

加工 식품의 耐熱性 腐敗菌 分布 調査 研究

第二報：耐熱性 腐敗菌 最適 殺菌 條件 試驗

具 英 祖·閔 丙 春·劉 太 鍾*

農漁村 開發 公社 食品 研究所, 高麗 大學校 食品 工學科*
(1979년 3월 31일 수리)

Study on Heat Resistant Putrefactive Spore Formers in Korean Soil and Processed Foods

Part 2. Study on Thermal Resistance of Selected Spore Formers in Thermal Process of Mushroom Cans

Young Jo Koo, Byong Yong Min and Tae Jong Yu*

*Food Research Institute, Agriculture and Fishery
Development Corporation,*

**Department of Food Technology, Korea University*

(Received March 31, 1979)

Abstract

Spoiled mushroom cans were collected from several canneries and examined the spore bearing bacteria in them. Thirty four isolates of anaerobic mesophiles were isolated. The one isolate(CI-5) which was the most heat stable among the above isolates, the other isolate (D-29) which was examined in the previous experiment (Korean J. Food Sci. Technol., 10(2), 224 (1978) and PA 3679 were compared their heat resistancy in neutral phosphate buffer. They were confirmed the spoilage of mushroom products. Z value and D₂₅₀ value of the CI-5(isolated from mushroom casing soil at Gimjae) possessing the highest resistancy were 21.3°F and 1.8 min in mushroom can (4 oz. piece and stem). It's F value was 8.95 when Z value was 21.3.

序 論

통조림 및 병조림의 最適 殺菌 時間에 對한 研究는 Bigelow⁽¹⁾ 등이 樹立한 殺菌 條件 計算 方法인 "General Method"를 嚆矢로 研究되어 Ball⁽³⁾에 의하여 통조림 殺菌時 致死率(lethality) 概念이 사용되었고 1928年에 "Formular Method"⁽⁴⁾가 提示되었다. *B. botulinus* 代身 嫌氣性 腐敗菌을 통조림 食品의 殺菌 條件 試驗

에서 基準菌으로의 利用에 對하여 Townsend⁽⁶⁾, 低酸 食品 殺菌時 nomogram method에 對하여 Olsen⁽⁶⁾, 食品의 條件에 따른 熱 浸透 速度 및 關與 微生物의 致死 率 變化에 對하여 Stumbo⁽⁷⁾, Vinton⁽⁸⁾, Gillespy⁽⁹⁾, 製品에 따른 適定 殺菌價에 對하여 Board⁽¹⁰⁾ 등 여러 報告가 있다. 우리나라에서는 張建型⁽¹¹⁾ 등의 生鮮類의 통조림製造 適定 殺菌 條件 算定에 對한 研究 報告가 있을 뿐이다. 著者들은 우리나라 低酸性통조림의 大宗인 洋松茸 통조림의 腐敗菌中 耐熱성이 강한 中溫性 嫌氣性

芽胞菌을 選拔하고 이 選拔 菌株에 對한 熱 低抗性 및 腐敗性 確認 試驗을 하였으며 또 이 菌을 實際 洋松茸 製品에 接種하여 最適 殺菌 條件을 設定하였으므로 報告하는 바이다.

接種 培養된 製品의 缶狀態, 냄새, 外觀, 組織, pH로 腐敗性을 確認하였으며 液汁을 遠心分離하여 染色 檢鏡하여 純粹성과 同一菌 與否를 確認하였다.

材料 및 方法

1. 實驗 材料

1) 腐敗罐: 全國 四個 地域의 洋松茸 加工 工場에서 10罐씩 各各 蒐集하였다.

2) 使用 培地: 第 1報에 準하였다⁽²⁾.

3) 洋松茸 통조림 製品: 경상북도 하양읍 所在 株式會社 무궁화食品의 piece and stem 4 oz. mushroom can을 供試하였다.

2. 洋松茸 腐敗罐의 芽胞菌 分布 調査

1) 開缶 및 試液 調製

腐敗缶의 開缶은 Esty⁽¹²⁾ 등의 方法을 使用하였으며 試液 調製는 第 1報⁽²⁾에 準하였다.

2) 接種 培養 및 耐熱性 細菌의 分離 選別과 Clostridium屬의 檢出을 第 1報⁽²⁾에 準하였다.

3. 嫌氣性 中溫性 細菌의 熱 抵抗力

孢子 形成 여부, 孢子현탁액의 調製, D-Value 및 Z-Value의 測定을 第 1報⁽²⁾에 準하였다.

4. 耐熱性 芽胞 形成菌의 腐敗性 確認⁽¹³⁾

1) 接種 및 培養

4 oz. 洋松茸 통조림 製品을 strain別로 各各 6缶씩 比누와 물로 洗滌한 다음 알코올용액으로 닦아서 불꽃 殺菌한 다음 滅菌된 송곳을 利用하여 구멍을 내고 80°C 水槽에서 10分間 脫氣하여 滅菌된 주사기로 準備된 孢子 현탁액을 1ml씩 接種한 即時 납땜 密封하여 39°C 로 冷却하였으며 35°C 培養器에서 48時間 培養하였다.

2) 腐敗性 確認

5. 最適 殺菌 條件

1) 孢子 현탁액의 接種

芽胞濃도가 10⁵~10⁸/ml 되게 1/15 M neutral phosphate buffer 용액에 懸濁시킨 孢子 현탁액을 Reynolds 等⁽¹⁵⁾의 方法으로 실험방법 4에서와 같이 4 oz. 洋松茸 통조림 製品에 接種하였다.

(2) 殺菌 및 保藏⁽¹⁴⁾

接種 冷却된 통조림 製品을 autoclave (UL American portable pressure sterilizer, φ45 × 45 cm)에 넣고 溫度 및 時間別로 殺菌하여 急冷시킨 後 35°C 培養器에서 1週間 保藏하여 swelling된 것을 生存한 것으로 하였다 殺菌時 thermocouple을 裝置하여 缶內 中心 溫度 測定器 (Ellab社製 recorder tape Z9-CTF)로 cold point(缶全長의 1/3 되는곳)의 熱 浸透 曲線을 그려 general method⁽¹⁾에 의하여 各 處理別 F₀값을 計算하였으며 이 값으로 come-up-time 및 cooling time에 處理된 熱量을 該當 溫度別 處理 時間으로 換算하였다.

結果 및 考察

1. 洋松茸 腐敗菌의 芽胞 形成菌 分布

低酸性 食品 통조림의 大宗을 이루는 洋松茸 腐敗缶을 地域別로 蒐集하여 腐敗를 일으킨 原因菌中 芽胞 形成菌에 對한 分布를 調査한 結果는 Table 1과 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 腐敗缶 모두 hard swell 現象을 보였으며 液汁의 pH는 3.7~5.3으로 매우 낮았으며 孢子를 形成하는 菌의 分布는 aerobic mesophiles가 75%, anaerobic mesophiles가 35%, aerobic thermophiles가 30%, anaerobic thermophiles가 5%의

Table 1. Distribution of spore formers in spoiled mushroom can

Region	Size and shape	Conditon of cans	pH	Mesophiles			Thermophiles	
				Aerobes	Anaerobes	Clostridium	Aerobes	Anaerobes
Buyo	16 oz. SP	hard swell	3.8~4.5	++	+	-	+	-
	4 oz. SP	hard swell	3.7~5.2	++	+	-	-	+
	2. 1/2 oz. SP bottles	cap swell	4.0~5.1	###	+	-	+	-
Hayang	8 oz. SP	hard swell	3.9~5.0	##	++	-	++	-
Gumi	8 oz. WM	hard swell	5.1	-	-	-	+	-
	6 oz. SP	hard swell	3.8~5.2	++	+	-	-	-
	4 oz. AM	hard swell	5.3	+	-	-	-	-
Gimhae	16 oz. BL	hard swell	4.7	+	-	-	+	-

*+: frequency of positive.

-: negative

頻度を 보였다.

2. 嫌氣性 中溫性 菌의 熱 抵抗性

腐敗菌의 芽胞 形成菌 分布 調査 및 地域別 洋松茸 栽培床 覆土의 細菌數 調査時 통조림 腐敗에 問題가 되는 嫌氣性 中溫菌 34菌株를 分離하였으며 이 중에서 熱耐性이 강한 1菌株(CI-5 strain)를 選拔하고 第1報에서 報告한 것중 耐熱性이 강한 strain (D-29)과 日

Table 2. Comparison of thermal resistance (anaerobic mesophiles)

Strain	D value (min)			Z value (°F)	D ₂₅₀ (min)
	104.5°C	107°C	110°C		
D-29	5.8	4.2	3.3	32.94	0.84
PA 3679	12.1	7.8	5.1	24.84	0.78
CI-5	10.5	7.1	5.2	27.54	0.90

* Suspend in neutral phosphate buffer solution

本의 社團法人 日本 缶詰 協會에서 分讓받은 嫌氣性 腐敗菌(PA 3679) strain과 熱 抵抗性을 比較한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보는 바와 같이 金堤 地方에서 채취한 洋松茸 栽培床 覆土에서 分離한 CI-5 strain이 제일 熱 抵抗性이 強하여 Z=27.54 °F, D₂₅₀=0.90 min로 나타났다. Townsend⁽⁵⁾ 등이 試驗한 *Cl. botulinum* (Z=17.6 °F, F=2.45 min in neutral phosphate) 및 Reynolds⁽¹⁵⁾ 등이 試驗한 PA 3679 (z=21, F=5.5~8.9 in neutral buffer solution)의 Z value와 比較하여 큰 값이나 D₂₅₀은 Townsend 등이 *Cl. botulinum* spore 1×10⁷~2×10⁸/ml을 使用하여 試驗한 것 D₂₅₀=2.45/12=0.21)보다 높았으며 Reynolds 등이 PA 3679 spore 1×10⁵/ml을 使用하여 試驗한 것 (D₂₅₀=5.5/5=1.1)보다 낮은 값이었다.

3. 耐熱性 芽胞 形成菌의 腐敗性 確認

耐熱性이 강한 中溫性 嫌氣性 菌에 對한 腐敗性을 確

Table 3. Characteristics of putrefaction in mushroom can by strains

Strain	Condition of cans	Characteristics of material in cans				Smear (microscopic)	Remark
		Order	Appearance	Texture	pH		
D-29	Springer or flipper	Putrid	Change color, Cloudy syrup	Soft	4.0~4.7	Pure culture	Putrefaction
PA 3679	Hard swell	Putrid	Frothy, change color Cloudy syrup	Soft	4.2~4.6	Pure culture	Putrefaction
CI-5	Springer	Putrid	Change color Cloudy syrup	Soft	4.0~4.2	Pure culture	Putrefaction
Control	Normal vacuum (10~16 cm/Hg)	Normal	Normal	Normal	6.0~6.2	Negative	Normal

認하기 爲하여 胞子 懸탁액을 實際로 滅菌된 洋松茸 통조림 製品에 接種시켜 培養 試驗한 結果는 Table 3와 같다.

Table 3에서 보는 바와 같이 3 strain 모두 swelling 現象을 보였고 製品의 組織이 軟해지고 變色되었다. pH가 모두 4.7 以下로 떨어지고 腐敗臭가 甚하게 나타났다으므로 腐敗를 일으키는 菌으로 판단되었다.

4. 最適 殺菌 條件

Neutral phosphate buffer 溶液에서의 熱 抵抗性 試驗에서 제일 耐熱性이 강한 strain CI-5를 實際 洋松茸 통조림 製品에 接種하여 溫度別 時間別로 熱 處理하여 溫度別 適定 加熱 致死 時間을 求하였고 이때 얻어진 熱 侵透 曲線으로 殺菌值를 general method로 計算한 結果는 Table 4 및 Fig. 1과 같다.

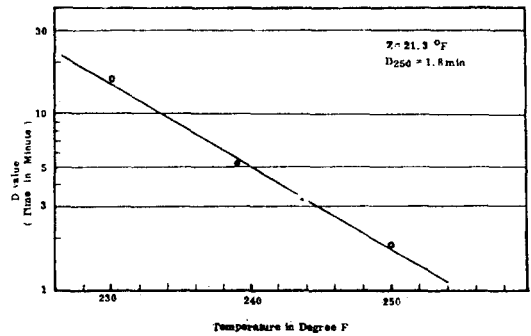


Fig. 1. Thermal death time curve of CI-5 in mushroom can (anaerobic mesophiles)

Table 4 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 嫌氣性 中溫性 菌 CI-5(金堤 地方 洋松茸 栽培床 覆土에서 分離)는 Z=21.3°F이고 D₂₅₀=1.8 min로서 Reynolds 등⁽¹⁵⁾이 試驗한 PA 3679胞子의 통조림 缶에서의 Z-value 13.5보다 훨씬 높은 熱 抵抗性을 갖고 있으며 Table 4에서 D₂₅₀=1.79 min 이었으므로 5D의 개념에 따라 F value는 F₂₅₀⁵=8.95로 나타났다. 著者들의 第1報에 따르면 殺

Table 4. Thermal death time record

Temperature (°F)	Corrected heating Time (min)	F ₀ value (z=18) (min)	No. of sample cans		D value (min)
			Heated	Positive	
230	54.63	4.23	6	6	16.47
	92.86	7.19	6	5	
	156.27	12.10	6	0	
	221.62	17.16	6	0	
	284.91	22.06	6	0	
239	7.92	1.94	6	6	5.17
	14.99	3.67	6	6	
	21.93	5.37	6	6	
	31.24	7.65	6	2	
	49.54	12.13	6	0	
250	1.40	1.37	6	6	1.79
	8.35	8.14	6	5	
	10.06	9.81	6	5	
	13.32	12.98	6	0	
	18.38	17.92	6	0	

- *1. Organism : Cl-5 (mesophile anaerobes)
- 2. Inoculated in : mushroom can (piece and stem 4 oz. pH 6.0)
- 3. Preparation of spore suspension : 2 weeks at 35°C in 4 % soybean-casein digested agar medium (added 1 % meat ext). Spores washed 3 times, stored in N/15 neutral phosphate buffer solution.
- 4. Initial spore count : 3.6×10^5 per container
- 5. Heating time: obtained by converting F₀ value to heating time at the correspondent temperature.
- 6. Comments : incubated at 35°C for 1 week after treatment.

菌前 洋松茸 통조림中 中溫性 芽胞 形成菌의 汚染度는 1.3×10^2 /ml 정도였으므로 計算 設定된 F value는 商業的인 見地에서 安全 製品 生産에 充分한 熱 處理 條件으로 판단되었다.

要 約

洋松茸 腐敗菌을 蒐集하고 芽胞 形成菌 分布 調査와 anaerobic mesophiles 34菌株를 分離하였다. 이중 耐熱性이 가장 강한 菌株 (Cl-5) 및 第1報(한국식품과학회지 10(2), 224 (1978)에서 實驗한 菌株 (D-29)와 PA 3679를 中性 磷酸 緩衝 液溶에서 耐熱性을 比較한 結果 Cl-5가 가장 컸으며 이들의 腐敗性도 確認하였다.

耐熱性이 가장 큰 Cl-5(金堤 地方 洋松茸 栽培床 覆土에서 分離, 嫌氣性 中溫性 菌)의 통조림缶(4 oz. piece and stem)에서의 熱 抵抗性은 $Z=21.3^{\circ}\text{F}$, $D_{250}=1.8$ min 이었으며 最適 殺菌 條件은 $Z=21.3$ 일때 適定 F value 8.95이었다.

文 獻

1. Bigelow, W. D., Bohart, G.S., Richardson, A. C., and Ball, C.O. : *National Cannery Assoc. Bull.*, 16-L (1920)
2. 具英祖, 申東禾, 金正玉, 閔丙蓉 : *Korean J. Food Sci. Technol.*, 10(2), 224 (1978)
3. Ball, C. O. : *National Research Council*, 7(1), 1 (1923)
4. Ball, C. O. : *University of California Publication in Public Health* 1(2), 15 (1928)
5. Townsend, C. T. and Esty, J. R. : *Food Research* 3, 323 (1938)
6. Olson, F. C. W. and Sterens H. P. : *Food Research*, 4, 1 (1939).
7. Stumbo, C. R. Gross, C. E., and Vinton, C. : *Food Research*, 10, 260 (1945).
8. Vinton, C. and Martin, S. : *Food Research*, 12, 173 (1947)
9. Gillespy, T. G. : *J. Sci. Food Agri.*, 4, 553 (1953)
10. Board, P. W. : *CSIRO, Division of Food Reservation, Circular No. p. 7* (1965)
11. 장건형, 최춘연 : 육군기술연구소 보고 2, 3 (1963)
12. Esty, J. R. and Stevenson, A. E. : *J. Infectious Disease*, 36, (1925).
13. 谷川英一, 元廣輝重, 秋場稔 : 缶詰製造學(食品加工シリス 8, 323 (1968)
14. National Cannery Association Research Laboratories : *Manual for Food Cannery and Processors*. Vol. 1, The AVI Publishing Co., Westport, Connecticut p.166 (1968)
15. Reynolds, H. and Kaplan, M. : *Food Research*, 17, 153 (1952)