

KAERI/CM-1304/2009

고선량 조사에 의한 식품미생물의 사멸 특성 연구

Studies on the radiation sensitivity of
food microorganism by high dose irradiation

KAERI
고려대학교

한국원자력연구원

제 출 문

한국원자력연구원장 귀하

본 보고서를 “고선량 방사선 적용 식품공학 융합기술 개발”과제의 위탁과제
“고선량 조사에 의한 식품미생물의 사멸특성 연구” 보고서로 제출합니다.

2010. 4.

과제책임자 : 황 한 준

참 여 자 : 이 은 정

유 현 희

이 재 호



KAERI

요 약 문

I. 제 목

고선량 조사에 의한 식품미생물 사멸특성 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

주요 식품 미생물의 방사선원(감마선, 전자선)별 저항특성, 방사선원의 에너지 수준별 저항특성 및 방사선 조사조건(pH, 온도, 산소유무 등)에 따른 저항특성을 이해하고 다양한 식품에 적합한 방사선 조사량을 예측하고 이를 적용함으로써 미생물에 의한 식품의 부패와 식중독 발병을 저감화시킬 수 있는 기반확립

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구개발에서는 다음과 같은 주요 내용과 범위가 연구개발에 포함되었다.

- 식품미생물의 생리적 특성을 파악
 - 방사선원(감마선, 전자선)별 사멸특성과 에너지 선량별 사멸특성 검토
 - 최적 선원과 선량을 설정
 - 다양한 식품처리조건(pH, 온도, 산소유무 등)사멸 특성 검토 등을 수행함
- 따라서 본연구에서는
 - 식품미생물의 생리적 특성을 파악
 - 방사선원(감마선, 전자선)별 사멸특성과 에너지 선량별 사멸특성 검토
 - 최적 선원과 선량을 설정
 - 다양한 식품처리조건(pH, 온도, 산소유무 등)사멸 특성 검토 등을 수행함
- 최종적으로는 최적 선원과 선량을 설정함으로써 식품시스템 내에서의 각종 미생물에 대한 조사 저항성을 파악하여 식품의 보존성 및 위생성 제고의 기반을 확립하고자 함

IV. 연구개발 결과

1. 병원성 미생물의 방사선 저항성

- 병원성 미생물(*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) and *Escherichia coli*O157)의 환경에 따른 방사선 저항성을 검토한 결과 방사선 선량이 증가 함에 따라 생육 균수는 현저히 감소 하였다.
- pH가 감소하고 염농도가 증가함에 따라 병원성 미생물의 생육균수는 감소하였다.
- 방사선 조사시 환경 중 온도에 따른 저항성을 알아본 결과 온도가 낮을수록 병원성 미생물의 방사선 감수성은 증가하는 것으로 나타났다.

2. 식품시스템내에서의 미생물의 방사선감수성 평가

병원성 미생물의 식품내에서의 방사선 감수성을 알아보기 위하여 생식, 슬라이스햄, 생 소고기 다짐육을 이용하여 접종실험을 실시한 결과 모든 균이 배지에서의 저항성 보다 식품내에서의 방사선 감수성이 높게 나타났다. 생식은 0.597, 슬라이스햄은 0.226, 0.398 그리고 생소고기 다짐육은 0.416 kGy로 나타났다.

V. 연구결과의 활용계획 및 건의사항

우리 농수산물의 수출증대와 국제경쟁력 제고를 위한 에너지 절약형 검역처리기술 개발이 필요시 되는 시점에서 방사선기술을 기반으로 한 우리 농수산물의 고품질 상품화와 시장 확대를 위한 품질인증시스템 연구수행으로 산업생산성 향상을 도모할 수 있다. 또한 이에 대한 기술개발과 적용으로 식인성 질병으로 인한 직접적 경제 손실뿐만 아니라 사회간접자본의 절감을 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 따라서, 국민 생활수준의 향상으로 식품 및 보건위생적 측면을 중시하는데 있어서 식품 및 의료산업에서의 질병예방과 위생적 제품생산 기반을 확립하여 국민 보건향상과 경제적 생산성 증대를 도모할 것이다.

SUMMARY

I. Project Title

Studies on the radiation sensitivity of food microorganism by high dose irradiation

II. Objectives and Important of the Project

- To understand the resistance properties to radiation sources and to exposure to factors influencing for growth such as Aw, pH, temperature, and aerobic condition
- To find the appropriate radiation dose and apply this to the food systems
- Finally, to establish the basic technology for the reduction of microbial food spoilage and food poisoning

III. Scopes and Contents of Project

- In this study, the following tests will be carried out.
 - Physiological properties for growth of microorganism will be investigated
 - The disinfection effects on microorganisms irradiated by gamma beam respectively are compared.
 - Establishment of the radiation sources and optimum doses for irradiation.
 - The radiation sensitivity of microorganism by various treatments including pH, temperature, and aerobic condition.
- Finally, finding of the optimum radiation dose and effective sources for the spore forming bacteria to improve food preservation and food hygiene will be performed.

IV. Results of Project

1. Radio resistance of pathogenic microorganism

- We studied the radio resistance of pathogenic microorganism(*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) and *Escherichia coli*O157)in irradiating environments. This results the number of pathogenic microorganisms at pH(3-10) and salt

concentration(1-15%), temperature(-20, 4 and 25°C) and atmospheric condition decreased by 1 log CFU/ml after irradiation. The D₁₀-value of γ -BC and γ -SA in the optimum condition was 0.167 and 0.152 kGy, and these of γ -MRSA and γ -EC were 0.346 and 0.240 kGy, respectively.

-The initial cell counts of pathogenic microorganisms in culture broth were slightly decreased as the decrease of pH and the increase of salt concentration.

-Radiation resistance of pathogenic microorganisms was increased at frozen state.

2. Effect of γ -irradiation on the inactivation pathogenic microorganisms inoculated into food

The effect of γ -irradiation on the inactivation pathogenic microorganisms (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) and *Escherichia coli*O157)inoculated into food(saengsik ,sliced ham, chopped beef) was investigated. D₁₀-values of these is test strains in saengsik, sliced ham and chopped beef were 0.597, 0.226 ,0.398 and 0.416 kGy ,respectively.

V. Proposal for Applications

Furthermore, the results of this study gives

1. Establishment of microbial control technology by irradiation of gamma-ray and electron beam technology.
2. Establishment of optimum radiation levels at various condition of food microorganism.
3. Establishment of control technology by radiation against food microorganisms.
4. Establishment of methods for the stable ensure of foods as national energy by application of radiation technology.
5. Development of food processing technology to protect the food-borne disease.
5. Development of technology for the quarantine treatment of foodstuffs for export.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction -----	1
Chapter 2. Status of development of recent techniques -----	3
Chapter 3. Contents and Results -----	6
Section 1. Material and methods -----	6
Section 2. Results and Discussion -----	8
Chapter 4. Achievement of research goals and foreign contributions --	28
Chapter 5. Plan of utilization of the results -----	30
Chapter 6. References -----	31

목 차

제 1 장 서론 -----	1
제 2 장 국내외 기술개발 현황 -----	3
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 -----	6
1. 재료 및 방법 -----	6
2. 결과 및 고찰 -----	8
제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외 기여도 -----	28
제 5 장 연구개발 결과의 활용계획 -----	30
제 6 장 참고문헌 -----	31

제 1장 서 론

식품 미생물은 발효식품의 제조나 유기산 및 항생물질, 균체생산에서와 같이 인류에게 유용하게 이용되기도 하나 다른 한편으로는 변·부패에 의하여 세계 식량자원의 20% 정도를 손실시키고 위생상의 병해를 초래하는 등 심각한 유해성도 갖고 있다. 더구나 식량자원의 제한이 인류 전체의 생존에 관한 중요한 문제로 인식되고 있는 현재 식품을 장기적으로 안전하게 저장할 수 있는 기술의 개발은 무엇보다도 중요한 과제라 할 것이다. 그러나 식품의 미생물은 그 원료가 되는 농·수·축산물이나 가공과정에서의 외부접촉과 같은 경로를 통하여 다양하게 유입되고 각 식품의 특성도 모두 달라 이를 효과적으로 제어하기가 어렵다.

현재 식품의 저장성 개선을 위해 주로 이용되고 있는 살균 처리 기술에는 가열 처리나 자외선 조사, 훈증 처리, 화학 약품 처리, microwave 처리 등이 있다. 그러나 이러한 살균 처리 기술은 고온처리에 의한 식품의 일반 성분의 변화 및 손실은 가져오거나 화학 성분의 잔류 및 유해 물질의 생성에 따른 여러 문제점을 야기하고 또한 미생물 살균 효과도 떨어져 효과적인 대체 기술 개발의 필요성이 꾸준히 제기되어 왔다. 최근 여러 대체기술 중 하나로 방사선 에너지의 이용이 효과적인 것으로 주목되고 있다.

방사선 조사기술은 미래 식량자원 확보와 인류를 기아와 식인성 질병으로부터 벗어날 수 있게 함은 물론 화학약품으로 인한 환경공해와 해로운 보존제의 사용 의존도를 획기적으로 줄일 수 있는 새로운 식품 위생화 기술로 현재 식품관련 산업에서 막대한 파급효과를 얻을 수 있는 기술로 인식되고 있다. 적절한 선량의 방사선 조사는 식품의 물리, 화학적 및 관능적 특성에 영향을 주지 않고 효과적으로 미생물을 제어할 수 있으며(Byun, 1997), 이러한 방사선 조사 식품의 건전성은 이미 세계보건기구(WHO), 국제식량농업기구(FAO), 국제원자력기구(IAEA)와 국제기관 및 학술단체 등을 통하여 식품의 보존 및 위생화 수단으로 안전성을 공인된 바 있다(FAO/IAEA/WHO, 1999). 미국 식품의약품안전청(US FDA)은 1999년 12월 식품유래 위해 미생물의 사멸과 제품의 유통기한 연장을 위한 식육의 방사선 조사를 허용하고 있다. 또한 미국 농무성(USDA)도 2000년 2월 식육제품의 방사선 처리를 전면 허용함으로써 모든 시중 슈퍼마켓에서도 판매가 가능하게 되어 현재 유통하고 있다. 우리나라도 1987, 1988, 1991 및 1995년에 4차

례에 걸쳐 총 18개 품목의 식품조사가 허가되었으며, 기존품목을 확대하여 복합
조미식품류를 비롯한 7개 품목이 2004년 5월 추가로 허가되었다(식품의약품안전
청, 2004).

본 연구에서는 주요 병원성 미생물인 *Bacillus cereus*를 포함하여
Staphylococcus aureus (MRSA 포함) 및 *Escherichia coli* O157에 대해 생육특성
과 다양한 조사 조건에 따른 사멸특성을 검토(*in vitro*)하고, 식품시스템(*in situ*)
내에서의 사멸 특성을 다시 시험하여 식품의 부패와 식중독 발병을 저감화 시키기
위한 기반을 확립하고자 한다.



제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 미국에서는 향신료, 건조식품, 육류 및 군용/우주/스포츠식품 등 특수식품에 고선량 방사선조사 기술의 일부가 상업적으로 활용되어, 식품기인 질병예방과 실용화 확대 연구에 중점을 두고 있음. U.S. Army Natick 연구소에서 현재 군용식품에 대한 연구가 활발히 수행 중임.
- 미국, 유럽 등의 선진국에서는 즉석식품(ready-to-eat/ready-to-cook foods) 시장이 점차 확대되고 있으며, 저장성 및 품질 안정성 증진을 위한 연구는 초기 단계임.
- 미국 NASA의 여러 Space Center에서는 특수간편식품, 유통 및 저장기한 극대화, 식품포장재, 식품폐기물의 bioregeneration과 recycling 및 우주선 내 식품가공방법 등을 종합적으로 연구개발하고 있으며, 방사선 조사기술의 적용을 적극 검토 중에 있음.
- 방사선을 조사한 식품의 건전성(안전성) 문제는 이미 WHO, FAO, IAEA 및 미국 FDA 등 국제기관과 국제 학술단체에서 식품의 보존/위생화 수단으로 그 건전성을 공인하였음.
- 1961 : 벨기에 브뤼셀에서 IAEA, FAO, WHO가 공동으로 조사식품의 건전성 평가에 관한 과학적 연구결과를 평가하기 위한 최초의 회의가 소집되었고, 28개국의 대표가 참석하여 조사식품건전성에 관한 연구결과를 평가하고 권장하기 위하여 3개 국제기구로서 식품조사공동전문위원회(JECFI)를 설치키로 하였음.
- 1969 : 스위스 제네바에서 개최된 FAO, WHO, IAEA 공동전문위원회는 특정 선량까지 조사한 감자, 밀 및 밀가루제품을 허가하였음.
- 1970 : FAO, IAEA 및 OECD는 WHO의 권유에 따라서 조사식품 안전성에 대하여 광범위하게 평가하기 위하여 식품조사분야 국제과제(IPFFI)를 신설하였음. 24개국이 본 과제에 참·여하여 12년간 연구가 계속되었고, 조사식품중에 방사선 조사 때문에 발생된 발암성 물질이나 기타 독성물질이 함유되었다는 어떠한 발표도 없었음.
- 1976 : 특정 선량까지 조사된 5종의 조사식품(감자, 밀, 파파야, 딸기, 닭고기)이 제네바에서 개최되었던 JECFI 회의에서 무조건으로 허가되었고, 4종의 조사식품(양파, 쌀, 신선대구 및 연어)이 잠정적으로 허가되었음.
- 1980 : 스위스 제네바에서 개최되었던 JECFI는 더 많은 연구 및 실험결과의 평가에 따라서 평균 10 kGy(kilogray = 백만 rad) 까지 방사선을 조사한 어떠한 식품도 독성학적 장애를 전혀 일으키지 않으며, 독성실험은 더 이상 필요가 없

고, 영양학적 및 미생물학적 문제도 일으키지 않는다고 발표하였음.

- 1982 : FAO 및 WHO의 요구에 의해서 식품미생물국제위원회 및 국제미생물학회의 식품위생연합은 식품조사의 안전에 관한 증거를 재확인하였으며, 동 위원회는 JECFI의 결정을 인정하면서, 식품조사는 건강에 어떠한 장해도 일으키지 않는다고 결론지었음.

- 1983 : JECFI의 추진내용은 식품 건전성과 안전성에 관한 세계적 기준을 정하는 기구인 FAO/WHO 공동위원회에서 채택되었는데 동 위원회는 동 추천 내용을 일반규격기준의 조사식품규격으로 흡수시켰으며, 식품조사에 이용되는 조사시설 운전지침으로 발표하였음(CODEX GENERAL STANDARD).

- 1984 : 20개국 이상이 FAO, WHO, IAEA 후원하에 식품조사 국제자문기구를 조직하여 조사식품에 대한 국제교역, 경제, 규제 및 홍보에 관한 사항을 다루기로 하였음.

- 1986 : 미국 FDA는 수십년간의 연구 및 실험결과에 따라서 과채류의 저장기간 연장과 살충 목적으로 특정선량까지 광범위하게 방사선을 조사할 수 있도록 법적으로 허가하였으며, 이와 같은 조치는 세계시장에 대한 미국의 영향이라는 점에서 중요한 국제 단계로 평가됨. FDA는 과채류 및 향신료의 방사선조사를 허가하였고(1983), 이어서 돼지고기, 감자, 밀 및 밀가루의 조사를 허가하였음. 구주공동체 과학분과위원회는 조사식품의 안전성을 확인하기 위한 동물시험은 더 이상 필요가 없다는 평가를 인정하였으며, 1980년의 JECFI의 결론을 인준하였음.

- 1988 : 스위스 제네바에서 FAO, WHO, IAEA 및 국제교역센터(UNCTAD)/GATT 공동으로 개최된 조사식품에 대한 수용성, 규제 및 교역에 관한 국제회의에 약 80개국의 대표가 참석하여 식품조사에 대하여 소비자와 교역의 전망에 관한 결의문을 채택하였음.

- 1992 : WHO에서는 IOCU(국제소비자연맹)와 공동으로 최근 조사식품의 안전성을 재평가하면서 식품제조기준에 따라 방사선 조사기법이 엄격히 이용된다면 영양학적으로나 미생물학적으로 전혀 문제가 없다고 발표하고 있음.

- 1992 : 안전한 식품의 조리를 위한 WHO의 황금율(The WHO Golden Rules for Safe Food Preparation)에서 “가능하면 감마선으로 처리된 신선하고 냉동된 가금육(닭, 새고기)를 선택하여야 한다.” 라고 발표하였음.

- 1997 : 고선량 조사에 관한 WHO/FAO/IAEA(제네바, 1997년 9월 15~20일) 공동전문가 자문위원회에서 “50년 이상에 걸쳐 평균 75 kGy(10~100 kGy) 고선량 조사된 식품의 안전성을 연구한 결과 미생물학적, 영양학적, 독성학적으로 안

전하고 건전하며 영양적으로 충분하다.”라고 발표하였음.

- 2001 : 2001년 3월 12-16일 네덜란드 헤이그에서 개최된 Codex 회의에서 WHO 대표는 FAO/IAEA/WHO가 ICGFI Study Group에서 제시한 “어떠한 선량에서도 식품 방사선 조사는 소비하기에 안전하며 영양학적으로 적절하다”는데 자신감을 표명하였음. 또한, 2-DCB에 관한 염려가 표출되었으나 과학적 증거자료를 통하여 2-DCB가 공중보건상 위해가 없다고 밝혔음.

- 2002 : 1981년에 발표된 WHO의 방사선 조사식품의 안전성과 건전성 보고서를 근간으로 한 수많은 동물 및 인체 급여 실험을 통하여 방사선 조사된 지방질 함유 식품의 안전성과 이와 관련한 1986년 유럽연합(EC) 위원회의 적절한 조건 하에 본 기술의 사용을 수용한다는 방사선 식품조사에 관련한 보고서를 토대로 지방질을 함유한 방사선 조사식품의 안전성을 재확인함(자료 : Statement of the Scientific Committee on Food on a Report on 2-alkylcyclobutanones, SCF/CS/NF/IRR/26 Add 3 Final, Health & Consumer Protection Directorate-General, European Commission, July 3, 2002).

- 2002 : 2002년 10월 WHO/FAO/IAEA 공동 전문가 위원회에서 세계보건기구 및 국제식량농업기구의 대표가 공식적으로 방사선 조사식품의 안전성은 전혀 문제가 없다고 공식 입장 발표.

- 식품의 위생화를 위해 이미 설정된 10 kGy 이하의 선량제한이 미흡하다는 기술적인 문제점이 많이 보고되고 있으며, 이에 따라 완전살균과 장기저장을 위해서는 10 kGy이상의 고선량 조사가 필요함을 인식함. 이미 프랑스와 미국은 고선량 조사식품에 대한 안전성 평가를 토대로 향신료의 경우 최고 30 kGy의 조사를 허가하고 있음.

- 네덜란드는 고선량의 방사선조사 안전성평가를 통해 면역결핍 환자 등을 위한 완전 멸균식의 경우 75 kGy 조사선량을 허가하고 있으며, 영국과 같은 나라에서도 방사선 멸균 병원식(hospital diets)를 위해 선량 제한을 두고 있지 않는 실정임.

- 선진국에서는 고품질 장기보존 편의식품(high-quality shelf-stable convenience foods) 및 즉석식품(ready-to-eat/ready-to-cook foods)의 개발에 고선량의 방사선조사가 이용되고 있으며, 이들 식품은 일반인들 뿐만 아니라 우주비행사, 군인, 장기캠핑인 들을 위해서도 개발이 진행 중임. 남아프리카의 경우, shelf-stable meat product의 마케팅에 최소 45 kGy의 방사선조사를 허가하고 있음.

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

1. 연구방법 및 내용

가. 방사선 조사 환경에 따른 미생물의 저항성 평가

(1) 시험재료 및 방법

시험에 사용된 균주는 실험실 보유균주와 한국생명공학연구원 생물자원센터 (Korean collection for type cultures, KCTC) 및 질병관리본부 병원체방어연구팀에서 구입한 *Bacillus cereus* KCTC 1012, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Escherichia coli* O157 NCCP 14034, MRSA(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*)NCCP 12298를 사용하였다. 사용배지로는 Tryptic soy broth(TSB, Difco. Co.)와 Plate count agar(PCA, Difco. Co.)를 사용하였다.

(2) 방사선 조사

감마선 조사는 한국원자력연구원 방사선과학연구소(Jeongeup, Korea) 내 선원 11.1 PBq, Co-60 감마선 조사시설 (point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 시간당 10 kGy의 선량율로 각각 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4 및 5 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter (5 mm, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구 (IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다. 시료는 실험 시작 전까지 4℃에 보관하였다.

(3) 방사선 조사 환경에 따른 미생물의 저항성 평가

B. cereus KCTC 1012, *St. aureus* KCTC 1916, *E. coli* O157 NCCP 14034, MRSA(methicillin resistant *St. aureus*)NCCP 12298에 대한 조사 시 환경에 따른 저항성을 검토하고자 pH, 염도, 온도, 산소유무를 달리하여 방사선 조사를 실시하였다. pH와 염농도에 따른 저항성을 검토하기 위하여 배지를 각각 pH 3~10, 염농도 1~15%로 달리 제조하였으며, 온도에 따른 저항성 검토는 방사선 조사시 온도를 -20, 4 및 실온(25℃)을 유지하여 실시하였다. 또한 배지의 공기 접촉을 막아 산소 유무에 따른 조사를 실시하여 저항성을 검토하였다. 이 때 시험 균주 3 주는 TSB에 각각 37℃에서 24시간 씩 2차례 배양하여 조사 시 초기농도를 10^6 - 10^7 CFU/mL 수준이

되도록 하였으며, 배지는 TSB와 Plate count agar(PCA, Difco. Co.)를 사용하였다. 조사 후 멸균수 (0.85%, NaCl, 0.1%, Pepton)를 이용하여 10진 희석법에 의해 PCA에 도말 한 후 37°C에서 24 시간 배양한 후 계수하여 1 ml당 log 집락형성 단위(colony forming unit, CFU)로 나타냈다. 검출을 위한 최소계수 한계치는 1 log CFU/ml이었다.

나. 식품시스템내에서의 미생물의 방사선감수성 평가

(1) 감마선 감수성 측정

1) 멸균 및 균주 접종

병원성 미생물인 *B. cereus* KCTC 1012의 감마선 감수성을 측정하기 위하여 생식, *St. aureus* KCTC 1916, MRSA(methicillin resistant *St. aureus*)NCCP 12298 는 슬라이스햄, *E. coli* O157 NCCP 14034는 생소고기 다짐육을 이용하여 접종실험을 하였다. 시험균주를 TSB 10 mL에 접종하여 24시간 배양시킨 배양액 0.2 mL를 취해 새로운 배지 10 mL에 접종하여 24시간 동안 2차례 배양한 후 그 배양액을 실험에 사용하였으며, 생식, 슬라이스햄, 생소고기다짐육은 각각 10 g씩 PE nylon bag에 넣은 다음 균수가 10^6 - 10^7 CFU/g 수준이 되도록 접종하였다.

2) 감마선 조사

감마선 조사는 한국원자력연구원 방사선과학연구소(전북 정읍 소재) 내 선원 11.1 PBq, Co-60 감마선 조사시설을 이용하여 시간당 10 kGy의 선량율로 각각 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5 및 6 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구 (IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다.

3) 미생물 분석

접종 후 조사한 시료 10 g에 멸균수 90 mL를 첨가한 다음 3분간 균질기 (Stomacher, Mark II Lab Blender, Tekmar Teledyne Technologies Inc., Mason, Ohio, USA)로 균질화 한 후, *B. cereus* KCTC 1012는 *B. cereus* medium, *St. aureus* KCTC 1916, MRSA NCCP 12298는 Mannitol salt agar(Difco Co.), *E. coli* O157 NCCP 14034는 MacConkey sorbitol agar를 이용하여 37°C에서 48시간 배양한 후 형성된 집락을 계수하여 상법에 따라 산출하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 방사선 조사 환경에 따른 미생물의 저항성 평가

(1) *B. cereus* KCTC 1012

환경(pH, 염농도, 온도, 산소유무)를 달리 하여 흡수선량별로 감마선을 조사된 후 생육균수를 확인한 결과를 Table 1~4에 나타내었다.

1) pH에 따른 저항성

성장 최적조건인 pH 7의 선량별 생육균수는 접종 시 6.68 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy 조건에서는 각각 5.48, 4.40, 2.41, 1.77, 1.61 log CFU/ml으로 선량증가에 따라서 감소하였다. 1 kGy 이상에서는 집락이 발견되지 않았으며, 산출된 D_{10} value는 0.167 kGy를 나타냈다. pH 8에서는 D_{10} value 0.142 kGy를 나타내었다(Table 1). 이는 방사선 조사 시에도 생육최적 pH 범위인 pH 7 내외에서 높은 저항성을 나타낸 것으로 보인다.

Table 1. Radiation survival viable cells of *B. cereus* KCTC 1012 at altered by pH of medium

pH	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)							
con (7)	6.68	5.48	4.40	2.41	1.77	1.61	ND ¹⁾	0.167
3	6.63	5.53	4.34	2.61	1.65	1.47	ND	0.09
4	6.64	5.54	4.15	2.54	1.93	1.47	ND	0.105
5	6.63	5.38	4.44	2.91	1.93	1.1	ND	0.135
6	6.66	4.84	4.08	2.49	1.43	1.12	ND	0.136
8	6.65	4.55	3.89	2.43	1.30	1.16	ND	0.142
9	6.67	4.11	3.50	1.90	1.30	1.00	ND	0.140
10	6.66	4.07	2.84	1.84	1.60	1.00	ND	0.140

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

2) 염도에 따른 저항성

배지에 NaCl을 첨가하여 배지의 염농도를 1%에서 15%까지 달리하여 감마선 조사를 실시한 결과, 염농도가 낮은 1%의 선량별 생육균수는 초기 6.63 log CFU/ml였으며 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy에서는 각각 5.53, 4.34, 2.61, 1.65, 1.47log CFU/ml이었고, 1 kGy에서는 생육하지 않았다. D₁₀ value는 0.164 kGy로 염을 첨가 하지 않은 군과 비슷한 경향을 보였고, 염의 농도가 가장높은 15%일 때 D₁₀ value 가 0.202 kGy로 가장 높은 저항성을 나타내었다. 염농도 증가에 따라 저항성이 증가 하는 것으로 나타났다(Table 2).

Table 2. Radiation survival viable cells of *B. cereus* KCTC 1012 by NaCl in medium

NaCl (%)	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)							
0	6.68	5.48	4.40	2.41	1.77	1.61	ND ¹⁾	0.167
1	6.63	5.53	4.34	2.61	1.65	1.47	ND	0.164
3	6.64	5.54	4.15	2.54	1.93	1.47	ND	0.170
5	6.63	5.38	4.44	2.91	1.93	1.1	ND	0.170
7	6.66	4.84	4.08	2.49	1.43	1.12	ND	0.171
9	6.65	4.55	3.89	2.43	1.30	1.16	ND	0.173
11	6.67	4.11	3.50	1.90	1.30	1.00	ND	0.183
13	6.66	4.07	2.84	1.84	1.60	1.00	ND	0.186
15	6.64	3.17	2.60	1.65	1.30	1.00	ND	0.202

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

3) 온도에 따른 저항성

조사시 온도를 25(실온), 4, -20℃를 유지하면서 감마선 조사를 실시하여 저항성을 검토한 결과, -20℃에서 조사한 선량별 생육균수는 초기 6.67 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 kGy에서는 각각 4.01, 4.11, 3.38, 2.00 log CFU/ml를 나타냈고, 0.9 kGy 이상에서는 균이 생육하지 않은 것으로 나타났다. D₁₀ value는 0.162 kGy로 저온처리한 경우 실온(25℃)보다 낮은 저항성을 보였다.(Table 3).

4) 산소유무에 따른 저항성

공기를 제거한 상태에서 조사한 선량별 생육균수의 경우, 초기 6.66 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy에서는 각각 5.22, 4.05, 2.39, 1.91, 1.11 log CFU/ml으로 나타났고, 1 kGy에서는 생육하지 않았다. D₁₀ value는 0.159 kGy로 산소가 없는 혐기 조건에서 방사선 조사시 낮은 저항성을 보였다(Table 4).

Table 3. Radiation survival viable cells of *B. cereus* KCTC 1012 by temperature in medium

Temperature (°C)	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)							
con(RT)	6.68	5.48	4.40	2.41	1.77	1.61	ND ¹⁾	0.167
4	6.66	5.00	4.05	3.39	3.20	1.11	ND	0.161
-20	6.67	4.95	4.01	3.38	2.00	ND	ND	0.162

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

Table 4. Radiation survival viable cells of *B. cereus* KCTC 1012 by anaerobic condition in medium

anaerobic Condition	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)							
con(RT)	6.68	5.48	4.40	2.41	1.77	1.61	ND ¹⁾	0.167
anaerobic	6.66	5.22	4.05	2.39	1.91	1.11	ND	0.159

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

(2) *St. aureus* KCTC 1916

환경(pH, 염농도, 온도, 산소유무)를 달리 하여 흡수선량별로 감마선이 조사된 후 생육균수를 확인한 결과를 Table 5~8에 나타내었다.

1) pH에 따른 저항성

성장 최적조건인 pH 7의 선량별 생육균수는 접종 시 6.99 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy 조건에서는 각각 5.77, 5.26, 4.17, 2.18, 1.30 log CFU/ml으로 선량증가에 따라서 감소하였다. 1 kGy 이상에서는 집락이 발견되지 않았으며, 산출된 D₁₀ value는 0.152 kGy를 나타냈다. pH 8에서는 D₁₀ value 0.167 kGy를 나타내어 가장 높은 저항성을 보였다(Table 5). 이는 방사선 조사 시에도 생육최적 pH 범위인 pH 7 내외에서 높은 저항성을 나타낸 것으로 보인다.

2) 염도에 따른 저항성

배지에 NaCl을 첨가하여 배지의 염농도를 1%에서 15%까지 달리하여 감마선 조사를 실시한 결과, 염농도가 낮은 1%의 선량별 생육균수는 초기 6.98 log CFU/ml였으며 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy에서는 각각 5.53, 5.19, 4.02, 3.41, 2.65 log CFU/ml이었고, 1 kGy에서는 1.18 CFU/ml로 나타났으며, 1.5 kGy에서는 생육하지 않았다. D₁₀ value는 0.191 kGy로 염을 첨가 하지 않은 군보다 높은 D₁₀ value 값을 보였고, 염의 농도가 7%일 때 D₁₀ value 가 0.199 kGy로 가장 높은

저항성을 나타내었다. 이후 증가된 염농도에 따라 D₁₀ value가 다소 감소하는 경향을 보임으로써 염농도에 비교적 저항적인 *St. aureus*가 7%까지는 염농도 증가에 따라 저항성이 증가하지만 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향인 것으로 나타났다(Table 6).

Table 5. Radiation survival viable cells of *St. aureus* KCTC 1916 at altered by pH of medium

pH	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)							
con (7)	6.99	5.77	5.26	4.17	2.18	1.30	ND ¹⁾	0.152
3	6.98	3.65	1.44	ND	ND	ND	ND	0.076
4	6.99	5.49	4.77	3.44	2.00	ND	ND	0.144
5	6.99	5.58	5.23	4.29	1.95	1.30	ND	0.153
6	6.98	5.61	5.24	3.69	2.04	1.39	ND	0.159
8	6.98	4.91	3.89	2.41	1.90	1.43	ND	0.167
9	6.99	4.66	3.39	2.30	1.60	1.47	ND	0.147
10	6.98	4.38	3.20	2.11	1.30	1.30	ND	0.147

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

3) 온도에 따른 저항성

조사시 온도를 25(실온), 4, -20℃를 유지하면서 감마선 조사를 실시하여 저항성을 검토한 결과, -20℃에서 조사한 선량별 생육균수는 초기 6.99 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 kGy에서는 각각 4.95, 4.11, 3.38, 2.00 log

CFU/ml를 나타냈고, 0.9 kGy 이상에서는 균이 생육하지 않은 것으로 나타났다. D₁₀ value는 0.163 kGy로 저온처리한 경우 실온(25℃)보다 높은 저항성을 보였다.(Table 7).

4) 산소유무에 따른 저항성

공기를 제거한 상태에서 조사한 선량별 생육균수의 경우, 초기 6.88 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy에서는 각각 5.55, 5.18, 4.22, 2.19, 1.45 log CFU/ml으로 나타났고, 1 kGy에서는 생육하지 않았다. D₁₀ value는 0.150 kGy로 산소 유무에 따른 방사선 저항성의 차이를 보이지 않았다(Table 8). 이는 *St. aureus*가 통성혐기성의 성장 특성에서 비롯된 것으로 보인다.



Table 6. Radiation survival viable cells of *St. aureus* KCTC 1916 by NaCl in medium

NaCl 1 (%)	Radiation dose(kGy)								D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	1.5	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)								
0	6.99	5.77	5.26	4.17	2.18	1.30	ND ¹⁾	ND	0.152
1	6.98	5.53	5.19	4.02	3.41	2.65	1.18	ND	0.191
3	6.99	5.49	5.26	4.00	3.33	2.67	1.70	ND	0.197
5	6.99	5.49	5.07	3.93	3.30	2.67	1.68	ND	0.198
7	6.98	5.48	4.99	3.93	3.28	2.65	1.65	ND	0.199
9	6.98	5.44	4.98	3.90	3.23	2.57	1.51	ND	0.197
11	6.99	5.40	4.98	3.87	3.22	2.41	1.49	ND	0.196
13	6.98	5.37	4.97	3.85	3.18	2.34	1.43	ND	0.195
15	6.97	5.10	4.96	3.84	3.13	2.27	1.38	ND	0.195

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

Table 7. Radiation survival viable cells of *St. aureus* KCTC 1916 by temperature in medium

Temperature (°C)	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
viable cells (log ₁₀ CFU/ml)								
con(RT)	6.99	5.77	5.26	4.17	2.18	1.30	ND ¹⁾	0.152
4	6.98	5.00	4.05	3.39	3.20	ND	ND	0.161
-20	6.99	4.95	4.11	3.38	2.00	ND	ND	0.163

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

Table 8. Radiation survival viable cells of *St. aureus* KCTC 1916 by anaerobic condition in medium

anaerobic Condition	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
viable cells (log ₁₀ CFU/ml)								
con(RT)	6.99	5.77	5.26	4.17	2.18	1.30	ND ¹⁾	0.152
anaerobic	6.98	5.55	5.18	4.22	2.19	1.45	ND	0.150

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

(3) MRSA NCCP 12298

환경(pH, 염농도, 온도, 산소유무)을 달리 하여 흡수선량별로 감마선이 조사된 후 생육균수를 확인한 결과를 Table 5~8에 나타내었다.

1) pH에 따른 저항성

pH 7에서의 선량별 생육균수는 초기에는 7.27 log CFU/ml을 보였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1, 1.5 kGy에서는 각각 7.11, 5.90, 5.69, 5.04, 4.74, 4.47, 2.7 log CFU/ml를 나타냈고, 2 kGy에서는 1.60 log CFU/ml를 보였다. 한편, D₁₀ value는 0.35 kGy로 일반 *S. aureus*에 비해 매우 높은 저항성을 갖는 것으로 나타났다. pH 8에서도 0.343으로 높은 저항성을 보였지만 pH 7에서 가장 높은 저항성을 나타냈다. 이는 *St. aureus* KCTC 1916의 경우 pH 8에서 최대 저항성을 보인 것과 유사한 결과로 최적 생육 pH에서 최대 저항성을 나타낸 것으로 보인다 (Table 9).

2) 염도에 따른 저항성

배지에 NaCl을 첨가하여 배지의 염농도를 1%에서 15%까지 달리하여 감마선 조사를 실시한 결과, 염농도가 가장 낮은 1%의 선량별 생육균수를 살펴보면 초기 7.24 log CFU/ml였으며 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1, 1.5 kGy에서는 각각 7.11, 5.90, 5.69, 5.04, 4.74, 4.47, 2.70 log CFU/ml를 나타냈고, 2 kGy에서는 1.60 log CFU/ml를 보였으며, 2.5 kGy에서는 생육하지 않았다. 이때 D₁₀ value는 0.350 kGy로 염을 첨가하지 않은 경우에 비해 다소 높은 저항성을 보인 듯했으나, 이후 3~13% 범위에서는 5%에서 저항성이 가장 낮았고 13%까지 농도가 증가함에 따라 점차 증가하는 경향을 보였다. 그러나 15% 염농도에서는 D₁₀ value값이 0.22 kGy로 가장 낮은 저항성을 보여 높은 염농도에서 방사선 조사에 대한 높은 감수성을 보였다(Table 10).

Table 9. Radiation survival viable cells of MRSA NCCP12298 at altered by pH of medium

pH	Radiation dose(kGy)									D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	1.5	2.0	
viable cells (log ₁₀ CFU/ml)										
con (7)	7.27	6.95	6.07	5.65	4.10	3.87	3.60	2.38	1.30	0.346
3	7.24	4.96	3.54	1.89	ND ¹⁾	ND	ND	ND	ND	0.104
4	7.26	5.67	4.77	3.69	2.60	1.98	1.30	ND	ND	0.213
5	7.28	6.95	6.07	5.49	4.00	3.78	3.23	2.13	ND	0.279
6	7.28	6.90	6.04	5.49	4.00	3.80	3.49	2.20	ND	0.282
8	7.25	6.84	6.00	5.46	4.04	3.81	3.59	2.25	1.00	0.343
9	7.24	6.10	4.84	4.54	3.74	3.49	3.16	2.36	ND	0.319
10	7.27	6.07	4.68	4.23	3.69	3.25	2.17	3.17	ND	0.318

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

Table 10. Radiation survival viable cells of MRSA NCCP 12298 by NaCl in medium

NaCl (%)	Radiation dose(kGy)									D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	1.5	2.0	
viable cells (log ₁₀ CFU/ml)										
0	7.27	6.95	6.07	5.65	4.10	3.87	3.60	2.38	1.30	0.346
1	7.24	7.11	5.90	5.69	5.04	4.74	4.47	2.70	1.60	0.350
3	7.27	7.04	5.90	5.48	4.68	4.60	4.38	2.67	ND ¹⁾	0.299
5	7.26	6.90	5.47	5.27	4.41	4.21	3.66	2.61	ND	0.296
7	7.28	6.74	5.49	4.60	4.27	4.17	3.43	2.59	ND	0.299
9	7.25	6.67	5.32	4.49	4.17	3.30	3.21	2.32	ND	0.300
11	7.24	6.44	5.17	4.46	3.73	3.25	2.79	2.25	ND	0.303
13	7.27	6.18	5.11	4.34	3.69	2.95	2.72	2.18	ND	0.307
15	7.28	6.15	4.90	4.04	3.43	2.65	2.32	2.18	ND	0.22

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

3) 온도에 따른 저항성

조사시 온도를 실온(25℃), 4, -20℃를 유지하면서 감마선 조사를 실시하여 저항성을 검토한 결과 -20℃에서 조사한 선량별 생육균수는 초기 7.27 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.0, 1.5 kGy에서는 각각 6.82, 5.79, 5.25, 4.03, 3.70, 3.29, 2.25 log CFU/ml로 나타났다. 2 kGy에서는 1 log CFU/ml를 보였다. D₁₀ value는 0.343 kGy로 실온에서 조사한 경우와 큰 차이를 보이지 않았으며, 4℃의 온도를 유지하면서 조사한 균의 D₁₀ value는 0.296으로 낮은 저항성을 보였다(Table 11).

4) 산소유무에 따른 저항성

공기를 제거한 상태에서 조사한 선량별 생육 균수의 경우, 7.52 log CFU/ml였으며 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.0, 1.5 kGy에서는 각각 7.26, 6.64, 6.08, 5.91, 4.51, 4.45, 2.89 log CFU/ml로 나타났다. 또한 2 kGy에서는 2 log CFU/ml로 나타났다. 한편, D₁₀ value는 0.337 kGy로 다소 낮은 값을 나타냄으로서 산소가 없는 혐기조건에서는 방사선 저항성이 다소 낮아지는 경향을 보여 *St.aureus* KCTC 1916의 경우보다는 혐기조건에서 약간 높은 감수성을 보인 것으로 판단된다(Table 12).

KAERI

Table 11. Radiation survival viable cells of MRSA NCCP 12298 by temperature in medium

Temperature (°C)	Radiation dose(kGy)										D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	1.5	2.0		
viable cells (log ₁₀ CFU/ml)											
con(RT)	7.27	6.95	6.07	5.65	4.10	3.87	3.60	2.38	1.30		0.346
4	7.27	6.60	5.87	5.07	3.93	3.47	3.36	2.54	ND ¹⁾		0.296
-20	7.27	6.82	5.79	5.25	4.03	3.70	3.29	2.25	1		0.343

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

Table 12. Radiation survival viable cells of MRSA NCCP 12298 by anaerobic condition in medium

anaerobic Condition	Radiation dose(kGy)										D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	1.5	2.0	2.5	
viable cells (log ₁₀ CFU/ml)											
con(RT)	7.27	6.95	6.07	5.65	4.10	3.87	3.60	2.38	1.30	ND ⁻¹⁾	0.346
anaerobic	7.52	7.26	6.64	6.08	5.91	4.51	4.45	2.89	2	ND	0.337

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

(4) *E.coli* O157 NCCP 14034

환경(pH, 염농도, 온도, 산소유무)를 달리 하여 흡수선량별로 감마선이 조사된 후 생육균수를 확인한 결과를 Table 9~12에 나타내었다.

1) pH에 따른 저항성

pH 7에서의 선량별 생육 균수는 초기에는 6.38 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.90 kGy에서는 각각 5.53, 4.60, 4.40, 3.32, 2.88 log CFU/ml으로 역시 선량 증가에 따라 감소하였다. 또한 1 kGy에서는 1.60 log CFU/ml로 나타났고, D₁₀ value는 0.240 kGy였다. 이는 시험한 전 pH 구간 중에서 가장 저항성이 높은 결과였으며, pH 7보다 낮거나 높을수록 저항성이 감소하였다(Table 13).

Table 13. Radiation survival viable cells of *E.coli* O157 NCCP 14034 at altered by pH of medium

pH	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
viable cells (log ₁₀ CFU/ml)								
con (7)	6.38	5.54	4.60	4.40	3.32	2.88	1.60	0.240
3	6.36	4.45	3.11	1.30	ND ¹⁾	ND	ND	0.115
4	6.36	5.80	4.47	2.88	2.11	ND	ND	0.157
5	6.36	5.82	4.90	3.38	1.90	1	ND	0.200
6	6.32	5.93	4.70	3.66	2.73	1.84	1.40	0.227
8	6.34	5.92	4.47	3.52	2.34	1.82	1.30	0.229
9	6.34	5.60	4.40	3.50	2.36	1.77	1	0.195
10	6.32	4.84	4.18	3.25	1.60	ND	ND	0.154

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

2)염도에 따른 저항성

배지에 NaCl을 첨가하여 배지의 염농도를 1%에서 15%까지 달리하여 감마선 조사를 실시한 결과, 염농도가 가장 낮은 1%의 선량별 생육균수를 살펴보면 초기 6.36 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy에서는 각각 5.53, 4.53, 4.14, 3.19, 2.69 log CFU/ml를 나타냈고, 1 kGy에서는 1.53 log CFU/ml를 보였다. 또한 이 때 D₁₀ value는 0.235 kGy로 염을 첨가 하지 않은 군보다 다소 낮은 값을 나타냈다. 이후 염농도가 증가함에 따라 저항성이 감소하는 경향을 보였다. 염의 농도가 가장 높은 15% 조건에서는 D₁₀ value값이 0.207 kGy로 시험 전구간에서 가장 낮은 저항성을 보였다(Table 14).

Table 14. Radiation survival viable cells of *E.coli* O157 NCCP 14034 by NaCl in medium

NaCl (%)	Radiation dose(kGy)								D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	1.5	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)								
0	6.38	5.54	4.60	4.40	3.32	2.88	1.60	ND ¹⁾	0.242
1	6.36	5.53	4.53	4.14	3.19	2.69	1.53	ND	0.235
3	6.35	5.17	4.32	3.74	3.07	2.64	1.38	ND	0.239
5	6.35	5.14	4.25	3.63	3.04	2.46	1.38	ND	0.236
7	6.32	5.07	4.20	3.56	2.99	2.39	1.32	ND	0.236
9	6.34	5.04	4.17	3.56	2.74	2.30	1.32	ND	0.231
11	6.33	5.00	4.04	3.53	2.61	2.23	1.23	ND	0.227
13	6.32	5.00	4.04	3.14	2.43	2.17	1.11	ND	0.221
15	6.38	4.99	3.89	2.83	2.17	1.75	1.00	ND	0.207

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

3) 온도에 따른 저항성

조사 시 온도를 실온(25℃), 4, -20℃를 유지하면서 감마선 조사를 실시하여 저항성을 검토한 결과, 4℃에서 조사한 선량별 생육균수는 초기 6.34 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy에서는 각각 5.00, 4.17, 3.55, 2.741, 2.31 log CFU/ml로 나타났다. 또한 1 kGy에서는 1.30 log CFU/ml 으로 나타났다. 한편, D₁₀ value는 0.230 kGy로 실온에서보다 약간 낮은 경향이였다. 또한, -20℃에서 조사한 균의 D₁₀ value는 0.239 kGy로 실온에서의 경우와 근사치를 나타냈다(Table 15).

Table 15. Radiation survival viable cells of *E.coli* O157 NCCP 14034 by temperature in medium

Temperature (°C)	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)							
con(RT)	6.38	5.54	4.60	4.40	3.32	2.88	1.60	0.240
4	6.34	5.00	4.17	3.55	2.74	2.31	1.30	0.230
-20	6.35	5.17	4.30	3.75	3.07	2.65	1.35	0.239

4) 산소유무에 따른 저항성

공기를 제거한 상태에서 조사한 선량별 생육균수는 초기 6.35 log CFU/ml였으며, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 kGy에서는 각각 5.52, 4.55, 4.13, 3.17, 2.65 log CFU/ml를 나타냈고, 1 kGy에서는 1.50 log CFU/ml으로 나타났다. D₁₀ value는 0.234 kGy로 다소 낮은 값을 나타내었지만 산소의 유무가 방사선 감수성에 크게 영향을 주지 않는 것으로 사료된다(Table 16).

Table 16. Radiation survival viable cells of *E.coli* O157 NCCP 14034 by anaerobic condition in medium

anaerobic Condition	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)							
con(RT)	6.38	5.54	4.60	4.40	3.32	2.88	1.60	0.240
anaerobic	6.36	5.53	4.53	4.14	3.19	2.69	1.53	0.235

나. 식품시스템내에서의 미생물의 방사선 감수성 평가

(1) 생식을 이용한 감수성 평가

생식에 *B. cereus*를 접종한 후 방사선 감수성을 측정하였다. 먼저 생식에 균주를 접종한 후 0~3 kGy까지 조사하여 실험한 결과는 Table 17과 같다. *B. cereus*를 생식에 접종하였을 때 초기균수는 6.67 Log CFU/g로 나타났으며, 2 kGy로 조사하였을 때는 2.60 log CFU/g으로 감소하였다. 또한 3 kGy로 조사하였을 경우에는 균이 검출되지 않았다. 이 결과를 토대로 하여 생식에 오염된 *B. cereus*의 방사선 감수성을 측정한 결과 0.597 kGy으로 나타나 식품시스템에서 *B. cereus*의 방사선에 대한 저항성이 강한 것으로 나타났다.

(2) 슬라이스 햄을 이용한 감수성 평가

슬라이스햄에 *St. aureus* 와 MRSA 접종한 후 방사선 감수성을 측정하였다. 먼저 슬라이스햄에 두 균주를 접종한 후 0~3 kGy까지 조사하여 실험한 결과는 Table 18과 같다. *S. aureus*를 슬라이스햄에 접종하였을 때, 초기균수는 6.82 Log CFU/g로 나타났으며 1 kGy로 조사하였을 때 1.60 log CFU/g으로 감소하였다. 1.5 kGy 이상 조사했을 때는 집락이 관찰되지 않았다. MRSA의 경우, 초기 균수는 7.92 log CFU/g에서 2 kGy로 조사하였을 때 1.60 log CFU/g으로 감소하였으며 3 kGy로 조사하였을 경우 균이 검출되지 않았다. 앞의 결과를 토대

로 하여, 슬라이스햄에 오염된 *St. aureus*와 MRSA의 감마선 감수성을 측정 한 결과, *St. aureus* 및 MRSA는 각각 0.226 및 0.398 kGy으로 나타나 MRSA가 일 반 *St. aureus*에 비해 감마선에 대한 내성이 훨씬 강한 것으로 나타났다.

Table 17. Effects of gamma irradiation on the growth of *B. cereus* in Saengsik

Microorganisms	Radiation dose(kGy)							D ₁₀ value
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)							
<i>B. cereus</i>	6.97	4.92	3.34	2.48	2.60	1.67	ND ¹	0.597

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

Table 18. Effects of gamma irradiation on the growth of *St. aureus* and MRSA in sliced ham

Microorganisms	Radiation dose(kGy)											D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	1.5	2.0	2.5	3	
	viable cells (log ₁₀ CFU/ml)											
<i>St.aureus</i>	6.82	5.48	4.72	3.88	2.57	1.90	1.60	ND ¹⁾	ND	ND	ND	0.226
MRSA	7.92	7.68	6.32	5.79	3.64	3.32	3.20	2.74	1.60	1	ND	0.398

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

(4) 생소고기 다짐육을 이용한 감수성 평가

생소고기 다짐육에 *E. coli* O157를 접종한 후 방사선 감수성을 측정하였다. 먼저 생소고기 다짐육에 균주를 접종한 후 0~3 kGy까지 조사하여 실험한 결과는 Table 19와 같다. *E. coli* O157를 생소고기 다짐육에 접종하였을 때 초기균수는 6.34 Log CFU/g로 나타났으며, 2 kGy로 조사하였을 때는 1.60 log CFU/g으로 감소하였다. 또한 2.5 kGy로 조사하였을 경우에는 균이 검출되지 않았다. 이 결과를 토대로 하여 생소고기 다짐육에 오염된 *E. coli* O157의 감마선 감수성을 측정한 결과 0.416 kGy으로 나타나 식품시스템에서 *E. coli* O157의 감마선에 대한 저항성이 강한 것으로 나타났다. Thayer 등(1995)은 멸균된 닭고기에 *S. Typhimurium*을 접종한 후 감마선 조사한 결과 3 kGy로 조사했을 경우 6 log cycle의 증식억제를 보였다고 보고하였으며, Yook 등(1998)은 우유에 오염시킨 병원세균의 방사선 감수성은 *E. coli*, *S. Typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *S. aureus* 및 *L. monocytogenes*는 각각 0.32, 0.54, 0.61, 0.44 및 0.37 kGy을 나타났다고 보고하였다. Kim 등(1998)은 *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 D₁₀ values는 0.63 및 0.59 kGy라고 보고하였으며, Thayer 등(1994)은 *B. cereus*의 endospore에 대한 D₁₀ 값은 소고기에서 2.78 kGy, 칠면조에서 1.90 kGy 및 돼지고기에서 2.78 kGy를 나타났다고 보고한 바 있다.

Table 19. Effects of gamma irradiation on the growth of *E.coli* O157 in chopped beef

Microorganisms	Radiation dose(kGy)										D ₁₀ value
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	1.5	2.0	2.5	
<i>E.coli</i> O157	6.34	5.91	5.34	4.75	4.32	4.00	3.64	2.48	1.60	ND ¹⁾	0.416

¹⁾ Viable colony was not detected at detection limit < 10¹ CFU/ml.

4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외 기여도

1. 목표달성도

본 연구에서는 점차 소비자의 먹거리 안전성의 중요도가 높아짐에 따라서 식품의 가공 저장중의 미생물에 의한 부패 및 변패의 원인인 병원성 미생물에 대하여 감마선을 조사하여 저장성 및 안전성 평가를 실시하였다. 주요 식품 미생물의 생육특성을 파악하여 방사선원(감마선) 저항특성, 방사선원의 에너지 수준별 저항특성 및 방사선 조사조건(pH, 온도, 산소유무 등)에 따른 저항특성을 파악하여 다양한 식품에 방사선 조사량을 예측하고 이를 적용함으로써 미생물에 의한 식품의 부패와 식중독 발병을 저감화 시키기 위한 기반을 확립하기 위함이다.

1. 온도 : 일반미생물의 치사범위이하인 45℃ 정도의 열처리만으로도 미생물에 대한 방사선 조사는 상당한 상승효과를 나타낸다. 이는 DNA의 손상 등에 대한 미생물의 복구작용이 환경온도 이상에서는 작동하지 않기 때문이다. 반대로 영양세포를 어느점 이하의 온도에서 방사선을 조사하면 상온에 비하여 방사선 저항성이 높아지는데 이는 어느점 이하에서 수분 활성도가 감소하고 물의 동결에 따라 radical의 확산이 제한되기 때문이다. 결과에서 보듯이 *B. cereus*, *St. aureus*, MRSA, *E.coli* O157의 감마선 감수성을 측정한 결과 온도가 낮은 -20, 4℃를 유지하면서 선량을 흡수하여도 RT와의 D₁₀ value값은 크게 차이를 보이지 않았다.
2. pH : *B. cereus*, *S.aureus*, MRSA, *E.coli* O157의 방사선 조사시 pH범위가 3-5에서는 저항성이 낮아지는 경향을 보였으며, pH범위 6-8에서는 방사선 저항성이 비교적 증가함을 보였다.
3. 염도 : 낮은 농도인 NaCl 1%에서는 세 균주 모두 방사선 저항성이 증가하는 경향을 보였으며, *E.coli* O157 경우는 염농도 9%에서 까지 저항성에 대한 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.
4. 산소: 일반적으로 무산소의 조건보다는 유산소 조건에서 미생물에 대한 방사선의 살균 효과가 증가한다. 이는 산소의 유무에 따라 미생물의 생리적 대사과정과 radical의 생성정도가 달라지기 때문이다. 실험결과 세 균주 모두 배지상태의 무산소조건에서 유산소 조건과 방사선 저항성을 비교 하였을때 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났는데 이는 배지 자체의 포함된 산소로 인한 것으로 사료된다.

5. 식품 시스템에서의 방사선 저항성을 검토한 결과 배지를 이용하여 방사선 감수성을 검토한 것 보다 모두 저항성이 높게 나타났다. 이는 식품 시스템내에는 여러 주요 영양성분과 복합체로 되어 있기 때문에 조사 시 방사선 저항력이 커진 것으로 사료된다.



제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

오늘날 식품의 선진 위생화 방법인 HACCP(Hazard Analysis Critical Control Point) system에서 인증할 수 있는 공정이 간편하고 처리효과가 확실하며 안전하고 산업적으로도 환경오염이 없는 무공해 위생화 기술에 대한 요구가 증가하고 있다. 우리 농수산물의 수출증대와 국제경쟁력 제고를 위한 에너지 절약형 검역처리 기술 개발이 필요시 되는 시점에서 방사선기술을 기반으로 한 우리 농수산물의 고품질 상품화와 시장 확대를 위한 품질인증시스템 연구수행으로 산업생산성 향상을 도모할 수 있다. WHO, FDA, WTO 등의 국제기구도 식품에 대한 방사선 조사를 강력히 권고하고 있다. 미국, 중국, 일본 등 52개 국가에서 식품에 방사선 조사 실시하고 있으며 그 양은 매년 증가하고 있을 뿐 아니라 그 분야도 넓어지고 있다. 또한 이에 대한 기술개발과 적용으로 식인성 질병으로 인한 직접적 경제 손실뿐만 아니라 사회간접자본의 절감을 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 따라서, 국민 생활수준의 향상으로 식품 및 보건위생적 측면을 중시하는데 있어서 식품 및 의료 산업에서의 질병예방과 위생적 제품생산 기반을 확립하여 국민 보건향상과 경제적 생산성 증대를 도모할 것이다.



KAERI

제 6 장 참고문헌

- Aziz NH, Mahrous SR and Youssef BM. 2002. Effect of gamma-ray and microwave treatment on the shelf-life of beef products stored at 5°C. *Food Control* **13**:437-444.
- Byun MW. 1997. Application and aspect of irradiation technology in food industry. *Food Sci. Ind.* **30**:89-100.
- FAO/IAEA/WHO Study group. 1999. High dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. p. 1-93 In WHO Technical Report Series 890. World Health Organization, Geneva.
- Houser TA, Schrank JG, Maisonet WN, Cordray JC, Wiegand BR and Ahn DU. 2005. The effects of irradiation at 1.6 kGy on quality characteristics of commercially produced ham and pork frankfurters over extended storage. *J. Food Sci.* **70**:S262-S266.
- IFST, 2006. The Use of Irradiation for Food Quality 7:19
- Jo C, Lee NY, Kang HJ, Hong SP, Kim YH, Kim HJ and Byun MW, 2005. Radio-sensitivity of pathogens in inoculated prepared foods of animal origin. *Food Microbiol.* **22**:329-336.
- Kim S, Yook HS, Lee JW, Choi C and Byun MW. 1998. Sterilization of *Escherichia coli* O157:H7 contaminated beef by gamma irradiation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**:1209-1213.
- Kim WS, Chung MS and Ko YT. 1998b. Effects of low dose gamma ray and electron beam irradiation on growth of microorganisms in beef during the refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **18**:232-239.
- Korea Food and Drug Administration. Food Code. KFDA. Munyoungsa, Seoul, Korea.
- Kwak HJ, Chung CK and Kang IJ. 2001. Microbiological and genotoxicological safety of gamma-irradiated chicken. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* **17**:617-624.
- Lee NY, Jo C, Jung HJ, Kang HJ, Kim JK, Kim HJ and Byun MW. 2005. Prediction of the origin of microbial contamination in *Kimbab* and improvement of microbiological safety by gamma irradiation. *Korean J.*

- Food Sci. Technol.* **37**:279–286.
- Lee JW, Lee KH, Yook HS, Lee HJ and Byun MW. 1999. Sanitizing and extending of shelf life of chicken meat by gamma irradiation. *J. Fd. Hyg. Safety.* **14**:160–166.
- NASA. 2003. Advanced food technology workshop report (Vol. I). *In advanced Life Support Project Plan.* CTSD-ADV-348 Rev C, JSC-29993, Houston, Texas. p. 1–2.
- Song TH, Kim DH, Park BJ, Shin MG and Byun MW. 2001. Changes in microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *Kanjang* and *Shoyu*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**:338–344.
- meats and in beef gravy by gamma irradiation. *J. Food Prot.* **57**:758–764.
- Thayer DW, Boyd G and Fox JB, Lakritz L. 1995. Effects of NaCl, sucrose, and water content on survival of *Salmonella typhimurium* on irradiated pork and chicken. *J. Food Prot.* **58**:490–496.
- Wonjick-Stopczynska B, Falkowski J and Jakubowska B. 2002. Microbiologic evaluation of instant soup concentrates. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* **53**:149–156.
- WHO. 1981. Report of the WHO/WAVFH round conference on the present status of the *Salmonella* problem (prevention and control), Bilthoven. The Netherlands 6–10 Oct. 1980. VPH/81/27.
- Yook HS, Kim S, Lee KH, Kim YJ, Kim KP and Byun MW. 1998. Gamma-radiation sensitivity of pathogenic bacteria in beef. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**:1432–1438.
- Yook HS, Lee EH, Kim DH, Lee KH, Lee HJ, Lee YN and Byun MW. 2000. Genotoxicological safety on water-soluble fraction of gamma irradiated Korean soybean fermentation foods. *J. Fd. Hyg. Safety.* **15**(4):297–303.

서 지 정 보 양 식					
수행기관보고서번호	위탁기관보고서번호	표준보고서번호	INIS주제코드		
KAERI/CM-1304/2009					
제목/부제	고선량 조사에 의한 식품미생물의 사멸특성 연구				
연구책임자 및 부서명	황한준 (고려대학교 식품생명공학과)				
연구자 및 부서명	이은정, 유현희, 이재호 (고려대학교 식품생명공학과)				
발행지	대전	발행기관	한국원자력연구원	발행일	2010. 4
페이지	32 p	도표	유(○), 무()	크기	26 cm
참고사항					
비밀여부	공개(○), 대외비(),	급비밀	보고서종류	위탁보고서	
연구위탁기관	고려대학교		계약 번호		
초록(300단어 내외)	<p>본 연구에서는 병원성 미생물(<i>Bacillus cereus</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>(MRSA) and <i>Escherichia coli</i> O157)를 이용하여 방사선 조사시 환경(pH, 염도, 온도, 산소유무)에 따른 방사선 저항성을 검토하였다. 또한 식품 시스템내에서의 방사선 저항성을 알아보기로 생식, 슬라이스햄, 소고기 생 다짐육을 이용하여 접종실험을 실시하였다. 방사선 조사는 3 kGy까지 실시하였다. 방사선 조사 후 생육 균수를 확인 하기 위해 plate count agar를 이용하였으며, pH(3-10), 염농도(1-15%), 온도(-20, 4, 25℃)를 달리 하였을때의 D₁₀-value 구하였다. 병원성 균주 모두 방사선 선량이 증가함에 따라 생육 균수는 1 log CFU/ml 로 감소하였다. 또한, 식품을 이용하여 접종실험을 실시한 결과 생식, 슬라이스햄, 생소고기 다짐육의 각각의 D₁₀-value는 각각 0.597, 0.226 , 0.398 and 0.416 kGy로 나타났다. 이 실험결과를 기초로 식품내에서의 병원성 미생물의 방사선 사멸의 기초선량으로 삼을수 있을 것으로 사료된다.</p>				
주제명키워드 (10단어내외)	방사선, 감마선, 전자선, 병원성미생물, 방사선저항성				

BIBLIOGRAPHIC INFORMATION SHEET					
Performing Org. Report No.	Sponsoring Org. Report No.	Standard Report No.	INIS Subject Code		
KAERI/CM-1304/2009					
Title/Subtitle	Studies on the radiation sensitivity of food microorganism by high dose irradiation				
Prject Manager and Dept.	Hwang Han-Joon (Department of Food and Biotechnology Korea University)				
Researcher and Dept.	Lee Eun Jung, Yu Hyun Hee, Lee Jae-ho (Department of Food and Biotechnology Korea University)				
Pub. Place	Daejeon	Pub. Org.	KAERI	Pub. Date	April. 2010
Page	32 pp.	Ill. and Tab.	Yes(○), No()	Size	26 cm
Note					
Classified	Open(○), Outside()	Class	Report Type		
Sponsoring Org.			Contract No.		
Abstract(about 300 words)	<p>We investigated the radio resistance of pathogenic microorganisms (<i>Bacillus cereus</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>(MRSA) and <i>Escherichia coli</i> O157) in irradiating environments. Their radiation conditions of pathogenic microorganisms varied with pH(3-10), salt concentration(1-15%), temperature(-20, 4 and 25°C) and atmospheric condition. In addition, the effect of γ-irradiation on the inactivation of pathogenic microorganisms inoculated into food (saengsik, sliced ham, chopped beef) was investigated. The radiation dose ranged from 0 to 3 kGy. The γ-irradiated <i>B.cereus</i>(γ-BC) <i>St.aureus</i>(γ-SA), MRSA(γ-MRSA) and <i>E.coli</i> O157(γ-EC) were then cultured and the viable cell count on plate count agar and D₁₀-values(dose required to inactivate 90% of a microbial population) were calculated. The number of pathogenic microorganisms at pH(3-10) and salt concentration(1-15%), temperature(-20, 4 and 25°C) and atmospheric condition decreased by 1 log CFU/ml after irradiation. The D₁₀-value of γ-SA in the optimum condition was 0.152 kGy, and these of γ-MRSA and γ-EC were 0.346 and 0.240 kGy, respectively. The initial cell counts of pathogenic microorganisms in culture broth were slightly decreased as the decrease of pH and the increase of salt concentration. However, radiation resistance of pathogenic microorganisms was increased at frozen state. Moreover, D₁₀-values of these is test strains in saengsik, sliced ham and chopped beef were 0.597, 0.226 , 0.398 and 0.416 kGy, respectively. These results provide the basic information for the in activation of pathogenic microorganisms in foods by irradiation.</p>				
Subject Keywords (about 10 words)	Irradiation, Gamma-ray, E-beam, Pathogens, radiation sensitivity,				