

신 정 규  
연세대학교 생명공학과

천연상태의 식품의 품질을 유지하고 에너지의 소비를 줄일 수 있는 새로운 비열 살균 기술인 고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 불활성화 기작을 *Saccharomyces cerevisiae*를 대상으로 하여 연구하였다. 고전압 펄스 전기장 처리에 의해 *S. cerevisiae* 세포의 세포막이 손상되어 처리 초기부터 세포내 자외선 흡수물질과 세포내 이온이 유출되었다. 한편 세포내외의 pH 구배 ( $\Delta\text{pH}$ )를 간접적으로 측정된 결과, 고전압 펄스 전기장 처리 초기에는 그 차이가 컸으나 처리시간에 따라 차츰 감소하여 약  $30\mu\text{s}$  처리후에는 거의 차이가 없었다. 이와 같은 현상은 고전압 펄스 전기장 처리에 의하여 세포의 항성성을 유지시키는  $\text{H}^+$ -ATPase 활성이 소실되어 pH 항상성을 잃어버렸기 때문인 것으로 확인되었다. 또한 고전압 펄스 전기장 처리를 약  $20\mu\text{s}$  받은 후부터 해당활성이 크게 감소하여 세포의 대사기능이 손상되었음을 알 수 있었다. 고전압 펄스 전기장 처리에 의한 *S. cerevisiae*의 형태학적 변화를 세포염색 및 전자현미경으로 관찰한 결과, Phloxine B 색소로 염색하였을 경우 처리를 받지 않은 세포는 염색되지 않았으나, 처리를 받은 세포는 시간이 증가할수록 염색되는 세포의 수가 증가하여  $50\mu\text{s}$  처리후에는 완전히 염색되어 세포막이 손상되었음을 알 수 있었다. 또한 주사 현미경과 투과 현미경으로 관찰한 결과 처리를 받지 않은 세포는 표면이 매끄럽고 균일한 모양을 가지고 있는 반면, 처리를 받은 세포는 표면이 거칠고 주름같은 것이 관찰되었으며 세포내 물질이 상당부분 소실되고, 세포막과 세포벽이 손상되어 세포가 일그러지는 형태를 나타내는 것들이 많았다. *S. cerevisiae* 세포를 일정시간 고전압 펄스 전기장 처리를 하였을 경우 생존한 세포일지라도 90~99% 이상은 손상을 받은 세포였으며, 이들은 약 4~6시간 후 회복되어 정상적인 세포와 같은 내염성을 나타내었다. 고전압 펄스 전기장 처리가 세포막 이외에 세포의 다른 부위에 손상을 주는지를 알아보기 위하여 작용 부위가 서로 다른 최소 농도의 항생물질을 첨가하여 손상부위를 측정된 결과 세포내 단백질 합성 체계나 기타 세포 단백질에도 손상을 주었음을 확인하였으며, chromosomal DNA의 손상여부를 agarose gel과 fluorescence spectrophotometer에 의한 EtBr 발색 정도를 통해 살펴 본 결과 chromosomal DNA 상의 손실이 일부 관찰되었으나 주된 사멸 기작으로 보기에는 그 손상 정도가 미미하였다. 이상의 실험으로 고전압 펄스 전기장에 의한 미생물의 불활성화는 일차적으로 세포막의 손상에 의한 세포내 물질의 유출 및 항상성의 파괴로 인한 것이며, 이 이외에도 대사 기능, 내염성등의 소실과 세포 단백질의 손상, chromosomal DNA의 손상으로 인한 것으로 판단되었다.