

# 부패된 복숭아 통조림으로부터 분리된 효모의 열저항성에 관한 연구

최정이 · 박승규 · 경규항

세종대학 식품공학과

## Heat Resistance Studies of Selected Yeasts Isolated from Swollen Commercially Canned Peaches.

Jeong Yi Choi, Seung Kyu Park and Kyu Hang Kyung

Department of Food Science, King Sejong University, Seoul

### Abstract

This investigation was to measure heat resistance (D and Z values) of ascospores of *Saccharomyces cerevisiae* Py9 and *Saccharomyces chevalieri* Pw7 isolated from swollen commercially canned peaches. Decimal reduction times (D values) of *S. cerevisiae* Py9 ascospores were 6.5 min at 58°C, 2.5 min at 60°C and 1.25 min at 62°C. Those of *S. chevalieri* Pw7 ascospores were 35.0 min at 58°C, 3.5 min at 60°C and 1.5 min at 62°C. Z values of *S. cerevisiae* and *S. chevalieri* ascospores were 5.5°C and 3.4°C, respectively.

### 서 론

통조림식품의 살균에 있어서 필요한 가열의 정도는 식품의 산도와 밀접한 관계가 있어서 일반적으로 pH4.5 이하의 식품은 저온살균을 한다.<sup>(1)</sup> 이와같이 저온살균된 산성식품 통조림을 부패시키는 미생물은 대개가 발효효모로 효모에 의한 통조림식품의 부패는 용기의 밀봉이 잘못되었을 때 2차적으로 오염되었거나 또는 효모를 사멸시키기에 충분한 열처리가 되지 않았을 경우에 일어난다.<sup>(2)</sup> 또한 효모는 넓은 pH 범위에서 자라며 성장이 가능한 최저 pH는 식품에 함유된 산이나 당, 염 등에 의해 달라지며<sup>(3)</sup> 통조림된 과일이나 잼, 젤리, 과일주우스 등의 산성식품은 발효효모에 의해 부패가 일어나고 발효의 결과 탄산가스가 생성되어 용기를 팽창시킨다.<sup>(4)</sup>

이러한 효모의 내열성에 관한 연구는 Kayser<sup>(5)</sup>가 맥주, 사과주 등에서 분리한 효모의 내열성을 측정할 것을 시초로 몇몇 연구가 있었는데 Corry<sup>(6)</sup>는 열처리배지의 조성에 관한 연구를 Stevenson과 Richards<sup>(7)</sup>와 Graulich와 Stevenson<sup>(8)</sup>은 열처리 후 배지의 조성이 효모의 회복에 미치는 영향을 연구하였다.

또한 Put<sup>(9)</sup> 등은 포자가 영양세포보다 내열성이 30~350배 정도 더 강하다고 하였으며 일반적으로 포자를 생성하는 효모가 포자를 생성하지 않는 효모보다 열저항성이 더 강하다고 하였다.

본 연구는 부패된 복숭아 통조림으로부터 분리한 효모가 생성한 자낭포자의 열저항성(D 값 및 Z 값)을 복

숭아 통조림의 조성과 유사한 조건에서 측정하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주

팽창된 복숭아 통조림으로부터 분리하여 동정한 효모로서 *Saccharomyces cerevisiae* Py9와 *Saccharomyces chevalieri* Pw7를 사용하였다.

#### 포자 생산용 배지 및 회복배지

포자형성을 위하여 사용한 고체배지로서는 acetate agar(AA: 0.98% potassium acetate, 0.1% glucose, 0.12% sodium chloride, 0.07% magnesium sulfate, 0.25% yeast extract, 2% Bacto-agar)를, 회복배지로는 yeast extract-malt extract-peptone-glucose agar (YMPGA: 0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, 0.5% peptone, 1% glucose, 2% Bacto-agar)를 사용하였다.

#### 열처리 용액

증류수에 sucrose가 13.2%되게 용해시킨 후 50% 구연산용액으로 pH를 4.0으로 조정하여 살균한 후 열처리를 위한 용액으로 사용하였다.

균주의 보관 및 포자수확

사용균주는 YMPGA 배지에 28°C에서 2일간 사면배양하여 4°C에서 보관하였으며, 포자생산을 위해서는 AA 배지에 접종하여 28°C에서 7일내지 10일간 배양하였다. 포자가 확인되면 AA 배지에서 자란 효모포자를 수확하여 살균된 원심분리관에 넣고 살균된 0.5% peptone 수(pH4.0)나 0.87% 식염수(pH4.0)를 약 5 ml 정도 넣고 vortex mixer(선진과학기기)로 혼합시킨 후 45초간 900rpm(제일이화학기기제작소, Model: C-C6)으로 원심분리하여 침전시킨 다음 상층액을 버리고 다시 peptone 수나 식염수를 5ml 정도 넣어 현탁시키고 원심분리시키는 세척과정을 3번 반복하였다<sup>(8)</sup> 최종 포자현탁액은 살균된 cuvet에 넣어 460nm의 파장에서 70~75%의 투과율이 되도록 맞추었다. 이 투과율에서 *S. cerevisiae* Py9는  $4.2 \times 10^7 \sim 4.2 \times 10^8$  spores/ml 이었고 *S. Chevalieri* Pw7은  $6.5 \times 10^7 \sim 4.2 \times 10^8$  spores/ml 이었다. 가열하지 않은 0분의 숫자는 이 현탁액의 생균수 측정값으로 하였다.

열처리하고자 하는 각각의 온도(58°C, 60°C, 62°C)로 유지된 항온수조에 살균된 99ml의 열처리배지가 든 500ml 삼각플라스크를 약 2시간 전부터 넣어서 온도를 맞춘 후 준비된 포자현탁액을 11ml 넣고 잘 흔들어 주면서(흔합을 용이하게 하기 위해 직경 1cm 정도의 유리구슬 2개를 넣었음) 5분 간격으로 4~5ml씩 취해 10ml 뚜껑이 있는 시험관에 넣고 즉시 흐르는 수돗물로 냉각시켰다.<sup>(7,8)</sup> 이것을 0.5% peptone 수(pH4.0)나 0.87% 식염수(pH4.0)로 10진법에 의해 무균적으로 희석하여 준비된 회복배지에 평판주법으로 2plate씩 접종하였다. 생존균수는 28°C에서 90시간 배양 후 나타나는 집락을 계수하여 평균하였다. 가열이 시작되기 전의 효모수와 균형을 맞추기 위해 가열처리 후 나타난 생존균수에 희석배수인 10배를 곱하여 그수를 Figure에 표시하였다.

결과 및 고찰

부패된 복숭아 통조림으로부터는 여러가지의 효모가 발견되었는데<sup>(10)</sup> Put 등<sup>(9)</sup>에 의하면 *Saccharomyces* 속 효모가 가장 열저항성이 크다는 보고에 따라 *Saccharomyces* 속에 속하는 *S. cerevisiae*와 *S. chevalieri*를 시험균주로 선택하였다.

*S. cerevisiae* 및 *S. chevalieri*는 AA 배지에 거의 100% 가까운 포자생성율을 보였으며, 포자가 생성된 후 수확하지 않은 채로 고체배지상에 25일간까지 방치하여도 포자의 내열성에는 차이를 보이지 않았는데 (data not shown), 이는 Put 과 De Jong<sup>(12)</sup>의 보고와

같았으며 희석액을 0.5% peptone 수(pH4.0)와 0.87% 식염수(pH4.0)를 사용하였을 때에도 결과에는 유의할 만한 차이가 없었다.

두 효모의 경우 공히 가열치사속도곡선(thermal death rate curves) 전구간에 걸쳐 직선으로 나타나는 않았지만 직선으로 나타난 부분만을 이용해 열저항성을 계산했을 때 *S. cerevisiae* Py9의 decimal reduction time (D 값)은  $D_{58}=6.5$ 분,  $D_{60}=2.5$ 분,  $D_{62}=1.25$ 분 (Fig.1)으로 나타났고 이들 D 값을 이용해 구한 Z 값은 5.5°C이었다(Fig.3).

한편 *S. chevalieri* Pw7의 D 값은  $D_{58}=35$ 분,  $D_{60}=3.5$ 분,  $D_{62}=1.5$ 분 (Fig. 2)이었으며 Z 값은 3.4°C이었다 (Fig. 4). 64°C 이상의 온도에서는 급격한 사멸로 인해 두 효모 공히 D 값을 구할 수가 없었다.

Put 과 De Jong<sup>(11,12)</sup>의 보고에 의하면 *S. cerevisiae*가 *S. chevalieri*보다 열저항성이 더 높게 나타났지만 본 연구에서는 *S. chevalieri*가 보편적으로 D 값이 높은 것으로 나타났다. 본 연구에서 사용한 *S. cerevisiae*의  $D_{60}$ 는 2.5분인데 반해 Put 과 De Jong<sup>(10)</sup>이 여러 과일

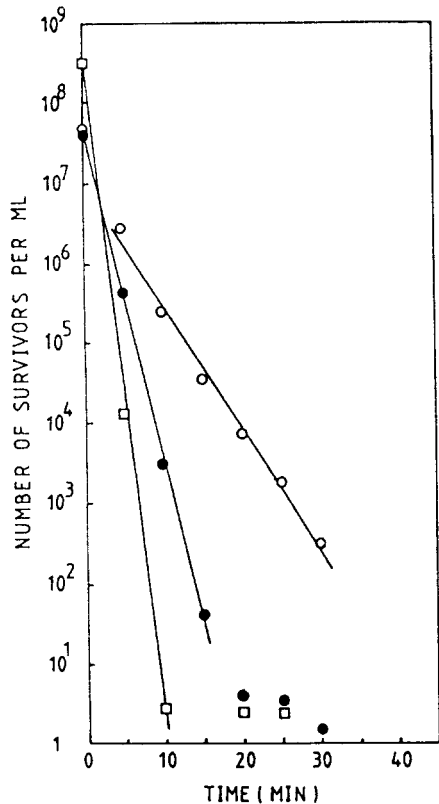


Fig. 1. Thermal death rate curves of *Saccharomyces cerevisiae*  
 O: 58°C ●: 60°C □: 62°C

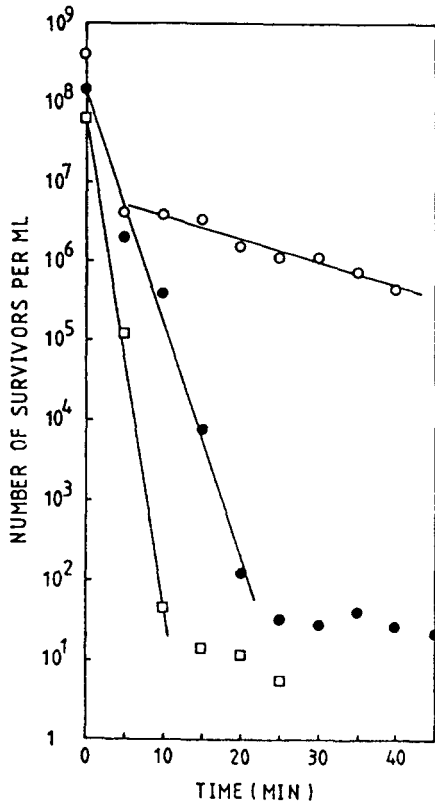


Fig. 2. Thermal death rate curves of *Saccharomyces chevalieri*  
 O: 58°C ●: 60°C □: 62°C

주스나 산성식품으로부터 분리된 10균주의 *S. cerevisiae*의 열저항성을 측정된 결과  $D_{60}$ 가 5.1~19.2분이었고 또 본 연구에서 사용한 *S. chevalieri*의  $D_{60}$ 는 14.3~16.4로 큰 차이를 보였다. 이 차이는 사용한 균주는 물론 사용한 열처리배지 조성이 다르기 때문으로 판단되며 본 연구에서는 실제 복숭아 통조림의 조성파 유사하게 pH4.0으로 조절된 13.2%의 당액을 썼으나 Put과 De Jong은<sup>(11,12)</sup> 단순한 완충용액 (0.05M citrate phosphate, pH4.5)을 이용하였다.

또한 가열치사속도곡선 (Fig.1,2)에서 관찰되는 바와 같이 생존균수가 급격히 감소되다가 생존균수에 변화가 매우 적거나 거의 없는 현상 즉 tailing이 생기는데 이 현상은 *S. chevalieri*의 가열치사속도곡선에서 더욱 뚜렷하며 *S. chevalieri* Pw7은 60°C에서 45분까지 가열하였어도 tailing 현상이 없어지지 않았다 (Fig. 2). 이와같은 현상에 대해서는 Put<sup>(11)</sup>, Juven<sup>(13)</sup>, Cerf 등,<sup>(14,15)</sup> Corry<sup>(6)</sup>등에 의해 언급된 바 있는데 이는 열저항성 정도가 다른 세포나 포자가 존재하거나 세포나 포자가 서로 묻혀있어 열을 받는 정도가 다르기 때문이라 하였으며 몇몇 다른 문헌<sup>(4~12)</sup>에서는 열처리 받는 효모포자의 가열치사속도곡선에 전형적으로 나타나는 tailing은 열저항성에 대한 각 포자의 다른 성질때문이며 같은 균주가 같은 환경에서 자랐어도 열저항성 정도는 다르다고 하였다. Cerf 등<sup>(14,15)</sup>에 의하

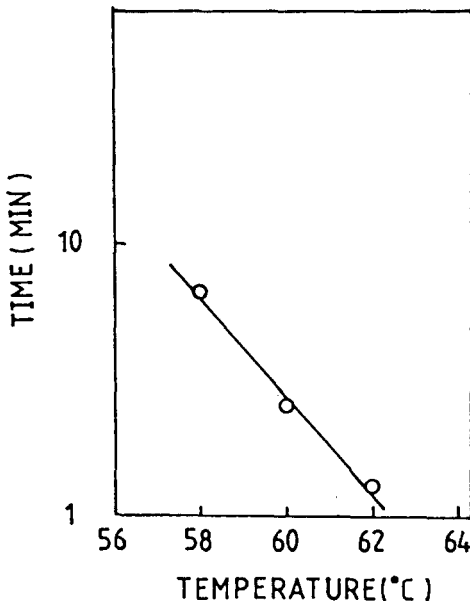


Fig. 3. Thermal death-time curve of *Saccharomyces cerevisiae*

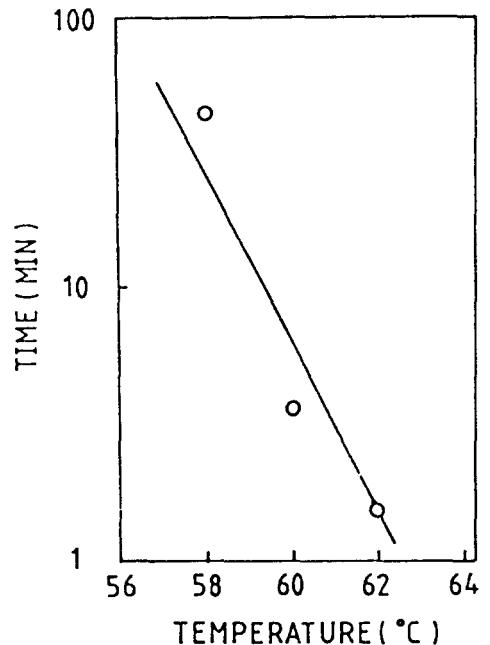


Fig. 4. Thermal death-time curve of *Saccharomyces chevalieri*

면 가열치사속도곡선의 tailing 은 같은 포자라도 유전적인 요인이나 여러가지 인위적인 요인에 의하거나 열처리 받는 동안 변이를 일으켜 내열성에 면적이 생기고 열처리배지의 온도나 수분활성도, pH 에 의하기도 하지만 tailing 은 여러 상호 복합적인 요인에 의한다고 하였다.

가열치사속도곡선(Fig. 1, 2)에서 특히 유의할 사항은 58°C에서 생존포자수가 가열 후 첫 5분 동안에 급격한 감소를 나타냈고 그 이후에는 생존포자수의 감소가 다른 온도에서와 마찬가지로 semi-log 그래프에서 직선으로 감소되는 현상이다. 이 현상은 두 균주에서 공히 나타났는데 tailing 과는 다른 현상으로 판단되며 그 이유에 대해선 아직 알려진 바가 없다.

*S. chevalieri* Pw7의 Z 값이 *S. cerevisiae* Py9의 Z 값(5.5°C)보다 낮게 관찰된 점으로 보아 각각의 온도에서 열저항성은 *S. chevalieri* Pw7이 더 높으나(Fig. 1, 2) 온도변화에 대한 감수성은 *S. chevalieri* Pw7이 *S. cerevisiae* Py9보다 더 크다는 것을 알 수가 있다. *S. cerevisiae*의 Z 값은 Put 과 De Jong<sup>(12)</sup>의 범위 (4.6~5.2°C)보다 약간 높게 나타났는데 비해 *S. chevalieri*의 Z 값은 Put 과 De Jong<sup>(12)</sup>의 범위 (5.5~6.0)보다 낮게 나타났다. 이 현상은 앞의 가열치사속도곡선에서 언급된 여러가지 이유 때문이라고 판단된다.

효모의 포자는 과일을 수확할 때, 운반저장할 때 또 과일즙이나 농축즙 등을 만드는 과정에서 형성되는데 통조림을 만들어 이들 식품을 가공, 저장할 경우에는 이러한 과일에 존재하는 효모포자의 내열성검사(D 및 Z 값)가 꼭 동반된다.<sup>(11)</sup> 그리고 이러한 원료에 효모들이 얼마나 많이 오염되었는지와 또 만들고자 하는 제품마다 조성이 다르기 때문에 각 해당제품에서 효모포자의 열저항성을 알아야 함은 물론이다.

본 연구의 결과에서와 같이 단지 가열치사속도곡선과 가열치사시간곡선에 나타난 대로의 열처리 만으로는 완전살균이 불가능한데 그 이유는 다른 많은 보고서에서와 같이<sup>(12,14,17)</sup> tailing 현상 때문일 가능성이 크다.

## 요 약

팽창된 복숭아 통조림으로부터 분리된 *Saccharomyces cerevisiae* Py9와 *Saccharomyces chevalieri* Pw7의 자낭포자의 열저항성을 측정하였다. 그 결과 *S. cerevisiae* Py9는  $D_{58}=6.5$ 분,  $D_{60}=2.5$ 분,  $D_{62}=1.25$ 분

이었고 Z 값은 5.5°C로 나타났다. 그리고 *S. chevalieri* Pw7은  $D_{58}=35$ 분,  $D_{60}=3.5$ 분,  $D_{62}=1.5$ 분이었고 Z 값은 3.4°C로 나타났다. 열처리를 했을 때 미생물 사멸이 직선인 부분과 그렇지 않은 부분으로 나뉘어지므로 즉, tailing 현상으로 인해 가열치사속도곡선과 가열치사시간곡선에 나타난 대로의 열처리 만으로는 효모의 완전 살균이 불가능함을 알 수 있었다.

## 문 헌

1. 박영호, 박유식 : 통조림제조학, 형설출판사, P. 113(1983)
2. Miller, M.W.: *Food Technol.*, **33**, 76 (1979)
3. Walker, H.W.: *Food Technol.*, **31**, 57 (1977)
4. Frazier, W.C. and Westhoff, D.C.: *Food Microbiology* 3rd ed. McGraw-Hill Book Co., New York, p.306 (1978)
5. Beamer, P.R. and Tanner, F.W.: *Zentr. Bacteriol. Parasitenk* 2abt 100, 202(1939) [구영조. 이동선, 신동화, 유태중. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **13**, 43(1982)]
6. Corry, J.E.L.: *J. Appl. Bacteriol.*, **40**, 169 (1976)
7. Stevenson, K.E. and Richards, L.J.: *J. Food Sci.*, **41**, 136 (1976)
8. Granumlich, T.R. and Stevenson, K.E.: *J. Food Sci.*, **43**, 43, 1865 (1978)
9. Put, H.M.C., De Jong, J., Sand, F.E.M.J. and Van Grinsven, A.M.: *J. Appl. Bacteriol.*, **40**, 135 (1976)
10. 김형용 : 세종대학 석사학위 논문(1985)
11. Put, H.M.C. and De Jong, J.: *J. Appl. Bacteriol.*, **53** 73 (1982)
12. Put, H.M.C. and De Jong, J.: *J. Appl. Bacteriol.*, **52** 235 (1982)
13. Juven, B.J., Kanner, J. and Weisslowicz, H.: *J. Food Sci.*, **43**, 1074 (1978)
14. Cerf, O. and Merto, F.: *J. Appl. Bacteriol.*, **42**, 405 (1977)
15. Cerf, O.: *J. Appl. Bacteriol.*, **42**, 1 (1977)
16. Moats, W.A., Dabbah, R. and Edwards, V.M.: *J. Food Sci.*, **36** 523 (1971)
17. Han, Y.W.: *Canadian J. Microbiol.*, **21**, 1464 (1975)
18. Graumlich, T.R. and Stevenson, K.E.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**, 461 (1979)

(1986년 9월 28일 접수)