



## 빙과류의 품목별 제품의 미생물학적 안전성 평가

유정완 · 김소현 · 홍동리 · 김현재 · 정은주 · 이재화 · 양지영\* · 이양봉\*

부경대학교 식품공학과

### Microbiological Safety Evaluation on Ice Cream and Ice Pop Products

Jeong-Wan Yu, So-Hyun Kim, Dong-Lee Hong, Hyeon-Jae Kim, Eun-Joo Jeong, Jae-Hwa Lee, Ji-Young Yang\*, Yang-Bong Lee\*

Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan, Korea

(Received April 29, 2019/Revised June 4, 2019/Accepted July 16, 2019)

**ABSTRACT** - In order to evaluate the microbiological safety of ice cream products, the total viable bacterial counts were measured in 6 kinds of ice pops, 5 kinds of non-milk fat ice cream, and 5 kinds of milk fat ice cream, sold in local markets. In addition, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, and *L. monocytogenes* were artificially inoculated in three types of ice cream products and stored at  $-5^{\circ}\text{C}$ ,  $-10^{\circ}\text{C}$ , and  $-18^{\circ}\text{C}$ , respectively, and after inoculation, viable cells were measured periodically. As a result of the total viable count, about 1~2 log CFU/mL was detected in 16 kinds of ice cream products. As a result of inoculation with microorganisms at various temperatures, the number of viable cells decreased as the storage period became longer, and the higher the storage temperature, the faster the microorganisms died. Especially, the microorganisms were killed faster in the ice pop products than in the other ice cream products, and the microorganisms were killed relatively slower in the milk ice cream. *L. monocytogenes* and *S. aureus* were relatively stable in frozen conditions compared to other microorganisms. The microbial contamination of commercial ice cream was lower than the allowable standard of the Korean Food Code. Microorganisms did not proliferate when the microorganism was inoculated at freezing temperature. Therefore, it is expected that the microbiological safety of frozen foods will be ensured if the sanitary control and disinfection of raw materials are thoroughly carried out during the production of frozen confections and the temperature control during distribution and storage is well maintained.

**Key words:** Ice cream, Microbiological evaluation, Shelf life

빙과류란 원유, 유가공품, 먹는 물에 다른 식품 또는 식품첨가물 등을 가한 후 냉동하여 섭취하는 것을 말한다. 빙과류의 세부품목으로는 아이스크림류, 빙과, 아이스크림 믹스류, 식용얼음을 포함하여 총 4가지로 분류된다. 우리나라 식품공전의 ‘식품별 기준 및 규격’에 따르면 아이스크림류는 ‘아이스크림’, ‘저지방아이스크림’, ‘아이스밀크’, ‘샤베트’, ‘비유지방아이스크림’으로 분류하며, ‘아이스크림’은 유지방분 6% 이상, 유고형분 16% 이상의 것을 말하며, ‘저지방아이스크림’은 조지방 2% 이하, 무지유고형분 10% 이상, ‘아이스밀크’는 유지방분 2% 이상, 유고형분 7% 이상, ‘샤베트’는 아이스크림류이면서 무지유고형분 2% 이상

, ‘비유지방아이스크림’은 조지방 5% 이상, 무지유고형분 5% 이상의 것을 말한다. 빙과는 먹는 물에 식품 또는 식품첨가물을 혼합하여 냉동한 것으로 아이스크림류와 아이스크림믹스류에 해당되지 아니하는 것을 말한다<sup>1)</sup>.

빙과류는 냉동조건에서 저장되기 때문에 미생물이 증식하지 않으며 품질의 변화가 잘 일어나지 않아 국내에서는 빙과류의 유통기한 및 품질유지기한 표시를 하지 않고 제조일자만을 기재하도록 하고 있다. 해외 주요국에서 빙과류의 유통기한 및 품질유지기한 표시의 경우 미국에서는 Code of Federal Regulations Title 21에 따라 업체가 상미기한 (Best by) 등을 자율적으로 표시하도록 하고 있다. 일본 또한 소비자청 식품표시법(2014)에 따라 아이스크림은 품질변화가 적으므로 소비기한 또는 상미기한 표시를 생략할 수 있도록 하고 있다. 반면에, 중국의 경우 빙과류는 식품의 유통기한 표시를 면제할 수 있는 식품유형에 포함시키지 않으며, 제조회사에서 표시하도록 하고

\*Correspondence to: Ji-Young Yang and Yang-Bong Lee, Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea  
Tel: 82-51-629-5820  
E-mail: [jyyang@pknu.ac.kr](mailto:jyyang@pknu.ac.kr), [yblee@pknu.ac.kr](mailto:yblee@pknu.ac.kr)

있다. 유럽의 경우 과거에는 Directive 2000/13/EC에 따라 개별로 포장된 아이스크림제품은 ‘best before’ 표시가 생략 가능하였으나 이후의 지침인 Regulation (EU) No 1169/2011에서 ‘best before’ 표시를 제외할 수 있는 식품 유형에 아이스크림은 포함 되지 않는 것으로 변경되었다. 따라서 유럽에서는 아이스크림에 ‘the date of minimum durability (best before)’를 표시해야 한다<sup>2,3)</sup>. 유통기한을 설정함에 있어 이화학적 품질변화 및 미생물학적 안전성이 중요한 요소로 작용하기 때문에 빙과류에서의 이들 요소에 대한 평가가 유통기한 및 품질유지기한 표시에 있어서 중요하다고 사료된다.

현재, 빙과류에 대한 미생물학적 안전성 평가 연구는 시판 빙과류에서의 일반세균 및 식중독균 검출 등 미생물 오염도 조사가 국내외로 이루어졌다. 대표적으로 빙과류의 제조부터 완제품단계까지의 단계별 미생물학적 품질을 평가한 연구와 시판 빙과류의 미생물 오염도를 조사한 연구들이 있다<sup>6-9)</sup>. 이외에도 아이스크림 믹스에 병원성 미생물을 접종하여 아이스크림을 제조 후 저장하여 주기적으로 생균수를 측정하는 연구가 있다<sup>10,11)</sup>. 그러나 빙과류의 품질과 미생물학적 안전성에 있어서 저장온도가 중요한 요소로 작용하지만 이에 따른 미생물학적 안전성 평가 연구는 상대적으로 많이 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 시중에 판매중인 빙과류의 일반세균을 측정하고, 빙과류에 미생물을 접종한 후 저장온도를 달리하여 주기적으로 생균수를 측정하여 빙과류의 품질 중 미생물학적 안전성을 평가하고자 한다.

## Materials and Methods

### 시료구입

유통 중인 빙과류의 일반세균 측정에 사용된 빙과류는 빙과(6종), 비유지방아이스크림(5종), 유지방아이스크림(5종)을 서로 다른 5개소의 판매처에서 구입하였다. 생존 실험에 사용된 빙과류는 빙과, 비유지방 아이스크림, 유지방 아이스크림을 종류별로 1종씩 선정하여 부산인근의 마트에서 제조일자가 동일한 제품으로 구매하였다. 실험에 사용된 *Escherichia coli* KCTC 2571, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Bacillus cereus* KCTC 3624, *Listeria monocytogenes* KCTC 3710는 한국생명공학연구원 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC, Daejeon, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 균주들은 해동시킨 후 tryptic soy broth (TSB, Difco, Detroit, MI, USA)에 2차 배양하였다.

### 일반세균 측정

일반세균 측정은 식품공전의 일반시험법 중 미생물시험법에 따라 시험용액 1 mL와 10배 단계 희석액 1 mL씩을

멸균펄트리집시에 무균적으로 취하여 표준한천배지(Plate count agar, Difco) 약 15 mL를 무균적으로 분주하여 검체와 배지를 잘 혼합하여 응고시킨 후 35±1°C에서 48±2시간 배양하였다. 집락수가 15-300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계수하고 희석배수를 곱하여 일반세균수로 산정하였다.

### 당도 및 pH 측정

미생물의 생장에는 pH와 영양성분 등이 큰 영향을 주기 때문에 빙과류의 미생물학적 안전성 평가 실험에 사용된 빙과, 유지방아이스크림, 비유지방아이스크림 각 1종의 당도와 pH를 측정하였다. 당도는 디지털 당도계(PAL-1, Atago, Tokyo, Japan)로 3회 반복 측정 후 평균값을 산출하였다. pH는 pH meter (Orion star A211, Thermo scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정 전 표준 완충용액(pH 4.0, 7.0과 10.0)으로 보정한 후 빙과류를 50 mL 비커에 담아 3회 반복측정하고 평균값을 산출하였다.

### 빙과류에서의 미생물 생존곡선

빙과류의 미생물학적 안전성을 평가하기 위하여 빙과, 유지방아이스크림, 비유지방아이스크림 각 1종을 선별하여 2차 배양한 *E. coli* KCTC 2571, *S. aureus* KCTC 1916, *B. cereus* KCTC 3624, *L. monocytogenes* KCTC 3710를 접종한 후 저장온도를 달리하여 주기적으로 18주간 생균수를 측정하였다. 빙과류를 종류별로 녹인 다음 멸균된 4 L laboratory bottle에 넣고 2차 배양한 *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*를 초기 균수가 6-7 log CFU/mL가 되도록 1% 접종하였다. 접종된 빙과류 10 mL를 Stomacher bag (Whirl pak, Nasco, Fort Atkinson, WI, USA)에 넣고 -5°C, -10°C, -18°C에 저장한 뒤 4주까지는 1주일 간격으로 생균수를 측정하였으며 이후에는 2주일 간격으로 생균수를 측정하였다. 생균수측정시온도별로 저장된 멸균백에 1:10(v/v)의 비율로 멸균생리식염수를 가해 균질기(Bag mixer 400, Interscience, St. Nom la Bretèche, France)에서 1분 동안 균질화 하였으며, 접종균별 사용배지는 Josep등<sup>12)</sup>의 연구를 참고하였으며 배지 및 배양조건은 다음 Table 1과 같다.

Table 1. Culture conditions

	Culture media	Culture conditions
<i>E. coli</i> KCTC 2571		
<i>S. aureus</i> KCTC 1916	Tryptone soy agar	35°C, 24-48 h
<i>L. monocytogenes</i> KCTC 3624	(TSA, Oxoid, UK)	
<i>B. cereus</i> KCTC 3710		30°C, 24-48 h

### 통계 분석

실험 결과는 SAS 9.4 program (SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 평균값을 산출하였으며, Duncan's multiple range test를 이용하여 평균값 사이의 유의적인 차이를 분석하였다( $P < 0.05$ ).

## Results and Discussion

### 시판 빙과류 제품 중의 일반세균 오염도

시중에 유통되고 있는 빙과류의 미생물 오염도를 평가하기 위하여 빙과 6종, 비유지방아이스크림 5종 그리고 유지방아이스크림 5종 총 16종의 빙과류를 인근의 편의점 3개소, 대형마트 1개소, 아이스크림전문할인판매점 1개소, 총 5개소의 서로 다른 판매처에서 구입하여 일반세균을 측정된 평균값과 빙과류의 종류별 평균값을 Table 2에 나타내었다.

빙과 2제품, 비유지방아이스크림 1제품을 제외한 모든 빙과류 제품에서 검출된 일반세균수는 1.04-2.10 log CFU/mL으로 식품공전의 아이스크림류 세균수 기준인  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=10000$ ,  $M=100000$  (빙과의 경우  $M=50000$ ) 이하로 측정되었다. Koo 등<sup>6)</sup>에 의해 조사된 빙과류의 일반세균 분포결과에 따르면 250건의 빙과류 시료 중 72건의 시료에서 평균 1.4 log CFU/mL의 세균 수가 검출되었으며, Kim 등<sup>7)</sup>에 의해 조사된 HACCP 적용 업체의 빙과류 평균 검

출범위 1.09-1.15 log CFU/mL와 비슷한 검출량을 나타냈다. 빙과류의 종류별로 검출된 일반세균의 검출결과와 평균값은 빙과 제품에서 0.89 log CFU/mL, 비유지방아이스크림은 1.47 log CFU/mL, 유지방아이스크림에서는 1.65 log CFU/mL이 검출되었다. Kim 등<sup>8)</sup>의 시판 아이스크림의 미생물 오염도 평가연구에 따르면 빙과 3종, 아이스밀크류 3종, 아이스크림류 3종 및 비유지방 아이스크림 1종으로 총 10종의 모든 제품에서 약 1~2 log CFU/mL의 일반 호기성 미생물이 검출되었으며 특히, 아이스크림 종류별로 검출된 세균수를 비교하면 빙과, 비유지방아이스크림, 아이스밀크, 아이스크림 순서로 일반 호기성 미생물 검출량이 높았다. 본 연구 결과에서도 빙과, 비유지방아이스크림, 아이스크림 순서로 많은 양의 일반세균수가 검출되었다.

일반세균 측정 결과가 인체에 대한 유해성과 직접적으로 연관되지는 않지만, 식품의 제조과정 및 유통, 저장 중의 위생 상태를 판정할 수 있는 지표로 사용될 수 있다<sup>13)</sup>. 모든 빙과류에서 식품공정상의 세균수 규격 이하의 낮은 검출량으로 모두 적합한 제품으로 빙과류의 제조 및 유통에는 문제가 없는 것으로 판단되지만, 시판 중인 빙과류의 정확한 안전성 평가 연구를 위해서는 일반세균 외에 위생지표세균인 대장균군/대장균 및 *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* 등의 식중독 균에 대한 오염 현황에 대한 추가적인 조사가 필요할 것으로 사료된다.

**Table 2.** The result of total viable count according to type of ice cream products

(Unit: log CFU/mL)

	Sample Name	Total viable cell counts <sup>1)</sup>	Means
Water ice	A <sup>2)</sup>	N.D. <sup>3)</sup>	0.89 <sup>b4)</sup>
	B	1.04±0.17	
	C	1.39±0.09	
	D	1.25±0.17	
	E	1.35±0.06	
	F	N.D.	
Non-milk fat ice cream	G	2.05±0.07	1.47 <sup>ab</sup>
	H	1.72±0.14	
	I	N.D.	
	J	2.02±0.07	
	K	1.59±0.12	
Milk fat Ice cream	L	1.59±0.12	1.65 <sup>a</sup>
	M	1.37±0.23	
	N	1.36±0.26	
	O	1.84±0.14	
	P	2.10±0.16	

<sup>1)</sup> Average and deviation of total viable count from the same product purchased from 5 different stores.

<sup>2)</sup> Blinded sample name

<sup>3)</sup> Viable colony was not detected at detection limit  $< 10^1$  CFU/mL.

<sup>4)</sup> Means with the different letters in superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple comparison test.

**Table 3.** The sweetness, pH and fat contents of ice cream used in the microbial survival experiment

	Fat contents (g/100mL)	Brix	pH
Water ice (A <sup>1)</sup> )	1.0	19.1 <sup>c3)</sup>	4.33 <sup>c</sup>
Non-milk fat ice cream <sup>2)</sup>	4.6	31.0 <sup>b</sup>	6.40 <sup>b</sup>
Milk fat ice cream (M)	5.0	33.3 <sup>a</sup>	6.55 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Blinded sample name

<sup>2)</sup> We purchased large-capacity bulk products for convenience of experiment.

<sup>3)</sup> Means with the different letters in superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple comparison test

**빙과류 제품의 지방함량과 당도 및 pH**

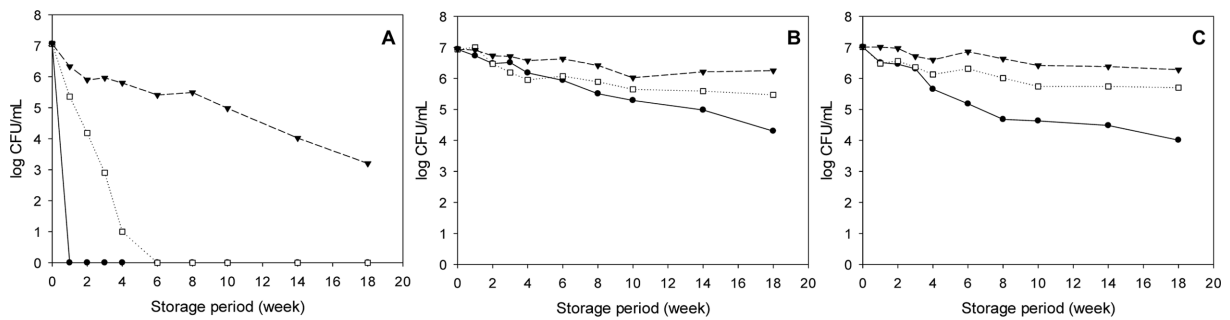
미생물 접종 후 생육 실험에 사용된 빙과, 비유지방아이스크림, 유지방아이스크림을 대상으로 당도와 pH를 측정하였으며 3회 반복하여 평균값을 Table 3에 나타내었다. 실험에 사용된 빙과류는 일반세균을 측정할 시판 제품 중 품목별로 1종씩 선정하였으며, 비유지방아이스크림은 실험의 편의를 위하여 5 L 대용량 제품을 구입하여 사용하였다.

빙과의 경우에는 주원료의 특성과 vitamin C, 산도조절제 등이 사용되어 pH가 약산성을 나타내는 것으로 사료된다. 비유지방아이스크림은 pH 6.40으로 미산성을 나타냈으며 유지방아이스크림도 pH 6.55로 중성에 가까웠다. 당도의 경우에는 빙과제품이 19.1 Brix로 가장 낮았으며

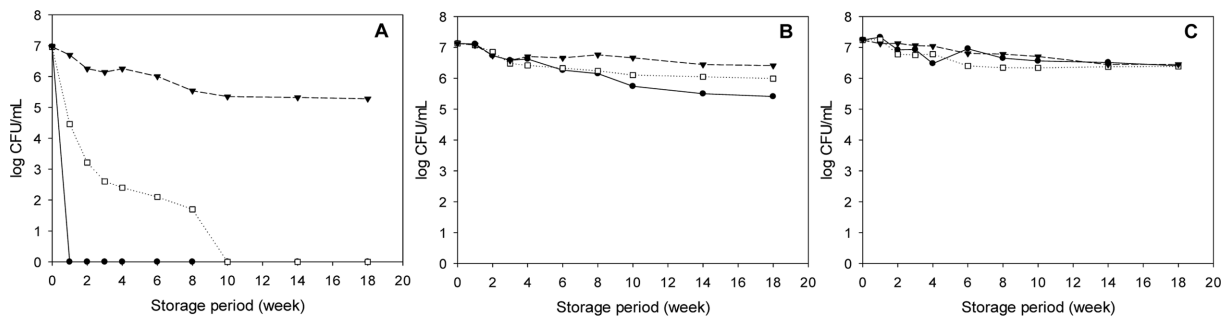
유지방아이스크림이 33.3 Brix로 가장 높았다. 유당과 단백질 등 높은 영양분 함량과 중성에 가까운 pH는 일반적으로 미생물이 자라기 좋은 환경이기 때문에<sup>14)</sup> 빙과류의 종류별로 미생물 성장 경향이 다를 것으로 사료된다.

**빙과류의 저장기간 및 저장온도에 따른 E. coli 생존곡선**

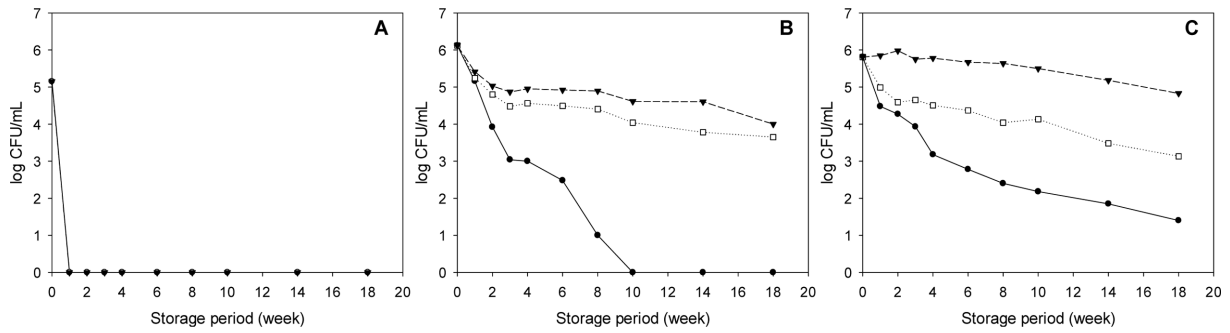
빙과, 비유지방아이스크림, 유지방아이스크림 각 1종을 선별하여 E. coli를 접종하여 안전성 평가를 실시하기 위하여 접종된 빙과류를 -5°C, -10°C, -18°C에 각각 총 18주간 저장하여 주기적으로 생균수를 측정하였다(Fig. 1). 빙과 제품에서 E. coli의 접종균수는 7.06 log CFU/mL이며 -5°C와 -10°C에서 각각 1주, 4주 이내에 사멸하였다. -18°C에서는 저장기간 동안 꾸준히 감소하였으며 저장 18주차에 3.20 log CFU/mL로 감소하였다. 비유지방아이스크림에서 접종균수는 6.94 log CFU/mL이며 -5°C, -10°C, -18°C에서 18주간 저장하였을 때 생균수는 각각 4.30, 5.47, 6.18 log CFU/mL로 모두 감소하였다. 유지방아이스크림에서 접종균수는 7.01 log CFU/mL이며 -5°C, -10°C, -18°C에서 18주간 저장하였을 때 4.01, 5.70, 6.28 log CFU/mL로 모두 감소하였다. 빙과, 비유지방아이스크림, 유지방아이스크림 모두 저장온도가 낮을수록 더 많은 양의 생균수가 검출되었다. Uzunlu 등<sup>10)</sup>의 연구에 따르면, 아이스크림 믹스에 E. coli를 5.90 log CFU/mL 접종하여 동결시키고 -20°C에서 60일간 저장한 결과 4.41 log CFU/mL로 감소하였다.



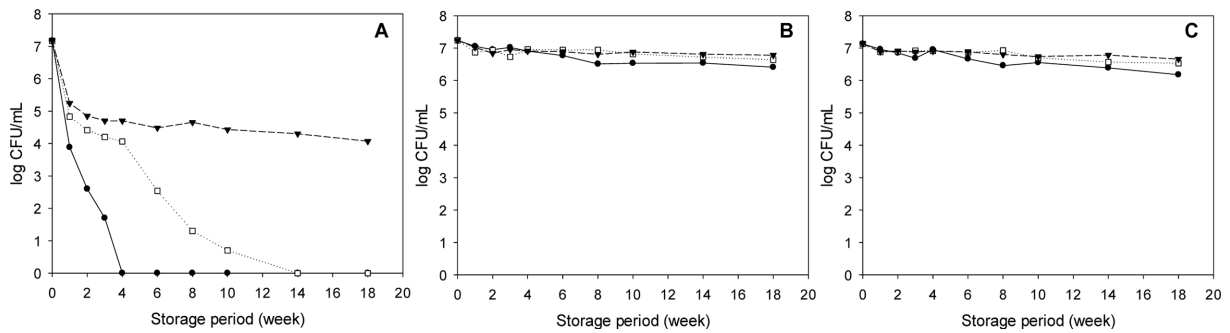
**Fig. 1.** The survival of *E. coli* according to storage period and temperature (●: -5°C, □: -10°C, ▼: -18°C) and kinds of ice cream. A: Water ice, B: Non-milk fat ice cream, C: Milk fat ice cream.



**Fig. 2.** The survival of *S. aureus* according to storage period and temperature (●: -5°C, □: -10°C, ▼: -18°C) and kinds of ice cream. A: Water ice, B: Non-milk fat ice cream, C: Milk fat ice cream.



**Fig. 3.** The survival of *B. cereus* according to storage period and temperature (●: -5°C, □: -10°C, ▼: -18°C) and kinds of ice cream. A: Water ice, B: Non-milk fat ice cream, C: Milk fat ice cream.



**Fig. 4.** The survival of *L. monocytogenes* according to storage period and temperature (●: -5°C, □: -10°C, ▼: -18°C) and kinds of ice cream. A: Water ice, B: Non-milk fat ice cream, C: Milk fat ice cream.

Fatah 등<sup>11)</sup>은 아이스크림에 *E. coli* O157: H7를 접종하여 -20°C에서 60일간 저장하였으며, 초기 균수 6.60 log CFU/mL에서 5.20 log CFU/mL로 감소하여 본 연구와 유사한 결과가 관찰되었다. Foschino<sup>15)</sup>의 아이스크림에 *E. coli*를 접종하여 동결 중 세포손상을 측정 한 연구에서는 접종균 4.72 log CFU/mL에서 동결 후 4.63 log CFU/mL로 감소하였고 8주간 -22°C에서 저장한 후 2.96 log CFU/mL로 감소하여 냉동상태에서는 대장균이 증식하지 않음을 알 수 있었다. 추가적으로 resuscitative step을 주어 30분 간격으로 1 mL의 tryptone soy yeast broth (TSYB)를 가하여 30°C에서 2시간 배양하여 균수를 측정하였다. 접종균 4.72 log CFU/mL는 2시간의 recovery time 후 5.38 log CFU/mL로 증가하였으며, 저장 8주 후에는 2.96 log CFU/mL에서 2시간의 recovery time 후 3.20 log CFU/mL로 증가하였다. 이는 동결상태에서는 균이 증식하지 않지만, 동결종인 미생물이 해동 후 충분한 영양분이 공급되고 배양할 경우 증식이 가능함을 알 수 있다. 따라서 빙과류 저장 중의 온도관리가 중요할 것으로 사료된다.

**빙과류의 저장기간 및 저장온도에 따른 *S. aureus* 생존곡선**  
 빙과제품에서 *S. aureus*의 접종균수는 6.96 log CFU/mL이며 -5°C, -10°C에서 저장한 경우에 각각 1주, 10주 이내

에 사멸하였다. -18°C에서는 18주차에 생균수 측정 결과 5.28 log CFU/mL로 약 1.68 log CFU/mL 감소하였다. 비유지방아이스크림에서 접종균수는 7.13 log CFU/mL이며 -5°C, -10°C, -18°C에서 18주간 저장하였을 때 5.41, 5.99, 6.41 log CFU/mL로 모두 감소하였으며 저장온도가 낮을수록 더 많은 양의 생균수가 검출되었다. 유지방아이스크림에서 접종균수는 7.24 log CFU/mL이며 -5°C, -10°C, -18°C에서 18주간 저장하였을 때 6.40, 6.38, 6.45 log CFU/mL로 모두 감소하였으나, 저장온도에 따라 생균수의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. Uzunlu 등<sup>10)</sup>의 연구에서 아이스크림에 6.60 log CFU/mL의 *S. aureus*를 접종하여 -20°C에서 60일간 저장한 결과 6.04 log CFU/mL로 감소하여, 본 연구의 유지방아이스크림의 -18°C에서 *S. aureus*의 감소량과 유사한 결과를 보였다. *S. aureus*는 비유지방아이스크림과 유지방아이스크림에서 저장온도 및 기간에 따라 균수의 차이를 보이는데 이는 유지방이 동결과 해동에서 미생물의 세포 손상을 완화시켜주었기 때문으로 사료된다. 특히, *S. aureus*는 냉장항이 있어 pH가 중성에 가까운 아이스크림에서 높은 저항성을 보이며, Staphylococcal enterotoxin A와 C2 모두 냉동조건인 아이스크림에서 활성을 유지하는 것으로 알려져 있어<sup>16)</sup>원료의 위생관리 및 살균처리가 잘 이루어져야 한다.

### 빙과류의 저장기간 및 저장온도에 따른 *B. cereus* 생존곡선

빙과제품에서 *B. cereus*의 초기 접종균수는 5.15 log CFU/mL이며 저장온도와 상관없이 모두 1주일 이내에 사멸하였다. 비유지방아이스크림에서 접종균수는 6.12 log CFU/mL이며 -5°C에서 10주 이내에 사멸하였다. -10°C, -18°C에서 저장한 경우 각각 3.65, 4.00 log CFU/mL로 감소하였다. 유지방아이스크림에서 접종균수는 5.81 log CFU/mL이며 -5°C, -10°C, -18°C에서 18주간 저장하였을 때 1.40, 3.13, 4.83 log CFU/mL로 모두 감소하였다. 다른 균과 비교하였을 때 저장온도에 따른 생존수의 차이가 가장 크게 나타났다. *B. cereus*는 특히 다른 균들에 비해 빙과에서 빠르게 사멸하였으며, -18°C에 저장하였을 때도 1주일 이내에 사멸하였다. *B. cereus*는 다른 그람 양성균들과 산성환경에서의 반응은 유사하지만 호기성 조건에서 산에 대한 보호 기작을 이용하지 않으며<sup>17)</sup>, 내산성 돌연변이가 잘 발현되지 않는다고 알려져 있어<sup>18)</sup> 빠른 사멸의 원인은 빙과제품의 낮은 pH에 의한 것으로 사료된다. 또한 *B. cereus*는 아이스크림류에 대해서 다른 균주들에 비해 낮은 생존률을 보였는데, Péter 등<sup>19)</sup>의 동결과 해동 중 미생물의 생존 연구에 따르면 균주를 -25°C에서 1시간 동결 후 37°C water base에서 해동하였을 때 *B. cereus*의 생존률은 46.7%였으며 동일한 조건에서 *E. coli*는 92.0%의 생존률을 나타냈다. 이는 저장기간이라는 변수가 있지만 본 연구에서 -18°C에서 빙과류를 저장하였을 때의 *E. coli*와 *B. cereus*의 경향성과 유사하다. 따라서 *B. cereus*는 산성조건 및 동결과 해동에 낮은 저항성을 가지기 때문에 냉동조건에서 증식 우려는 없을 것으로 사료된다.

### 빙과류의 저장기간 및 저장온도에 따른 *L. monocytogenes* 생존곡선

빙과제품에서 *L. monocytogenes*의 접종균수는 7.17 log CFU/mL이며 -5°C -10°C에서 저장한 경우에 각각 4주, 14주 이내에 사멸하였다. -18°C에서는 18주차에 생존수 측정 결과 4.07 log CFU/mL로 약 3.10 log CFU/mL 감소하였다. 비유지방아이스크림에서 접종균수는 7.24 log CFU/mL이며 -5°C, -10°C, -18°C에서 18주간 저장하였을 때 6.41, 6.64, 6.74 log CFU/mL로 모두 1.0 log CFU/mL이내로 감소하였다. 유지방아이스크림에서 접종균수는 7.13 log CFU/mL이며 -5°C, -10°C, -18°C에서 18주간 저장하였을 때 6.18, 6.53, 6.66 log CFU/mL로 감소하였다. 빙과, 비유지방아이스크림, 유지방아이스크림 모두 저장온도가 낮을수록 더 많은 생존수가 검출되었으며 특히, 빙과제품에서는 낮은 pH와 높은 수분함량에 의해 동결 중 생성된 빙결정에 의해 다른 제품에 비해 많이 사멸한 것으로 사료되며, 비유지방아이스크림과 유지방아이스크림에서는 다른 접종균에 비해 저장온도 및 저장기간에 따른 생존수의 차이가 크게 나타나지 않았다. Gougouli 등<sup>20)</sup>의 연구에 따르면 아이스크림제품 (pH 6.67)에 *L. monocytogenes*를 약 4.2 log

CFU/mL 접종하여 4°C에서 30일간 저장한 결과 약 9 log CFU/mL로 증가하였다. 본 연구에서는 온도조건이 -5°C -18°C로 냉동조건에서는 증식하지 않았지만 저온에서는 빙과류에서 증식할 수 있음을 알 수 있다. 따라서 유통 및 저장 중 철저한 온도관리가 필요할 것으로 사료된다.

## Acknowledgment

본 연구는 식품의약품안전처 용역연구사업(18162식품위001)에 의하여 이루어진 연구결과로 이에 감사드립니다.

## 국문요약

본 연구는 빙과류의 종류별로 미생물학적 안전성 평가를 수행하기 위하여 시중에 판매되고 있는 아이스크림의 종류별로 일반세균수를 측정하였다. 또한 냉동저장 중 아이스크림에서 미생물의 생존가능성을 확인하기 위하여 저장온도를 달리하여 *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*와 *E. coli*를 빙과류의 종류별로 각각 접종하여 저장기간에 따라 생존수를 측정하였다. 시판중인 빙과류 중 빙과 2제품과 비유지방아이스크림 1제품에서는 10 CFU/mL 이하로 검출되었으며, 이외의 빙과류 제품에서는 1.04-2.10 log CFU/mL이 검출되었다. 측정한 16종의 빙과류 모두 식품공전상의 세균수 기준 이하로 측정되어 빙과류에서의 미생물 오염수준이 낮은 것으로 나타났다. 빙과류에 미생물을 접종하여 각각 -5°C, -10°C, -18°C에 저장하여 주기적으로 생존수를 측정한 결과 저장기간에 따라 모두 감소하는 경향을 나타내었다. 모든 저장조건에서 생존수가 감소하였으며 냉동저장 중에서는 온도가 높을수록 더 많은 미생물이 사멸하였다. 특히, 빙과제품에서는 -5°C에서 모든 균이 1-4주 이내에 사멸하였는데 이는 빙과제품의 낮은 pH와 접종 후 냉동조건에서 생긴 빙결정들에 의한 것으로 사료된다. 냉동조건에서 미생물은 증식하지 않았으며 효소의 반응 또한 냉동온도에서는 매우 천천히 일어나기 때문에 맛의 변화는 장기간 저장해도 잘 일어나지 않을 것으로 사료된다. 따라서 빙과류의 유통기한에 있어서 저장 및 유통 온도가 잘 지켜진다면 미생물학적 안전성은 확보가 될 것으로 사료되며, 품질변화 중 조직감의 변화를 고려해야 한다<sup>21)</sup>. 빙과류의 유통기한에 관한 연구를 위해서 미생물학적 안전성뿐만 아니라 유통 및 저장 중 온도변화에 따른 빙결정 생성과 같은 조직감의 변화와 지방산패 등 이화학적 분석을 포함한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## References

1. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS): Guidelines for Korean food code, pp. 27-45 (2019).

2. United States Food and Drug Administration (FDA), Code of Federal Regulations Title 21. Available at <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfr-search.cfm>, (2018).
3. National Food Safety Information Service (NFSI): Comparison of food safety policy: Japanese food labelling and standards, pp. 50-66 (2015).
4. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA), Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation (aT): Guojia Biaozhun (GB) translation, pp. 861-874 (2017)
5. European Commission: Regulation (EU) No 1169/2011 of the European parliament and of the council of 25 October 2011, pp. 15-40 (2011).
6. Koo, E.J., Chung, S.Y, Park, J.E., Kwon, Y.J., Seo, D.H., Jung, Y.Y., Cho, K.C., Lee, Y.A., Min, H.E., Kim, E.G, Kim, H.J., Kim, S.K., Choi, S.O., Lim, C.J.: Monitoring of micro-organism contamination in children-preferred confectioneries in Korea. *J. Food Hyg. Saf.*, **29**(4), 322-326 (2014).
7. Kim, T.W., Choi, J.H., Kim, J.M., Tian, Ding, Rahman, S.M.E., Bahk, G.J., Oh, D.H.: Quality evaluation of edible ices on the microbiological risk factors. *J. Food Hyg. Saf.*, **24**(1), 86-93 (2009).
8. Kim, H.J., Jo, C.U., Kim, D.S., Yook, H.S., Byun, M.W.: Microbiological contamination of ice cream commercially available in Korea and its irradiation effect. *J. Anim. Sci & Technol.*, **47**(5), 867-876 (2005).
9. Masud, T: Microbiological quality and public health significance of ice-cream. *J. Pak Med Assoc.*, **39**(4), 102-4 (1989).
10. Uzunlu, S., Yildirim, I., Demir, M.: Survival characteristics of some pathogenic bacteria in vanilla ice cream at different storage periods. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.*, **34**, 195-199 (2004).
11. Fatah, E.N.A.E., Amer, I.H., Elsayed, M.S., Mansour, M.A., H.: Assessment of the effect freezing on the survival of some pathogenic bacteria in ice cream. *J. Global Biosci.*, **4**(7), 2873-2877 (2015).
12. Josep, Y., Marta, C., Daniel, Y.C.F., Montserrat, M.M.: Inactivation and sublethal injury of foodborne pathogens by high pressure processing: Evaluation with conventional media and thin agar layer method. *Food Res. Int.*, **37**, 861-866 (2004).
13. Jeong, G.J.: Picture book to the microbiology. Seoul National University Press, Seoul, Korea, pp. 124-132 (2005).
14. Ahmed, K., Hussain, A., Qazalbash, M.A., Hussain, W.: Microbiological quality of ice cream sold in Gilgit town. *Pakistan J. Nutrition.*, **8**(9), 1397-1400 (2009)
15. Foschino, R.: Freezing injury of *Escherichia coli* during the production of ice cream. *Annals of Microbiology*, **52**, 39-46 (2002).
16. Gogov, I., Slavchev, G., Peeva, T.: Cold resistance of *S. aureus* and staphylococcal enterotoxins A and C2 in ice cream. *Vet. Med. Nauki.*, **21**(10), 46-50 (1984).
17. Mols, M., Abee, T.: *Bacillus cereus* responses to acid stress. *Environ. Microbiol.*, **13**(11), 2835-2843 (2011).
18. Browne, N., Dowds, B.C.A.: Acid stress in the food pathogen *Bacillus cereus*. *J. Appl. Microbiol.*, **92**, 404-414 (2002).
19. Péter, G. Reichart, O.: The effect of growth phase, cryoprotectants and freezing rates on the survival of selected microorganisms during freezing and thawing. *Acta Alimentaria*, **30**(1), 89-97 (2001).
20. Gougouli, M., Angelidis, A.S., Koutsoumanis, K.: A study on the kinetic behavior of *Listeria monocytogenes* in ice cream stored under static and dynamic chilling and freezing conditions. *J. Dairy Sci.*, **91**, 523-530 (2008).
21. Goff, H.D., Hartel, R.W.: Ice cream. *Springer*, pp. 353-378 (2012).