 못하게 하는 erythromycin, chloramphenicol등의 항생제와 rose bengal이 첨가된 YM배지에서 도말하여 25°C 항온조에서 48시간까지 배양하였다. 이때 생육된 콜로니를 분리하여 현미경으로 효모를 확인하고 콜로니의 형태에 따라 4종류의 효모를 분리하였다. 분리된 4종류의 효모를 우점종 순으로 Isolate Y-1, Isolate Y-2, Isolate Y-3, Isolate Y-4라고 명명하였다. 이들 중에 가장 많은 콜로니로 분리된 Isolate Y-1과 Isolate Y-2를 사용하여 다음의 연구를 수행하였다.

위생처리제 종류에 대한 효모생육 영향

에탄올-유기산 복합처리구에서 분리된 효모와 *Pichia anomala*와 *Candida tropicalis*가 현저한 생육 저해 효과가 나타났는데 에탄올-젖산 처리구에서 Isolate-Y2는 10^1 cfu/ml로 사멸하여 배지상에 검출되지 않았으며 Isolate-Y1은 2.0×10^1 cfu/ml로 처리제를 사용하지 않은 대조구값에 비해 10^5 cfu/ml정도 감소하였다. 그러나 에탄올-아세트산 복합처리구에서는 효모의 생육을 관찰할 수가 없어 효모 모두가 사멸한 것으로 보인다(Table 1).

일반적으로 세균에서 에탄올은 정균 및 살균효과가 있어서 생식품의 세균저감화에 많이 활용되고 있다. 이들의 원인으로 대장균의 분해기작의 한 보고[17]에서 에탄올이 peptidoglycan 가교결합의 조합을 저해한다고 보고하였으며 저해농도에 대한 다른 연구결과[15]에서는 저농도 에탄올에서의 최소 발육농도는 대체로 8%에서 12% 수준이었다. 이 작용은 최초 발육저지 농도를 비교한 것으로 같은 농도 수분활성의 식염과 설탕에서는 세균의 생육에 영향을 미치지 않았으나 에탄올용액에서는 저지되는 결과가 보고되었다. 대장균의 살균과 에탄올 용액 농도와의 관계에서 50%에서 10분간 처리하였을 때 모두 사멸되었고 60% 에탄올에서 5분간 처리하였을 때 모두 사멸된 결과가 보고된 바 있다. 그러나 세균과는 다르게 효모는 에탄올 자체만으로는 생육저해 효과가 없는 것으로 나타났다. 이러한 현상은 실제 산업적으로 많이 활용되고 있는 에탄올만의 처리효과가 미미하다는 것을 설명해 주고 있다. 따라서 에탄올에 젖산 혹은 아세트산을 적당량 혼합하면 이들 쌀가공품의 초기 부패균인 효모를 제어하는 큰 효과가 있다는 것을 알 수가 있었다.

에탄올농도와 처리시간에 따른 효모 생육저해 효과

에탄올의 여러 가지 농도와 1% 유기산에 의한 표준효모 균주와 분리효모의 생육저해 효과를 알아보기 위하여 유기산 1%와 에탄올 5, 10, 15, 20%가 되도록 한 복합위생처리제 100 ml에 균주 1 ml (1%)를 접종하여 10분, 30분 처리후 배지에 도말후 계수하였다(Table 2, 3).

각각의 에탄올 농도로 10분 처리하였을 경우 에탄올의 농도를 증가시킬수록 효모의 생육이 저해되는 것으로 나타났고 20% 에탄올 농도에서는 표준균주와 분리균주 모두 생육이 거의 저해되는 것으로 보인다. *Candida tropicalis*는 1% 아세트산+20% 에탄올 처리구에서 9.0×10^1 cfu/ml 효모가 생육되었으나 1% 젖산+20% 에탄올 처리구에서는 효모가 생육되지 않았다. *Pichia anomala*는 1% 아세트산+20% 에탄올 처리구에서는 생육이 이루어지지 않았다. 그러나 15% 에탄올 농도에서는 효모가 아직도 많이 사멸이 이루어지지 않은 것으로 나타났다. 이와같이 에탄올의 농도가 효모 생육에 영향을 미치지만 아울러 처리시간도 중요하였다. 10분 처리시 15% 에탄올 처리구에서는 아직도 많은 효모가 살아 있었고 20% 에탄올 처리구에서도 아직

Table 1. Growth inhibition effect of yeasts with the various sanitizers (cfu/ml)

	Pichia anomala	*Candida tropicalis*	Isolate Y-1	Isolate Y-2
Control (No treatment)[1)]	4.0×10^6	2.1×10^6	5.8×10^6	8.9×10^5
Ethanol(20%)	3.1×10^6	2.4×10^6	3.0×10^6	2.0×10^6
Lactic acid(1%)	5.9×10^5	8.3×10^5	1.8×10^6	6.9×10^5
Acetic acid(1%)	3.7×10^5	3.0×10^5	2.1×10^5	3.6×10^5
Ethanol(20%) + Lactic acid(1%)	ND[2)]	ND	2.0×10^1	ND
Ethanol(20%) + Acetic acid(1%)	ND	ND	ND	ND
Ethanol(20%) + NaCl(10%)	7.2×10^5	5.9×10^4	3.4×10^5	2.8×10^4

[1)]Parenthesis figures indicate the contents of each sanitizers(v/v or w/v), [2)]ND : Not Detected. Each yeast strain cakes were added to each sanitizers for 30 minutes and spreaded on PDA agar.

Table 2. Growth inhibition effect of yeast after sanitation with different ethanol concentrations for 10 minutes (cfu/ml)

		Control(0%)	5% EtOH	10% EtOH	15% EtOH	20% EtOH
Candida tropicalis	1% Acetic acid	3.2×10^{6}	1.6×10^{5}	6.4×10^{4}	8.1×10^{3}	9.0×10^{1}
	1% Lactic acid	3.2×10^{6}	1.8×10^{5}	9.0×10^{4}	6.8×10^{3}	ND[1)]
Pichia anomala	1% Acetic acid	3.3×10^{6}	4.6×10^{5}	8.8×10^{3}	3.0×10^{3}	ND
	1% Lactic acid	3.3×10^{6}	3.1×10^{5}	1.6×10^{5}	2.7×10^{4}	2.0×10^{1}
Isolate Y-1	1% Acetic acid	4.9×10^{6}	2.6×10^{5}	1.4×10^{5}	2.9×10^{3}	ND
	1% Lactic acid	4.9×10^{6}	4.3×10^{5}	3.2×10^{5}	4.3×10^{4}	5.0×10^{1}
Isolate Y-2	1% Acetic acid	7.0×10^{6}	2.0×10^{5}	4.6×10^{4}	2.0×10^{3}	ND
	1% Lactic acid	7.0×10^{6}	6.8×10^{5}	1.6×10^{5}	4.1×10^{3}	ND

[1)] ND : Not Detected

Table 3. Growth inhibition effect of yeast after sanitation with different ethanol concentrations for 30 minutes (cfu/ml)

		Control(0%)	5% EtOH	10% EtOH	15% EtOH	20% EtOH
Candida tropicalis	1% Acetic acid	3.2×10^{6}	7.1×10^{4}	3.1×10^{4}	1.2×10^{2}	ND
	1% Lactic acid	3.2×10^{6}	8.3×10^{4}	2.2×10^{4}	ND[1)]	ND
Pichia anomala	1% Acetic acid	3.3×10^{6}	5.0×10^{4}	7.1×10^{4}	3.9×10^{2}	ND
	1% Lactic acid	3.3×10^{6}	3.1×10^{5}	5.0×10^{4}	3.0×10^{1}	ND
Isolate Y-1	1% Acetic acid	4.9×10^{6}	1.1×10^{5}	2.3×10^{4}	ND	ND
	1% Lactic acid	4.9×10^{6}	3.5×10^{5}	1.7×10^{5}	6.4×10^{3}	ND
Isolate Y-2	1% Acetic acid	7.0×10^{6}	6.8×10^{4}	6.3×10^{3}	1.0×10^{1}	ND
	1% Lactic acid	7.0×10^{6}	1.1×10^{5}	5.4×10^{4}	1.0×10^{4}	2.0×10^{1}

[1)] ND : Not Detected

도 생육이 이루어지는 실험구가 있는 반면에 30분 처리하였을 때에는 15% 에탄올 처리구에서도 효모가 검출되지 않는 실험구들도 있었다. 이와같이 처리하는 시간이 길면 길수록 효모의 생육을 저해시키는 것으로 나타났다. 그러나 최소시간은 적어도 10분 이상은 되어야 그 효과를 기대할 수 있을 것으로 보인다. 그러므로 산업적으로 활용을 위해서는 에탄올의 농도와 시간등을 적절히 고려하여 활용하는 것이 필요한 것으로 보인다.

위생처리제의 유기산의 농도에 따른 효모 생육저해 효과

복합위생처리제로 에탄올 10%와 유기산 1%, 3%, 5%가 되도록 조제한 100 ml 처리제에 배양 균주액 1 ml (1%)를 접종하여 30분 처리후에 도말하여 계수하였다. 이때 에탄올의 농도를 10%로 조정하여 유기산의 효과를 정확히 분석하고자 하였다(Table 4). 유기산의 농도가 높아질 수록 효모의 사멸은 커지는 것으로 나타났는데 유기산의 농도가 3%가 되었을 때 사멸효과가 크게 나타났고 *Pichia anomala*의 생육저해현상이 젖산으로는 거의 없다는 보고[18)]와는 다른 결과를 보여 주고 있다. 그러나 5%의 농도에서 처리하였을 때에도 효모의 생존이 이루어지고 있는 것으로 분석되었다. 따라서 에탄올 농도와 유기산농도를 적절히 조합함으로써 효모의 사멸효과를 조절할 수 있을 것으로 보인다.

Table 4. Growth inhibition effect of yeast for different organic acids of the complex sanitizer containing ten percentage ethanol (cfu/ml)

		0%	1%	3%	5%
Candida tropicalis	Acetic acid	4.5×10^{6}	1.4×10^{4}	ND[1)]	ND
	Lactic acid	4.5×10^{6}	3.0×10^{4}	1.0×10^{1}	ND
Pichia anomala	Acetic acid	2.8×10^{6}	8.0×10^{3}	ND	ND
	Lactic acid	2.8×10^{6}	3.8×10^{4}	5.2×10^{2}	7.0×10^{1}
Isolate Y-1	Acetic acid	3.6×10^{6}	4.1×10^{4}	ND	ND
	Lactic acid	3.6×10^{6}	2.2×10^{5}	2.6×10^{3}	1.6×10^{2}
Isolate Y-2	Acetic acid	3.1×10^{6}	6.8×10^{4}	ND	ND
	Lactic acid	3.1×10^{6}	3.2×10^{5}	2.8×10^{2}	ND

[1)] ND : Not Detected

위생처리제의 처리온도에 따른 효모 생육저해 효과

복합위생처리제 100 ml에 효모배양액 1 ml 접종 후 각각 20°C와 50°C에서 30분간 처리한 후에 PDA에 도말하여 48시간 후에 생육정도를 분석하였다(Table 5).

초기의 효모숫자가 $10^{5\text{-}6}$ cfu/ml일 때에도 이들 효모는 복합위생처리제에서 거의 사멸되는 것으로 보였다. 그러나 분리균주 Isolate Y-1이 Isolate Y-2보다 좀 더 사멸에 저항성이 큰 것으로 보였고 복합위생처리제로서 아세트산을 사용한 경우에는 모두 사멸되었지만 젖산을 사용한 경우 30분로 처리해도 살아있는 효모가 검출되었다. 그러나 위생처리제를 20°C에서 50°C로 올려서 처리한 경우에는

Table 5. Growth inhibition effect of yeast for different sanitizer temperature (cfu/ml)

Control	*Pichia anomala*		*Candida tropicalis*		Isolate Y-1		Isolate Y-2	
	20°C	50°C	20°C	50°C	20°C	50°C	20°C	50°C
	5.9×10^5		6.8×10^6		2.3×10^6		3.1×10^6	
Ethanol(20%) + Acetic acid(1%)	ND[1)]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethanol(20%) +Lactic acid(1%)	ND	ND	ND	ND	1.0×10^2	ND	3.0×10^1	ND

[1)] ND : Not Detected

복합위생처리제로서 젖산을 사용해도 효모가 모두 사멸하는 것으로 나타났다. 따라서 비롯 초기의 오염 효모수가 많더라도 복합위생처리제의 온도를 높혀서 처리하면 이들 효모를 제어할 수 있는 것으로 분석되었다.

부패 쌀 가루떡의 복합위생처리제의 효과

20% 에탄올과 1% 젖산, 1% 아세트산을 단독, 복합으로 30분간 오염된 쌀 가루떡에 직접 처리하여 효모의 생육저해영향과 분리균 및 표준균주에 대한 저해효과를 평가하였다(Table 6). 이때 오염된 시료는 생산업체로부터 직접 공급받아 사용하였다. 오염된 떡볶이용 쌀 가공품을 여러 처리제로 처리한 후에 생육을 측정하여 그 효과를 분석한 결과 에탄올과 유기산의 복합처리제로 효모의 살균효과가 우수함을 확인할 수가 있었다. 일반적으로 에탄올 살균작용은 에탄올과 각종 물질을 조합함으로써 강하게 된다고 알려져 있으며 무엇을 조합하면 어느 정도 강하게 되는 것에 관한 문제는 조건이 여러 가지로 관계하기 때문에 정량적으로 나타내기는 어렵다. 한 보고[15]에서는 대장균을 20°C, 5분간 살균되는 조건에서 각종 유기산과 에탄올의 조합효과를 조사하였다. 그 결과 에탄올 단독에서는 50% 이상의 농도가 필요한데 대하여 유기산을 1~2% 병용하면 대부분의 유기산의 경우 20% 에탄올 농도에서 5분 이내로 살균되는 효과가 인정된 것으로 알려졌다. 대장균에 대한 에탄올과 염류의 병용효과를 보고하였는데 대장균을 에탄올 혹은 염류를 용해한 에탄올 용액과 1분간 접촉시켜 바로 배양하여 생존 균수의 변화를 측정한 보고[17]도 있다. 에탄올만 처리한 조건 하에서 50% 이상의 농도가 살균에 필요하였으나 8~10%의 염류가 존재하면 에탄올농도 20%에서 현저하게 살균이 일어났고 10%에서도 상당히 균수가 감소하였다.

Table 6. Detection of yeast from the stale processed rice cakes after various sanitizers (cfu/ml)

	Viable count of yeast
Control[1)]	7.8×10^3
Ethanol(20%)[2)]	4.1×10^3
Lactic acid(1%)	3.6×10^3
Acetic acid(1%)	6.3×10^2
Ethanol(20%) + Lactic acid(1%)	1.0×10^1
Ethanol(20%) + Acetic acid(1%)	ND[3)]
Ethanol(20%) + NaCl(10%)	5.5×10^3

[1)]Non-sanitizer treated, [2)]Parenthesis figures indicate the contents of each sanitizers(v/v or w/v), [3)]ND : Not Detected. The stale processed rice cakes were dipped in each sanitizers for 30 minutes, stomached, and spreaded on PDA agar with erythrpmycin and chloramphenicol.

이러한 연구는 주로 그램 음성인 세균을 중심으로 이루어졌으나 떡볶기용 포장 쌀 가공품에서 초기부패에 기여하는 효모에 대한 연구결과는 거의 없는 실정이다. 에탄올이 세균 생육저해에는 효과가 있지만 효모에게 에탄올 자체는 생육저해를 못하는 것으로 알려져 있다. 그러나 흥미롭게도 상기의 연구는 에탄올에 약간의 유기산을 첨가하면 효모를 살균시킨다는 연구결과로써 이들 쌀가공품 부패효모의 제어에 산업적인 매우 유용한 정보가 되리라 생각된다. 아울러 이러한 조합처리는 hurdle technology의 multitarget preservation의 전략[18]으로써 생육제어의 synergy 효과를 높이기 위하여 앞으로 많이 활용되어야 할 기법으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 경원대학교 2006년도 학술연구비 지원으로 수행된 연구결과로써 이에 감사드립니다.

요 약

비살균 가공 쌀가공품의 오염미생물을 제거/불활성화하는 제어기술을 개발하여 쌀 가공식품에서 가스발생 효모에 의한 저장유통성 문제를 개선하고자 하였다. 부패된 떡볶이용 쌀가공품에서 부패효모를 직접 분리한 후 *Pichia anomala*, *Candida tropicalis*등과 같이 에탄올과 유기산의 항미생물제를 처리하여 생육저해를 분석하였다. 20% 에탄올, 1% 아세트산, 혹은 1% 젖산을 각각 처리하면 효모의 생육저해현상이 크지 않았으나 이 에탄올에 각각의 유기산을 혼합하면 효모의 생육저해가 현저함을 알 수가 있었다. 이와같은 처리제로 30분간 처리에 의하여 효모숫자를 6 log cfu/ml까지 저감화할 수가 있었다. 아울러 이 복합위생처리제의 온도를 20°C에서 50°C로 높혀서 처리하면

그 살균효과가 더 커지는 것으로 분석되었다. 따라서 50°C의 20% 에탄올와 1%의 아세트산 혹은 젖산으로 30분간 처리하면 쌀가공품의 초기 부패균인 효모의 생육을 저해할 수 있을 것으로 보인다. 이러한 결과는 특별한 살균처리 없이 저장유통중인 식품소재의 효모에 의한 품질저하를 줄이는데 활용될 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

1. Ghelardi, E., Celandrono, F., Salvetti, S., Barsotti, C., Baggiani, A., and Senesi, S.: Identification and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* isolate responsible for two food-posioning outbreaks. *FEMS Microbiol. Lett.* **208**, 129-134 (2002).
2. Rice, K.M. and Pierson, M.D. Inhibition of *Salmonella* by sodium nitrite and potassium sorbate in frankfurters. *J. Food Sci*. **47**, 1615-1617 (1982).
3. Kim, D.J., Kwon, O.J., and Byun, M.W.: Combination effects of benzoate, sorbate and pH for control of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Fd Hyg. Safety* **12**, 200-204 (1997).
4. Oh, D.H. and Marshall, D.L. Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurate with organic acids. *J. Food Sci*. **59**, 1258-1261 (1994).
5. Ita, P.S. and Hutkins, R.W.: Intacellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in trypic soy broth containing acetic, lactic, citric, and hydrochloric acid. *J. Food Prot.* **54**, 15-19 (1991).
6. Yonng, K.M. and Foegding, P.M.: Acetic, lactic, citric acid and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect on intracellular pH. *J. Appl. Bacteriol.* **74**, 515-520 (1993).
7. Fernandes, C.F., Flick, G.J., Cohen, J., and Thomas, T.B.: Role of organic acids during processing to improve quality of channel catfish fillets. *J. Food Prot.* **61**, 495-498 (1998).
8. Masuda, S., Hara-Kudo, Y., and Kuagai, S.: Reduction *Escherichia coli* O157:H7 population in soy sauce, a fermented seasoning. *J. Food Prot.* **61**, 657-661 (1998).
9. Fischer, R., Fletcher, L., Cox, N.A., and Bailey, J.S.: Microbiological properties of hard-cooked eggs in a citric acid based preservative solution. *J. Food Prot.* **48**, 252-256 (1985).
10. Acuff, G.R., Vanderzant, C., Savell, J.W., Jones, D.K., Griffin, D.B., and Ehlers, J.G.: Effect of acid decontamination of beef subprimal cuts on the microbiological and sensory characteristic of steaks. *Meat Sci.* 217-221 (1987).
11. Ahn, Y.S. and Shin, D.H.: Antimicrobial effects of organic acids and ethanol on several foodborne microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 1315-1323 (1999).
12. Asplund, K., Nurmi, E., Hilli, P., and Hion, J.: The inhibition of growth of *Bacillus cereus* in liver sausage. *Int. J. Fd. Mic.* **7**, 349-352 (1988).
13. Jeong, J.H, Han, S.J, Cho, W.D., and Hwang, H.J.:Identification of spoilage bacteria isolated from aseptic packaged cooked rice and application of acidic electrolyzed saline solution as water-for-cooked rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 788-793 (1999).
14. Shin, D.H, Kim, M.S., and Han, J.S.: Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 808-816 (1997).
15. Jung, D.H.: Foodborne Microorganism Control. pp.296-304 (2001)
16. Jang, J.H., Jang, J.S., Lee, S.Y., Kim, H.S., Kang, S.M., and Park, J.H.: Growths inhibition effects of ethanol and sodium chloride on Bacillus cereus. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**, 998-1002 (2003).
17. Lang, H.S., Weng, Y., and Robin, Y.C.: Survial of *Stapylococcus aureus* and *Escherichia coli* as affected by ethanol and NaCl. *J. Food Prot.* **64**, 546-550 (2001).
18. Magnusson, J.: Broad and complex antifugal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 14, 129-135 (2003).
19. Leister, L.: Principle and applications of hurdle technology. *In*: GW Gould(ed.) New Methods of Food Preservation. London. Blackie Academic & Professional, pp. 1-21 (1995).