

고압 및 냉온처리에 의한 대추술의 살균효과

박희정 · 민용규 · 김광엽 · 강신욱
충북대학교 농과대학 식품공학과

Sterilization Effects of Hydrostatic Pressure and Low Temperature Treatments on the Jujube Wine

Hee-Joeng Park, Young-Kyoo Min, Kwang-Yup Kim and Shin-Wook Kang
Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University

Abstract

To prevent deterioration of the jujube wine quality by heat sterilization during commercial production, ultra high hydrostatic pressure and low temperature treatments were applied. Sterilization effects on microbial flora at various pressures (100 to 700 MPa) and temperatures (-20 to 0°C) were investigated. During storage at 35°C (±2°C) for 60days, changes in microbial counts of jujube wines pasteurized by different methods were compared. The jujube wine was completely sterilized at 500 MPa, 5 min or at 70°C for less than 5 min or 63°C for 30 min. But it was partially sterilized with the low temperature treatment and the highest sterilization rate of 60% was observed at -20°C, 3days followed by melting at 20°C for 4 hours. Microorganisms of wine were decreased < 10 CFU/mL after commercial treatment. The microorganisms resistant to pressure and heat were identified as *Bacillus sphaericus* and *Bacillus megaterium* respectively. Completely sterilized jujube wine by either heat or pressure didn't show any microbial growth through the whole storage periods. But jujube wines partially sterilized or unsterilized showed some microbial growth, but the microbial populations decreased significantly in 20 days and only normal bacterial strains were detected around the level of 10 CFU/mL afterwards. Just jujube wine of low temperature treated and un-treated were decayed showing light sticky brown sediments. Therefore sterilization effect of ultra high hydrostatic pressure on the jujube wine was proved and that of low temperature treatment was unsatisfied.

Key words: jujube wine, ultra high hydrostatic pressure, low temperature, heat treatment, sterilization effect

서 론

대추술은 충청북도 보은의 특산물인 대추를 이용하여 만든 청주 지방의 전통주로 대추액과 쌀을 원료로 발효시켜 만든 알코올 16%의 갈색빛 술이다. 또한 신진대사를 원활히 하고 위를 튼튼히 하며 피로회복과 이뇨작용에 우수하고 특히 하절기 피로에 효능이 있는 것으로 전해지고 있다(박록담, 1996). 그러나 대추술은 가열살균시 lactose, citrate, malate 및 휘발성 성분 등은 손실되고 화독내와 쓴맛 등은 증가하면서 발효 대추술 고유의 풍미가 손실되어 상품가치가 저하되는 문제점이 있다(이만규, 1997). 가열에 의한 살균은 식품의 안전성과 저장성을 향상시키기 위해 보편적으로 사용되지만, 그 열로 인하여 공유결합이 절단

및 생성되어 식품의 풍미성분 변화를 일으키고 조직감, 색깔, 영양성분 등에도 좋지 않은 영향을 미친다(Marquis, 1976). 따라서 식품 고유의 품질을 최대한 보존하는 살균방법으로 비열처리 공정에 대한 관심이 증대되고 있다. 주목받고 있는 방법으로는 전기장, 자기장, 초고압, 이온화 조사, 펄스, 초음파, 항생물질 처리 등이 있다(Mertins와 Knorr, 1992).

초고압처리는 식품고유의 풍미 및 영양성분을 그대로 유지해 줄 뿐 아니라, 고압작용시 세포막의 손상으로 인한 살균효과 또한 나타내는 것으로 알려져 있다(손경현 등, 1996). 고압살균에 관한 연구로는 미생물 살균조건(Ludwig *et al.*, 1992)과 주스류의 살균조건(Ogawa *et al.*, 1991; 이동연 등, 1995; Yen과 Lin, 1996)을 조사한 연구가 있으며, 식품의 성분이 고압살균에 미치는 영향을 조사한 연구(Horie *et al.*, 1991) 등이 있다. 술에 관한 초고압처리 살균은 무살균 청주

Corresponding author: Young-Kyoo Min, Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Korea

중의 미생물 불활성화에 관한 연구(Hara *et al.*, 1990)가 있는데, 300 MPa에서 10분간 처리했을 때 생주의 젖산균 및 효모는 사멸되었고 이후 30°C에서 1개월 보존하여도 품질이 유지되었다고 한다.

냉온처리법도 미생물의 생육을 억제시키는 살균효과가 있으며, 아울러 각종 침전물의 형성을 촉진하는 청징효과도 있다(이한창과 김상순, 1989). 냉온처리에 대한 미생물의 생존율은 여러 요인에 따라 달라지며, 이에 관한 연구로는 처리온도 및 기간, 균종, 균주의 성장단계에 따른 영향(Meynell, 1958), 회복시 배지의 성분이 생존에 미치는 영향(Patterson과 Jackson, 1979) 등에 관한 보고가 있다.

본 연구에서는 대추술에 고압 및 냉온처리를 적용하여 살균효과를 조사한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

대추술은 상법(민용규 등, 1995)에 따라 제조하여 여과(고려 여과기, LBI-980-920)한 후 사용하였고, 시판 대추술은 대추술 제조허가업체인 "청주대추술"로부터 구입하여 사용하였다.

시료의 처리

고압처리: 비닐용기에 대추술 10~30 mL정도를 넣고, 기포의 유입을 막아 밀봉한 후에 초고압(MFP-7000, Mitsubishi Heavy Industries Co. Japan)으로 처리하였다. 이 때 압력매체로는 증류수를 사용하였고, 증류수의 초기 온도는 16°C이었으며, 압력별 상승온도는 100, 300, 500, 700 MPa에서 각각 23.7, 26, 27, 30°C이었다. 가압시간은 이 조건하에서 각각 5분, 10분으로 하였는데, 특히 500 MPa에서는 0.1초, 30초, 1, 3, 5, 10분으로 세분하였다.

냉온처리: 95% ethanol로 살균한 100 mL cap tube에 시료를 30 mL씩 넣어, -20, -10, 0°C로 조절된 냉장고에서 6일간 저장하면서 3일 간격으로 미생물 변화를 조사하였다. 저장용 시료는 1L 유리병에 대추술을 800 mL씩 담아 -20°C (±2)에서 3일간 저온처리한 후, 20°C 항온기(BOD Incubator, Vision Scientific Co. LTD.)에서 4시간 방치하여 해동한 후 사용하였다.

가열처리: 50, 60, 70, 80°C로 맞춘 water bath(Jeio Tech Co., model WBC 1510A)에서 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40분동안 각각 가열하여 capillary-method (Peggy와 Susan, 1995)로 미생물 변화를 조사하였다. 저장용 시료는 대추술 공장에서 사용하는 방법(63°C, 10분)에

준하여 가열처리하였다. 즉 700 mL 유리병에 대추술을 400 mL씩 담아, 63°C로 맞춘 water bath에서 냉점 부위를 10분간 가열하였다. 이 때, 대추술의 초기온도는 18~20°C로 하였으며 가열 후에는 실온(여름: 28~30°C)에서 서서히 냉각하였다.

생균수 측정

세균용 배지로는 PCA (Plate Count Agar/Difco)를 사용하였고, 젖산균용 배지로는 Rogosa Agar (Lactobacilli Selective Agar/Merck)에 acetic acid를 0.133% 가하여 최종 pH를 5.5로 조절하여 사용하였다. 효모용 배지로는 SDA(Sabouraud Dextrose Agar/Difco)에 95% ethanol과 chloramphenicol을 각각 1, 0.5%씩 첨가하여 사용하였다. 생균수는 AOAC 방법(1984)에 따라 측정하였다. 세균과 젖산균은 37°C에서 48시간 배양하여 균수를 측정하였고, 혐기성균은 2% agar로 증충한 후 CO₂ 농도가 18%로 조절된 항온기(CO₂ Incubator, Vision Scientific Co. LTD)에서 배양하여 측정하였고, 효모는 25°C에서 72시간 배양하여 균수를 측정하였다.

균의 분리 및 동정

내열성균은 현재 제조·시판되고 있는 대추술(63°C, 10분) 중에서 변질되어 반품된 대추술을 BHI (Brain Heart Infusion/Difco), PDA (Potato Dextrose Agar/Difco), 그리고 Lactobacilli MRS (Difco) 배지 등을 사용하여 증충 배양하여 1000 CFU/mL 이상으로 나타나는 colony를 분리하여 원인균으로 선정하였다. 내압성균은 무처리 대추술을 100, 300, 500, 700 MPa의 압력에서 5분, 10분간 처리한 결과 500 MPa 이상에서 나타나는 1종의 colony를 내압성균으로 선정하였다. 선정된 대상 균주는 Gram염색, catalase반응성, 운동성, 포자유무에 대하여 조사한 후, 미생물 자동동정기(Vitek-System)로 분리동정하였다(민경찬 등, 1996).

저장중 미생물변화

무살균 대추술, 고압처리살균 대추술(500 MPa, 5분), 냉온처리살균 대추술(-20°C, 3일), 가열처리살균 대추술(63°C, 10분) 및 시판 대추술의 5종 시료를 35°C (±2°C)에서 60일간 저장하면서 10일마다 미생물 변화 및 외관상 변화를 조사하였다.

결과 및 고찰

고압에 의한 살균

현재 식품의 풍미를 유지하는 비열처리 신기술중의

하나인 고압처리 방법을 대추술의 살균에 적용하였다. 식품에 적용되는 압력의 범위는 400~1400 MPa이며, 이 압력하에서는 부피가 줄어드는 방향으로 반응이 촉진된다. 풍미성분에 관여하는 공유결합은 파괴되면 부피가 증가되므로 고압하에서도 비교적 안정하여 풍미성분의 변화를 적게할 수 있다(Marquis, 1976). 따라서 가열처리시 대추술의 풍미손실문제를 개선하고자 고압처리의 살균효과를 검색하였다.

압력의 크기: 압력의 크기가 대추술의 살균에 미치는 영향을 조사하고자 100, 300, 500, 700 MPa로 압력을 달리하여 각 5, 10분간 처리한 결과는 Table 1과 같다. 대추술은 100 MPa에서는 전혀 살균되지 않았고, 300 MPa에서는 일반세균만이 일부 생존하고 젖산균과 효모는 멸균되었으며, 500 MPa에서는 어떤균도 생존하지 못하였다. 따라서 젖산균과 효모가 다른 세균에 비하여 압력에 민감함을 알 수 있었고, 가압시간 5분과 10분간에는 살균효과의 차이가 없으며, 대추술의 내압성균은 호기성 일반세균임을 알 수 있었다. 또한 살균효과는 압력의 크기와 상당히 밀접하게 나타났다(Ludwig *et al.*, 1992). 한편 무살균 청주중의 젖산균과 효모는 300 MPa에서 10분 처리했을 때 완전히 살균(Hara *et al.*, 1990)되었으나, 발효식품의 변패성 효모인 *Candida tropicalis*는 300 MPa에서 10분간 가압 처리한 결과 거의 살균되지 않았다(손경현 등, 1996). 이는 고압처리시 균종이나 용액 등 여러 가지 요인이 살균에 영향을 미치고 있음을 시사한다. 고압처리시에는 가열처리시와 마찬가지로 식품의 성분에 따라 살균력이 달라진다. 효모나 곰팡이를 집중시킨 밀감쥬스는 pH나 유기산에 의해서 살균력이 영향을 받지는 않고(Ogawa *et al.*, 1991), 당농도를 50°Brix로 증가시킨 잼의 살균효과는 감소한다(Horie *et al.*, 1991). *E. coli*의 경우는 salt, amino acids, glucose 등을 적절히 함유한 용액에서 살균효과가 우수하다고 한다(Ludwig *et al.*, 1992).

*Candida tropicalis*의 경우에 400 MPa 10분 처리시

세포가 납작해지면서 표면이 함몰되고, 20~30개의 세포가 cluster의 형태로 뭉쳤고 세포벽이 손상을 입으면서 손상부위로 세포내 성분들이 용출되었다(손경현 등, 1996). 고압처리시 미생물은 이와 유사한 물리적인 파괴 과정을 경험할 것으로 여겨진다.

몇가지 식품의 살균조건을 살펴보면, guava puree (초기균수: $10^3 \sim 10^6$ CFU/mL)는 400 MPa, 25°C, 15분 처리하여 200~5200 CFU/mL로 감소하였고 600 MPa에서 같은 조건으로 처리했을 때는 10 CFU/mL 이하로 살균되었다(Yen과 Lin, 1996). 신선초 녹즙(초기 균수: 10^6 CFU/mL)은 558 MPa, 실온에서 7분 처리로 대장균의 멸균이 가능하였다(이동언 등, 1995). 이상과 같이 경제성을 고려한 안정 살균압력은 보통 400~600 MPa범위라고 볼 수 있는데, 같은 살균력을 갖는다고 가정할 때 낮은 압력에서는 긴 시간이 소요되므로 비경제적이다. 따라서 대추술의 압력조건은 5분안에 처리가 완료되는 500 MPa이 적당한 것으로 판단된다.

가압 시간: 압력의 크기가 대추술 살균에 미치는 효과를 조사한 결과, 500 MPa로 선정하였고 이 압력하에서 가압시간이 살균에 미치는 영향을 조사하고자 각 0.1초, 30초, 1, 3, 5, 10분간 가압처리한 결과는 Table 2와 같다.

젖산균과 효모는 500 MPa에서는 가압시간에 관계 없이 불활성화되었다. 이는 손경현 등(1996)의 효모가 500 MPa에서는 1분 이내에 불활성화되었다는 보고와 유사한 결과였다. 호기성 일반세균은 압력의 크기에 대해 내성을 보였듯이, 가압시간에 대해서도 내성을 보여 5분간 가압처리해서야 불활성화되었다. 높은 압력에서는 짧은 시간에도 살균효과가 민감하였고, 낮은 압력에서는 긴시간에도 민감하지 않았다고 보고된 바와 유사하다(Ludwig *et al.*, 1992). 또한 일반세균은 열처리시에도 약간 내성을 보였는데 이는 열처리시 내성을 보인 균주가 고압처리시에도 내성을 나타낸다는 보고와 유사한 결과였다(Ogawa *et al.*, 1990). 이상의 결과로부터 대추술의 고압살균 조건을 500 MPa,

Table 1. Sterilizing effects of different pressure levels on microorganisms in the jujube wine (CFU/mL)

Culture Medium	Pressure Time (min)	Un-treated	100 MPa		300 MPa		500 MPa		700 MPa	
		0	5	10	5	10	5	10	5	10
SDA		2.2×10^3	1.5×10^2	1.9×10^2	-	-	-	-	-	-
PCA		9.9×10^3	1.1×10^3	1.2×10^3	5.0×10^2	1.4×10^2	-	-	-	-
LA		5.3×10^3	1.3×10^3	1.5×10^3	-	-	-	-	-	-
PCA (with top agar*)		6.8×10^3	1.3×10^3	2.0×10^3	6.0×10^1	5.0×10^1	-	-	-	-
LA (with top agar*)		5.3×10^3	1.0×10^3	1.6×10^3	-	-	-	-	-	-

*Facultatively anaerobic conditon: 18% CO₂ Incubator, 37°C

SDA (Sabouraud Dextrose Agar), PCA (Plate Count Agar), LA (Logosa Agar: Lactobacilli Selective Agar)

Table 2. Sterilization effects of different pressure times at 500 MPa on microorganisms in the jujube wine (CFU/mL)

Culture Medium	Time (min)	0	0.1 sec	30 sec	1 min	3 min	5 min	10 min
SDA		2.2×10 ³	-	-	-	-	-	-
PCA		9.9×10 ³	7.8×10 ¹	8.5×10 ¹	1.5×10 ¹	4.0×10 ⁰	-	-
LA		5.3×10 ³	-	-	-	-	-	-
PCA (with top agar*)		6.8×10 ³	1.3×10 ²	8.5×10 ¹	-	-	-	-
LA (with top agar*)		5.3×10 ³	-	-	-	-	-	-

*Facultatively anaerobic condition: 18% CO₂, Incubator, 37°C

SDA (Sabouraud Dextrose Agar), PCA (Plate Count Agar), LA(Logosa Agar: Lactobacilli Selective Agar)

5분으로 선정할 수 있었다.

내압성균

무살균 대추술을 위의 조건에 따라 가압처리한 결과, 300 MPa (10분)까지는 무살균술과 비교하여 검출되는 미생물 분포와 빈도, colony 크기 등에 별다른 차이를 나타내지 않았으나, 500 MPa (3분)이상에서 1종의 colony가 나타났다. 본 균주는 Gram (+), motility (+), catalase (+)의 간균으로서 Vitek-System으로 동정한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이, *Bacillus sphaericus*로 판정되었다(P<0.01). 이는 G (-) 세균이 G (+) 세균에 비해서 고압처리를 통해서 더 쉽게 사멸된다는 보고와 일치하는 결과였다(Style et al., 1991). 그러나, 본 균주는 초고압 처리를 행하지 않은 무살균 술에서도 매우 낮은 농도(<100 CFU/mL)로 존재하였으며 장기 배양에서도 매우 미약한 생장을 보였다. 따라서 이 균은 대추술의 저장성에 크게 문제가 된다고 할 수 없으며 고압 살균 조건은 500 MPa, 5분이 적정할 것으로 사료된다.

냉온에 의한 살균

냉온처리도 미생물의 생육을 정지시켜 식품의 부패를 지연시키는 방법(이한창과 김상순, 1989)으로서 냉온처리후 미생물 생존율은 미생물의 종류 및 성장단

계, 냉각 및 해동속도, 처리온도 및 시간, 회복시 배지의 조성 등 여러 인자에 의하여 달라진다(Patterson과 Jackson, 1979). 이중 실제로 조절하기 쉬운 조건은 처리온도와 시간이라 할 수 있으므로 이에 대한 살균효과를 조사하였다.

온도 및 시간

냉온처리 온도와 시간이 대추술의 살균에 미치는 효과를 조사한 결과는 Table 4와 같다. 처리온도에 따른 살균효과를 살펴보면 -20°C에서는 3일간 처리했을 때 균중에 따라 10¹~10² CFU/mL 범위에서 살균되었고 -10°C와 0°C에서는 효모만이 10¹ CFU/mL 만큼 살균되었다. 따라서 처리온도가 낮을수록 살균효과가 높음을 알 수 있었다. 미생물은 냉각속도가 100~1000°C/min이상이면 세포내에 ice crystal이 형성되는 세포내 동결(intracellular ice)로 인하여 불활성화되지만, 냉각속도가 1~10°C/min 범위일때는 세포주변의 외액의 일부만이 얼어 세포는 탈수되어 수축하고 미동결수의 수분에는 용질이 농축된 상태로 존재하는 세포외 동결(extracellular ice formation) 상태가 된다. 이 상태는 치명적이지는 않으나 장기간 저장시 세포막 장애를 일으켜 사멸하게 된다(이한창과 김상순, 1989). 본 실험 조건은 후자에 해당하므로 6일간 처리로는 사멸이 충분하지 않을 것으로 생각된다. 또한 냉온처리시 살

Table 3. Identification results of pressure-resistant strain of *Bacillus sphaericus*

NEG	-	SUC	-	TZR	-	TAG	-	GLU	-	INO	-
GAL	-	ARA	-	XYL	-	MAN	-	RAF	-	SAL	-
AGA	-	INU	-	RIB	-	MLT	-	TRE	-	PLA	-
SOR	-	NAG	+	AMY	+	KCN	-	NCL	-	MEN	-
OLD	-	NAA	+	ARB	-	PAS	-	NAE	-	ESC	-
THRM	-										

99% *Bacillus sphaericus* : 0000030200

AMS ID # 020001-0 (C1-20) DSAMSO-R09.1

Report Date : Tue Feb 13 07:52:35 1996

Type : *Bacillus* Card

FINAL Elapsed time : 15 hours

Table 4. Effect of low temperature treatment on microorganisms in the jujube wine (CFU/mL)

Culture Medium	Storage time (days)		Temp (°C)				Temp (°C)	
	0	3	0	3	6	0	3	
SDA	2.1 × 10 ³	1.3 × 10 ²	3.9 × 10 ²	6.5 × 10 ²	7.0 × 10 ¹	3.9 × 10 ²	4.9 × 10 ²	
PCA	8.5 × 10 ³	3.2 × 10 ²	2.6 × 10 ³	3.3 × 10 ³	2.4 × 10 ²	3.0 × 10 ³	3.6 × 10 ³	
LA	5.3 × 10 ³	1.5 × 10 ¹	2.8 × 10 ³	3.3 × 10 ³	2.3 × 10 ¹	2.9 × 10 ³	3.2 × 10 ³	
PCA (with top agar*)	6.7 × 10 ³	1.4 × 10 ¹	1.9 × 10 ³	1.9 × 10 ³	1.0 × 10 ¹	2.0 × 10 ³	3.0 × 10 ³	
LA (with top agar*)	5.2 × 10 ³	2.3 × 10 ²	2.4 × 10 ³	2.3 × 10 ³	1.4 × 10 ²	2.3 × 10 ³	2.5 × 10 ³	

*Facultatively anaerobic conditon: 18% CO₂ Incubator, 37°C

SDA (Sabouraud Dextrose Agar), PCA (Plate Count Agar), LA (Logosa Agar: Lactobacilli Selective Agar)

균효과는 대수기일때가 정상기에 비하여 크다고 하는데(Meynel, 1958), 발효가 끝난 대추술에 존재하는 균들은 대수기를 지난 단계이므로 냉온처리시 살균효과가 저하되는 것으로 생각된다. 처리시간을 6일로 연장하여도 살균효과는 3종의 온도구간 모두 거의 변화가 없었다. 즉, 세균은 처리시간을 연장하여도 살균효과는 더 이상 증가하지 않았으나, 효모는 -20°C, 3일처리에서 6일로 기간을 연장했을 때 10¹ CFU/mL 만큼 살균효과가 증가되었다. 따라서 세균보다 효모가 냉온처리에 민감한 것으로 나타났다. *E. coli*, *Staphylococcus aureus* 등은 1, 4°C에서 약 30일간 저장한 경우 log 3~4정도의 감소를 보였다고 보고된 바 있다(Patterson과 Jackson, 1979). 따라서 대추술에서도 냉온처리기간을

연장한다면 살균효과를 증대시킬 수 있을 것으로 예상되며, 냉온숙성기간을 가지는 것도 한가지 방법일 것이다. 그러나 장기간 냉온처리의 불편함이 따르므로 본 실험조건에서는 냉온처리의 조건을 -20°C, 3일에 한하였다.

가열에 의한 살균

현재 시판되고 있는 대추술의 가열처리 살균효과를 조사하고자 가열 온도별 및 시간별로 균수 변화를 조사하였고 결과는 Table 5와 같다.

온도 및 시간

가열처리 결과 일반세균만이 생존하였고 젖산균과

Table 5. Changes in microbial counts of the jujube wine after heat treatment (CFU/mL)

Culture Medium	Temp (°C)	Heating Time (min)								
		0	5	10	15	20	25	30	35	40
SDA	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	60	2.25 × 10 ²	-	-	-	-	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PCA	50	-	4.0 × 10 ⁰	1.0 × 10 ⁰	-	-	-	-	-	-
	60	2.38 × 10 ²	3.0 × 10 ⁰	-	-	-	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LA	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	60	2.3 × 10 ²	-	-	-	-	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PCA (with top agar*)	50	-	4.0 × 10 ⁰	1.0 × 10 ⁰	3.0 × 10 ⁰	1.0 × 10 ⁰	-	-	-	-
	60	2.69 × 10 ²	2.0 × 10 ⁰	3.5 × 10 ⁰	3.5 × 10 ⁰	4.0 × 10 ⁰	3.0 × 10 ⁰	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LA (with top agar*)	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	60	2.58 × 10 ²	-	-	-	-	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Facultatively anaerobic conditon: 18% CO₂ Incubator, 37°C

SDA (Sabouraud Dextrose Agar), PCA (Plate Count Agar), LA (Logosa Agar: Lactobacilli Selective Agar)

Table 6. Identification results of heat-resistant strain of *Bacillus megaterium*

NEG	-	SUC	+	TZR	-	TAG	-	GLU	+	INO	+
GAL	+	ARA	+	XYL	+	MAN	+	RAF	+	SAL	-
AGA	-	INU	-	RIB	-	MLT	+	TRE	+	PLA	-
SOR	+	NAG	+	AMY	+	KCN	+	NCL	-	MEN	+
OLD	-	NAA	-	ARB	-	PAS	-	NAE	-	ESC	+
THRM	-										

99% *Bacillus megaterium*: 23760675010<1% *Bacillus circulans*

AMS ID # 600002-0 (C1-30) DSAMSO-R09.1

Report Date: Fri Feb 2 18:05:09 1996

Type: *Bacillus* Card

FINAL Elapsed time: 6 hours

효모는 50°C, 5분 열처리로 사멸하였으며, 혐기적 일 반세균의 생존율이 높게 나타났다. 이는 고압처리시 세균이 내성을 보인 것과 유사한 결과로 내열성이 강 한 균주가 강한 내압성을 나타낸다는 보고와 일치하 였다(Ogawa *et al.*, 1990). 대추술중의 미생물은 60°C, 30분간 열처리시 멸균되었고, 70°C에서는 5분 가열로

멸균되어 열에 대한 내성은 보이지 않았다. 현재 대추 술에 사용되고 있는 상업적 살균법인 63°C, 10분간 가 열처리하는 대추술중의 미생물을 10 CFU/mL 이하로 감 소시킨다. 또한 10 CFU/mL 로 미생물이 살균된 대추 술은 35°C 저장중 미생물에 대해서나 외관상으로 안 정하였다(Table 7). 그럼에도 불구하고 시판중 대추술

Table 7. Changes in microbial counts of jujube wines pasteurized by different methods during storage at 35°C (CFU/mL)

Culture Medium	Sample	Storage time (days)							
		0	10	20	30	40	50	60	
SDA	N	2.2×10 ²	-	-	-	-	-	-	-
	A	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	1.3×10 ²	-	-	-	-	-	-	-
	C	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-
PCA	N	2.3×10 ³	1.2×10 ¹	2.5×10 ¹	3.0×10 ⁰	5.0×10 ⁰	3.0×10 ⁰	4.2×10 ⁰	
	A	-	-	-	-	-	-	-	
	B	3.1×10 ²	1.2×10 ¹	3.0×10 ⁰	6.0×10 ⁰	2.5×10 ⁰	3.0×10 ⁰	3.0×10 ⁰	
	C	8.0×10 ⁰	1.0×10 ¹	3.0×10 ⁰	5.0×10 ⁰	1.0×10 ⁰	3.0×10 ⁰	1.0×10 ⁰	
	D	-	-	-	-	-	-	-	
LA	N	2.9×10 ³	-	-	-	-	-	-	
	A	-	-	-	-	-	-	-	
	B	1.5×10 ¹	-	-	-	-	-	-	
	C	-	-	-	-	-	-	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	
PCA (with top agar*)	N	1.3×10 ³	7.0×10 ⁰	1.5×10 ¹	2.0×10 ⁰	4.0×10 ⁰	2.0×10 ⁰	4.0×10 ⁰	
	A	-	-	-	-	-	-	-	
	B	1.6×10 ¹	3.0×10 ⁰	4.0×10 ⁰	3.0×10 ⁰	4.0×10 ⁰	1.0×10 ⁰	2.0×10 ⁰	
	C	2.0×10 ⁰	5.0×10 ⁰	2.0×10 ⁰	5.0×10 ⁰	4.0×10 ⁰	2.0×10 ⁰	2.0×10 ⁰	
	D	-	-	-	-	-	-	-	
LA (with top agar*)	N	2.1×10 ³	-	-	-	-	-	-	
	A	-	-	-	-	-	-	-	
	B	1.7×10 ²	-	-	-	-	-	-	
	C	-	-	-	-	-	-	-	
	D	-	-	-	-	-	-	-	

N: un-treated, A: pressured at 500 MPa, 5 min, B: treated at -20°C, 3days, C: heated at 63°C, 10 min, D: commercial product.

*Facultatively anaerobic condition: 18% CO₂ Incubator, 37°C

SDA (Sabouraud Dextrose Agar), PCA (Plate Count Agar), LA (Logosa Agar: Lactobacil Selective Agar)

의 변패가 발생하는 이유는 제품의 대량 가열처리시, 수조내 열분포 및 열침투 곡선으로 미루어 보아 가열 수조 내부의 온도가 불균일하여 살균이 불충분하게 이루어졌기 때문인 것으로 판단된다(민용규 등, 1995). 탁주증의 효모는 50°C, 5분 가열로 불활성화되고, 총세균은 55°C, 5분 가열로 10⁻⁴ 정도로 감소하나 더이상 처리시간을 연장하고 온도를 높여줘도 감소는 없었다고 하였다(배상면 등, 1990). 이처럼 대추술이 탁주보다 가열살균이 우수한 것은 대추술의 여과중 대부분 고형입자와 다수의 미생물이 제거되었고, 대추술의 높은 알코올 농도에서 균의 기능이 약화되었기 때문으로 판단된다.

내열성균

현재 제조·시판되고 있는 대추술(63°C, 10분) 중에서 변질되어 반쯤된 대추술은 가열처리 부족이 원인으로 생각되었다. 변패 대추술중에 존재하는 미생물상을 살피기 위해 증충배양하여, 여러시료에서 일정한 농도 이상으로 검출된 균주를 선정하여 내열성균으로 판정하였다. 분리동정한 결과 Gram (+)의 간균으로 motility (+), catalase (+), endospore를 형성하였으며, 자동화 미생물 동정기기인 Vitek-System으로 동정한 결과 Table 6에서 보는 바와 같이 *Bacillus megaterium*으로 나타났다(P<0.01).

저장중 미생물변화

상기의 실험 조건에 의하여 선정된 고압처리 살균(500 MPa, 5분), 냉온처리 살균(-20°C, 3일), 가열처리 살균한 대추술과 시판 대추술을 35°C (±2°C)에서 저장하면서 10일 간격으로 미생물 변화를 조사한 결과는 Table 7과 같다.

고압처리한 술과 시판술은 처리직 후에 완전히 살균되었고 저장 전기간 동안 미생물이 전혀 검출되지 않았다. 가열처리한 술에는 가열직 후에 일반세균만이 잔존하였고 저장중에도 10 CFU/mL 이하로 계속해서 검출되었다. 무처리술과 냉온처리한 술에는 초기에 각각 10³, 10² CFU/mL의 균이 존재하였는데, 젖산균과 효모는 무처리술과 냉온처리술 모두 10일째에 사멸되어 이후 말기까지 검출되지 않았고, 일반세균은 무처리술에서는 20일내에 냉온처리술에서는 10일내에 10 CFU/mL로 감소하여 이후 10 CFU/mL 이하로 잔존하였다. 무처리 대추술 중의 미생물이 초기에 10³ CFU/mL에서 20일내에 10 CFU/mL 이하로 감소한 것으로 보아 대추술의 조성이 미생물의 생육에는 부적절함을 알 수 있었다. 술에서 많은 함량을 차

지하는 에탄올에 대하여 미생물은, 4%에서는 세균과 효모의 대부분이 증식되지만 곰팡이는 억제되고 8%에서는 대부분의 미생물은 증식되지 않는다고 한다(정동효, 1990).

외관상의 변화를 살펴보면, 무처리술과 냉온처리 대추술은 시간이 경과할수록 황색의 점액성 침전이 형성되면서 부패되었고, 고압, 가열 및 시판 대추술은 부패되지 않았다. 이는 대추술을 10 CFU/mL 이하로 살균할 때 안정함을 의미하는 것으로, 대추술중의 미생물은 저장중 증식하지는 않으나 부패에 관여한다는 사실과, 시판 대추술이 유통중 부패되는 원인이 살균 부족이라는 점을 뒷받침해 준다.

결 론

대추술의 품질을 저하시키는 가열살균방법을 비열처리법으로 대신하기 위하여 초고압처리(100~700 MPa)와 냉온처리(-20~0°C)를 적용하여 살균효과를 조사하였고, 35°C (±2°C)에서 60일간 저장하면서 미생물 변화 및 외관상 변화를 조사한 결과는 다음과 같다.

대추술은, 고압처리시 500 MPa에서 5분 동안에 완전히 살균되었고, 냉온처리시 -20°C에서 3일간 냉동한 후 20°C에서 4시간 해동했을 때 최대 60%까지 살균되었다. 가열처리시는 60°C에서 30분 처리로 완전히 살균되었고, 70에서는 5분 이내에 살균되었다. 상업적인 살균(63°C, 10분) 후에는 10 CFU/mL 이하로 살균되었다. 내열성균은 *Bacillus sphaericus*로 동정되었고 내열성균은 *Bacillus megaterium*으로 동정되었다. 완전히 살균된 고압처리술과 시판 대추술은 저장 전기간동안 미생물의 증식이 없었다. 그리고 냉온처리술, 가열처리술, 무처리술에서는 약간의 미생물 증식을 보였으나 저장 20일 이내에 급격히 감소하여 이후에는 일반세균만이 10 CFU/mL 이하의 수준으로 검출되었다. 외관상으로는 무처리술과 냉온처리술만이 저장중 옅은 황색의 점액성 침전을 보이면서 부패되었다. 이와 같이, 대추술에 대한 고압처리의 적용 가능성을 확인하였고, 냉온처리에 대해서는 살균율이 낮아 단독처리로는 적용이 어려우므로 다른 추가적인 처리가 요구된다. 또한 고압처리에 대해서는 처리 후 관능적인 품질변화에 관한 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것이다.

감사의 글

이 연구는 과학기술처가 지원하는 G-7 project의 전

통누룩과 전통주의 품질향상 및 산업화 기술 연구결과
의 일부이며 연구비를 지원해 준 과학기술처와 농
촌진흥청에 감사드립니다. 그리고 실험을 도와주신
풀무원 중앙연구소의 이윤범님께도 진심으로 감사드
립니다.

문 헌

- 민경찬, 심우만, 위성언, 조석금, 김관유, 방병호, 김영권 공
저. 1996. 식품미생물학 실험. 광 문각.
민용규, 이철호, 장학길. 1995. 전통주의 산업화기술 연구보
고서.
박록담. 1996. 한국의 전통 민속주. 효일 문화사.
배상면, 김현진, 오태광, 고영희. 1990. 저온 살균법에 의한
탁주의 보존성 증진. 산업미생물학회지. **18**(3): 322.
손경현, 장정국, 공운영, 이형주. 1996. 고압처리에 의한
*Candida tropicalis*의 불활성화 및 세포구조의 변화. 한국
식품과학회지 **28**(3): 587.
이동언, 박지용, 이윤범, 여익현. 1995. 초고압을 이용한 신
선초 녹즙의 살균 및 갈색화 효소의 불활성화. 한국식품
과학회지 **27**(6): 991.
이만규. 1997. 대추술의 제조공정과 가열조건이 술의 품질
에 미치는 영향. 충북대학교 석사 학위논문.
이한창, 김상순. 1989. 식품저장학. 수학사.
정동효. 1990. 식품살균론. 대광서림.
A.O.A.C., 1984. Official Method of Analysis. 14th ed.,
Association of Official Analytical Chemists, Whashington,
D. C., p 822.
Hara, A., Nagahama, G., Ohbayashi, A. and Hayashi, R.
1990. Effect of high pressure on inactivation of enzymes
and microorganisms in nonpasteurized rice wine. *J. Agri.
Chem. Soc. Japan*, **64**: 1025.
Horie, Y., Kimura, K., Ida, M., Yosida, Y. and Ohki, K. 1991.
Jam preparation by pressurization. *Nippon Nogeikagaku
Kaishi*, **65**: 975.
Ludwig, H., Bieler, C., Hallbauer, K. and Scigalla, W. 1992.
Inactivation of microorganism by hydrostatic pressure. *High
Pressure and Biotechnology*, **224**: 25.
Mertins, B. and Knorr, D. 1992. Development of Nonthermal
Processes for Preservation. *Food. Tech.* **46**(5): 124.
Marquis, R.E. 1976. High-pressure microbial physiology.
Adv. Microbial Physiol., **11**: 159.
Meynell, G. G. 1958. The effect of Sudden chilling on *E.
coli*. *J. gen. Microbiol.*, **19**: 380.
Ogawa, H., Fukuhisa, K., Sugawara, K., Kubo, Y. and
Fukumoto, H. 1991. Effect of hydrostatic pressure on sterili-
zation of citrus juice. In High Pressure Science for Food,
Hayashi, R., Ed., San-Ei Pub. Co. Kyoto, 225.
Ogawa, H., Fukuhisa, K., Kubo, Y. and Fukumoto, H. 1990.
Pressure Inactivation of Yeasts, Molds, and Pectinesterase
in Satsma Mandarin Juice. *Agric. Biol. Chem.*, **54**(5),
1219.
Patterson, T. E. and Jackson, H. 1979. Effect of storage at 1
and 4°C an viability and injury of *Staphylococcus aureus*,
E. coli and *Streptococcus faecalis*. *J. Applied bacteriology*,
46: 161.
Peggy, M. F. and Susan, B. L. 1995. Heat Resistance and
Growth of *Listeria monocytogenes* in Liquid Whole Egg.
J. Food Protection, **53**(1): 9.
Style, M. F., Hoover, D. G. and Farkas, D. F. 1991. Response
of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* to
high hydrostatic pressure. *Int. J. Food Sci.* **56**: 1404.
Yen, G. C. and Lin, H. T. 1996. Comparision of high
pressure treatment and thermal pasteurization effects on
the quality and shelf life of guava puree. *Int. J. Food Sci.*
31: 205.