

생물 시스템에 대한 초고압 처리 효과

홍석인 · 박완수
한국식품개발연구원

Effect of High Hydrostatic Pressures on Biological Systems

Seok-In Hong and Wan-Soo Park
Korea Food Research Institute

Abstract

High pressure technology can be applied to extend the shelf life of foods, to modify the texture and sensory properties of foods, and to store foods without refrigeration and freezing. The shelf life of foods is increased principally by the inactivation of microorganisms, spores, and undesirable enzymes using the appropriate pressures. In this review, the effects of high hydrostatic pressure on biological systems were investigated in terms of microorganisms, enzymes, and biochemical reactions. High pressure induces a number of changes in biological systems, including morphological, biochemical and genetic changes, as well as the changes in the cell membrane and cell wall of microorganisms. Moderately high pressures decrease the rate of microbial growth and reproduction, and especially very high pressures cause the inactivation of microorganisms. In general, gram-negative bacteria are inactivated at a lower pressure than the gram-positive. The inactivation of spores is also caused by combining pressure treatment with heating above 60°C. Microbial inactivation by high hydrostatic pressures depends largely on pH, composition, osmotic pressure, and temperature of the media. Exposure to high pressure results in the activation or inactivation of enzymes. Enzymatic inactivation takes place as a result of pressure alteration of intramolecular structures or conformational changes at the active site. Thus, the inactivation of some enzymes pressurized to a certain extent is reversible. The biochemical reactions most affected by high pressure treatment are the reactions with reactants that undergo either a decrease or an increase in the volume. Pressure causes a decrease in the available molecular space, or an increase in chain interactions.

Key words: high hydrostatic pressure, nonthermal processing technology, inactivation of microorganisms and enzymes, food preservation

서 론

대부분의 식품은 가열 또는 비가열 처리에 의해 일정 수준의 저장성이 확보되도록 만들어지는데, 일반적으로 가열처리(가열 및 조리)는 미생물의 생육을 억제할 뿐만 아니라 식품 자체의 품질에도 영향을 미칠 수 있다. 이에 반해 최근 들어 더욱 주목받고 있는 비가열처리는 식품의 품질에는 영향을 미치지 않으면서 부패 미생물을 억제할 수 있는 장점이 있다. 그 가운데에서도 초고압(ultra high hydrostatic pressure)은 미생물 및 효소의 불활성화에 매우 뛰어난 효과를 갖고 있어 고품질의 제품 생산이 가능하므로

식품산업에서 그 중요성이 날로 부각되고 있다(Mertens와 Knorr, 1992; Barbosa-Cánovas *et al.*, 1998).

생물 시스템에 대한 초고압 처리효과는 알려진 바와 같이 4000-9000 기압의 고압에서 효소와 미생물이 불활성화되는 것과 각종 생화학 반응이 촉진 또는 억제되는 것으로서 최근까지 상당한 연구가 이루어지고 있다. 이에 본문에서는 비가열처리로서 식품 가공분야에 무한한 잠재력을 갖고 있는 초고압 처리 기술을 검토하고자, 기본적으로 생물 시스템에 대한 초고압 처리의 영향을 미생물, 효소, 생화학 반응 등으로 구분하여 살펴보았다.

미생물에 대한 초고압 처리 효과

대부분의 미생물은 약 200-300 기압까지의 압력조

Corresponding author : Seok-In Hong, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea

건에서 생육이 가능하며, 일부 *barophile* 미생물은 400-500 기압 이상에서도 생육할 수 있다. 이에 비해 *barophobic* 미생물은 300-400 기압 이상의 높은 압력에서 생육속도가 느려지거나 거의 생육할 수 없다. 한편, 1-500 기압의 범위에서 생육하는 미생물을 *eurybaric*이라 하며, 500-2000 기압의 고압에서도 살아 있으나 더 이상 증식하지 않는 미생물을 *baroduric*이라고 정의한다(Zobell, 1970).

형태적 변화

초고압으로 처리한 미생물에서 발견할 수 있는 가장 큰 형태적 변화는 필라멘트의 형성으로 *E. coli*의 경우 27-40 MPa 범위의 압력에서 매우 긴 필라멘트를 생성하는 성질을 나타내었다. 즉, 대기압에서 생육하였을 때 1-2 μm 가 정상적인 길이인데 반해 40 MPa에서는 10-100 μm 의 긴 필라멘트를 형성하였는데, 이때 고압에 의해 생성된 필라멘트는 정상적인 두께($\sim 0.6 \mu\text{m}$)의 분열되지 않은 단일 세포들(single unsegmented cells)의 연결체이다(Zobell과 Cobet, 1962). 또한 *Vibro spp.*는 40 MPa로 처리하였을 때 대기압에서 성장한 세포에 비해 길이가 5~8배인 필라멘트를 형성하였고, *Bacillus mycoides*는 약 27 MPa에서 2~3배 더 긴 세포를 형성하며, *Serratia marinoirubra*는 60 MPa에서 약 200 μm (정상적인 대기압에서는 0.6-1.5 μm)의 매우 긴 필라멘트를 형성하였다. 이러한 압력에 의한 형태적 변화는 미생물의 종에 따라 다르며 같은 종이라도 세부 종 및 계통에 따라 달라질 수 있다. 한편 처리 압력이 달라도 *E. coli* 세포의 단위 길이당 생성되는 단백질의 양은 같으나, 정상적인 세포에 비해 고압 처리한 경우 세포질의 RNA 양은 증가하는 반면 DNA 양은 현저하게 감소한다고 한다(Zobell, 1970).

대부분의 운동성 미생물은 20-40 MPa의 압력으로 일정 시간 처리하면 운동성이 없어진다. 예를 들어 *E. coli*, *Vibrio*, *Pseudomonas*는 10 MPa에서 flagella를 지니는 반면 40 MPa에서는 없어지는데(Zobell, 1970), 일부 세균에서는 잃었던 운동성을 다시 복원하기도 한다(Kitching, 1957).

미생물 사멸

일정 수준의 고압 처리는 미생물의 성장과 증식을 억제하지만, 매우 높은 초고압은 완전히 불활성화시킨다. 이러한 미생물의 증식 지연 및 사멸을 유발하는 역치 압력(threshold pressure)은 미생물의 종류에 따라 다르다. 예를 들어 *E. coli*(ATCC 11303)는 10-

50 MPa에서 성장과 증식이 지연되는데, 증식(생균수의 증가)이 성장(흡광도로 측정되는 균체량의 증가)에 비해 더 지연된다고 한다. 또한 *E. coli*는 20 MPa의 압력에서 배양할 때 온도가 증가함에 따라 성장 속도도 증가하여 30°C에서는 10-15 시간, 40°C에서 5-10 시간만에 정지기(stationary phase)에 도달하고, 40 MPa 이상에서는 유도기(lag phase)가 연장되며, 52.5 MPa에서는 더 이상 성장하지 않는다. 다만, 온도가 높을 때는 더 낮은 압력에서도 사멸될 수 있다고 한다(Zobell과 Cobet, 1962).

Metrick *et al.* (1989)은 *Salmonella typhimurium* 7136과 *S. senftenberg* 775 W 균주의 내열성 및 내압성에 대해 비교 연구한 결과, *S. senftenberg*는 57.5°C에서 15분의 D 값을 갖는 내열성 균주인데 반해 *S. typhimurium*은 동일 온도에서 D 값이 3분임을 확인하였다. 또한 압력에 의한 불활성화 연구로서 인산염 완충액과 닭고기 함유 유아식에 현탁된 두 균주를 272 MPa, 23°C에서 가압처리하였을 때 두 가지 모두 유아식보다 인산염 완충액에서 더욱 현저한 불활성화 효과가 나타났다. 한편 340 MPa에서는 초기에 생균수 감소가 일어난 후 점차 사멸속도가 감소하는 안정화 효과(stabilization effect) 또는 'tailing'이 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 안정화 효과는 일부 소수의 미생물 군집이 나머지 대다수에 비해 압력에 대한 저항성이 더 크기 때문이거나 혹은 사멸속도가 상대적으로 매우 느리기 때문에 나타나는 현상으로 이해된다(Hong *et al.*, 1999). 이들 압력에 대해 저항성이 있는 미생물 군집을 따로 분리하여 배양시킨 후 다시 고압으로 처리한 결과, 원래 배양액이나 내압성 2차 배양액간에 압력 효과는 차이가 없는 것으로 나타났다. 더욱이 유아식에 현탁한 세균은 초고압 처리 후 다시 복원되었지만 완충액의 세포는 복원되지 않았는데, 이는 유아식 자체가 완충액에 비해 영양성분을 더 많이 함유하기 때문에 세포 복원시 필요한 에너지를 쉽게 공급받을 수 있기도 하지만 한편으로 이들 영양성분은 현탁된 미생물의 세부구조에도 영향을 미쳐 압력에 의한 세포의 손상 및 사멸 정도를 약화시키는 것으로 판단된다. 특히 세포막은 초고압에 의한 미생물 사멸을 좌우하는 핵심 부위이며, 그밖에도 amino acyl-tRNA와 ribosome 및 mRNA의 결합, 주요 세포내재 효소의 불활성화 등이 압력에 민감하게 영향을 받는다. 따라서 고압에 의한 미생물의 사멸작용은 세포의 불활성화에 관여하는 요인이 여러 가지라는 측면에서 열처리에 의한 미생물의 사멸과 유사하다

Table 1. Pressure inactivation times for several microorganisms

Microorganism	Applied Pressure (MPa)	Temperature (°C)	Time (min)	Viability
Bacteria in raw milk	200	35	1800	1 log cycle reduction
	500			4 log cycles reduction
	1,000			Few cells survived
<i>Bacillus anthracis</i>	97		10	Vegetative cells and some spores killed
	290			Some spores survived; their virulence was attenuated
<i>Bacillus subtilis</i>	578-680	-	5	Vegetative cells killed but not sterilized
<i>Bacillus</i> spores	0.1	93.6	60	Sterilization
	60		>240	Sterilization
Thermostable <i>B. subtilis</i> α-amylase	0.1	55	-	90% inactivation
	100		1008	90% inactivation
<i>C. diphtheriae</i>	408-544	-	5	Sterilization
<i>Candida tropicalis</i>	400	25	1	5 log cycles reduction
	500			Sterilization
<i>E. coli</i>	290	25-30	10	Most cells killed but not sterilized
	0.1	-	2160	9 × 10 ⁸ stationary phase cells/mL reduce to 4 × 10 ⁶ cells/mL
	100	30	0	9 × 10 ⁸ stationary phase cells/mL
			360	2 × 10 ⁷ cells/mL
			720	3 × 10 ⁵ cells/mL
			1080	6 × 10 ³ cells/mL
			1440	1 × 10 ² cells/mL
			1800	4 cells/mL
			2160	Sterilization
			720	Sterilization
20	720	Sterilization		
<i>Lactobacillus plantarum</i>	400	25	10	4 log cycles reduction
	500		2	9 log cycles reduction
	600		1	Most cells killed but not sterilized
	700		1	Sterilized
<i>Listeria monocytogenes</i>	238-340	-	20	10 ⁶ CFU/mL reduce to less than 10 CFU/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	193.5	-	720	Sterilized
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	204-306	20-25	60	Sterilized
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	574	-	5	Killed
<i>Saccharomyces</i> ascospore	500	25	1	Sterilized
<i>S. albicans</i>	374-408	-	5	Killed
	204-280		60	Killed
<i>Salmonella typhimurium</i>	408-544	-	5	Sterilized
	238-340		30	3 log cycles reduction
<i>Salmonella senftenberg</i>	238-340	-	30	3-5 log cycles reduction
<i>Serratia marcescens</i>	578-680	20-25	5	Sterilized
<i>Staphylococcus aureus</i>	290	25-30	10	Most cells killed but not sterilized
<i>Staphylococcus aureus</i> antitoxin	0.1	65	30	85% denaturation
	68		48	~85% denaturation
<i>Streptococcus lactis</i>	340-408	20-25	5	Sterilized
<i>Streptococcus</i> spp.	193.5	-	10	Sterilized
<i>Vibrio cholera</i>	193.5	-	720	Sterilized
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	170	-	10-30	10 ⁶ CFU/mL reduce to less than 10 CFU/mL

고 추측된다.

*Listeria monocytogenes*와 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 고압처리 효과를 Styles *et al.*(1991)이 보고한 바 있다. *L. monocytogenes*는 우유에서, *V. parahaemolyticus*는 해산물에서 주로 발견되는 오염 미생물로서 이 두 균주를 각기 인산염 완충액과 모델 식품에 현탁하여 실험하였다. *L. monocytogenes*에 사용된 모델 식품은 초고온 순간살균(UHT) 우유와 생 우유였으며, *V. parahaemolyticus*에 대해서는 가열 살균한 조개국물(clam juice)을 사용하였다. 완충액에 현탁된 *L. monocytogenes*의 경우 238 MPa에서는 생균수의 변화가 거의 없었으나 272 MPa에서 약 1 log 정도 감소하였고, 306 MPa에서는 20분내에 3 log cycle 감소하였으며 340 MPa에서는 10 CFU/mL 이하로 생균수가 감소하였다. 또한 우유를 균체 현탁액으로 사용했을 때는 어느 정도 압력에 대한 보호작용이 확인되었으나 340 MPa의 압력에서 UHT 우유는 80분내에, 생 우유는 60분내에 생균수가 6 log cycle만큼 감소하였다. 한편 *V. parahaemolyticus*의 경우에는 170 MPa 이상의 압력에서 매우 급속하게 사멸되었는데, 완충액에 현탁된 10^6 CFU/mL 수준의 생균은 170 MPa에서 30분내에 6 log cycle 감소하였고, 조개국물에서는 170 MPa에서 10분, 136 MPa에서 30분, 102 MPa에서 40분내에 6 log cycle 감소하였다. 참고적으로 Table 1에는 기타 여러 미생물에 대한 초고압 살균시간을 나타내었다.

알려진 바에 의하면 미생물의 압력에 대한 민감성(barosensitivity)은 gram 양성 세균, 효모, gram 음성 세균의 순서로 증가한다. 돈육 마쇄물에 *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Candida utilis*, *E. coli*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica* 등의 미생물을 접종한 후 300-600 MPa로 가압처리한 결과, 포자를 형성하는 *B. cereus*를 제외한 모든 미생물이 10 CFU/g 이하로 사멸되었다(Shigehisa *et al.*, 1991). 이때 돈육 마쇄물에서는 응고 및 탈색 현상이 발견되었는데, 300 MPa 이상 가압시 응고물은 더욱 흰색을 띠며 단단해졌다고 한다. *E. coli*의 경우 400 MPa로 가압하였을 때 생육이 억제되어 400 MPa 이상에서 10분간 가압처리시 6 log CFU/mL 이상 사멸되었으나, *B. cereus*는 600 MPa로 가압하여도 살균효과가 1 log CFU/mL에 못 미치는 것을 알 수 있었다. 한편 이러한 초고압 처리는 미생물 세포막에 손상을 일으키므로서 UV 흡

수물질(약 260 nm에서의 흡광)을 유출시키는데 처리 압력이 증가할수록 유출량도 증가하였다.

포자 사멸

식품의 가공 및 저장에 있어 가장 어려운 공정 중 하나가 바로 세균 포자의 살균이다. 물론 레토르트와 같은 가열공정에 의해 포자도 살균이 가능하기는 하지만, 잘 알려진 바와 같이 이러한 고온의 열처리 는 식품의 품질 자체에도 좋지 않은 영향을 미치기 때문에 바람직하다고 볼 수는 없다. 포자의 살균이라는 측면에서 온도와 압력의 상관관계는 다소 복잡한 양상을 나타낸다.

Johnson과 Zobell(1949)의 보고에 따르면 초기 균체농도 8×10^4 /mL인 *B. subtilis* 포자를 93.6°C, 0.1 MPa에서 1시간 동안 가열처리했을 때 불활성화되었으나, 같은 온도에서 압력을 60 MPa로 증가시켰을 경우 동일 수준으로 포자를 불활성화시키는데 약 4시간이 소요되었다고 한다. 그러나 저온에서는 압력이 증가할수록 사멸속도가 증가하여 25°C에서 60 MPa로 처리한 경우 48시간 후에는 초기의 10% 이하로 포자의 생균수가 감소하였다. 이에 반해 Sale *et al.* (1970)도 100-800 MPa의 압력범위에서 *Bacillus spp.* 포자의 불활성화를 연구하였는데, 포자의 사멸속도는 상대적으로 저압(100-300 MPa)에서 더 크게 나타났으며 동일 압력범위에서 온도를 70°C로 증가시키면 사멸속도가 향상된다고 하였다. 한편 Gould와 Sale (1970)에 의하면 수백 기압 수준의 압력은 포자를 발아시킬 수 있으나 사멸시키기에는 부족하며, 일단 가열로 활성화된 포자는 열처리를 하지 않은 것에 비해 압력에 의한 발아가 더 현저하였으나 100 MPa 이상에서 발아된 포자는 저압에서 발아된 포자와 비교했을 때 열에 의한 영향을 적게 받는다고 하였다.

Donnan phase에 있는 포자가 압력에 의해 평형이 깨지므로서 발아된다고 가정할 때 포자의 발아특성은 다음과 같이 정리할 수 있다(Clouston과 Wills, 1970). 열과 방사선에 대한 민감성, 호흡 대사, 포자 현탁액의 탁도, 염색성 등이 증가하고, 굴절율과 무게가 감소하며, 칼슘 및 dipicolinic acid가 세포 외부로 배출되는가 하면 분자 부피가 감소하고 기타 구조적, 화학적 변화가 일어난다. 고압 조건에서 포자는 영양성 세포로 발아하고 이렇게 발아된 세포가 곧 불활성화된다. 그러나 이러한 포자의 사멸현상이 저온에서는 처리 압력에 따라 크게 달라지는데, 비교적 저압에서는 포자가 발아되어 열에 민감해지지만 거의 불활성화되지 않고, 중간 정도의 압력에서는 상당

수의 포자가 발아되는 동시에 발아된 대부분의 포자가 활성을 잃게 되지만, 고압에서는 포자의 발아율이 낮아지며 발아된 포자 가운데에서도 극히 일부만이 불활성화된다. 한편 65°C 이상에서는 압력에 의해서가 아니라 열에 의해 포자가 불활성화된다고 보는 것이 합리적이다(Sale *et al.*, 1970). 포자의 발아 및 불활성화에 필요한 온도와 압력의 범위는 균체의 종류에 따라 달라지며, 발아의 초기 단계에서 포자가 내열성을 잃는 것은 균체 세포가 수화(hydration)되어 안정한 gel 상태에서 불안정한 sol 상태로 전환되는 것과 관련이 있다고 본다(Clouston과 Wills, 1970).

고압에 의한 포자의 사멸효과는 온도에 의해 크게 좌우되며, 그 밖에 pH, 수분활성도, 이온강도 등에 의해서도 영향을 받는다. 앞서 언급하였듯이 포자를 발아시키기 위한 최적 온도는 처리 압력에 따라 달라진다. pH의 경우 중성에 가까울수록 불활성화 정도가 커지며 양쪽 극한에 가까울수록 오히려 작아지고, 특히 pH가 중성 부근일 때 압력에 의한 포자의 발아가 활발히 시작된다. 수분활성이 낮은 상태에서 비이온성 용질은 포자의 불활성화에 거의 영향을 미치지 않으나 이온성 용질인 NaCl, 특히 CaCl₂는 압력에 의한 포자의 불활성화를 억제한다(Sale *et al.*, 1970). 한편, 대부분의 포자는 무기질 이온이 없으면 고압 처리를 하여도 발아되지 않는데, 아마도 이온성분이 발아과정 중 peptidoglycan의 효소 분해반응에 영향을 미치기 때문인 듯하다. 포자가 발아될 때 영향을 미치는 이온의 순서는 H>K>Ca, Mg, Na로서(Bender와 Marquis, 1982), 실제로 이들 이온성분은 동일한 압력 및 온도 조건일 경우 종류수에 현탁한 것에 비해 완충액에 현탁한 포자의 내열성 소실을 더욱 증가시키는 효과가 있다(Clouston과 Wills, 1970).

상대적으로 낮은 압력에서 포자를 발아시킬 때는 현탁액의 구성성분에 의해 상당히 큰 영향을 받는데, 예를 들어 아미노산의 일종인 alanine과 riboside inosine은 *B. cereus* 포자 발아에 매우 효과적인 상승 촉매제 역할을 하였다. 이에 반해 10 mM octyl alcohol과 1 mM mercuric chloride는 각기 40, 60 MPa에서 *B. cereus*와 *B. coagulans* 포자의 발아를 완전히 억제하며, sucrose나 sodium chloride는 포자의 불활성화를 억제하는 효과가 있다(Cheftel, 1991). 그러나 이들 발아 촉매제 또는 억제제의 효과는 처리 압력이 증가할수록 현저하게 떨어진다.

캔 우유제품에서 발견되는 내열성 포자의 경우 실제 공장에서는 121°C에서 20분간 가열처리하여 살균하지만 이러한 열처리는 색 변화 및 카제인의 응고

를 유발하여 전체적인 제품의 품질을 저하시킨다. 따라서 가열과 고압을 적절히 병용처리할 경우 제품의 품질을 최대한 보존하면서도 효과적인 살균이 가능하다. 내열성 포자인 *Clostridium thermoaceticum*은 열 봉합과정을 거친 캔 커피 음료제품에서 맛있는 신맛을 나게 하는데, 이 포자는 20°C에서 20-60분간 400-100 MPa로 가압처리하여도 사멸되지 않지만 60°C에서 60분의 열처리와 병행하면 100/mL로 포자수를 현저하게 줄일 수 있었다. 또한 이러한 열과 고압의 병용처리 효과는 *B. stearothermophilus*의 불활성화에서도 확인할 수 있었다(Hayakawa *et al.*, 1994).

초고압 처리에 있어 펄스화 또는 진동(oscillatory) 방식의 가압은 연속적인 처리방법보다 포자를 살균하는데 더욱 효과적이라고 한다. 예를 들어 60°C에서 60 MPa로 고압처리할 때 진동 방식으로 6회(5분/회)를 반복하면 *B. stearothermophilus* 포자의 수가 10⁶/mL에서 10²/mL로 감소되고, 70°C에서 같은 압력으로 6회(5분/회) 진동 가압처리하면 10⁶/mL로 감소되었다. 즉 진동 방식으로 가압 처리횟수를 증가시키면 포자의 살균효과가 훨씬 더 향상되는 것을 확인할 수 있었다(Hayakawa *et al.*, 1994). 한편 펄스 방식의 가압처리도 포자를 효율적으로 사멸시킬 수 있는 유용한 방법으로서 60 MPa에서 6회의 펄스 처리만으로 10' 정도 포자가 감소되었는데, 이때 6회의 펄스 처리로 고압에 노출된 전체 시간은 10초미만이었으며 고압용기 chamber 내에 시험 처리구의 수가 많을수록 포자의 살균효과는 감소하였다(Hayakawa *et al.*, 1994). 진동 방식의 초고압 처리에 의한 포자의 사멸 기작은 명확하게 알려져 있지 않으나 진동 처리에 의해 물의 특성 변화, 즉 70°C에서 점도 및 표면장력이 감소하여 포자 사멸에 영향을 미치는 것일 수 있다고 본다. 고압처리 후 포자의 표면은 완전히 파괴되는데, 특히 20°C에서 70°C로 온도를 올리면 세포벽의 물리적 변화가 유발되어 포자가 파괴되고 또한 포자의 물리적 강도가 감소하기도 한다(Hayakawa *et al.*, 1994).

미생물 사멸의 영향 인자

초고압 처리에 의한 미생물 살균은 배지의 pH, 구성성분, 삼투압 및 온도 등에 의해 영향을 받는다(Barbosa-Cánovas *et al.*, 1998). pH 측면에서 *E. coli*의 경우 대기압인 0.1 MPa 조건일 때는 pH 4.9 이하와 pH 10.0 이상에서 생육이 억제되는데, 압력을 높여 27.2 MPa에서는 pH 5.8 이하와 pH 9.0 이상, 34 MPa일 때는 pH 6.0 이하와 pH 8.7 이상에서 생육이

억제된다. 또한 구성성분에 의한 영향으로 필수 아미노산이나 비타민이 있을 때에 비해 영양소가 없는 염용액에서 균체의 내압성이 더 낮아진다. 더욱이 고압처리는 현탁액의 pH를 변화시킬 수 있으며 이로 인해 미생물의 생육속도 및 사멸속도가 달라지게 된다. 예를 들어 1 기압, 0°C에서 바닷물은 pH 8.10을 나타내지만 1,100 atm에서는 pH 7.87로 낮아진다. 그러나 압력이 수용액의 pH에 미치는 영향력은 수용액의 온도나 전해질의 농도에 따라서 달라지는데, Ca²⁺가 없을 때 *B. subtilis*의 α -amylase는 50 MPa에서 불활성화되지만 0.01 M의 Ca²⁺ 존재시 α -amylase는 300 MPa에서도 거의 활성을 잃지 않는다. 한편 세균은 영양성 배지보다 무기질 염용액에 현탁되었을 때 고압에 더욱 민감해지며(Zobell, 1970), 내압성 균주도 처리압력이 증가할수록 고농도 이온에 대해 더 민감해진다.

고압은 앞서 언급하였듯이 적절한 열처리와 함께 사용하면 상승 효과를 나타내지만, 고온에서는 오히려 미생물의 사멸이 저해되는 경향이 있다. 즉, 46.9°C에서 *E. coli*는 0.1 MPa 보다 40 MPa로 처리했을 때 더 느리게 불활성화되었고(Kim, 1983), *Saccharomyces cerevisiae*에 대해 51°C에서 10분간 열 충격(heat-shock) 처리를 가하면 고압에 의한 손상을 방지할 수 있었으며 역으로 효모를 150 MPa에서 60분간 가압한 후 고온에 노출시켰을 때에도 세포의 손상을 억제할 수 있었다(Iwahasi *et al.*, 1991). 포자의 경우에도 30°C에서 60-100 MPa로 가압시 몇 분 또는 몇 시간 내에 사멸하지만, 저온에서는 같은 압력으로 처리하여도 몇 달 혹은 몇 년동안 생존 가능하다(Kim, 1983). 한편 미생물의 사멸은 수분활성에도 영향을 받는데, *Rhodotorula rubra*는 수분활성이 0.94 이하일 때 고압에 의한 살균이 거의 불가능하였다(Knorr, 1993). 즉, a_w 0.96에서는 생균수가 약 7 log cycle 가량 감소하였으나, a_w 0.91에서는 전혀 감소하지 않았다. 또한 수용성 고형분도 *S. cerevisiae*, *Aspergillus awamori*, *S. bayanus*, *Pichia membranaefaciens*, *Mucor plumbeus* 등의 초고압 불활성화를 억제하는 효과가 있었다(Ogawa *et al.*, 1990).

미생물 사멸 Kinetics

Carlez *et al.*(1993)에 의하면 *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria innocua*를 잘게 썬 쇠고기에 접종하였을 때 고압처리에 의한 미생물의 불활성화는 1차 반응식을 따른다고 한다. 구체적으로 *C. freundii*에 대한 사멸 반응식은 $\text{Log } n = 7.017 - 0.068$

t 로 정의되며, 이때 n 은 고압처리 후 생균수, t 는 23 MPa에서의 가압시간이다. 동일 균주에 대해 15 MPa, 20°C에서 생균수를 1 log cycle 만큼 감소시키는데 걸리는 시간인 $D_{15\text{MPa}, 20^\circ\text{C}} = 14.7$ 분이었다. *P. fluorescens*는 15 MPa, 20°C에서 $\text{Log } n = 6.754 - 0.042t$ 의 방정식으로 나타낼 수 있었으며, 이때 $D_{15\text{MPa}, 20^\circ\text{C}} = 23.8$ 분이었다. *L. innocua*의 경우 33 MPa, 20°C에서 $\text{Log } n = 7.171 - 0.155t$ 로서 $D_{33\text{MPa}, 20^\circ\text{C}} = 6.5$ 분이었다.

MRS 배지에 배양한 김치유래 젖산균 *Lactobacillus plantarum*의 경우 균체 불활성화에 유효한 처리압력이 매우 높아 25°C에서 300-600 MPa로 고압처리했을 때 1차 반응의 사멸곡선을 나타내었으며(Fig. 1), 각 압력에서의 $D_{20^\circ\text{C}}$ 값을 1 log cycle 만큼 감소시키는데 필요한 압력차 $Z_p = 141.3$ MPa이었다. 한편, 생리 식염수 또는 수용액에 *E. coli*를 현탁시켜 40°C 및 50°C에서 25 MPa로 처리하였을 때 역시 1차 반응식으로 표현할 수 있었으나 25°C, 25 MPa에서는 균체의 사멸곡선이 1차 직선식에서 다소 벗어나는 현상을 나타내었는데, 이는 장시간의 고압처리에도 불구하고 일부 소수의 균체가 살아 남았기 때문이다. 이러한 1차 반응식의 예외 사례는 암소의 초유(bovine colostrum)에 현탁한 coliforms을 20°C, 20 MPa로 4시간 동안 살균처리하였을 때에도 확인할 수 있었는데, 4시간 처리 후에 살아있는 균체는 20 MPa 이상의 압력으로 가압하여 완전히 사멸시킬 수 있었다(Carlez *et al.*, 1993). 영양성 세포와 마찬가지로 인산염 완충액에 현탁된 *Bacillus pumilus* 포자의 경우에도 25°C에서 고압에 의한 발아 개시 및 불활성화

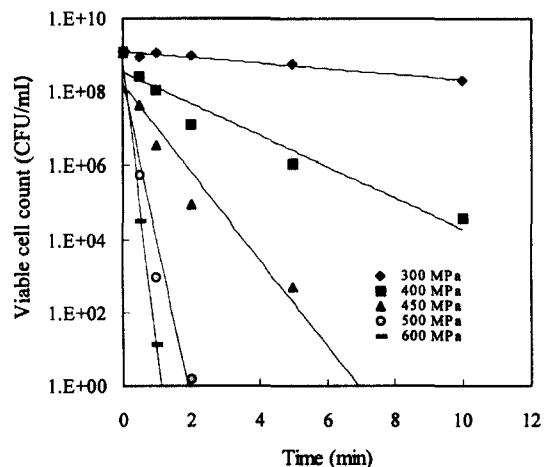


Fig. 1. Inactivation of *Lactobacillus plantarum* in MRS broth at 25°C. (unpublished data)

과정은 1차 반응식을 따르는 것으로 나타났다(Clouston과 Wills, 1970).

효소에 대한 초고압 처리 효과

미생물과 달리 효소는 고압처리에 의해 활성을 잃을 수도 있으나 오히려 활성이 증가할 수도 있다. 예를 들어 *E. coli*의 succinate, formate, malate dehydrogenase 활성은 처리압력이 증가할수록 감소하여 27°C에서 100 MPa로 15분간 가압한 결과 이들 효소는 완전히 불활성화되었고(Morita, 1957), trypsin이나 carboxypeptidase Y도 고압에 의해 활성을 잃을 수 있다(Kunugi *et al.*, 1982). 이러한 효소의 불활성화 역시 환경조건 즉, pH, 기질 농도, 효소의 subunit 구조, 가압 온도에 의해 영향을 받는다(Hoover *et al.*, 1989). 한편 *E. coli*의 aspartase는 68 MPa로 가압처리시 활성이 더 증가하였으나, 압력을 100 MPa까지 증가시키면 결국 활성을 잃고 말았다(Morita, 1957). 그러나 46-56°C의 범위에서 일어날 수 있는 가열 변성은 100 MPa로 압력을 올릴 경우 현저하게 방지되었다. 또한 thermolysin이나 cellulase가 관여하는 효소 반응도 고압에 의해 촉진되는데(Hoover, 1993), thermolysin의 활성은 100 MPa로 가압했을 때 약 15배 가량 증가하였다(Kunugi, 1992).

3차원 구조를 갖는 *B. stearothermophilus* 유래의 lactate dehydrogenase는 고압처리에 대해 매우 특이한 안정성을 나타낸다. 즉, 고압처리 후 압력이 풀리면서 부분적으로 분리되었던 dimer가 재결합을 하며, 이렇게 재결합된 효소는 원래의 효소와 비교했을 때 물리화학적, 효소적 특성에 있어 전혀 차이가 없었다고 한다(Miller *et al.*, 1984). Pectinesterase 역시 100, 200 MPa에서는 거의 불활성화되지 않았으나, 감귤 주스와 같은 주스류에 내재된 pectinesterase는 300-400 MPa로 가압처리하였을 때 불활성화되었으며, 정제된 pectinesterase도 300 MPa 이상에서는 불활성화되었다. 이때 효소 불활성화는 비가역적 현상으로 0°C에 저장하거나 또는 운송하는 중에 다시 활성을 되찾지 못하였다. 또한 당, 단백질, 지방 등의 수용성 고형분은 고압 및 가열에 의한 pectinesterase의 불활성화를 억제하는 효과가 있었다(Ogawa *et al.*, 1990).

효소의 불활성화는 고압에 의해 분자내 구조가 변형되거나 또는 활성부위(active site)에서 형태적(conformational) 변화가 일어나기 때문으로, 일부 효소의 경우 100-300 MPa로 가압하여도 불활성화는 가역적으로 일어난다. 이때 가압 후 활성의 회복 여부는 효

소분자의 변형 정도에 따라 다르지만, 일반적으로 300 MPa 이상 가압하게 되면 활성 회복의 가능성은 매우 감소한다(Jaenicke, 1981; Suzuki과 Suzuki, 1963). 육류의 단백질 분해 효소는 가압처리시 활성이 증가하는데 근육질에 존재하는 cathepsin B, D, L과 acid phosphatase의 경우 2°C에서 5분간 100-500 MPa로 가압시 전체적인 활성이 증가하였다. 이에 반해 cathepsin H와 aminopeptidase B는 압력에 대해 어느 정도 저항성을 갖고 있으나, 고압에서는 결국 활성을 잃는 것이 확인되었다(Homma *et al.*, 1994). 고압처리에 의해 cathepsin B1의 활성이 증가하는 것은 가압-열 처리한 육류의 연화도와 일부 관계가 있다고 한다(Kurth, 1986). 한편 Bartlett 품종의 배를 조각으로 잘라내어 25°C에서 10분간 400 MPa로 처리했을 때 polyphenol oxidase의 활성은 약 5배 가량 증가하였으나, 그 이상의 압력 상승은 효소활성에 별다른 영향을 미치지 못하였다. 이와는 달리 사과, 바나나, 고구마 등의 마쇄물을 초고압처리했을 때는 polyphenol oxidase의 활성변화가 전혀 발견되지 않았다(Asaka과 Hayashi, 1991).

효소의 활성변화와는 다른 측면에서 고압은 효소의 반응속도 및 반응 특이성(specificity)에 대해 매우 큰 영향을 미칠 수 있는데, 그로 인해 단백질을 가수분해할 때 여러 가지 단백질들 가운데서 하나만을 선택적으로 분해하는데 이용될 수도 있다(Kunugi, 1992).

생화학 반응에 대한 초고압 처리 효과

초고압에 의한 생화학 반응의 변화는 주로 부피의 증가에 따른 변화로서 압력에 의해 분자간의 공간이 감소하거나 연쇄 반응이 증가하는데 기인한다(Asaka와 Hayashi, 1991). 예를 들어 수소결합의 생성과 관련된 반응은 고압처리에 의해 촉진되는데, 이는 수소결합에 의해 전체적인 분자의 부피가 감소하기 때문이다(Hoover *et al.*, 1989). 그러나 이에 반해 Masson (1992)은 수소결합에 대한 고압의 영향이 매우 미미함을 보고한 바 있다.

일반적으로 고압은 단백질 분자의 변성을 유발하며, 이는 단백질의 구조, 압력 범위, 온도, pH, 용매의 조성에 따라 달라질 수 있는 복합적인 현상이다. 단백질 가운데 oligomeric 단백질은 비교적 저압(200 MPa)에서도 변성되지만, single chain 단백질은 300 MPa 이상에서 변성된다. 앞서 효소에 대한 고압 효과에서도 언급하였듯이 압력에 의한 단백질의 변성

은 가역적으로 일어날 수 있으나, 감압 후 복원(renaturation)되기까지는 많은 시간이 소요된다. 압력이 단백질의 안정성에 미치는 영향은 LeChatelier 법칙을 따르기 때문에 압력 증가에 따른 부피의 감소/증가는 분자 결합의 분해/형성으로 반응 평형을 이동시킨다. 이때 압력에 의해 단백질 내부의 정전기적 결합과 소수성 결합이 주로 영향을 받는데, 특히 대전체의 전하 소실, 염 결합(salt bridges)과 소수성 결합의 파괴가 일어남으로써 결과적으로 단백질의 형태적 변화 및 구조적 변화를 유발한다. 또한 수화(hydration) 정도에 따라서도 구조 전환이 가능한데, 단백질이 분해되거나 구조가 풀어질 경우 전체적인 분자의 부피가 감소하는 것은 이러한 수화 정도의 변화에 원인이 있다고 본다(Masson, 1992).

이상에서 살펴본 바와 같이 압력에 의한 단백질의 변성은 열처리에 의한 것과는 다른 양상을 나타낸다. 즉, 고압처리하는 단백질 분자의 소수성 결합이나 이온 결합을 주로 분해시키는데 단백질의 분자구조가 풀어지면 약 2% 가량 단백질의 부피가 감소한다고 하며(Zamyatin, 1972), 이렇게 분자구조가 풀린 단백질은 5°C의 우유에서 최소 8일간 그 상태를 유지하였으나 기능적 특성은 달라지게 되었다(Johnston *et al.*, 1992). 반면, 열에 의한 단백질 변성은 주로 공유결합의 형성/분해에 기인한다(Farr, 1990).

한편 발효과정은 고압에 의해 지연되며 고압처리된 발효제품은 대기압에서 생산된 제품과 매우 다르다. 예를 들어 생우유를 70 MPa에서 보관했을 때 12일이 지나도 신맛이 나지 않으며, 1,371 MPa로 1시간 처리한 경우 약 4일간 신맛의 생성이 지연되었다(Farr, 1990). 또한 456.7 MPa로 10-12시간 가압처리했을 때에도 유사한 결과를 얻을 수 있었으며, 가압과 가열을 병용하면 더욱 효과가 향상되었다(Johnston *et al.*, 1992). 이러한 발효 억제라는 측면에서 고압처리를 발효식품에 적용하면 제품의 저장 안정성을 더욱 높일 수 있을 것이다. 흔히 저장 중 연속적인 발효에 의해 요구르트의 산도는 계속 높아지지만 10°C에서 10분간 200-300 MPa로 가압처리하면 과도한 산생성을 억제할 수 있었는데, 이는 발효에 관여하는 젖산균이 고압처리에 의해 초기 균수를 유지하면서 더 이상 성장하지 않았기 때문이다(Hoover, 1993). 호상 제품인 요구르트와 달리 김치 등의 고형물 함유 발효식품에 고압을 적용하면 마찬가지로 젖산균의 성장 억제 및 감균 효과를 볼 수 있으나(sohn, 1996; unpublished data), 고형물의 조직감 손상 등에 따른 관능적 품질이 저하되는 문제를 야기할 수 있으므로

적정 처리조건의 선정을 통해 품질 손실을 최소화하도록 하는 노력이 필요하다.

우유를 40 MPa 이하로 가압하면 rennet 효소에 의한 응유물(curd)의 형성이 촉진된다. 이때 응유물 형성의 제1단계인 casein 분해는 고압에 의해 거의 영향을 받지 않고, 2단계인 core 형성과정이 고압에 의해 지연되며, 3단계라 할 수 있는 응유과정이 촉진된다. 그러나 60-130 MPa로 압력을 올리면 응유물 형성이 오히려 억제되며, 35°C에서 70분간 130 MPa로 우유를 가압처리한 경우 단백질의 분해 정도가 약 2% 증가하였으나 rennet의 단백질 분해력은 거의 변화가 없었다. 고압처리시 core 형성과정이 지연된 원인 가운데 하나는 rennet에 의해 부분적으로 분해된 κ -casein이 발생하고 이로 인해 불안정해진 casein micelles 사이의 충돌이 억제되기 때문이다. 특히 60 MPa 이상의 압력에서는 제2단계 과정이 전체 반응 속도를 좌우하므로써 제3단계 반응이 시작되지 못하고, 결과적으로 우유의 응고가 완전히 억제되었다(Ohmiya *et al.*, 1987).

초고압 처리에 의한 세포 미세구조의 변화

단백질 분자에 비해 핵산 물질(DNA)은 압력에 대한 저항성이 큰 편이다. 대부분 수소결합에 의해 이루어진 DNA 구조는 수소결합이 고압에서 안정적이므로 결과적으로 DNA 분자 자체도 단백질에 비해 안정성이 높지만 고온에서는 DNA 분자가 변성된다. Hedén(1964)은 *B. subtilis* DNA 용액(0.002-0.04%, pH 4.8-9.9)을 상온에서 1,000 MPa까지 가압했을 때 DNA가 변성되지 않음을 관찰하였다. 그러나 고압에 의해 관련 효소가 영향을 받아 DNA의 전사(transcription)와 복제(replication)는 중단되었는데, 이러한 DNA 전사 및 복제의 중단 현상은 비교적 저압에서는 가역적으로 일어나지만 고압에서는 비가역적이었다(Landau, 1967).

세포막은 외부환경 변화에 가장 민감하게 영향을 받는 부분으로, i) 이온성 용질의 확산을 선택적으로 제한하는 보호막이며, ii) receptor, 효소 및 이온 통로의 지지대 역할을 하고, iii) 세포 내부의 신호 체계에 필요한 lipid precursor를 제공하며, iv) 세포의 모양 유지 등 여러 가지 중요 기능을 수행한다(Macdonald, 1992). 이러한 세포막은 고압처리에 의해 구성 단백질이 변성되고 인지질의 크기가 감소되는데, 단백질 변성은 세포 생육에 필수적인 아미노산의 흡수를 억제한다. 특히 고압처리하는 세포막의 투과

Table 2. Applications of high pressure technology to food processing

Effect	Solid food					Liquid food	
	Fish	Meat	Eggs	Rice, Starch	Soy bean protein	Milk	Natural juice
Prolongation of storage time						●	●
Prevention of microbial contamination	◆	◆	◆	◆	◆	◆	●
Development of new foodstuffs	●	●	●	●	●		
Manufacture of partially cooked food	●	●	●	●			

● Applicability is large.

◆ Application exists.

Data from Mitsubishi Heavy Industries (1992).

Table 3. Applications of high pressure technology to processed foods

Effect	Desserts	Pickles	Cheese	Seasonings	Spices
Prolongation of storage time	●	●	●	●	●
Prevention of microbial contamination	◆	◆	◆	◆	◆

● Applicability is large.

◆ Application exists.

Data from Mitsubishi Heavy Industries (1992).

성을 증대시켜 세포 내액의 누출을 촉진하므로써 세포의 고유 기능을 중단시킨다. 처리압력이 낮은 경우 세포는 원래의 투과성을 회복하지만, 처리압력이 높은 경우에는 세포막이 비가역적으로 분해되어 결과적으로 세포가 사멸된다(Farr, 1990).

세균 포자의 세포막과 세포벽은 매우 밀집된 구조를 갖고 있어 외부의 수분이나 기타 물질이 포자 내부로 침투하기가 아주 어렵기 때문에(Mallidis과 Scholefield, 1987) 기본적으로 포자를 수화(hydration)시켜 발아하도록 유도한 후 불활성화하는 것이 더 효율적이다. 이러한 측면에서 고압처리에 의한 세균 포자의 사멸은 앞서 언급하였듯이 단순히 고압에만 의존하기보다는 압력과 가열을 병용하는 것이 더 유리하다. 한편 압력-열 병용처리로 사멸된 *B. stearothermophilus* 포자의 미세구조를 살펴본 결과, 원시(primitive) 세포벽과 세포 내막이 완전히 파괴되었고 원형질 내부가 비어 있는 것을 알 수 있었다(Sohn과 Lee, 1998). 이러한 세포 구조의 파괴는 아마도 고압처리를 하는 동안에 수분의 단열팽창과 같은 물리적 효과에 기인하는 것으로 생각된다(Hayakawa et al., 1994).

초고압 처리기술의 산업적 응용 및 전망

초고압 처리기술은 미생물과 효소의 불활성화에 따

른 식품의 저장성 증대는 물론 생화학 반응의 변화에 따른 식품의 조직감과 관능적 특성을 조절하는데도 적용할 수 있다. Table 2와 3에는 식품산업에서 고압 처리공정의 적용가능 사례를 제시해 놓았다. 고압처리에 의한 식품의 저장성 연장은 적절한 압력을 가하여 미생물, 곰팡이 및 효소를 불활성화시킴으로써 가능하다. 또한 고압처리는 특히 냉동식품을 균일하게 해동하는데도 유용하며, 이러한 압력에 의한 해동은 염분이나 당류와 같은 수용성 고형물을 포함한 식품인 경우 더욱 빠르게 진행된다(Cheftel, 1992). 본문에서 언급되지 않은 기타 산업적 응용에 관해서는 발표된 문헌을 참고할 수 있을 것이다(손경현 등, 1994; 홍석인과 유경미, 1999).

초고압 처리기술은 비가열 식품 보존방법으로서 매우 전망이 밝은 분야라고 생각된다. 특히 초고압 처리기술의 중요한 일면으로는 식품이 본래 지니고 있는 영양성분과 향미를 그대로 유지하면서도 미생물과 효소를 불활성화시키므로써 아무런 가공처리도 하지 않은 듯이 신선한 풍미와 조직감을 지킨다는 것이다. 아직까지는 매우 높은 고압에 견딜 수 있는 압력용기를 제조하는 기술적인 측면에서 다소 어려움이 있어 초고압 처리기술을 산업화하는데 제한을 받고 있으나, 이러한 문제점을 해결하기 위하여 많은 노력들이 시도되고 있는 만큼 빠른 시일 내에 상당한 진전이 있을 것으로 예상된다.

요 약

초고압 처리는 생물 시스템에 많은 변화를 일으키며, 구체적으로 형태학적, 생화학적, 유전적인 영향뿐만 아니라 미생물의 세포막 및 세포벽의 변화도 초래한다. 그로 인해 일정 수준의 고압처리는 미생물의 성장과 증식을 억제하고 더욱이 매우 높은 초고압은 완전히 균체를 불활성화시키는데, 일반적으로 gram 음성 미생물은 gram 양성에 비해 더 낮은 압력에서 생물활성을 잃는 경향이 있다. 또한 압력과 열을 병용하면 세균 포자도 사멸시킬 수 있다. 초고압 처리에 의한 미생물 살균은 배지의 pH, 구성성분, 삼투압 및 온도 등의 인자에 의해 크게 영향을 받는다. 미생물과 달리 효소는 고압처리에 의해 활성을 잃을 수도 있으나 오히려 활성이 증가할 수도 있다. 고압에 의한 효소의 불활성화는 분자내 구조가 변형되거나 또는 활성부위에서 형태적 변화가 일어나기 때문으로 일부 효소의 경우 고압처리하여도 불활성화는 가역적으로만 일어난다. 한편 초고압에 의한 생화학 반응의 변화는 주로 부피의 증감에 따른 변화로서 압력에 의해 분자간의 공간이 감소하거나 연쇄 반응이 증가하는데 기인한다.

문 헌

- 손경현, 이강표, 공운영, 이형주. 1994. 고압기술의 식품에의 응용. 식품과학과 산업 **27**(2): 64-72
- 홍석인, 유경미. 1999. 초고압 식품가공기술. 식품기술 **12**(1): 26-42
- Asaka, M. and R. Hayashi. 1991. Activation of polyphenol oxidase in pear fruits by high pressure treatment. *Agric. Biol. Chem.* **55**(9): 2439-2440
- Barbosa-C novas, G.V., U.R. Pothakamury, E. Palou, and B.G. Swanson. 1998. High hydrostatic pressure food processing. In: *Nonthermal Preservation of Foods*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA. pp9-52
- Bender, G.R. and R.E. Marquis. 1982. Sensitivity of various salt forms of *Bacillus magaterium* spores to the germinating action of hydrostatic pressure. *Can. J. Microbiol.* **28**: 643-649
- Carlez, A., J.P. Rolec, N. Richard, and J.C. Cheftel. 1993. High pressure inactivation of *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* in inoculated minced beef muscle. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* **26**: 357-363
- Cheftel, J.C. 1991. Application des hautes pression en technologie alimentaire. *Ind. Alim. Agric.* **108**: 141-153
- Cheftel, J.C. 1992. Effects of high hydrostatic pressure on food macromolecules: an overview. In: *High pressure and Biotechnology* (Vol. 224). R. Hayashi, K. Heremans, and P. Masson (eds.). Colloque INSERM John Libbey Eurotext Ltd. p195
- Clouston, J.G. and P.A. Wills. 1970. Kinetics of initiation and germination of *Bacillus pumilus* spores by hydrostatic pressure. *J. Bacteriol.* **103**: 140-143
- Farr, D. 1990. High pressure technology in the food industry. *Trends Food Sci. Technol.* **1**: 14-16
- Gould, G.W. and A.J.H. Sale. 1970. Initiation of germination of bacterial spores by hydrostatic pressure. *J. Gen. Microbiol.* **60**(3): 335-346
- Hayakawa, I., T. Kanno, M. Tomita, and Y. Fujio. 1994. Application of high pressure for spore inactivation and protein denaturation. *J. Food Sci.* **59**(1): 159-163
- Hedén, C.G. 1964. Effects of high hydrostatic pressure on microbial system. *Bacteriol. Rev.* **28**: 14-29
- Homma, N.Y., Ikeuchi, and A. Suzuki. 1994. Effect of high pressure treatment on the proteolytic enzymes in meat. *Meat Sci.* **38**: 219-228
- Hong, S.I., W.S. Park and Y.R. Pyun. 1999. Nonthermal inactivation of *Lactobacillus plantarum* as influenced by pressure and temperature of pressurized carbon dioxide. *Int. J. Food Sci. Technol.* **34**(2): 125-130
- Hoover, D.G., C. Metrick, A.M. Papineau, D.F. Farkas, and D. Knorr. 1989. Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganism. *Food Technol.* **43**(3): 99-107
- Hoover, D.G. 1993. Pressure effects on biological systems. *Food Technol.* **47**(6): 150-155
- Iwahasi, H., S.C. Kaul, K. Obuchi, and Y. Komatsu. 1991. Induction of barotolerance by heat shock treatment in yeast. *FEMS Microbiol. Lett.* **80**: 325-328
- Jaenicke, R. 1981. Enzymes under extreme conditions. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **10**: 1-16
- Johnson, F.H. and C.E. Zobell. 1949. The retardation of thermal disinfection of *Bacillus subtilis* spores by hydrostatic pressure. *J. Bacteriol.* **57**: 353-358
- Johnston, D.E., B.A. Austin, and R.J. Murphy. 1992. Effects of high hydrostatic pressure on milk. *Milchwissenschaft* **47**(12): 760-763
- Kim, J. 1983. Disinfection by increased hydrostatic pressure. *Dev. Ind. Microbiol.* **24**: 519-525
- Kitching, J.A. 1957. Effects of high hydrostatic pressure on the activity of flagellates and ciliates. *J. Experimental Biol.* **34**: 494-510
- Knorr, D. 1993. Effects of high hydrostatic pressure on food safety and quality. *Food Technol.* (6): 156-161
- Kunugi, S. 1992. Effect of pressure on activity and specificity of some hydrolytic enzymes. In: *High pressure and Biotechnology* (Vol. 224). R. Hayashi, K. Heremans, and P. Masson (eds.). Colloque INSERM John Libbey Eurotext Ltd. p129
- Kunugi, S.M., Fukuda, and N. Ise. 1982. Pressure dependence of trypsin-catalyzed hydrolyses of specific substrate. *Biochem. Biophys. Acta* **704**: 107-113
- Kurth, L.B. 1986. Effect of pressure-heat treatment on cathepsin B1 activity. *J. Food Sci.* **51**(3): 663-667
- Landau, J.V. 1967. Induction, transcription and translation in *Escherichia coli*: a hydrostatic pressure study. *Biochem. Biophys. Acta* **149**: 506-512
- Macdonald, A.G. 1992. Effects of high pressure on natural

- and artificial membranes. In: *High pressure and Biotechnology* (Vol. 224). R. Hayashi, K. Heremans, and P. Masson (eds.). Colloque INSERM John Libbey Eurotext Ltd., p. 67
- Mallidis, C.G. and J. Scholefield. 1987. Relation of heat resistance of bacterial spores to chemical composition and structure I. Relation to core components. *J. Appl. Bacteriol.* **62**: 65-69
- Masson, P. 1992. Pressure denaturation of proteins. In: *High pressure and Biotechnology* (Vol. 224). R. Hayashi, K. Heremans, and P. Masson (eds.). Colloque INSERM John Libbey Eurotext Ltd. p89
- Mertens B. and Knorr D. 1992. Development of non thermal processes for food preservation. *Food Technol.* **46**(5): 124-133
- Metrick, C., D.G. Hoover, and D.F. Farkas. 1989. Effects of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive strains of *Salmonella*. *J. Food Sci.* **54**(6): 1547-1564
- Mitsubishi Heavy Industries. 1992. Technical data
- Morita, R.Y. 1957. Effect of hydrostatic pressure on succinic, malic and formic dehydrogenases in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **74**: 251-255
- Müller, K.T., Seifert, and R. Jaenicke. 1984. High pressure dissociation of lactate dehydrogenase from *Bacillus stearothermophilus* and reconstitution of the enzyme after denaturation in 6 M guanidine hydrochloride. *Eur. Biophys. J.* **11**: 87-94
- Ogawa, H., K. Fukuhisa, Y. Kubo, H. Fukumoto. 1990. Inactivation effect of pressure does not depend on the pH of the juice. *Agric. Biol. Chem.* **54**(5): 1219-1225
- Ohmiya, K., K. Fukami, S. Shimizu, and K. Gekko. 1987. Milk curdling by rennet under high pressure. *J. Food Sci.* **52**(1): 84-87
- Sale, A.J.H., G.W. Gould, and W.A. Hamilton. 1970. Inactivation of bacterial spores by hydrostatic pressure. *J. Gen. Microbiol.* **60**(3): 323-334
- Shigehisa, T., T. Ohmori, A. Saito, S. Taji, and R. Hayashi. 1991. Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. *Int. J. Food Microbiol.* **12**: 207-216
- Sohn, K.H. 1996. *High Pressure Inactivation of Microorganisms and Enzymes and Its Effect on Quality and Storage Stability of Foods*. Ph. D. Thesis. Seoul Univ. Seoul
- Sohn, K.H. and H.J. Lee. 1998. High pressure inactivation of *Bacillus* spores and its effects on ultrastructure of cells. *Food Sci. Biotechnol.* **7**(2): 112-116
- Styles, M.F., D.G. Hoover, and D.F. Farkas. 1991. Responses of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* to high hydrostatic pressure. *J. Food Sci.* **56**(5): 1404-1407
- Suzuki, C. and K. Suzuki. 1963. The gelation of ovalbumin solution by high pressure. *Arch. Biochem. Biophys.* **102**(3): 367-369
- Zamyatnin, A.A. 1972. Protein volume in solution. *Prog. Biophys. Molec. Biol.* **24**(1): 107-113
- Zobell, C.E. 1970. Pressure effects on morphology and life processes of bacteria. In: *High pressure effects on cellular processes*. A.M. Zimmerman (ed.). Acad. Press., New York, USA
- Zobell, C.E. and A.B. Cobet. 1962. Growth, reproduction, and death rate of *Escherichia coli* at increased hydrostatic pressure. *J. Bacteriol.* **84**: 1228-1236