



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0095219

(43) 공개일자 2015년08월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01C 1/08 (2006.01) A01C 1/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01C 1/08 (2013.01)

A01C 1/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0021541

(22) 출원일자 2015년02월12일

심사청구일자 2015년02월12일

(30) 우선권주장

1020140015790 2014년02월12일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

이민석

경기도 성남시 분당구 내정로 152 133동 701호(수내동, 파크타운롯데아파트)

김유빈

서울특별시 성북구 안암로 145 고려대학교 생명공학과(안암동5가)

(74) 대리인

특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 열과 습도의 조합처리를 이용한 새싹종자의 살균방법

(57) 요 약

본 발명은 열과 습도의 조합처리를 이용한 새싹종자의 효율적인 살균방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 이산화염소나 방사선 조사 등 화학적 처리나 물리적 처리에 의하지 않고 열과 습도의 조합만으로 새싹종자의 발아율을 저해하지 않음과 동시에 새싹종자에 존재하는 미생물을 효과적으로 제어하는 새싹종자의 살균방법에 관한 것이다.

명세서

청구범위

청구항 1

새싹종자에 온도와 습도를 동시에 처리하는 단계를 포함하는 새싹종자의 살균방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

온도조건은 53 내지 67 ℃, 습도조건은 40 내지 70%인 것을 특징으로 하는 새싹종자의 살균방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

온도조건은 53 내지 57 ℃, 습도조건은 60 내지 70%인 것을 특징으로 하는 새싹종자의 살균방법.

청구항 4

제2항에 있어서,

온도조건은 58 내지 62 ℃, 습도조건은 40 내지 70%인 것을 특징으로 하는 새싹종자의 살균방법.

청구항 5

제2항에 있어서,

온도조건은 63 내지 67 ℃, 습도조건은 40 내지 50%인 것을 특징으로 하는 새싹종자의 살균방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

처리시간은 20~28 시간인 것을 특징으로 하는 새싹종자의 살균방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

살균대상이 되는 병원성 미생물은 Escherichia coli 0157:H7인 것을 특징으로 하는 새싹종자의 살균방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

살균대상이 되는 병원성 미생물은 Salmonella.spp인 것을 특징으로 하는 새싹종자의 살균방법.

발명의 설명

기술분야

[0001]

본 발명은 열과 습도의 조합처리를 이용한 새싹종자의 살균방법에 관한 것으로서, 자세하게는 새싹종자의 발아율을 저해하지 않음과 동시에 새싹종자에 존재하는 미생물을 효과적으로 제어하는 새싹종자의 살균방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

새싹채소는 건강 기능성 물질의 함유와 소비자의 건강지향적 식습관으로 인해 국내 생산량 및 판매량이 급증하고 있다. 이렇듯 새싹채소의 소비는 급증하고 있지만, 새싹채소의 위생관리방안은 미흡하여 이에 기인한 많은 식중독 사고가 발생하고 있다. 대표적인 사례로는 1996년 일본과 2011년 독일에서 일어난 식중독 사고가 있다.

1996년 일본에서는 무순을 섭취하고 6000 여명의 환자가 발생하였으며, 2011년 독일에서는 새싹채소의 섭취로 의심되는 환자가 3800 여명이 발생하였다.

[0003] 새싹채소는 발아과정에서 열이 발생하기 때문에 생산과정에서 온도가 상승하고 습도 또한 높은 수준으로 유지되어 미생물의 증식 우려가 있다. 이 때문에 공정상에서 별도의 위생관리 방안이 필요하다. 그러나 새싹채소는 조직이 연하므로 세척에 의한 미생물 살균방법은 매우 제한적이며, 일반적으로 새싹채소는 토양에서 기인한 미생물에 의해 오염된 종자에서 발생하기 때문에 원료단계인 종자에서의 위생적 안전관리 방안이 필요하다. 그렇기 때문에 종자의 입고부터 최종 제품까지 전 과정을 연계한 총체적인 위생관리를 위해서는 원료단계인 종자에서부터 미생물을 제어할 수 있는 살균방법 개발이 필요하다.

[0004] 한편 1999년 미국 식품의약품 안전청(FDA)에서는 계속적으로 새싹채소에 대한 식중독이 발생하자, 새싹채소를 식중독관련 고위험식품군으로 분류하고 새싹채소의 살균방법으로서 20,000 ppm의 염소(chlorine)를 최소 15 분간 처리하여 사용하기를 권장하였다. 그러나 염소(chlorine)는 효과의 불충분성, 안전성 등의 문제가 있었으며, 차선택으로 미국 식품의약품 안전청(FDA) 과 미국 농무부(USDA)는 방사선 조사방법을 허용하기도 하였다. 여러 새싹채소 선행연구에서 조합처리 등의 새싹채소 살균방법을 제시하고 있지만 산업에서 이용하기에는 비경제적이고 비효율적인 연구가 대부분이기 때문에 기존의 살균방법보다 경제적 이용가치가 우수하고 간편한 살균방법의 개발이 요구된다.

[0005] 또한 종래 한국등록특허 제10-1083340호에는 다중스트레스의 조합처리에 의해 식중독균을 살균하는 방법이 기재되어 있다. 상기 기술은 효과 및 안전성이 검증되지 않은 이산화염소를 살균에 이용하고 있고, 또한 살균시간 또한 오래 걸려 산업에 이용하기에는 비경제적이라는 문제점이 있다.

[0006] 따라서 종래 기술에 비하여 경제적이면서 안전성이 확보된 새싹종자의 살균방법 개발이 요구된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1083340호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 목적은 열과 습도의 조합처리를 이용하여 새싹종자의 발아율을 저해하지 않음과 동시에 새싹종자에 존재하는 미생물을 효과적으로 제어하는 새싹종자의 살균방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위해 본 발명은 새싹종자를 일정한 범위의 온도 및 습도 조건에서 일정한 시간 동안 처리하는 것을 특징으로 하는 새싹종자의 살균방법을 제공한다.

[0010] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 온도조건은 53 내지 67 ℃, 습도조건은 40 내지 70%일 수 있다. 이때, 상기 온도조건은 53 내지 57 ℃, 상기 습도조건은 60 내지 70%일 수 있다. 또한, 상기 온도조건은 58 내지 62 ℃, 상기 습도조건은 40 내지 70%일 수 있다. 또한, 상기 온도조건은 63 내지 67 ℃, 상기 습도조건은 40 내지 50%일 수 있다.

[0011] 본 발명의 다른 일 실시예에 의하면, 처리시간은 20~28 시간일 수 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면, 살균대상이 되는 병원성 미생물은 Escherichia coli O157:H7일 수 있다.

[0013] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면, 살균대상이 되는 병원성 미생물은 Salmonella.spp일 수 있다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 열과 습도의 조합처리를 통한 새싹채소의 살균방법은 기존의 화학적 처리와 물리적 처리를 함께 조합 처리 하는 살균방법에 비하여 화학적 처리 없이도 동등하거나 우수한 살균효과를 나타냄으로써 안전성을 확보할

수 있다.

[0015] 또한, 본 발명의 살균방법은 새싹종자에 처리하는 온도와 습도 조건 및 처리시간을 최적화하여 새싹종자의 발아에 미치는 영향을 최소화하면서 새싹채소 내에 존재하는 미생물을 효과적으로 제어할 수 있다.

[0016] 또한, 본 발명의 살균방법은 열과 습도의 조합처리만으로 새싹종자의 발아율을 저해하지 않음과 동시에 새싹종자에 존재하는 미생물을 효과적으로 제어할 수 있어 경제적이고 효율적인 살균효과를 제공할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0018] 본 발명은 열과 습도의 조합처리를 통한 새싹채소의 살균방법에 관한 것으로서, 자세하게는 새싹종자의 발아율을 저해하지 않음과 동시에 새싹종자에 존재하는 미생물을 효과적으로 제어하는 새싹종자의 살균방법에 관한 것이다.

[0019] 미국 식품의약품 안전청(FDA)에서는 새싹채소의 살균방법으로서 20,000 ppm의 염소(chlorine)를 최소 15 분간 처리하여 사용하기를 권장하였고 이를 반영하여 기존의 연구에서는 대부분 이산화염소를 이용한 화학적 처리를 통해 살균하거나 방사선을 조사하는 방식을 제시하고 있다. 그러나 이러한 화학적 처리와 물리적 처리는 비경제적이며, 안전성을 확보할 수 없다는 점에서 한계를 지닌다. 그러므로 화학적 처리 등이 없이도 발아율을 유지하면서 병원성 미생물을 살균하는 새로운 기술이 개발된다면 결과적으로 새싹채소의 안전성을 확보함과 동시에 생산성을 향상시킴으로써 새싹채소산업의 발전에 크게 이바지할 것으로 예상된다.

[0020] 본 발명자들은 상술한 문제를 해결하기 위하여 화학적 처리를 제외하고 열과 습도의 조합처리만으로 새싹종자의 발아율을 저해하지 않음과 동시에 새싹종자에 존재하는 미생물을 효과적으로 제어할 수 있는 최적의 조건을 규명하여 본 발명을 완성하였다.

[0021] 따라서, 본 발명의 새싹종자를 살균하는 방법은 새싹종자를 일정한 범위의 온도 및 습도 조건에서 일정한 시간 동안 처리하는 것을 특징으로 한다.

[0022] 이때, 상기 새싹종자는 무슨 종자인 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않으며 모든 새싹종자를 포함한다.

[0023] 또한, 하기의 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 상기 살균방법은 온도 53 내지 67 °C, 습도 40 내지 70%인 조건에서 처리되는 것이 바람직하다. 또한, 하기의 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 상기 살균방법은 온도 53 내지 57 °C, 습도 60 내지 70%, 또는 온도 58 내지 62 °C, 습도 40 내지 70%, 또는 온도 63 내지 67 °C, 습도 40 내지 50%인 것이 더욱 바람직하다.

[0024] 또한, 하기의 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 처리시간은 20~28 시간동안 처리되는 것이 바람직하고, 24 시간 동안 처리되는 것이 더욱 바람직하다.

[0025] 또한, 살균대상이 되는 병원성 미생물은 병원성 대장균(Pathogenic Escherichia coli) 또는 인 것이 바람직하고, Escherichia coli O157:H7인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0026] 또한, 살균대상이 되는 병원성 미생물은 Salmonella.spp인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

[0027] 이하에서는 바람직한 실시예 등을 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 등은 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이에 의하여 제한되지 않는다는 것은 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.

[0028] 실시예 1

[0029] <실시예 1-1> 균주의 배양

[0030] 본 발명을 위해 사용된 균주로는 E. coli O157:H7 strains ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43895 으로 새싹채소에서 문제가 될 수 있는 주요 병원성 미생물이다. 각 균은 50 ml 의 멸균 플라스틱 튜브에 TSB배지(Tryptic Soy Broth; Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)를 45 ml 넣은 후 10 µl씩 접종하였다. 접종한 270 ml의 균액은 37 °C의 인큐베이터에서 18 시간 동안 배양시킨 후에 약 7-8 log수준에서 사용하였다.

- [0031] <실시예 1-2> 배지의 준비
- [0032] E. coli 0157:H7의 개체수를 확인하기 위하여 SMAC배지(MacConkey Sorbitol Agar; Difco, Detroit, MI, USA)를 이용하였으며, 121 °C에서 20 분간 고압 멸균하고 꺼내어 상온에서 식힌 후에 페트리디쉬에 부어 굳혀서 사용하였다.
- [0033] <실시예 1-3> 온도, 습도 및 처리시간 조건 부여
- [0034] 본 발명에서 열과 습도조건을 조절하여 새싹채소 내의 E. coli 0157:H7를 살균하였는데 온도 조건의 경우는 일반적으로 중온인 50 °C, 55 °C, 60 °C, 65 °C에서 처리하였으며, 습도 조건의 경우는 25%, 45%, 65%, 85%, 98%로 6, 12, 18, 24 시간 동안 처리하여 다양한 습도 조건에서 실시하였다.
- [0035] <실시예 1-4> 무순종자에 E. coli 0157:H7 접종
- [0036] 본 발명은 새싹채소에 대한 살균방법에 관한 내용이므로 살균방법의 효과를 알아보기 위해 인위적으로 새싹채소에 병원성균을 접종한 이후에 살균 처리하여 그 정도를 측정하였다. 상기에서 18 시간 동안 배양시켜 놓았던 균주를 꺼내어 원심분리기(3000 G, 15 분, 4 °C)를 실시하였다. 상등액을 따라낸 후 동량(270 mL)의 0.85%(w/v) 멸균 생리식염수를 첨가하여 미생물 세포를 2 회 세척하고 균질화시켰다. 준비된 무순종자 90 g(해가든, 경기도, 대한민국)을 균질화시킨 균액에 넣고 약 10 분간 잘 휘저어준다. 잘 저어준 후 균액은 따라내고 종자만 건져낸 후에 통풍이 되는 멸균 클린벤치에서 약 2 시간동안 건조시킨다.
- [0037] 상기예에서 사용하는 종자의 양과 균액의 양은 실험의 규모와 실험의 조건에 따라 매번 다르며, 균액의 양은 종자의 양의 4 배 수준으로 고정하여 제조하였다.
- [0038] <실시예 1-5> 접종된 무순종자를 부여된 조건에서 처리
- [0039] 균액이 접종된 무순 종자는 25 g씩 각각 50 °C, 55 °C, 60 °C, 65 °C의 열처리 조건과 25%, 45%, 65%, 85%, 98%의 습도조건 하에 6, 12, 18, 24 시간 처리하였다. 각 조건에서 처리된 무순종자는 준비된 균질화용 시료봉지(Circulator 400 standard bags, Seward, Worthing, UK)에 넣고 225 mL의 0.85%(w/v) 멸균 생리식염수와 함께 균질화기기(Circulator 400, Seward)를 이용하여 균질화(230rpm, 2 분)한다. 균질화시킨 시료액을 준비된 SMAC 배지에 도말하고 균수 측정을 위해 최적의 배양조건인 37 °C 에서 24 시간 배양한다.
- [0040] <실시예 1-6> 미생물 저감화 값 및 발아율 측정
- [0041] 배양된 배지 상에 형성된 콜로니를 계수하여 각 조건별 균 농도를 log값으로 산출하고 초기 접종 균액의 log값과 처리 후 균액의 log값을 바탕으로 각 온도별, 습도별, 시간별 저감화값을 비교하여 저감효과를 확인하였고 결과값은 하기의 표 1 내지 표 5에 나타내었다.

표 1

처리			개체수 (log CFU/g)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
초기균수			7.1±0.1 ^a
55	24	25	3.4±0.1 ^b
		45	3.1±0.2 ^c
		65	1.8±0.1 ^d
		85	0.5±0.2 ^e
		98	검출되지 않음

[0043] 평균 ± 표준편차.

[0044] ^{a-f} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 (P < 0.05)

표 2

처리			개체수 (log CFU/g)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
초기균수			7.1±0.1 ^a
50	24	65	3.1±0.2 ^b
55			1.5±0.2 ^c
60			검출되지 않음

평균 ± 표준편차.

^{a-d} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 (P < 0.05)

표 3

처리			개체수 (log CFU/g)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
초기균수			7.2±0.4 ^a
55	6	65	6.4±0.3 ^b
	12		5.2±0.4 ^c
	18		3.4±0.2 ^d
	24		2.3±0.4 ^e

평균 ± 표준편차.

^{a-e} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 (P < 0.05)

표 4

처리			개체수 (log CFU/g)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
초기균수			7.04±0.2 ^a
60	24	25	3.96±0.19 ^b
		45	2.55±0.59 ^b
		65	1.03±0.47 ^c
		85	검출되지 않음
		98	검출되지 않음

평균 ± 표준편차.

^{a-c} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 (P < 0.05)

표 5

처리			개체수 (log CFU/g)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
초기균수			7.04±0.2 ^a

65	24	25	3.52 ± 0.48^b
		45	검출되지 않음
		65	검출되지 않음
		85	검출되지 않음
		98	검출되지 않음

평균 $\pm$ 표준편차.

^{a-b} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 ($P < 0.05$)

또한 처리 이후 종자를 식물생장기기(Growth chamber, VS-8407-600, Vision sci. Co., Ltd., Bucheon, Gyeonggi, Korea)에서 최적의 생장조건(25 °C, RH 85%)으로 재배하였다. 각 조건당 종자를 100개씩 배치하여 재배하였으며, 5일 후 2 mm이상 발아된 종자를 세어 최종 발아율을 측정하였고 결과값은 다음 표 6 내지 표 10에 나타내었다.

표 6

처리			발아율 (%)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
대조군 발아율			89.6 ± 2.1^a
55	24	25	71.1 ± 3.0^b
		45	83.0 ± 2.4^a
		65	80.8 ± 3.5^a
		85	26.4 ± 5.7^c
		98	1.2 ± 0.2^d

평균 $\pm$ 표준편차.

^{a-d} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 ($P < 0.05$)

표 7

처리			발아율 (%)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
대조군 발아율			91.6 ± 2.9^a
50	24	65	82.4 ± 4.1^{ab}
55			79.3 ± 4.5^b
60			51.2 ± 5.8^c

평균 $\pm$ 표준편차.

^{a-c} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 ($P < 0.05$)

표 8

처리			발아율 (%)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
대조군 발아율			92.0 ± 1.0^a

55	6	65	89.5 ± 2.0^{ab}
	12		85.7 ± 1.9^{bc}
	18		83.0 ± 1.0^{cd}
	24		79.7 ± 2.5^d

평균 $\pm$ 표준편차.

^{a-d} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 ($P < 0.05$)

표 9

처리			발아율 (%)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
대조군 발아율			95.80 ± 2.27^a
60	24	25	91.60 ± 3.08^a
		45	94.40 ± 1.21^a
		65	86.00 ± 4.36^a
		85	17.40 ± 8.39^b
		100	—

평균 $\pm$ 표준편차.

^{a-b} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 ($P < 0.05$)

표 10

처리			발아율 (%)
온도 (°C)	시간 (H)	상대습도 (%)	
대조군 발아율			95.80 ± 2.27^a
65	24	25	94.60 ± 1.57^a
		45	85.40 ± 7.22^a
		65	54.20 ± 4.79^b
		85	—
		100	—

평균 $\pm$ 표준편차.

^{a-b} 동일한 세로 열의 값은 유의적 차이를 갖음 ($P < 0.05$)

<실시예 1-7> 최적의 조합된 열과 습도 조건 및 처리시간 도출

상기 실시예 1-6에 따라 다양한 온도(50 °C, 55 °C, 60 °C, 65 °C), 상대습도(25%, 45%, 65%, 85%, 98%) 및 시간(6 시간, 12 시간, 18 시간, 24 시간)을 조합 처리하여 E. coli 0157:H7이 접종된 무순종자에 대한 효과적인 저감화 조건을 모색하였고, 그에 따른 최대의 발아율을 도출하고자 효율적 조건을 선정하였다.

특정온도(55 °C) 및 습도(65%)에서 처리시간에 따른 저감효과와 발아율을 확인한 결과, 최초 6 시간 처리 시 발아율은 90%에 근접하는 우수한 결과(89%)를 보이지만, 저감효과가 1.5 log CFU/g으로 미비하게 나타났다. 반면, 24 시간 처리 시에는 발아율은 초기 6 시간 처리 시에 비하면 다소 감소하였으나(79%) 저감효과는 다른 시간대

에 비하여 가장 우수(5.6 log CFU/g)한 것으로 나타났다(표 3 및 표 8).

- [0076] 특정습도(60%) 및 처리시간(24 시간)에서 온도에 따른 저감효과와 발아율을 확인한 결과, 온도가 증가할수록 저감효과는 우수하게 나타나지만, 발아율은 감소한다는 것을 확인할 수 있다(표 2 및 표 7).
- [0077] 특정온도(55, 60, 65 ℃) 및 처리시간(24 시간)에서 습도에 따른 저감효과와 발아율을 확인한 결과, 각 온도 조건에서 저감효과와 발아율이 다양하게 측정되었으며, 이를 통해 각 온도별 최적의 저감효과와 발아율을 보이는 습도조건을 도출할 수 있었다.
- [0078] 결론적으로 무순종자의 미생물학적 안전성 확보를 위한 열·습도 처리의 산업체 적용을 위해서는 미생물의 저감효과뿐만 아니라 높은 발아율이 함께 고려되어야하며, 이를 고려한 최적 조건은 (1) 55 ℃, 65%, 24 h(저감효과: 5.3 log CFU/g, 발아율: 80.8%), (2) 60 ℃, 45%, 24 h(저감효과: 4.49 log CFU/g, 발아율: 94.4%), (3) 60 ℃, 65%, 24 h(저감효과: 6.01 log CFU/g, 발아율: 86.0%) 및 (4) 65 ℃, 45%, 24 h(저감효과: 7.04 log CFU/g, 발아율: 85.4%)로 나타났다.
- [0079] <실시예 1-8> 결론
- [0080] 본 발명에서 이용된 열·습도 처리 기술은 최적의 조건을 설정하여 새싹채소 종자에 처리하였을 경우 발아에 최소의 영향으로 최대의 살균효과를 얻을 수 있는 장점이 있다. 또한 살균방법이 경제적이고 효율적이기 때문에 기존의 여러 선행연구와 선행 발명들에 비해 중소기업 등에서 소자본으로 적용가능하다는 큰 장점이 있다.
- [0081] 본 발명은 온도와 습도에 따른 새싹채소의 생장에 관한 연구와 미생물의 생장 및 안전성에 대한 연구에 참고자료로 이용될 수 있으며, 국내 새싹채소의 안전성을 확보하는 동시에 새싹채소산업의 발전에 크게 이바지할 것으로 예상된다.